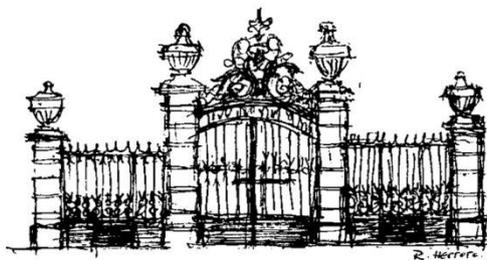


**UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA**



**ESCUELA DE INGENIERÍAS AGRARIAS**



**ALTERNARIA: ALTERACIONES POSTCOSECHA EN FRUTAS**

**TRABAJO FIN DE MÁSTER**

**MÁSTER EN GESTIÓN DE CALIDAD Y TRAZABILIDAD EN  
ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL**

Marina Macías Miranda

Badajoz, enero 2020

*Marina  
Macías,  
Miranda*

**ALTERNARIA: ALTERACIONES POSTCOSECHA EN FRUTAS**

**MÁSTER EN  
GESTIÓN DE  
CALIDAD Y  
TRAZABILIDAD  
EN ALIMENTOS  
DE ORIGEN  
VEGETAL**

**Enero, 2020**

**UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA**



**ESCUELA DE INGENIERÍAS AGRARIAS**



**ALTERNARIA: ALTERACIONES POSTCOSECHA EN FRUTAS**

**TRABAJO FIN DE MÁSTER**

**MÁSTER EN GESTIÓN DE CALIDAD Y TRAZABILIDAD EN  
ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL**

Marina Macías Miranda

Badajoz, enero 2020

# **TRABAJO FIN DE MÁSTER**

**ALTERNARIA: ALTERACIONES POSTCOSECHA EN FRUTAS**

**MÁSTER EN GESTIÓN DE CALIDAD Y TRAZABILIDAD EN  
ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL**

**AUTOR:** Marina Macías Miranda

**TUTOR/ES:** Santiago Ruiz-Moyano Seco de Herrera y Alicia Rodríguez Jiménez

**Tutor:** Santiago Ruiz-Moyano Seco de Herrera      **Cotutor:** Alicia Rodríguez Jiménez

**Fdo:**.....

**Fdo:**.....

**Convocatoria: Enero 2020**

## ÍNDICE

<b>1. RESUMEN</b> .....	7
<b>2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b> .....	9
<b>2.1. JUSTIFICACIÓN</b> .....	10
<b>2.2. OBJETIVOS</b> .....	11
<b>3. MOHOS EN LOS ALIMENTOS VEGETALES</b> .....	12
<b>3.1. PRINCIPALES GÉNEROS MOHOS CAUSANTES DE MICOTOXINAS Y DE     PODREDUMBRE EN PRODUCTOS DE ORIGEN VEGETAL</b> .....	15
<b>3.1.1. <i>Aspergillus</i></b> .....	15
<b>3.1.2. <i>Penicillium expansum</i></b> .....	22
<b>3.1.3. <i>Fusarium</i></b> .....	23
<b>3.1.4. <i>Botrytis</i></b> .....	29
<b>3.1.5. <i>Monilia</i></b> .....	31
<b>3.1.6. <i>Cladosporium</i></b> .....	32
<b>3.1.7. <i>Rhizopus</i></b> .....	33
<b>3.1.8. <i>Mucor</i></b> .....	34
<b>4. ALTERNARIA EN ALIMENTOS VEGETALES</b> .....	38
<b>4.1. FORMA DE CONTAMINACIÓN</b> .....	40
<b>4.2. FRUTA AFECTADA</b> .....	42
<b>4.2.1. Alteraciones en rosáceas</b> .....	42
<b>4.2.2. Alteraciones en solanáceas</b> .....	43
<b>4.2.3. Alteraciones en cítricos</b> .....	45
<b>4.2.4. Otros cultivos</b> .....	46
<b>4.3. LEGISLACIÓN</b> .....	47
<b>4.4. MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN Y DETECCIÓN DE MOHOS Y     MICOTOXINAS</b> .....	48
<b>4.4.1. Métodos convencionales para la detección de mohos productores de         micotoxinas</b> .....	49
<b>4.5. MEDIDAS PREVENTIVAS Y DE CONTROL</b> .....	50
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	53
<b>6. BIBLIOGRAFÍA Y WEBGRAFÍA</b> .....	55
<b>6.1. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	56

**6.2. WEBGRAFÍA..... 70**

## **1. RESUMEN**

## 1. RESUMEN

Esta revisión bibliográfica se centró en la presencia de *Alternaria* spp. y en las posibles alteraciones que puede provocar su presencia en la fruta principalmente durante la etapa de postcosecha. El objetivo del estudio fue realizar una búsqueda sistemática y analizar los principales mohos causantes de alteraciones postcosecha, describiendo las alteraciones postcosechas causadas principalmente por especies del género *Alternaria* spp. en la familia de los cítricos, las rosáceas y las solanáceas. Además, se llevó a cabo una búsqueda de los posibles métodos de identificación y detección, así como de las posibles medidas de control para evitar el desarrollo de estas especies de moho perteneciente al género *Alternaria*. Después de la realización del trabajo se ha encontrado que los mohos causantes de las alteraciones postcosecha pertenecen principalmente a los géneros *Penicillium*, *Botrytis*, *Monilia*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Mucor* y *Alternaria*. Las especies del género *Alternaria* son las responsables del deterioro postcosecha de muchos alimentos de origen vegetal; sin embargo, sus alteraciones más comunes se producen en la familia de las rosáceas (enfermedad del corazón mohoso), de las solanáceas (enfermedad del tizón temprano y pudrición del cuello del tomate) y de los cítricos (mancha de la hoja de limón áspero, mancha parda de las mandarinas y podredumbre negra postcosecha). Aunque existen bastantes evidencias sobre la presencia de cepas del género *Alternaria* y de sus toxinas en frutas, hortalizas y cereales, así como en sus derivados, hasta el momento no existe una legislación a nivel nacional y/o internacional que regulen los límites máximos permitidos de estas toxinas en dichos alimentos. En cuanto a la identificación y detección de *Alternaria* spp. y sus toxinas, éstas pueden realizarse mediante la utilización de distintas técnicas analíticas como serían las técnicas inmunológicas y cromatográficas, siendo estas últimas las más ventajosas en cuanto a sensibilidad y especificidad. Debido a la importancia y toxicidad de las toxinas de *Alternaria* spp., en los últimos años se están desarrollando estrategias de control basadas en la utilización de microorganismos y extractos naturales ya que son seguras para el consumidor y presentan una gran eficacia para evitar el desarrollo de especies de este género de mohos y la consiguiente producción de sus toxinas en vegetales.

## **2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

## 2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

### 2.1. JUSTIFICACIÓN

España es el mayor productor y exportador de fruta en la Unión Europea y está situado entre los tres principales exportadores a nivel mundial. Además, en los últimos años, el consumo de frutas y hortalizas se ha incrementado debido principalmente a que los consumidores son cada vez más conscientes de la relación existente entre dieta y salud (Ferratto & Mondino 2008). Por otro lado, la inocuidad o seguridad de los alimentos es uno de los principales problemas mundiales de salud pública, ya que es necesario garantizar alimentos libres de microorganismos patógenos, toxinas y residuos fitosanitarios (Moreno, 2013). Hoy en día, las pérdidas económicas causadas por defectos en el aspecto o por la aparición de sustancias indeseables en frutas y hortalizas son bastante elevadas, alcanzando valores en torno al 25% de la producción en países industrializados y más del 50% en países en desarrollo, si las condiciones de almacenamiento no son óptimas (García, 2017). Las podredumbres causadas por el desarrollo fúngico son las más relevantes, ya que generan rechazo del producto tanto por parte de los importadores como de los consumidores finales. Entre los principales mohos causantes de podredumbre se encuentran varias especies pertenecientes a los géneros *Penicillium*, *Botrytis*, *Monilia*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Mucor* y *Alternaria* (Zinedine et al., 2019).

Las podredumbres marrón, gris y verde son causadas por *Monilia*, *Botrytis* y *Penicillium*, respectivamente. Debido a las pérdidas económicas que producen la aparición de dichas podredumbres en frutas las alteraciones causadas por dichos mohos han sido extensamente estudiadas y descritas, mientras que las ocasionadas por *Alternaria* spp. han sido consideradas de menor importancia. Sin embargo, en los últimos años se ha observado una mayor incidencia de la podredumbre negra causada por especies de este género fúngico en determinados tipos de frutas (Perelló et al., 2008; Dorrego et al., 2019). *Alternaria* spp. es un hongo filamentoso que incluye especies patógenas que pueden invadir los cultivos vegetales antes y después de la recolección y es responsable de considerables pérdidas económicas, debido a que reduce el rendimiento de las cosechas y produce alteraciones en los vegetales durante su transporte y almacenamiento. Las principales frutas afectadas son tomates, cítricos y manzana entre otras (Thomma, 2003; Mamgain et al., 2014; Gonzalo, 2018). Además, a diferencia de otros mohos patógenos postcosecha, *Alternaria* spp. puede

producir diferentes tipos de metabolitos secundarios tóxicos (micotoxinas) si las condiciones ambientales y nutricionales son adecuadas para esta síntesis (Janić et al., 2019). Estas toxinas se han relacionado con diferentes efectos adversos en la salud del consumidor, siendo los más importantes los efectos genotóxicos, mutagénicos, cancerígenos y citotóxicos (Pavón 2012; Kumar et al., 2017). Incluso determinadas especies de *Alternaria* spp. están implicadas en infecciones y alergias humanas, considerándose uno de los principales géneros fúngicos causantes de alergias (Sergio, 2018).

Por tanto, en este estudio se realizará una revisión bibliográfica de los principales mohos causantes de podredumbre en fruta con especial interés en las causadas por especies del género *Alternaria* spp. debido a la preocupación actual que ha despertado en el sector hortofrutícola por las pérdidas que genera y por los perjuicios que pueden provocar en la salud de los consumidores.

## **2.2. OBJETIVOS**

En la presente revisión bibliográfica se pretende revisar y discutir la presencia de *Alternaria* en frutas y las alteraciones que provoca su presencia en la fruta durante la etapa de postcosecha. Por tanto, los objetivos específicos que se pretenden conseguir con el desarrollo de este trabajo son:

1. Realizar una búsqueda sistemática y analizar los principales mohos causantes de alteraciones postcosecha.
2. Describir las alteraciones postcosechas causadas por especies del género *Alternaria* spp.: formas de contaminación, frutas afectadas, tipos de contaminación y legislación existente.
3. Estudiar los métodos de identificación y detección de *Alternaria* spp. en fruta y posibles medidas de control.

### **3. MOHOS EN LOS ALIMENTOS VEGETALES**

### **3. MOHOS EN LOS ALIMENTOS VEGETALES**

Los mohos son microorganismos pertenecientes al reino Fungi, estos se desarrollan en ambientes húmedos y con baja luminosidad que cuando crecen provocan un recubrimiento veloso en el alimento de color negro, blanco, azul o verde. Los mohos, suelen ser los responsables del deterioro en los órganos de las plantas tanto antes de la cosecha como en postcosecha, además pueden llegar a producir oxidaciones y daños por podredumbre en frutas y verduras (Kyanko et al., 2010; Petrasch et al., 2019) e incluso algunos de ellos puede, producir micotoxinas. Las micotoxinas, son metabolitos secundarios que se producen durante la vida del moho (fase de crecimiento y la fase estacionaria) como mecanismo de defensa frente a otros organismos competidores. Estas toxinas, originan efectos nocivos sobre la salud del hombre y sobre una gran variedad de especies animales (Soriano, 2007; Ramos, 2011). Las especies de mohos más comúnmente asociadas a la producción de micotoxinas son *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Alternaria* (Tabla 3.1.) (Zinedine et al., 2019) mientras que los principales mohos que son causantes de podredumbre se encuentran los géneros *Botrytis*, *Monilia*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Penicillium* y *Alternaria* (Figura 3.1. y 3.2.).

Trigos et al., (2008) analizaron durante un año frutas y hortalizas en la ciudad de México, con el propósito de determinar los hongos fitopatógenos que se desarrollaban y su relación con las micotoxinas. En el estudio, se obtuvieron un total de 27 especies fúngicas pertenecientes a 18 géneros, de las cuales se evidenció el 60,9% de dichas especies eran productoras de micotoxinas.

En otros estudios como por ejemplo el titulado “Identification and etiology of visible quiescent Infections of *Monilia fructicola* and *Botrytis cinerea* in sweet cherry fruit” realizado por Adaskaveg et al. (2000) se comprobó que la podredumbre parda y el moho gris de la cereza pertenecían a los géneros *Monilia fructicola* y *Botrytis cinerea*. En otra investigación llevada a cabo por Thomidis & Exadaktylou en el 2013 (Thomidis & Exadaktylou, 2013), se observó que las cerezas que presentaban grietas en su superficie tenían más posibilidades de que se desarrollaran el moho del género *Alternaria* spp. Además, se demostró que el género *Monilia* era el principal patógeno que descomponía al fruto tras la recolección.

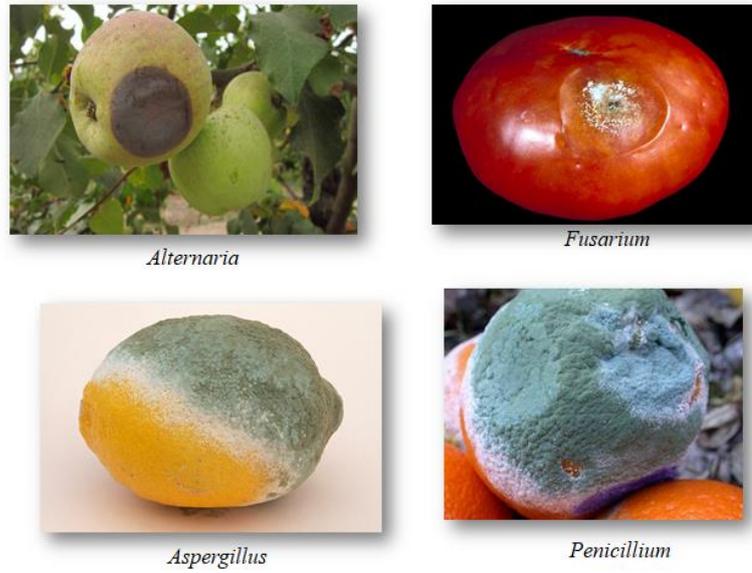


Figura 3.1. Frutas contaminadas por diversos patógenos productores de micotoxinas.

Fuente: Elaboración propia (2019).

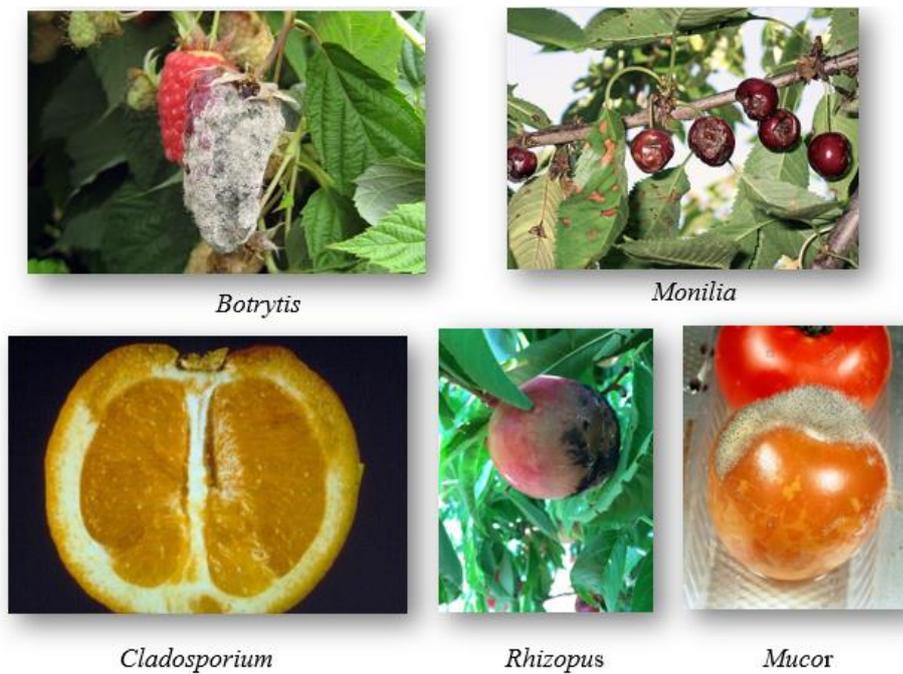


Figura 3.2. Frutas contaminadas con mohos alterantes causantes de podredumbre.

Fuente: Elaboración propia (2019).

### **3.1. PRINCIPALES GÉNEROS MOHOS CAUSANTES DE MICOTOXINAS Y DE PODREDUMBRE EN PRODUCTOS DE ORIGEN VEGETAL**

#### ***3.1.1. Aspergillus***

El género *Aspergillus* está formado por alrededor de 184 especies de las cuales 40 son responsables de infecciones humanas (Figura 3.3.) (Pontón et al., 2002). Estos mohos filamentosos son capaces de producir diferentes tipos de micotoxinas si las condiciones ambientales y nutricionales son adecuadas. Siendo las más importantes las aflatoxinas, ocratoxinas (especialmente la ocratoxina A) y patulina (Abarca et al., 2000). Aunque algunas de ellas también son producidas por cepas de moho pertenecientes al género *Penicillium* como se comentará posteriormente.

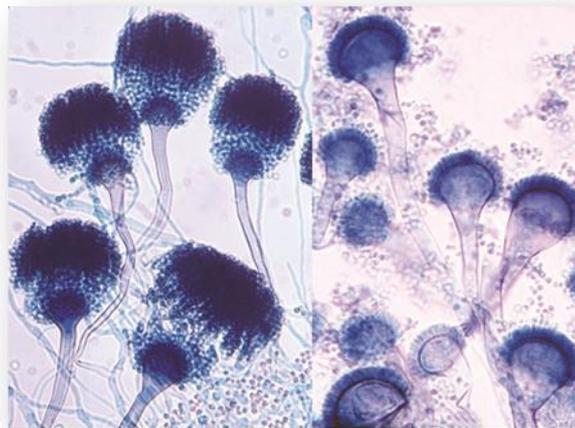


Figura 3.3. Esporas del género *Aspergillus* vistas al microscopio.

Fuente: <https://mycology.adelaide.edu.au/> (2019)

#### ***3.1.1.1. Aflatoxinas***

Hasta el momento se han identificado 18 tipos de aflatoxinas, sin embargo, seis son las más habituales en alimentos: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> y M<sub>2</sub> (Bogantes-Ledezma et al., 2004). Estas toxinas pueden ocasionar enfermedades como dolor abdominal, edema pulmonar, convulsiones, vómitos y muerte (Reglamento 1881/2006, de 19 de diciembre de 2006)

(Duarte-Vogel & Villamil-Jiménez 2006). La Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) ha clasificado a la aflatoxina B<sub>1</sub> (Figura 3.4) como la de mayor importancia dentro la salud pública. Esta toxina pertenece a la categoría de sustancias del tipo 1 por su carácter carcinogénico para el hombre (IARC, 1993; 2002). En el caso de las aflatoxinas G<sub>2</sub> y B<sub>2</sub> estas han sido estudiadas sólo en animales, la aflatoxina G<sub>2</sub> no dio resultados concluyentes mientras que las pruebas de la aflatoxina B<sub>2</sub> dieron resultados positivos por lo que esta micotoxina fue clasificada como cancerígena. Por otro lado, la IARC clasificó también a la aflatoxina M<sub>1</sub> en la categoría 2B que corresponde a un agente posiblemente carcinogénico para el hombre basándose en estudios de experimentación realizados con animales (IARC 2015; Rodríguez, 2011). Los límites máximos permitidos de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub> en alimentos para consumo humano de 10 µg/kg para la suma de dichas aflatoxinas y de 5 µg/kg para la aflatoxina B<sub>1</sub>.

Las aflatoxinas (Figura 3.1.) (Tabla 3.1.), se encuentran en las plantas oleaginosas (girasol, soja, otros aceites vegetales, etc.), cereales (maíz, avena, arroz, cebada, etc.) y otros alimentos (vino, frutos secos, higos, otras frutas desecadas, especias, cacahuetes, habas de cacao, etc.). Para que el hongo produzca estas micotoxinas es necesario que se den las siguientes condiciones: temperaturas entre 20-25° C, pH de entre 4-8 y humedad relativa (HR) de 80-90% (Rojas & Elena 2019) por lo que durante el periodo de postcosecha de la fruta y la verdura será necesario controlar estas condiciones de temperatura, pH y humedad relativa para evitar la producción de estas micotoxinas por parte de cepas de *Aspergillus* toxigénicas.

Tabla 3.1 Principales tipos de micotoxinas, hongo productor y alimentos afectados.

MICOTOXINA	TOXINAS	LIMITES	ALIMENTOS	ENFERMEDADES	ESPECIE DE MOHO		
Aflatoxinas	B1, B2, G1, G2, M1 y M2	BMDL 10 de 870 ng/kg por peso corporal y día	cereales, plantas oleaginosas, especias, higos, vinos y pasas, etc.	cáncer, vómitos, convulsiones, coma, muerte, etc.	<i>Aspergillus</i>	<i>flavus</i>	
Ocratoxinas	A, B, C $\alpha$ y $\beta$	TWI 120ng/kg de peso corpora	cereales, legumbres, café, cacao, frutos secos, pasas, zumo, etc.	efecto nefrotóxico, inmunosupresora, carcinógena, neurotóxica, etc.		<i>Penicillium</i>	<i>parasiticus</i>
Deoxinivalenol		TDI 1 $\mu$ g/kg pc por peso corporal y día	cebada, trigo, maíz, etc.	dolor abdominal, náuseas, vómitos, diarrea, sangre en las heces, etc.			<i>nomius</i>
Zearalenona		250 ng/kg peso corporal	maíz, cebada, soja, semilla de sésamo, heno, ensilados, etc.	efectos estrogénicos, la fertilidad, etc.		<i>ochraceus</i>	
Fumonisinias	A, B, C, P y H	TDI de 2 $\mu$ g/kg pc por peso corporal y día	maíz, como los cereales del desayuno, aperitivos, tortas, etc	cáncer de esófago, defectos del tubo neuronal, etc.	<i>Fusarium</i>	<i>verrucosum</i>	
Tricotecenos	T-2 y HT-2	TDI de 0,06 $\mu$ g/kg pc de peso corporal por día	cereales, pasta, aperitivos, cereales de desayuno, etc.	T-2 inhibe la síntesis de ADN, ARN y proteínas		<i>viridicatum</i>	
Patulina		PMTDI de 0,4 $\mu$ g/kg pc de peso corporal	Zumo, manzana, etc.	afecta al sistema digestivo, renal, nervioso, etc.		<i>graminerarum</i>	
Ácido tetuazónico	AOH, AME, TA, ATX-I, ALT y RTE		sorgo, cebada, pipas de girasol, frutas, vegetales, etc.	cáncer, onicomicosis, sinusitis, queratitis, osteomielitis, etc.	<i>Alternaria</i>	<i>culmorum</i>	
Conceptos: BMDL: nivel diario de exposición oral o dérmica, TWI: ingesta semanal tolerable,						<i>graminerarum</i>	
PMTDI: Ingesta diaria máxima tolerable provisional y TDI: ingesta diaria tolerable						<i>culmorum</i>	
						<i>verticillioides</i>	
						<i>proliferatum</i>	
						<i>sporotrichoides</i>	
						<i>clavatus</i>	
						<i>expansum</i>	
						<i>patulum</i>	
						<i>lycopersici</i>	
						<i>solani</i>	
						<i>alternata</i>	
						<i>tenuissima</i>	
						<i>tenuissima</i>	

Fuente: Elaboración propia (2019).

Por este motivo, el Codex Alimentarius, ha creado una serie de recomendaciones para minimizar la contaminación de aflatoxinas en determinados alimentos:

1. Código de prácticas para la prevención y reducción de la contaminación del maní (cacahuets) por aflatoxinas (CAC/RCP 55-2004).
2. Código de prácticas para la prevención y reducción de la contaminación de las nueces de árbol por aflatoxinas (CAC/RCP 59-2005).
3. Código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación por Aflatoxinas en los higos secos (CAC/RCP 65-2008).

A nivel europeo, también existe normativa para el control y detención de las aflatoxinas:

1. El Reglamento (UE) 1058/2012 de la Comisión de 12 de noviembre por el que se modifica el Reglamento 1881/2006, en lo que respecta al contenido máximo de aflatoxinas en los higos secos.
2. El Reglamento 401/2006, de 23 de febrero de 2006, de la Comisión, en el que establece los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimentarios.
3. “Guía para las autoridades competentes para el control del cumplimiento de la legislación UE de aflatoxinas en alimentos” que sirve de apoyo para la aplicación de los límites máximos de seguridad y el muestreo de aflatoxinas.

A pesar de que las aflatoxinas son peligrosas y se encuentran en una gran diversidad de alimentos, en el 2019, Freitas (Freitas, 2019) demostró que la fruta deshidratada no presentaba niveles detectables de aflatoxinas después de analizar 376 muestras de las cuales, 249 fueron pasas, 96 ciruelas, 28 albaricoques y 3 higos. En este sentido, Pereira et al. (2019) analizaron 10 muestras de maíz crudo concluyendo que las muestras analizadas en su estudio tampoco presentaban niveles aflatoxinas por encima de 10 ppb. Sin embargo, se detectaron mohos potencialmente toxigénicos de los géneros *Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.* En otra investigación en la cual, se analizaron 45 muestras de café procedentes de 10 municipios, en Brasil se observaron que el 95% de las muestras estaban contaminadas con cepas procedentes del género *Aspergillus* (Batista et

al., 2001). De igual modo, Bolet et al., 2005 fueron capaces de detectar la presencia aflatoxinas en frutas deshidratadas en su estudio “Micotoxinas y cáncer”.

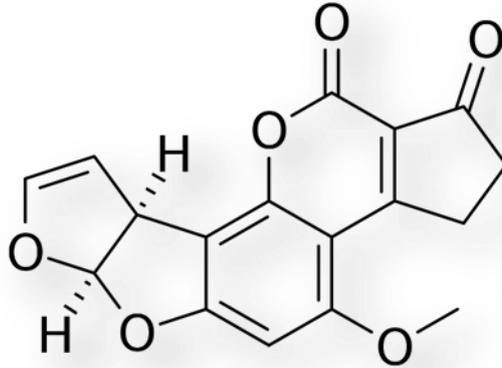


Figura 3.4. Estructura química general de las aflatoxinas B<sub>1</sub>

Fuente: <https://www.researchgate.net/> (2019)

### 3.1.1.2. Ocratoxinas

Las ocratoxinas (Tabla 3.1.), son un grupo de micotoxinas que se componen de distintas toxinas A, B, C,  $\alpha$  y  $\beta$ . La ocratoxina A (Figura 3.5.) es la toxina más importante y es producida principalmente por mohos de la especie *Aspergillus ochraceus* en alimentos de origen vegetal, siendo una especie que se crece entre 12-37°C (López de Certain et al., 2000). La ocratoxina A, también es producida por el género *Penicillium*, dentro de este género esta micotoxina es principalmente producida por *Penicillium verrucosum* en alimentos de origen vegetal, como los cereales (Lund & Frisvad 2003). Esta especie de moho se desarrolla bien a temperaturas comprendidas entre 4 y 31°C. Estos metabolitos fúngicos, están presentes en una gran variedad de alimentos tales como cereales, granos de café, cacao, especias, frutos secos, vino, cerveza, zumo de uva y en productos de origen animal (Munuera 2018; Torres & Silvia 2019). La IARC clasificó la ocratoxina A como posible carcinógeno en humanos dentro de la categoría 2B debido a sus propiedades nefrotóxicas, neurotóxicas, inmunosupresora, genotóxicas, carcinógena y teratogénica (Rabelo et al., 2011; Abruñhosa et al., 2012).

Para prevenir la contaminación de los alimentos con esta micotoxina se han desarrollado distintas recomendaciones:

A nivel europeo, podemos destacar el Reglamento (UE) 2015/1137 de la Comisión, de 13 de julio de 2015, que modifica el Reglamento (CE) n° 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de ocratoxina A en las especias *Capsicum* spp. cuyo nivel máximo es 20 µg/kg.

Y a nivel internacional podemos destacar las recomendaciones desarrolladas por el Codex Alimentarius:

1. Código de prácticas para la prevención y reducción de la contaminación por ocratoxina A en el vino (CAC/RCP 63-2007)
2. Código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación de ocratoxina A en el café (CAC/RCP 69-2009)
3. Código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación del cacao por ocratoxina A (CAC/RCP 72-2013).

En la investigación, “Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero de granos de café verde en el Estado de Nayarit (México)” realizado por Lourdes & Ramos en el año 2001, se comprobó que el 67% de las muestras de café verde tenían un promedio de 30,1 µg/kg de ocratoxina A. Del mismo modo, Regla en el 2003, determinó la presencia de ocratoxinas pero esta vez, en cereales y en productos derivados.

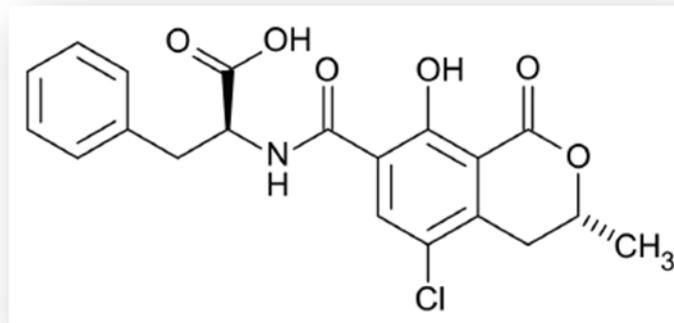


Figura 3.5. Estructura química de la ocratoxina A

Fuente: <https://www.sabermas.umich.mx/> (2019)

### **3.1.1.3. Patulina**

La patulina (Tabla 3.1.) (Figura 3.6.), es una micotoxina producida por varios géneros y especies de mohos (*Penicillium*, *Aspergillus* y *Paecilomyces*), siendo los principales productores del género *Aspergillus*, *A. clavatus* y *A. terreus*, mientras que *Penicillium expansum* es el principal productor del género *Penicillium*. La producción de patulina depende de diversos factores como la proporción de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> en el aire, y la temperatura del ambiente. Las condiciones óptimas del crecimiento son: temperatura entre 17-25°C y pH igual 6. Sin embargo, para que su producción sea inhibida en el alimento, éste se debe someter a una atmósfera modificada con una proporción de CO<sub>2</sub> del 3%, O<sub>2</sub> del 2% a 25°C (Falleiros de Pádua et al., 2005; Batista et al., 2011). Además, existen otras medidas preventivas para evitar la aparición de esta micotoxina como: consumir la fruta antes de 24 horas tras la cosecha o que la fruta se refrigere a menos de 2 °C; seleccionar frutas para evitar que presenten lesiones mayores a 10 cm<sup>2</sup> (no se recomienda retirar las partes afectadas porque no se elimina completamente la presencia de la patulina de la fruta ya que ésta se puede difundir hacia el interior del alimentos en un tejido aparentemente sano (Soriano 2007), y realizar análisis mensuales de la fruta y verdura.

Este metabolito secundario, se encuentra principalmente en manzanas y en peras, aunque también, pueden aparecer en otras frutas y verduras. En la investigación de Soriano et al., (2002) se estudió la frecuencia de hongos productores de micotoxinas en 17 mercados de Lima (Perú). Los resultados del estudio mostraron que de las 36 muestras analizadas, 3 de ellas eran positivas en patulina.

Para que esta toxina aparezca en la fruta es fundamental que el moho se haya desarrollado en ella, aunque su presencia no significa que exista este metabolito. El moho, se puede desarrollar por diferentes causas en el alimento: heridas tras el almacenamiento, insectos que puedan afectar al alimento, ambientes muy húmedos, etc.

Para gestionar el riesgo de la patulina se dispone de la siguiente legislación:

A nivel europeo: (CE) 1881/2006 de la Comisión de 19 de diciembre de 2006 donde se regula los límites máximos de patulina en los alimentos (zumos de manzana y otros productos). Asimismo, existe un código de prácticas de higiene que ayuda a prevenir y reducir la contaminación por patulina de los ingredientes de zumo de manzana del zumo y de otras

bebidas, recogido en la Recomendación 2003/598/CE de la Comisión. Ingesta diaria máxima tolerable provisional de 0,4 µg/kg de peso corporal.

A nivel internacional tenemos la normativa desarrollada por el Codex Alimentarius en el que encontramos el código de prácticas de higiene que ayuda a para prevenir y reducir la contaminación de patulina en zumo de manzana y derivados.

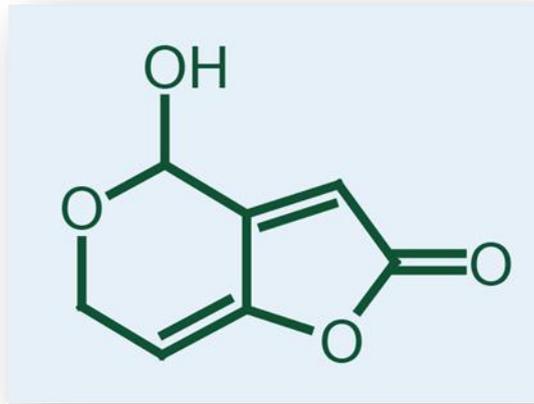


Figura 3.6. Estructura química de la patulina

Fuente: <https://www.romerlabs.com/> (2019)

### **3.1.2. *Penicillium expansum***

El género *Penicillium*, es un hongo filamentoso, que posee una gran variedad de especies (más de 300) de entre las que podemos destacar *P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. janthinellum*, *P. marneffei* y *P. purpurogenum* (Visagie et al., 2014). Este género de moho, es muy ubicuo pudiéndose encontrar en el suelo, en el aire y las plantas. Las especies de *Penicillium* (Figura 3.7.) están formadas por hifas septadas hialinas, con conidióforos simples o ramificadas, métulas, fialides y conidia.

Muchas especies de este género, al igual que las especies del género *Aspergillus*, son productoras de micotoxinas como la ocratoxina A y patulina, tal y como se ha comentado anteriormente. Las características de ambas micotoxinas se han descrito en el apartado 3.1.1.



Figura 3.7. Conidióforo simple de *P. cheresanum* que muestra largas cadenas de filiconidios unicelulares y conidióforos (derecha) de *P. verrucosum* var. *ciclopio* que muestra ramificación en dos etapas.

Fuente: <https://mycology.adelaide.edu.au/> (2019)

### **3.1.3. *Fusarium***

El género *Fusarium* (Figura 3.8.) se compone de 33 especies y 14 variedades (Joffe et al., 1974). Los hongos pertenecientes a este género, afectan a una gran variedad de cultivos cereales, guisantes, patatas y tomates (Booth et al., 1971). Las principales toxinas producidas por *Fusarium* son fumonisinas, deoxinivalenol, tricotecenos y zearalenona, estas micotoxinas ayudan a matar las células huéspedes e inducir la necrosis tisular (Petrasch et al., 2019).

Peruzzo et al., (2016), llevaron a cabo una investigación en donde se evaluó la presencia de las micotoxinas en 26 muestras de harinas de soja y de trigo. Estas muestras estaban expuestas a la infección de *Fusarium graminearum* detectándose la presencia de dos micotoxinas (deoxinivalenol y zearalenone) mediante el kit ELISA. En otro estudio, realizado por Alvarenga et al., (2012) se observó que de las especies aisladas de maíz el 76,99% pertenecían al género *Fusarium*. Por otro lado, Kristensen et al., (2007), realizaron un estudio utilizando microarrays de ADN para la identificación de 14 especies del género *Fusarium* productoras de *tricotecenos* y *moniliformina*. Las sondas de captura se diseñaron sobre la base

de análisis filogenéticos recientes de secuencias de alargamiento de la traducción factor-1 (TEF).



Figura 3.8. *Fusarium oxysporum*

Fuente: <https://candidiasisweb.com/> (2019)

### **3.1.3.1. Fumonisin**

Las fumonisinas (Figura 3.9.) (Tabla 3.1.), son unas micotoxinas que son producidas por los mohos de los género *Fusarium*, principalmente por *F. moniliforme* y *F. proliferatum* *F. verticillioides*, *F. proliferatum* y *F. nygamai*, y también por *Alternaria alternata* (Dilkin et al., 2004; Rodríguez 2011). Estas toxinas se dividen en cinco grupos A, B, C, P y H, dentro de ellas la toxina B es la que se considera la más tóxica (Requena, et al., 2005). Estos metabolitos secundarios han sido clasificados por la IARC dentro de la categoría 2B ya que están relacionados con distintas enfermedades en el hombre como: cáncer de esófago y hígado y defectos neuronales (IARC, 1993; Rodríguez 2011). Los principales alimentos de consumo humano y animal asociados a la presencia de fumonisina B<sub>1</sub>.

Para que el moho produzca estas toxinas es necesario que haya humedad en el ambiente, altas temperaturas y disponibilidad de sustratos (Soriano 2007). En los ensayos llevados a cabo por diferentes cepas del género *Fursarium* (*F. moliniforme* y *F. proliferatum*)



Además, de estas medidas preventivas también existen medidas que sirven para la detoxificación de este hongo en las que podemos destacar medidas físicas, químicas y biológicas. A continuación, se detalla brevemente estos métodos:

Método físico: consiste en hacer una preselección, y una eliminación de los granos de menor tamaño antes del procesado para evitar que se desarrolle el moho (Soriano 2007), también hay que tener en cuenta que es necesario secar antes el grano del almacenamiento, para evitar la humedad y con ello el desarrollo del moho (Sanchis et al., 2000).

Método químico: para reducir la presencia de fumonisinas de manera efectiva se suele hacer una combinación de nixtamalización y calentamiento a alta temperaturas. Además, el uso de azúcares como la fructosa y la glucosa en caliente durante 48 horas puede ayudar a reducir hasta en un 95% este metabolito secundario (Soriano 2007).

Método biológico: el uso de aceites y de las levaduras *Exophiala spinifera* puede ser efectivo para la reducción de micotoxinas en los alimentos (Soriano 2007).

### **3.1.3.2. Deoxinivalenol**

La toxina deoxinivalenol (Tabla 3.1.) (Figura 3.10.) es producida generalmente por *F. graminearum* (Velluti 2002) y suele aparecer en el trigo, la soja, el maíz y otros cereales. Esta micotoxina es menos tóxica que los tricotecenos (clasificada como grupo 3 por IARC), pero se encuentra de forma más frecuente por todo el mundo (Barros et al., 2008). Como en los anteriores casos la producción de este metabolito fúngico se genera por las condiciones climáticas y por el manejo inadecuado de las distintas prácticas agrarias (Velluti 2002). Hernández et al., 2016 realizaron un estudio de los parámetros que afectan al contenido de deoxinivalenol en cereales o alimentos a base de cereales obtenidos en comercios de Valencia (España). Para ello se analizaron 182 muestras de arroz, maíz, avena, trigo, espelta, soja y tapioca en cada uno de estos cultivos se examinó la presencia de deoxinivalenol y se realizó un estudio estadístico. De todas las muestras, 111 muestras estaban contaminadas con esta micotoxinas, pero en concentraciones establecidas como límites máximos por la legislación. Las muestras siguieron este orden de contaminación trigo > maíz > arroz.

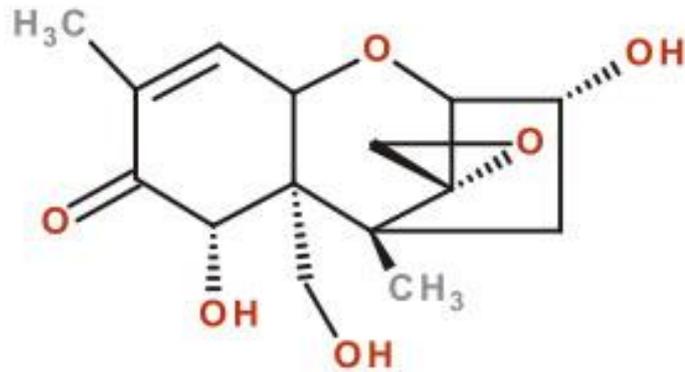


Figura 3.10. Estructura química del deoxinivalenol

Fuente: <https://bmeditores.mx/> (2019)

### 3.1.3.3. Tricotecenos

Otro grupo de micotoxinas son los tricotecenos. Dentro de los tricotecenos del tipo A existen dos tipos de micotoxinas: T-2 (Figura 3.11.) y HT-2 y pertenecen al grupo de los sesquiterpenos (Trombete et al., 2013). La Comisión Técnica Científica de Contaminantes de la Cadena Alimentaria (CONTAM) estableció una ingesta diaria tolerable de ambas toxinas (TDI) de 0,06  $\mu\text{g}/\text{kg}$  pc de peso corporal por día. Estos metabolitos fúngicos pueden ser producidos por diferentes géneros fúngicos como *Fusarium*, *Stachybotris*, *Trichothecium*, *Trichoderma*, y *Myrothecium*, siendo, *Fusarium* el principal mohos que infecta a los alimentos con dichas micotoxinas (Baraj et al., 2000) entre los que se destacan trigo, maíz, avena, cebada, soja, frijoles, así como productos hechos a base de cereales.

La toxina T-2 se metaboliza por la flora intestinal mientras que la toxina HT-2 se absorbe en la sangre después de la ingestión de la toxina T-2.

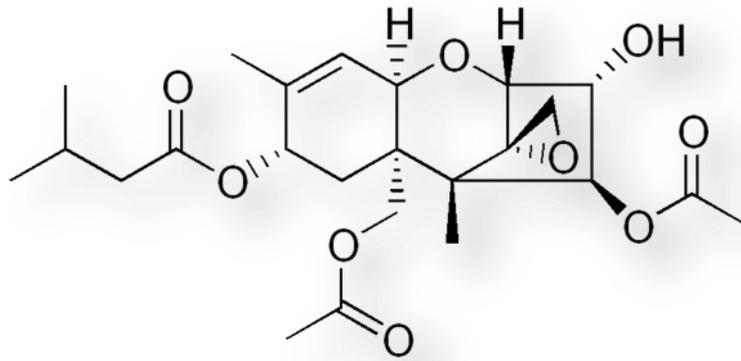


Figura 3.11. Tricoteceno T-2

Fuente: <https://www.researchgate.net/> (2019)

Saubois, et al., (2019) investigaron la interacción de distintos factores sobre la biosíntesis de tricotecenos por cepas de *Fusarium*. Para ello se estudió la influencia del medio de cultivo, la temperatura, el tiempo y la cepa sobre la biosíntesis de tricotecenos en 5 cepas de *Fusarium* toxicogénicas. En este estudio se llegó a la conclusión de que existe un 99% de probabilidad de que el medio de cultivo, la temperatura, el tiempo y la cepa incidan en la biosíntesis de tricotecenos y en su toxicidad.

#### 3.1.3.4. Zearalenon

La zearalenona, es una micotoxina estrogénica producida por *Fusarium graminearum*. Esta toxina fúngica (Figura 3.12.; Tabla 3.1.) se encuentra en maíz, cebada, soja, semillas de sésamo, heno, ensilados, etc. Entre las posibles enfermedades que puede ocasionar su consumo se encuentran la baja fertilidad, aumento de mortalidad embrionaria, cambios en el peso de las glándulas adrenales, tiroides y glándulas pituitarias, además de cambios en los niveles séricos de progesterona y estradiol (Olvera et al., 2019).

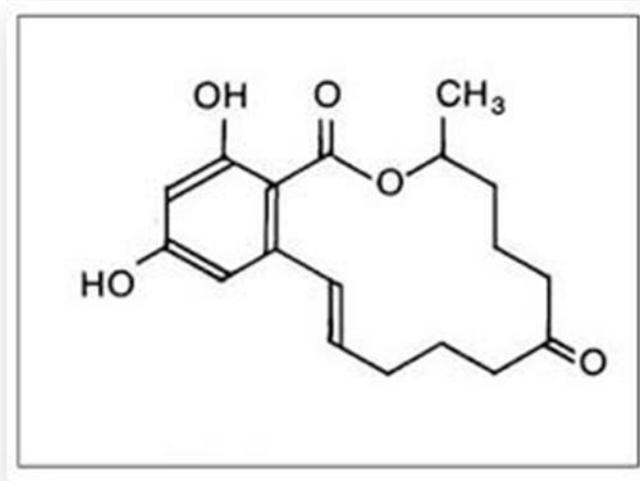


Figura 3.12. Estructura química de la zearalenona

Fuente: <https://web.uchile.cl/> (2019)

### 3.1.4. *Botrytis*

*Botrytis*, es un hongo fitopatógeno que produce un abundante micelio gris y que está formado por diversos conidióforos largos y ramificados, además sus células apicales producen racimos de conidias ovoides (se asemejan a un racimo de uvas) (Horacio, 2012). Este hongo, puede producir enfermedades de podredumbre tanto en la planta como en la fruta y se puede extender por la fruta cercana. Los frutos más susceptibles a esta enfermedad son los frutos maduros ya que *Botrytis* (Figura 3.13.; Tabla 3.1.) produce toxinas y tiene factores de virulencia que producen una rápida muerte y descomposición de los tejidos de las plantas (Petrasch et al., 2019). Cuando la fruta está en la etapa de postcosecha, *Botrytis* puede adquirir un color más blanco debido a la ausencia de luz que hay durante la refrigeración (Steven & Mark 2016). Los primeros síntomas de esta enfermedad son el pardeamiento, la textura blanda y acuosa, mientras que a medida que la enfermedad va a avanzado aparece un micelio gris que envuelve a toda la zona afectada y se puede difundir hacia el interior del fruto (Sylvana, 2017). Las condiciones ambientales óptimas para la proliferación del hongo son temperaturas superiores a 18°C y condiciones de humedades relativas superiores 80% (Turechek et al., 2006).



Figura 3.13. Hongo *Botrytis cinerea*

Fuente: <https://www.alchimiaweb.com/> (2019)

Por otro lado, las especies del género *Botrytis* pueden ser introducidas en la planta por diferentes medios:

1. Los trasplantes de vivero pueden venir contaminados. (Alejandre, 2017)
2. Las estructuras del moho pueden sobrevivir en el suelo o en los restos de plantas no recogidas del campo. (Alejandre, 2017)
3. *Botrytis* produce esporas y éstas pueden infectar los cultivos adyacentes de frutas y verduras. (Alejandre, 2017)

Acosta et al., (2019) en su investigación tomaron muestras de distintos racimos de uva en los viñedos de Castilla y León (España), de ellos consiguieron aislar distintas especies del género *Botrytis* (*Botrytis cinérea*, *Botrytis pseudocinerea* y *Botrytis prunorum*). La conclusión que obtuvieron del estudio fue que la infección en los racimos de uvas se da por diferentes genotipos de *Botrytis*, no sólo por uno.

Otros autores, también han realizado estudios sobre el género *Botrytis* y su efecto en los alimentos; Tarkowski et al., (2019) observaron que la inulina aumentaba la resistencia de la lechuga (*Lactuca sativa*) contra el moho gris (*Botrytis cinérea*) de una manera dependiente

del etileno. Por otro lado, Zhang et al., (2019) analizaron la actividad antifúngica de timol y carvacrol contra los patógenos postcosecha *Botrytis cinerea*.

### **3.1.5. *Monilia***

Los mohos pertenecientes al género *Monilia* (Figura 3.2.), (Figura 3.14.), (Tabla 3.2.), la familia *Sclerotiniaceae*, pueden provocar enfermedades durante la etapa de precosecha en los brotes, flores de la planta (marchitándolas) y en frutos jóvenes, provocado la caída o permaneciendo latente hasta que el fruto madura, además también puede provocar enfermedades postcosecha en la fruta de hueso (principalmente en variedades tardías como el melocotonero y nectarino y otros frutales de hueso como: albaricoquero, almendro, cerezo, ciruelo) generando podredumbre marrón (Gell, 2007; Rubén, 2016b). Durante etapa de la postcosecha la enfermedad puede llegar a generar pérdidas de entre 10 y 30% y en casos extremos se puede llegar a perder hasta el 80% de la producción. La infección de la fruta se inicia cuando las conidias germinan en la superficie de la fruta dando lugar a tubos germinativos que luego se difunden por el fruto. La fruta madura es más susceptible a este tipo de enfermedad, no obstante, no se conoce bien la relación que hay entre los procesos de infección, la madurez de la fruta y las condiciones ambientales (García, 2017).

Yin et al., (2019) realizaron una investigación en donde estudiaron la sensibilidad de los mohos pertenecientes al género *Monilia* frente a productos fitosanitarios. Los resultados mostraron que la concentración del micelio de *Monilia* se reducía al 50% con los siguientes productos fitosanitarios: carbendazim, tebuconazol, azoxistrobina y boscalid.



Figura 3.14. Esporas de *Monilia*.

Fuente: <http://www.interempresas.net/> (2019)

### **3.1.6. *Cladosporium***

Las colonias de los mohos pertenecientes al género *Cladosporium*, son de color verde oliva o marrón oliváceo y están formadas por conidióforos de forma cilíndrica y por conidios de cadena corta de color oscuro, elipsoidales. Las esporas de *Cladosporium* pueden encontrarse en el aire, en suelo y en el agua, también tienen la capacidad de provocar enfermedades sobre girasol, maíz, sorgo, y productos almacenados (Tabla 3.2.) (Rubén, 2016a). Recientemente, se ha descubierto una nueva especie de *Cladosporium*, *Cladosporium omanense* cuyas características incluyen un rápido crecimiento, conidióforos macronematosos y micronematosos más largos, conidios de paredes engrosadas con ornamentaciones superficiales de encogimiento notoriamente protuberantes (Halo et al., 2019).

Grinn-Gofroń et al. (2019) realizaron un estudio en donde el objetivo principal era la descripción de los principales factores meteorológicos que influyen en las concentraciones de esporas de hongos pertenecen a los géneros *Cladosporium* y *Alternaria*. Las muestras se tomaron en 18 sitios distintos de Europa. En la investigación, se utilizó un modelo aleatorio para predecir las concentraciones de esporas. La generalización de los modelos *Alternaria* y *Cladosporium* se probó utilizando un modelo para todos los sitios, los modelos para grupos de sitios y modelos para sitios individuales. Por último, el estudio reveló que la posibilidad de una predicción confiable de los niveles de esporas de hongos utilizando datos meteorológicos

reticulados siendo la temperatura y la presión de vapor las variables más importantes en los modelos de regresión y clasificación de las esporas de *Alternaria* y *Cladosporium* (Figura 3.15.).

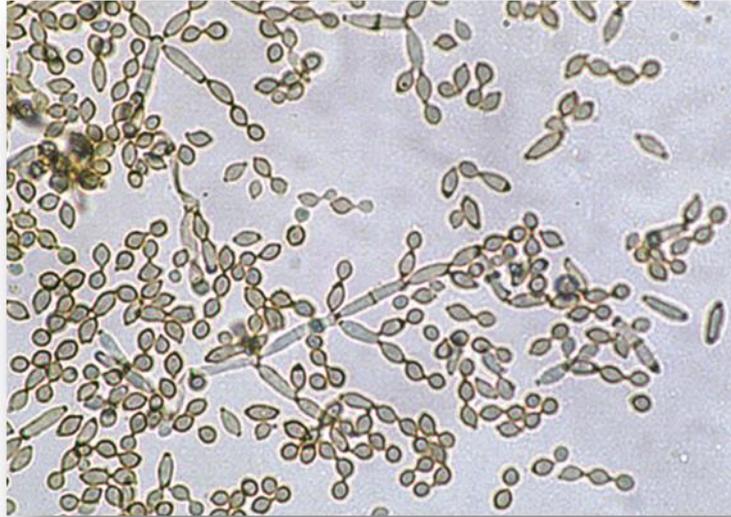


Figura 3.15. Conidióforos y conidios de *Cladosporium cladosporioides*

Fuente: <https://mycology.adelaide.edu.au/> (2019)

### **3.1.7. *Rhizopus***

*Rhizopus* (Figura 3.16.) (Tabla 3.2.) es un género de moho ubicuo. Estos hongos filamentosos se hallan en el suelo, en los residuos, en los frutos, en los vegetales, en el pan, en alimentos húmedos y en alimentos ricos en hidratos de carbono. Este moho, puede reproducirse de forma asexual o sexual provocando una pudrición blanda sobre los tejidos donde se desarrolla. En septiembre del año 2016, se produjo un brote de este moho en el condado de Guyuan. Los tubérculos enfermos presentaban lesiones blandas empapadas de agua y en el interior puntos negros. Los investigadores, extrajeron trozos pequeños del tejido descompuesto interno y lo cultivaron en agar patata dextrosa (PDA) a 28 ° C durante 3 días. Crecieron rápidamente quince colonias blancas en PDA; que posteriormente su micelio paso a tener un color gris pardo y luego un color gris negruzco. Para probar si habían aislado el organismo causante de la enfermedad, inocularon los tubérculos sanos con el aislado

mediante el uso de un método de inoculación de heridas y observaron el desarrollo de la enfermedad. El resultado del estudio fue que los tubérculos inoculados presentaron una descomposición extensa y desprendieron un olor fétido (Cui et al., 2019).

Una de las especies de este género, *Rhizopus stolonifer* es considerado uno de los patógenos de postcosecha más destructivos debida a que tiene una velocidad de crecimiento extremadamente rápida (Petrasch et al., 2019).

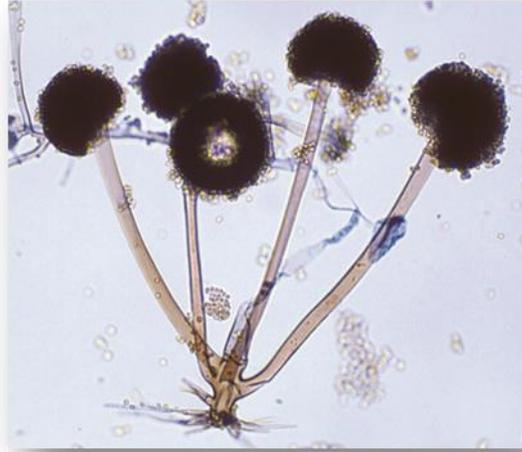


Figura 3.16. Esporangióforos, rizoides y esporangios de *Rhizopus arrhizus*

Fuente: <https://mycology.adelaide.edu.au/> (2019)

### **3.1.8. Mucor**

*Mucor* (Figura 3.17, Tabla 3.2., Tabla 3.3.) es un género de hongos de la familia *Mucoraceae*, que forman filamentos tubulares blancos y *esporangios* negros esféricos. Este moho puede crecer en la presencia o en la ausencia de oxígeno, cuando están en presencia de oxígeno, se propagan como hifas *coenocíticas* ramificadas y cuando están privados de oxígeno crecen como levaduras esféricas multipolares en ciernes (Orlowski, 1991). Este hongo se puede aislar de insectos, excrementos, suelo, vegetales, granos almacenados y frutas (Souza, 2015). Los mohos pertenecientes a este género pueden originar enfermedades como la zigomicosis cutánea en humanos, sin embargo, también existen varias especies de este género que son de gran interés para la industria, gracias a su capacidad de producir enzimas proteolíticas (Phookamsak et al., 2019). Una de las especies patógenas de este género es

*Mucor circinelloides*, cuyas condiciones idóneas para su crecimiento son temperatura de 25°C, un pH de 5,2 y el empleo de glucosa como sustrato (Andrade et al., 2002) (Tabla 3.2.). En la tabla 3.3. se puede observar las temperaturas máximas para el crecimiento de algunas especies del género *Mucor* y su patogenicidad.



Figura 3.17. Esporangios, columelas y esporangiosporas de *Mucor spp.*

Fuente: <https://mycology.adelaide.edu.au/> (2019)

Tabla 3.2. Hongo productor y alimentos afectados

HONGOS	ALIMENTOS
<i>Botrytis</i>	uvas, fresas, etc.
<i>Monilia</i>	melocotonero, nectarino, albaricoquero, almendro, cerezo, ciruelo, etc.
<i>Cladosporium</i>	girasol, maíz, sorgo y productos almacenados.
<i>Rhizopus</i>	frutas, vegetales, pan, alimentos húmedos y en alimentos ricos en hidratos de carbono.
<i>Mucor</i>	pepinos, calabaza y judías verdes.
<i>Alternaria</i>	sorgo, cebada, pipas de girasol, frutas, vegetales, etc.
<i>Penicillium</i>	cereales, legumbres, café, cacao, frutos secos, pasas, zumo, etc.

Fuente: Elaboración propia (2019)

Tabla 3.3. Temperatura máxima para el crecimiento de las especies patógenas del género *Mucor*.

Especie	Temperatura máx (°C)	Patogenicidad
<i>M. amphibiorum</i>	36	Animales, principalmente anfibios.
<i>M. cirnelloides</i>	36	Animales y en ocasiones humanos
<i>M. hiemalis</i>	30	Infecciones cutáneas
<i>M. indicus</i>	42	Humanos y animales
<i>M. irregularis</i>	38	Humanos
<i>M. ramosissimus</i>	36	Humanos y animales

Fuente: <https://mycology.adelaide.edu.au/> (2019)

## **4. ALTERNARIA EN ALIMENTOS VEGETALES**

## 4. ALTERNARIA EN ALIMENTOS VEGETALES

El género *Alternaria* spp. (Figura 4.1.) fue descrito originalmente por Nees en 1816. En este momento, el género se compone de 275 especies de mohos (Woudenberg et al., 2013) y se caracterizan por la producción de conidióforos simples y erectos, en cuyo extremo se forman cadenas simples o ramificadas de conidios (Simmons, 2007). De esta forma *Alternaria* spp. se clasifica en dos grupos atendiendo a las características de los conidios:

**1. Conidios pequeños:** dentro de este grupo se incluyen las especies de *Alternaria* spp. que producen conidios ovoides, esféricos o elipsoides que se encuentran formando cadenas, solitarios o sin apéndices terminales. Por ejemplo *A. japonica*, *A. petro-selini*, *A. radicina*, *A. smyrnii*, *A. gaisen*, *A. longipes*, *A. mali* y *A. tenuissima* (Pavón, 2012).

**2. Conidios grandes:** en este grupo se encuentran las especies productoras de conidios alargados, solitarios y un apéndice terminal de tamaño heterogéneo que en ocasiones puede estar ramificado o puede ser filamentosos. Por ejemplo: *A. cucumerina*, *A. brassicae*, *A. dauci*, *A. limicola*, *A. macrospora*, *A. porri*, *A. solani* y *A. sonchi* (Pavón, 2012).

La mayoría de las especies de *Alternaria* son saprófitas y se encuentran en el suelo o descomponiendo tejidos de las plantas, además pueden llegar a producir más de 70 micotoxinas y entre ellas están: alternariol (AOH), alternariol monometil éter (AME), ácido tenuazónico (TeA), altertoxinas I (ATX-I), tentoxina (RTE), altenueno (ALT), etc. (EFSA, 2017). Las micotoxinas más comunes son AOH, AME y TeA ya que se encuentran generalmente en aceite de girasol, productos de tomate, semillas de girasol, frutas y derivados de fruta, incluyendo los zumos de fruta y en cerveza y vino (Janić et al., 2019). Dentro de estas toxinas podemos diferenciar entre toxinas genotóxicas (AOH, AME, etc.) y toxinas no genotóxicas (tentoxina, TeA, etc) (Akimitsu et al., 2014).

Las especies de *Alternaria* tienen la capacidad además de producir toxinas específicas. *Alternaria alternata*, es capaz de producir toxinas selectivas para los distintos huéspedes (HST). Hay que tener en cuenta que cada HST tiene un papel importante.



Figura 4.1. Conidias de *Alternaria alternata*, a veces en cadenas y mostrando conidióforos secundarios.

Fuente: <http://www.eliminalahumedad.com/> (2019)

## 4.1. FORMA DE CONTAMINACIÓN

Las micotoxinas fúngicas contaminan con frecuencia los productos agrícolas, lo que implica una preocupación toxicológica para los consumidores (Puntscher et al., 2019). Estos hongos toxigénicos pueden colonizar los cultivos en condiciones favorables. Los factores más importantes para que se desarrollen los mohos y den lugar a las micotoxinas son factores físicos como: son la humedad, el agua disponible en el alimento, la temperatura, la integridad física del tejido vegetal, y factores químicos que incluyen: la composición del sustrato, pH, minerales los nutrientes y la disponibilidad de oxígeno (Patriarca, & Pinto 2017).

Las colonias de *Alternaria spp.* presentan un color oscuro, además de presentar un borde de color gris y aspecto vellosos. Este hongo, se puede reproducir de forma asexual mediante la formación de los conidióforos simples, tabicados y de forma alargada ovoide los cuales llevan las esporas asexuales en el extremo. La célula apical del conidióforo, por gemación, hace que se generen nuevos conidios que ayudarán a formar las cadenas. Son estos conidios, los que están presentes en el aire y pueden desencadenar alergias (Sergio, 2018). Cuando la planta se infecta por la presencia de *Alternaria spp.*, aparecen unos puntos redondos de color marrón-negro sobre las hojas de la planta que irán avanzando desde la parte

inferior hasta la parte superior de la planta que poco a poco irá dando lugar a la necrosis de los tejidos (Perelló et al., 2008; Dorrego et al., 2019). La infección de los frutos se puede iniciar en el campo si el fruto presenta heridas producidas por granizo, rameo, escaldaduras, etc., aunque la enfermedad se desarrolla con mayor frecuencia durante la etapa de postcosecha de los frutos. Los frutos cuando están infectados presentan lesiones redondeadas de color pardo y ligeramente deprimidas, este tipo de lesiones se suelen localizar en la zona calicinal o peduncular. *Alternaria spp.*, se desarrolla rápidamente en ambientes cálidos a 22-28°C (temperatura óptima para la esporulación 25 °C) sin embargo, *Alternaria spp.* puede crecer en un rango de temperaturas muy amplio desde -3 hasta 35°C desarrollándose, también en ambientes húmedos (80% de HR), y con valores elevados de  $a_w$  (0,99). Cuando esto ocurre el fruto queda recubierto con un moho de color gris-negruczo y en la parte interior del mismo aparece una podredumbre de color gris oscuro (Magan & Lacey, 1984; Sommer, 1985; Perelló et al., 2008). Entre las enfermedades que puede provocar *Alternaria spp.* se pueden destacar la del tizón (Figura 4.2.) que consiste en la aparición manchas circulares de color marrón-negro sobre las hojas o sobre las vainas de la planta, provocando una pérdida de rendimiento del 32 al 57% de cultivo. (Thomma, 2003; Mamgain et al., 2014; Gonzalo, 2018). Por otro lado, *Alternaria citri*, puede llegar a producir podredumbre negra en los limones (Isshiki, et al., 2001).



Figura 4.2. Enfermedad del tizón

Fuente: <http://www.buddhagenetics.com> (2019)

## 4.2. FRUTA AFECTADA

Algunas de las especies de *Alternaria* spp. son patógenas para las plantas, aunque también este moho puede ocasionar daños y o alteraciones en la fruta durante la etapa de postcosecha. Por lo general, *Alternaria* puede ocasionar deterioros en cereales (trigo, sorgo y cebada), plantas ornamentales, cultivos oleaginosos, vegetales (coliflor, brócoli, zanahoria y patatas), frutas (manzana, tomate y cítricos), productos de panadería, vino, cerveza y productos infantiles. Asimismo, algunas de las especies de *Alternaria* (*A. alternata*, *A. tenuissima* y *A. arborescens*) son capaces descomponer pectina, azúcares y lignina de los alimentos, además de producir metabolitos secundarios (Thomma, 2003; Mamgain et al., 2014; Gonzalo, 2018). También, se sabe que *Alternaria* spp. es capaz de producir varios tipos de cáncer ya que las toxinas que producen pueden causar mutagenicidad celular y en combinación con el ADN del epitelio esofágico fetal humano y activar oncogenes, no sólo en los productos frescos sino que también están activas estas toxinas en algunos alimentos procesados (Moreno 2013; Kumar et al., 2017) por este motivo el consumo continuo de este tipo de alimentos contaminados por *Alternaria* y sus toxinas está produciendo cada vez una mayor preocupación en los consumidores (Janić et al., 2019).

### 4.2.1. Alteraciones en rosáceas

La familia de las rosáceas tiene un pericarpio carnoso y un endocarpio duro, al mismo tiempo, puede contener una única semilla en el caso de las drupas (albaricoques, melocotones, cerezas, etc.) o varias semillas pequeñas (pepitas) que es el caso de los pomos (manzanas y peras) (Figura 4.3.) (Alonso & Rivera 2002). *A. alternata* y *A. tenuissima* se caracterizan por producir podredumbre en las manzanas. La infección puede ocurrir antes o después de la recolección, dependiendo del crecimiento del moho en semilla del fruto (Niem et al., 2007). Las variedades de manzanas más susceptibles a daños por el sol son Granny Smith, Golden Delicious, Fuji y Braeburn, mientras que las peras son menos susceptibles a este tipo de daño. Cuando el deterioro del fruto ya es severo, las manchas empiezan a coger un color marrón oscuro o negro y favorece el ataque de patógeno *Alternaria* spp. (Calvo & Candan 2011). *Alternaria*, provoca la enfermedad del corazón mohoso en las manzanas que se caracteriza por el crecimiento del micelio dentro de los lóculos, con o sin penetración en el mesodermo del fruto los siendo los síntomas externos de frutos enfermos son difíciles de percibir (Over

2009). En este sentido Gur et al. (2018) realizaron un estudio en el que demostraron que la fenología de la pudrición de manzanas está relacionada con por el desarrollo del *Alternaria* spp. en estos frutos.



Figura 4.3. *Alternaria* spp. en manzana

Fuente: <https://www.agroberichtenbuitenland.nl/> (2019)

#### **4.2.2. Alteraciones en solanáceas**

Dentro de la familia solanáceas se encuentran los tomates y las patatas (Carrizo, 2003). Esta familia también se ve afectada por *Alternaria* spp., en concreto por *A. solani* que afecta a las hojas de la plantación provocando la enfermedad del tizón temprano (Fernández et al., 1996). Es una enfermedad de distribución mundial, sin embargo, suele tener más incidencia en las zonas que tiene una alta HR >84% y/o una HR mínima de 60%, altas temperaturas (24-29°C) y fuertes lluvias. Esta enfermedad, en casos severos puede llegar a provocar la defoliación completa de la plantación, además de producir lesiones en el tallo de la planta, provocando la pudrición del cuello del tomate (Figura 4.4.). Las medidas de control preventivas para el tizón temprano incluyen una rotación de cultivos de 3 a 5 años, aplicaciones rutinarias de fungicidas y el uso de trasplantes libres de enfermedades (Gómez et al., 1999; Chaerani & Voorrips 2006). González-Chávez et al., 2003 estudiaron el comportamiento varietal del tomate ante el tizón temprano en condiciones de campo, para ello evaluaron 38 cultivares de tomate, provenientes del Banco de Germoplasma del INIFAT. Para la clasificación de las variedades, se emplearon un Análisis de Conglomerados y un Análisis

Discriminante y se calculó la distancia generalizada de Mahalanobis para los cinco grupos formados y se construyeron las curvas del progreso de la enfermedad en función del tiempo. Esta investigación lo que posibilita es su utilización en futuros programas de mejoramiento. Por otro lado, en un trabajo llevado a cabo por Upadhyay et al., (2019) exploraron la diversidad genética y patógena de *A. solani* de los principales estados productores de tomate de la India. Para ello seleccionaron 33 cepas, las cuáles, mostraron una considerable variación intra e interestatal. La agresividad de las cepas hacia el genotipo susceptible del tomate se evaluó in vitro, utilizando el método de la hoja desprendida, en el cual se observó una considerable variabilidad en la virulencia de los aislados. El objetivo de este estudio consistía en, proporcionar una base para la planificación de estrategias de protección contra las enfermedades en una agricultura sostenible. En este sentido, encontramos el artículo científico de Rodríguez-Romero et al., (2019) cuyo objetivo principal era la búsqueda de estrategias control de *A. alternata* en tomates. Los resultados obtenidos en estudio mostraron que los extractos de *Pseudomonas fluorescens*, el quitosano y la mezcla de ambos agentes, inhibieron el crecimiento micelial y la germinación de conidios de *A. alternata* en pruebas in vitro. El efecto antifúngico de las mezclas de quitosano y extractos de *P. fluorescens*, fue mayor que la aplicación individual. Las pruebas en invernadero muestran que no hay diferencia significativa entre el uso de la mezcla de quitosano y extractos de *P. fluorescens* y el agroquímico comercial, por lo que la mezcla podría ser una estrategia para el control de hongos fitopatógenos en cultivos hortofrutícolas.



Figura 4.4. Presencia de *Alternaria* en tomate

Fuente: <http://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/9> (2019)

### **4.2.3. Alteraciones en cítricos**

*Alternaria* spp. pueden causar varias enfermedades en cítricos, entre las que se encuentra: la mancha de la hoja de limón áspero (Figura 4.5.), la mancha parda o marrón de mandarinas y la podredumbre negra postcosecha. En general, *Alternaria* spp. se reproduce rápidamente a altas temperaturas, pero la humedad en forma de rocío o lluvia parece ser necesaria para la infección en la mayoría de los casos. La mancha marrón de *Alternaria* spp. se produce en zonas de alta precipitación y en climas mediterráneos semiáridos. La mancha parda, puede afectar a los cultivos jóvenes o viejos ya que las toxinas de *Alternaria* spp. pueden transportarse a través del aire. Esta enfermedad, produce lesiones en las hojas y en los tallos de color marrón necróticos, además en las hojas aparecen manchas irregulares con halos amarillos que terminan llevando a la planta a la senescencia. Los frutos y hojas jóvenes contaminadas se caen con frecuencia del árbol no pudiendo comercializarse estos frutos debido a las lesiones provocadas por el moho. Para evitar la mancha marrón en cítricos es recomendable comprar la plantación en vivero, libre de la enfermedad, podar la falda de los árboles y evitar la sobre exposición de la plantación al nitrógeno. La podredumbre negra postcosecha está asociada a las heridas del fruto que producen endopoligalacturonasa esta enfermedad está asociada a la presencia de *A. Alternata*. La podredumbre negra puede aparecer en el campo antes de la cosecha por lo que la infección puede ocurrir a través de heridas o aberturas naturales en el fruto. *Alternaria* spp. también puede formar infecciones latentes en el cáliz e invadir la columela cuando el fruto madura, dando como resultado la podredumbre negra. Esta enfermedad se suele dar en las naranjas y en los cítricos almacenados (Timmer et al., 1998; Vicent et al., 2000; Timmer et al., 2003 y Peever et al., 2005).

Por este motivo es necesario el desarrollo de estrategias o métodos de control de *Alternaria* en estos frutos. En este sentido, Camarena (2012) evaluó la eficacia de 7 cepas fúngicas de los géneros *Trichoderma*, *Pochonia* y *Clonostachys*, como agente de control biológico de *A. alternata*. En el estudio se seleccionó la cepa, *Trichoderma R6*, por presentar un mayor control del fitopatógeno mediante las pruebas in vitro. La cepa seleccionada fue evaluada frente a *A. alternata* en plantas de cítricos de mandarina variedad *Fortune* en campo y se obtuvo un control de 58,33% del fitopatógeno. El efecto de esta cepa, además se comparó su eficacia con algunos fungicidas químicos, cuyos resultados fueron de 50,0% y 48,52%, respectivamente. En este sentido, el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional

Agraria de la Selva evaluó el efecto de la aplicación del propóleo de abeja y el fungicida Iprodione para el control de *A. alternata*, el cual provoca la mancha parda. En la prueba de determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de diferentes soluciones del extracto etanólico de propóleo (EEP) los tratamientos aplicados fueron los siguientes: T1 (EEP al 15%), T2 (EEP al 30%), T3 siembras duales de *Trichoderma harzianum* (Th), T4 fungicida Iprodione (Ip) T5 (testigo). Cada 15 días cuantificaron el número brotes sanos, enfermos y muertos, como también el número de hojas sanas y enfermas, llegándose a determinar que los tratamientos (T1, T2, T3, T4) no mostraron un control significativo. (Díaz & Adilson 2013).



Figura 4.5. Mancha de la hoja por el desarrollo de *Alternaria*.

Fuente: <http://www.garanfruit.com> (2019)

#### **4.2.4. Otros cultivos**

*Alternaria* spp. también se encuentra en otros frutales, aunque anteriormente no hayan sido nombrados por ejemplo en: mango, papaya, fresa, higo, uva, melocotón, caqui y aguacate Tabla (4.1.). Además, en la literatura se pueden encontrar numerosos artículos científicos cuyo objetivo es el estudio de alimentos afectados por *Alternaria* spp. Algunos de ellos son los siguientes: artículo Stocco et al., (2019) quienes investigaron estrategias de biocontrol de la podredumbre postcosecha de *Alternaria* spp. en uvas de mesa; Perelló et al. (1996) estudiaron una nueva enfermedad en el trigo causada por *Alternaria triticimaculans*; Fonseca et al., (2019) han propuesto nuevos métodos para el control de *Alternaria* spp. en tomate; Romero et al., (2019) que han estudiado la incidencia de toxinas producidas por especies del género *Alternaria* en trigo, harina y salvado o Romero-Cortes et al., (2019) en el que evaluaron la actividad antifúngica de zumo de vainilla y vainillina frente a *A. alternata*”.

Tabla 4.1. Alteraciones ocasionadas por *Alternaria* spp. en distintos vegetales

CULTIVO	ALTERACIÓN	ESPECIE CAUSANTE	REFERENCIAS
Mango y papaya	Tizón	<i>A. alternata</i>	Brito, 2019
Fresa	Prodredumbre del fruto	<i>A. alternata</i> y <i>A. tenuissima</i>	Snowdon, 1990 ; Maas 1998
Uva	Podredumbre del racimo	<i>A. alternata</i>	Khan et al., 2019; Stocco et al., 2019
Melocotón, caqui y aguacate	Podredumbre del fruto	<i>A. alternata</i>	Moreno et al., 2019
Higo	Marchitez fúngica	<i>A. alternata</i>	Doster y Michaillides 2007

### 4.3. LEGISLACIÓN

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), evaluó en el 2011 la presencia de las toxinas de *Alternaria* spp. y los posibles riesgos para la salud pública y animal. Por este motivo la Comisión Técnica de Contaminantes de la Cadena Alimentaria (COTAM) de la EFSA realizó una evaluación del riesgo de cuatro toxinas conocidas de *Alternaria* spp. (AOH, AME, TeA y TEN); obteniendo como resultado que las mayores concentraciones de las toxinas se encontraban en las semillas de girasol, aunque también se detectó en productos hechos derivados de cereales, en hortalizas, en productos a base de tomate, en frutas, en productos derivados de frutas y en bebidas alcohólicas (vino y cerveza). Este hecho, hizo que la EFSA afirmara que se necesitaba más información sobre la frecuencia y presencia de estas toxinas en estos productos (Patriarca & Pinto 2017). En el 2014, la EFSA emitió otro informe en el que se refería a la ya conocida “mancha negra” ya que en ese momento estaba afectado a los cítricos europeos y reafirmó la necesidad de investigar más a fondo las especies de moho del género *Alternaria*. Dos años más tarde, en el año 2016 la EFSA habían detectado la presencia de *Alternaria* spp. en más de 34.000 muestras de alimentos. Estos datos fueron obtenidos por las autoridades alimentarias nacionales europeas, por los institutos de investigación, por las universidades y por operadores de empresas alimentarias. Todos estos datos se gestionaron con los procedimientos operativos

normalizados (PNT) de la EFSA sobre "Recogida y validación de datos" y sobre "Análisis de datos de consumo y presencia de alimentos" y, se utilizaron para estimar la exposición dietética crónica a *Alternaria* spp. y a sus toxinas.

Tras estos estudios se determinó, que los niveles más altos fueron los de la toxina TeA, toxina que afecta particularmente más a niños pequeños que a las personas adultas, ya que se encuentran en productos elaborados con cereales (papillas, cereales de desayuno, etc.). Por otro lado, se observó que las personas vegetarianas parecen estar más expuestas a las toxinas de *Alternaria* spp. ya que sus toxinas se originan en productos de origen vegetal. Aun así, se recalcó que la contaminación de vegetales por mohos de este género sigue siendo una incógnita por lo que la EFSA, recomienda generar más datos analíticos sobre las toxinas de *Alternaria* spp. en productos alimenticios relevantes (por ejemplo, frutas y derivados frutales, tomates y productos a base de tomate, alimentos a base de cereales entre otros).

A pesar de los resultados existentes sobre la elevada presencia de cepas pertenecientes a especies del género *Alternaria* en alimentos de origen vegetal y de la toxicidad de las toxinas producidas por estas especies, hasta el momento no existen límites máximos permitidos para dichas toxinas a nivel nacional y/o internacional.

#### **4.4. MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN Y DETECCIÓN DE MOHOS Y MICOTOXINAS**

Gruber-Dorninger et al. (2016) en su estudio definieron el término de “micotoxinas emergentes”, como: metabolitos secundarios no regulados legislativamente pero que se encuentran en los alimentos y en los piensos y que pueden producir toxicidad aguda, así como toxicidad crónica. Para evitar que los mohos y las micotoxinas lleguen a los consumidores es necesario realizar una correcta identificación.

La identificación y cuantificación de mohos y micotoxinas en alimentos y piensos debe desarrollarse por métodos analíticos contrastados. Estos métodos analíticos ayudan a establecer los límites de control, y preservar la seguridad alimentaria. Para establecer los límites reglamentarios existen diversos métodos de análisis recomendados, como por ejemplo los Métodos Oficiales de Análisis de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC).

#### ***4.4.1. Métodos convencionales para la detección de mohos productores de micotoxinas***

La identificación de los mohos con capacidad para producir micotoxinas se puede llevar a cabo mediante su aislamiento y detección en medios de cultivo generales y específicos. Para ello, es necesario clasificar las diferentes características morfológicas que presentan los mohos en dichos medios y sus condiciones de crecimiento (temperatura,  $a_w$ , sustrato y HR). Este procedimiento debe ser complementado con el análisis y la confirmación de la producción de la micotoxina mediante alguna técnica de detección de estos metabolitos secundarios en alimentos (Rodríguez, 2011).

##### ***4.4.1.1. Técnicas de exploración o de screening y técnicas de confirmación***

Dentro de estos los métodos de exploración, tienen especial interés las técnicas inmunológicas mientras que para las técnicas de confirmación destacan las de la cromatografía. Las técnicas inmunológicas están basadas en la interacción antígeno-anticuerpo. El marcador del sustrato puede ser radiactivo en un radioinmunoensayo (Radio Inmuno Assay, RIA) o un componente cromogénico o fluorogénico que reacciona con la enzima en un inmunoensayo enzimático (Enzyme Linked InmunoSorbent Assay, ELISA) o en inmunoensayo fluorescente (FIA) (Rodríguez, 2011). Las técnicas inmunológicas presentan una limitación ya que se necesitan anticuerpos específicos para cada una de las micotoxinas por este motivo la técnica de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) es la más utilizada para el análisis y la confirmación de micotoxinas en los alimentos (Moreno, 2013). Dentro de las técnicas cromatográficas se encuentran: la cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC) con detección ultravioleta visible (UV) o fluorescencia (FL), que se utiliza para comprobar la presencia de micotoxinas en vinos, cerveza o café. Además, también se ha utilizado la espectrometría de masas (MS) acoplado al HPLC para determinación de metabolitos secundarios como la fumonisina B<sub>2</sub> en el maíz (Arroyo-Manzanares et al., 2014). Las técnicas basadas en el HPLC permiten separar las micotoxinas por polaridad (Hickert et al., 2016). De este modo, se obtienen los perfiles cromatográficos propios de cada micotoxina, que permiten su identificación mediante la comparación con cromatogramas de referencia. Las fases estacionarias más comunes de este tipo de cromatografía son las columnas de sílica gel (C<sub>18</sub>), y las de pentafluorofenilo (PFP) (Andersen et al., 2006; Magnani et al., 2007; Patriarca et al., 2007). Mientras que la fase móvil está formada por mezclas de disolventes polares como: agua, acetonitrilo y metanol que ayudan a arrastrar los distintos compuestos de

la muestra a través de la fase estacionaria (Nawaz et al., 1997; Fente et al., 1998). El gran inconveniente de esta técnica es que se necesita personal cualificado, sin embargo, la cromatografía ofrece una mayor sensibilidad y precisión que otros métodos. También se pueden utilizar microarrays de ADN para la identificación de especies toxigénicas de *Alternaria* en alimentos. Los microarrays son sistemas de análisis que consisten en sondas de reconocimiento (proteínas, tejidos o ADN), unidas a una superficie sólida o matriz. La muestra problema debe contener ADN o ARN y se debe poner en contacto con el chip. Esto hará que se produzca el apareamiento de las bases complementarias entre la muestra y las secuencias de genes en el chip produciéndose un haz de luz que nos ayudará a la identificación de los genes que se expresan en esa muestra (Aguado, 2007). Por otro lado, Notermans et al., (1986) utilizaron el método ELISA para detectar mohos en varios tipos de alimentos. Los ensayos que realizaron revelaron que el método ELISA podía detectar la contaminación del moho en una etapa muy temprana y que la cantidad mínima detectable de micelio de moho para tres especies diferentes de *Penicillium* era de 38 ng / g de muestra. Lin et al., (1986) del mismo modo utilizaron el método ELISA para la detección de *A. alternata*, *Geotrichum candidum* y *Rhizopus stolonifer* en puré de tomate. Los límites de detección fueron aproximadamente 1 µg de molde seco / g de muestra. Otros autores como Sunli et al. (2018) utilizaron tecnologías de imágenes hiperespectrales combinadas con el modelo óptimo (GWO - SVR) (detección no destructiva del número total de colonias de moho) para detectar el número total de colonias de mohos en el arroz.

#### **4.5. MEDIDAS PREVENTIVAS Y DE CONTROL**

En la actualidad, existen distintas estrategias para combatir los mohos y así la producción de micotoxinas mediante tratamientos preventivos o consideraciones o recomendaciones para llevar a cabo en la etapa de postcosecha. En primer lugar, se puede hacer referencia al tratamiento previo a la cosecha que consiste en reducir la producción de toxinas en el campo, mediante las buenas prácticas agrícolas (Patriarca & Pinto 2017), dentro de estas buenas prácticas agrícolas se encuentran el control cultural, el control genético y el control químico que se detallan a continuación:

Control cultural: consiste en hacer una selección de las plantas madre, de manera que las plantas que estén enfermas o tengan mucha humedad serán arrancadas y quemadas para evitar la propagación del moho (Arely, 2009).

Control genético: esta práctica agrícola consiste en mejorar genéticamente la planta, es decir, producir variedades resistentes a este moho (Arely, 2009).

Control químico: se fundamenta en la aplicación de plaguicidas para reducir o eliminar la presencia del patógeno antes o después de sembrar, además ayuda a prevenir la infección del hongo. Para su control se pueden utilizar fungicidas comerciales como son los sistémicos o los de contacto. Los fungicidas sistémicos son absorbidos por las plantas a través de la raíz, hojas o semillas y se difunden hacia el interior de la planta, mientras que los fungicidas de contacto se aplican en el follaje de la planta en forma de rociados o polvo. Estos materiales no penetran apreciablemente la cutícula de la planta (Arely, 2009). Sin embargo, estos tratamientos no aseguran que la planta no se infectará con el patógeno sino se tienen en cuenta las recomendaciones durante la etapa de postcosecha ya que el moho, crece en condiciones de humedad alta. Para prevenir su aparición lo mejor es que el almacenamiento de los productos de origen vegetal sea en condiciones de humedad relativa baja. Además; en el caso de que en el almacén haya algún producto deteriorado por dicho moho se debe retirar para evitar su difusión por el resto de los productos.

El almacén destinado para los productos de origen vegetal debe estar acondicionado con sistemas de ventilación que ayuden a evitar la condensación del ambiente. Además, los manipuladores de la sala deben adoptar unas correctas medidas higiene que eviten la contaminación cruzada.

*Alternaria*, se puede inactivar por métodos físicos mediante calor húmedo a 121°C durante 15 min o mediante fármacos antimicóticos los cuales pueden ayudar a evitar su crecimiento o promover su muerte. Gur et al. (2019) afirmaron que la enfermedad provocada por la presencia de *Alternaria* se puede controlar de forma efectiva aplicando mezclas de fungicidas en la fruta durante su etapa de desarrollo. En dicho estudio se utilizó Ortiva-Top (azoxistrobina + difenoconazol) y Azimut (azoxistrobina + tebuconazol) fungicidas que fueron capaces de inhibir eficazmente la germinación de esporas, el crecimiento del micelio y el desarrollo de pudrición en frutos desprendidos. Además, se observó que el fungicida Ortiva-Top fue más efectivo ya que redujo la pudrición del cuerpo del cáliz y del fruto un 60-88%.

En este sentido, Mangwende et al. (2019) utilizaron agentes de biocontrol (*Trichoderma* y *Bacillus*), tratamientos no químicos de semillas, tratamientos de agua caliente y extractos de plantas para intentar controlar el desarrollo de *Alternaria* y así poder reducir el uso de productos químicos. Este grupo de científicos evaluaron las actividades antimicóticas de la acetona, acetato de etilo y extractos acuosos de *Allium sativum*, *Carica papaya*, *Datura stramonium*, *Lantana camara*, *Tagetes minuta* y *Zingiber officinale* mediante el ensayo de difusión discal. Los discos fueron impregnados con extractos de acetona de *Allium*, *Datura* y *Zingiber* a una concentración de 15 mg/mL que fueron capaces de inhibir por completo el crecimiento de *A. alternata*. Los extractos de acetato de etilo de todas las plantas excepto *Carica* y *Tagetes* a 15 mg/mL mostraron una actividad antifúngica comparable a la de Celest® XL (fungicida sintético). Los resultados de este estudio han demostrado que remojar las semillas de cilantro en un baño de agua caliente a 54 °C durante 15 minutos, y los agentes de control biológico (*Trichoderma* y *Bacillus*) así como los extractos de *Allium* y *Zingiber* son sustitutos potenciales de los fungicidas sintéticos para el control de la enfermedad de la mancha de la hoja de *Alternaria* spp., en el cilantro apto para la agricultura ecológica. Stocco et al., (2019) también buscaron un sustituto de menor impacto ambiental para tratar la controlar la proliferación de *Alternaria* spp. en uvas de mesa, este grupo de investigadores sustituyeron el método tradicional (azufre) por una cepa de levadura *Metschnikowia pulcherrima* RCM2 y recubrimientos de quitosano. Los resultados mostraron que los recubrimientos de quitosano eran un buen método alternativo del azufre. Otros autores como Luo et al., 2019, utilizaron bacterias antagonistas aisladas para reducir la presencia de *Alternaria alternata* en el pimiento. Los resultados mostraron que las diferentes bacterias antagonistas consiguieron reducir el crecimiento de *A. alternata* al 53%, disminuyendo la pudrición de *Alternaria*, disminuyendo su incidencia en cuanto a su gravedad hasta en un 77% y 80%.

## **5. CONCLUSIONES**

## 5. CONCLUSIONES

### PRIMERA

Los principales mohos causantes de alteraciones postcosecha pertenecen a los géneros *Penicillium*, *Botrytis*, *Monilia*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Mucor* y *Alternaria*, siendo responsables de podredumbres y de la presencia de micotoxinas en una amplia variedad de frutos.

### SEGUNDA

*Alternaria* spp. pueden causar deterioro en el campo o en las operaciones postcosecha en muchos alimentos de origen vegetal, siendo, sus alteraciones más comunes se producen en las familias de las rosáceas (enfermedad del corazón mohoso), solanáceas (enfermedad del tizón temprano y pudrición del cuello del tomate) y cítricos (mancha de la hoja de limón áspero, mancha parda de las mandarinas y podredumbre negra postcosecha).

### TERCERA

Hasta el momento no existen unos límites máximos permitidos para las toxinas producidas por las especies del género *Alternaria* en productos vegetales. Sin embargo, debido a su importancia y toxicidad, la EFSA recomienda la realización de más análisis de estos compuestos en alimentos para establecer medidas de control específicas.

### CUARTA

La identificación y detección de *Alternaria* y sus toxinas en los alimentos se realizan principalmente mediante técnicas inmunológicas y cromatográficas, siendo estas últimas las más ventajosas en cuanto a sensibilidad y especificidad.

### QUINTA

Las estrategias de control basadas en la utilización de microorganismos y extractos naturales están cada vez más extendidas, ya que son seguras para el consumidor y presentan una mayor eficacia para evitar el desarrollo de *Alternaria* y la producción de sus toxinas en vegetales.

## **6. BIBLIOGRAFÍA Y WEBGRAFÍA**

## 6. BIBLIOGRAFÍA Y WEBGRAFÍA

### 6.1. BIBLIOGRAFÍA

- Abarca, M. L., Bragulat, M. R., Castellá, G., Accensi, F., & Cabañes, F. J. (2000). Hongos productores de micotoxinas emergentes. *Revista Iberoamericana Micología*, 17(1), 63-68.
- Abrunhosa, L., Morales-Valle, H., Soares, C. M. G., Calado, T., Vila-Chã, A., Pereira, M., & Venâncio, A. (2012). Micotoxinas detectadas en productos alimenticios en Portugal: revisión. *Revista Bio Ciencias*, 2(1), 5-31.
- Acosta M. W., Marques-Costa, T. M., Santander-Gordón, D., Anta Fernández, F., Zabalgogezcoa, I., Vázquez de Aldana, B. R., & Benito, E. P. (2019). Physiological and population genetic analysis of *Botrytis* field isolates from vineyards in Castilla y León, Spain. *Journal of Plant Pathology*, 68(3), 523-536.
- Adaskaveg, J. E., Förster, H., & Thompson, D. F. (2000). Identification and etiology of visible quiescent infections of *Monilinia fructicola* and *Botrytis cinerea* in sweet cherry fruit. *Plant Disease Journal*, 84(3), 328-333.
- Aguado, M. (2007). Microarrays de adn en Microbiología DNA microarrays in Microbiology. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 1(2), 124-125.
- Aitor, L. S. (2006). Estudio y prevención de micotoxinas en jamón. Trabajo fin de grado.
- Akimitsu, K., Tsuge, T., Kodama, M., Yamamoto, M., & Otani, H. (2014). *Alternaria* host-selective toxins: determinant factors of plant disease. *Journal of General Plant Pathology*, 80(2), 109-122.
- Alejandrez, L. B. F. (2017). Inducción de resistencia a moho gris (*Botrytis sp.*) en fresa (*Fragaria sp.*) con una mezcla de Brasinoesteroides+ Triacontanol+ Glucocidos+ Vitaminas B. Repositorio Institucional de la Universidad de Guanajuato, 1 (1), 1-69.

- Alonso, I. E., & Rivera, V. M. R. (2002). Frutas, verduras y hortalizas. *Nutrición y Salud* 54 (1), 65-71.
- Alvarenga, A. A. A., Viay, M. Y. Q., Badillo, M. E. V., & Olivas, A. F. (2012). Incidencia de hongos potencialmente toxigénicos en maíz (*Zea mays* L.) de diferentes orígenes geográficos en México. *Fitosanidad*, 16(1), 49-50.
- Andersen, B., SMedsgaard, J., Jorring, I., Skouboe, P. y Pedersen, L.H. (2006). Realtime PCR quantification of the AMtoxin gene and HPLC qualification of toxigenic metabolites from *Alternaria* species from apples. *International Journal of Food Microbiology* 111 (2), 105-111
- Andrade V. S., Sarubbo L. A., Fukushima K. (2002) Production of extracellular proteases by *Mucor circinelloides* using D-glucose as carbon source / substrate. *Brazilian Journal Microbiology*, 33 (2), 106–110.
- Arely, V. D. (2009). Alternativas naturales para el control de *Alternaria chrysanthemi* S-immons & CTosier. *Maestría en Ciencias y Biotecnologías de Plantas*, 45 (2), 99-107.
- Arroyo-Manzanares, N., Huertas-Pérez, J., Gámiz-Gracia, L., & García-Campaña, A. (2014). Control de micotoxinas en alimentos. Universidad de Granada, departamento de química analítica, grupo de investigación FQM-302-Calidad en Química Analítica Alimentaria, Ambiental y Clínica 1 (1), 1-343.
- Baraj, E., Furlong-Furg, D. E. B., Soares-Unicamp, D. L. V., Ruiz-Furg, W. A., & Costa-Furg, J. A. V. (2000). Interferência de Tricotecenos Nos Processos Fermentativos (Doctoral dissertation, Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos), Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS), 34 (1), 240-259.
- Barros, G., García, D., Oviedo, S., Ramirez, M., Torres, A., & Chulze, S. (2008). Deoxynivalenol and nivalenol analysis in soybean and soy flour. *World Mycotoxin Journal*, 1(3), 263-266.

- Batista, L. R., Chalfoun, S. M., & Prado, G. (2001). Identificação de espécies toxigênicas de *Aspergillus* associadas aos grãos de café armazenados. *Revista Brasileira de Armazenamento*, 1 (3), 11-16.
- Batista, M., Chira F. R., Durand, I. J., Hurtado, O. R., Marín, M. G., Velázquez, I. M. (2011). Micotoxina *patulina*. *Escuela Profesional de Ingeniería de Alimentos*, 77 (1), 1-18.
- Bogantes-Ledezma, P., Bogantes-Ledezma, D., & Bogantes-Ledezma, S. (2004). *Aflatoxinas*. *Acta Médica Costarricense*, 46(4), 174-178.
- Bolet Astoviza, M., & Socarrás Suárez, M. (2005). Micotoxinas y cáncer. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 24(1), 54-59.
- Booth, C. (1971). The genus *fusarium*. The genus *Fusarium*. Published by Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 11 (1), 130-155.
- Brito, A. L. D. C. (2019). Estudio genômico e proteômico do fitopatôgeno *Alternaria alternatana* cultura do mamão. *Repositório de la Universidade Federal Rural do Semi Árido*, 44 (2), 88-116.
- Calvo, G., & Candan, A. P. (2011). Guía para la identificación de fisiopatías en manzanas y peras. *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*, 8 (1), 55-66.
- Camarena Lizarzaburu, J. A. (2012). Efecto de la actividad metabólica de cepas de hongos antagonistas sobre *Alternaria alternata* (fr.) Causante de la mancha parda en cítricos. *Repositorio de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos* 99 (5), 212-333.
- Carrizo Garcia, C. (2003). Morfología comparada del androceo en tomates silvestres y especies afines (*Solaneae, Solanaceae*). *Repositorio Institucional Conicet*, 1 (1), 1-25.
- Chaerani, R., & Voorrips, R. E. (2006). Tomato early blight (*Alternaria solani*): the pathogen, genetics, and breeding for resistance. *Journal of General Plant Pathology*, 72(6), 335-347

- Cui, W. G., Zheng, H. L., Zhang, F. B., Swingle, B., Zhu, H. T., & Gao, M. (2019). First report of *Rhizopus oryzae* causing potato soft rot in the Hebei province of China. *Plant Disease Journal*, 103(1), 345-773.
- de Lourdes Robledo, M., Marín, S., & Ramos, A. J. (2001). Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México). *Revista Iberoamericana Micología*, 18 (1), 141-144.
- Díaz, C., & Adilson, J. (2013). Efecto del propóleo, *Trichoderma harzianum* e iprodione sobre la mancha parda causada por *Alternaria alternata* (Fr, Fr) Keiss pv. citri en el híbrido tangelo minneola a nivel in vitro y campo en Tingo María. *Universidad Nacional Agraria de la Selva*, 47 (1), 1-97.
- Dilkin, P., Hasegawa, R., Mallmann, C. A., & Corrêa, B. (2004). Intoxicação experimental de suínos por *fumonisin*as. *Ciência Rural*, 34 (1), 155-156.
- Dorrego Martinez, G. (2019). Caracterització morfològica i molecular d'espècies d'*Alternaria* causants de la taca foliar i el motejat del fruit en pomera (Bachelor's thesis, Universitat Politècnica de Catalunya), 22 (2), 59-177.
- Doster, M.A. & Michailides, T.J. (2007). Fungal decay of firstcrop and maincrop figs. *Plant Disease Journal*, 91 (1), 1657-1662.
- Duarte-Vogel, S., & Villamil-Jiménez, L. C. (2006). Micotoxinas en la salud pública. *Revista de Salud Pública*, 8 (1), 129-135.
- Elika, Agricultura. (2013). Ocratoxina A, 1 (1), 1-4.
- Ente, C.A., Jaimez, J., Vázquez, B.I., Franco, C.M. y Cepeda, A. (1998). Determination of alternariol in tomato paste using solid phase extraction and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Analyst* 123, 2277-2280.
- Fernández, A., Solorzano, E., Peteira, B., & Fernández, E. (1996). Inducción de peroxidasa en hojas de tomate con diferente grado de susceptibilidad a *Alternaria solani*. *The Agricultural Information and Documentation Service of the Americas (SIDALC)*, 2(1), 32-33.

- Ferratto, J., & Mondino, M. C. (2008). Producción, consumo y comercialización de hortalizas el mundo. Universidad Nacional del Rosario, 1 (1), 45-46.
- Fonseca, J. Y., Castañeda, A. E., Escarraga, J. O., & Cubillos, D. D. (2019). Caracterización de enfermedades fitopatógenas en el cultivo de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en la finca el reposo en el municipio Facatativá, Cundinamarca. Revista ciencias agropecuarias, 5(1), 66-89.
- Freitas, A. B. (2019). Ocorrência de aflatoxinas em amostras de frutas secas no período de outubro de 2017 a setembro de 2018, 3(1) 88-100.
- García, B. C. (2017). Epidemiología y control de la podredumbre parda del melocotón en postcosecha. Thesis (Doctoral). Universidad Politécnica, 1(1). 100-120.
- Gell, S. I. (2007). Podredumbre parda del melocotonero (*Monilinia* spp.): detección, identificación de especies y contribución a la epidemiología de la enfermedad. Thesis (Doctoral), 2(1), 444-449.
- Gómez, G., Rodríguez, J., Pedroso, A., Sarmiento, A., Castellanos, L., González, M., & Spíritus, S. (1999). Modelo de pronóstico del tizón temprano (*Alternaria solani* Sor.) en papa y tomate en Cuba. 3 (1), 94-95.
- González-Chávez, M., Shagarodsky, T., Barrios, O., & Fraga, N. (2003). Comportamiento varietal del tomate ante el "Tizón temprano" en condiciones de campo. The Agricultural Information and Documentation Service of the Americas SIDALC, 1 (3), 2-4.
- Gonzalo, H. L. (2018). Esporas fúngicas alergénicas en el ambiente exterior. *Alternaria*, aerobiología e importancia sanitaria. Trabajo Fin de Grado. Facultad de Farmacia Universidad Complutense.
- Grinn-Gofroń, A., Nowosad, J., Bosiacka, B., Camacho, I., Pashley, C., Belmonte, J., & Skjøth, C. (2019). Airborne *Alternaria* and *Cladosporium fungal* spores in Europe: Forecasting possibilities and relationships with meteorological parameters. Science of the Total Environment, 653 (1), 938-946.

- Gruber-Dorninger, C., Novak, B., Nagl, V., & Berthiller, F. (2016). Emerging mycotoxins: Beyond traditionally determined food contaminants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(33), 7052-7070.
- Gur, L., Reuveni, M., & Cohen, Y. (2018). Phenology-Based Management of *Alternaria* Fruit Rot in Pink Lady Apples. *Journal of Plant disease*, 102(6), 1072-1080.
- Gur, L., Reuveni, M., & Cohen, Y. (2019). Control of *Alternaria* fruit rot in 'Pink Lady' apples by fungicidal mixtures. *Journal of Crop Protection*, 10(4), 925-947.
- Halo, B. A., Maharachchikumbura, S. S., Al-Yahyai, R. A., & Al-Sadi, A. M. (2019). *Cladosporium omanense*, a new endophytic species from *Zygophyllum coccineum* in Oman. *Phytotaxa- Biotaxa*, 388(1), 145-154.
- Hernández-Rodríguez, P. J., Rodríguez-Carrasco, Y., Berrada, H., & Ruiz, M. J. (2016). Estudio de los parámetros que afectan al contenido de deoxinivalenol en cereales o alimentos a base de cereales obtenidos en comercios de Valencia (España). *Revista de Toxicología*, 33(1), 55-56.
- Hickert, S., Bergmann, M., Ersen, S., Cramer, B., & Humpf, H. U. (2016). Survey of *Alternaria* toxin contamination in food from the German market, using a rapid HPLC-MS/MS approach. *Mycotoxin research*, 32(1), 7-18.
- Horacio Alfredo, A. B. (2012). Efecto del Manejo Nutricional del Calcio en la Expresión de *Botrytis cinérea* en Flores y Tallos de *Rosa* sp. *Universidad Nacional de Colombia*, 1(1), 22-24.
- Isshiki, A., Akimitsu, K., Yamamoto, M., & Yamamoto, H. (2001). Endopolygalacturonase is essential for citrus black rot caused by *Alternaria citri* but not brown spot caused by *Alternaria alternata*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 14(6), 749-757.
- Janić Hajnal, E., Mastilović, J., Bagi, F., Orčić, D., Budakov, D., Kos, J., & Savić, Z. (2019). Effect of Wheat Milling Process on the Distribution of *Alternaria* Toxins. *Toxins*, 11(3), 139-155.

- Joffe, A. Z. (1974). A modern system of *Fusarium* taxonomy. *Mycopathologia et mycologia applicata*. Springer, 53(1-4), 201-228.
- Khan, M. U., Abro, M. A., Jatoi, G. H., Ali, A., Hullio, M. H., & Guo, L. D. (2019). Evaluation of different fungicides, botanical extracts and bio control agents against *Alternaria alternata* the causal agent of leaf spot in Grapes. *BioCell*, 43(2), 545-546.
- Kristensen, R., Gauthier, G., Berdal K.G., Hamels, S., Remacle, J. y Holst-Jensen, A. (2007). DNA microarray to detect and identify trichothecene and moniliformin-producing *Fusarium* species. *Journal of Applied Microbiology*, 102(1), 1060-1070.
- Kumar, D., Barad, S., Sionov, E., Keller, N., & Prusky, D. (2017). Does the host contribute to modulation of mycotoxin production by fruit pathogens? *Toxins*, 9(9), 280
- Kyanko, M. V., Russo, M. L., Fernández, M., & Pose, G. (2010). Efectividad del Acido Peracético sobre la reducción de la carga de Esporas de Mohos causantes de Pudrición Postcosecha de Frutas y Hortalizas. *Información tecnológica*, 21(4), 125-130.
- Lin, H. H., Lister, R. M., & Cousin, M. A. (1986). Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of mold in tomato puree. *Journal of Food Science*, 51(1), 180-183.
- López de Cerain, A., Jiménez, A. M., Ezpeleta, O., & Bello, J. (2000). Efectos tóxicos de la ocratoxina A. *Revista de toxicología*, 17(1), 61-69.
- Lund, F., & Frisvad, J. C. (2003). *Penicillium verrucosum* in wheat and barley indicates presence of ochratoxin A. *Journal of Applied Microbiology*, 95(5), 1117-1123.
- Luo, M., Purdy, H., & Avis, T. J. (2019). Compost bacteria provide antifungal activity against grey mold and *Alternaria* rot on bell pepper fruit. *Botany*. Canadian Science Publishing, 97(3), 221-230.
- Maas, J.L. (1998). *Compendium of strawberry diseases*, 2<sup>a</sup> ed. APS press (Ed.), St. Paul, Estados Unidos, 2(2), 23-33.

- Magan, N. y Lacey, J. (1984). Effect of water activity and temperature on mycotoxin production by *Alternaria alternata* in culture and wheat grain. *Applied and Environmental Microbiology* 47(1), 1113-1111.
- Magnani, R.F., de Souza, G.D. y Rodrigues-filho, E. (2007). Analysis of alternariol and alter-nariol monomethyl ether on flavedo and albedo tis-sues of tangerines (*Citrus reticulata*) with symp-toms of *Alternaria* brown spot. *Journal of Agricul-tural and Food Chemistry* 55(1), 4980-4986
- Mamgain, A., Roychowdhury, R., Tah, J. (2014). review *Alternaria* pathogenicity and its strategic controls. *Research Journal of Biology*. 22(1), 32-33.
- Mangwende, E., Kritzinger, Q., & Aveling, T. A. S. (2019). Control of *Alternaria* leaf spot of coriander in organic farming. *European Journal of Plant Pathology*, 2(1), 1-10.
- Moreno, M. A. P. (2013). Detección de *Alternaria* spp mediante técnicas genéticas como índice de calidad de materias primas y marcador de bioseguridad en productos hortofrutícolas frescos y procesados. *Universidad Complutense de Madrid*, 3(1), 22-24.
- Moreno-Guerrero, D. E., Santiago-Elena, E., Trejo Téllez, L. I., & Vilchis-Zimuta, R. Uso de níquel, silicio y plata para el manejo de *Botrytis cinérea* en fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) hidropónica. *Memoria Mesa*, 3 (1), 105-106.
- Munuera, M. A. (2018). Estado actual de la problemática y métodos de análisis para la determinación de ocratoxina A en alimentos. *Universidad de Jaén*, 4 (1), 567-987.
- Nawaz, S., Scudamore, K.A. y Rainbird, S.C. (1997). Mycotoxins in ingredients of animal feedingstuffs: I. Determination of *Alternaria* mycotoxins in oilseed rape meal and sunflower seed meal. *Food Additives and Contaminants* 14(1), 249-262
- Niem, J., Miyara, I., Ettetdgui, Y., Reuveni, M., Flaishman, M., & Prusky, D. (2007). Core rot development in red delicious apples is affected by susceptibility of the seed locule to *Alternaria alternata* colonization. *Phytopathology*, 97(11), 1415-1421

- Notermans, S., Heuvelman, C. J., Van Egmond, H. P., Paulsch, W. E., & Besling, J. R. (1986). Detection of mold in food by enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Food protection*, 49(10), 786-791.
- Olvera, E. M. (2019). Las Micotoxinas en Ganado Lechero y los Adsorbentes Utilizados para su Control. *Universidad Autónoma de Querétaro*, 2(2), 222-234.
- Orłowski, M. (1991). *Mucor dimorphism*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. America Society for Microbiology, 55(2), 234-258.
- Over Yield, F. S. (2009). Tipo de Riego, la Aplicación de Acolchado Orgánico y Fungicidas Sobre las Pérdidas de Cosecha Ocasionadas por el Corazón Mohoso [*Alternaria alternata* (Fries) Keissler] en Manzanos [*Malus sylvestris* (L.) Mill. var. domestica (Borkh) Mansf.]. *Red Delicious*, 1 (2), 589-600.
- Patriarca, A., & Pinto, V. F. (2017). Prevalence of mycotoxins in foods and decontamination. *Current Opinion in Food Science*, 14 (1), 50-60.
- Patriarca, A., Azcarate, M.P., Terminiello, L. y Fernández, V. (2007). Mycotoxin production by *Alternaria* strains isolated from Argentinean wheat. *International Journal of Food Microbiology* 119 (1), 219-222.
- Pavón, M. (2012). Detección de *Alternaria* spp mediante técnicas genéticas como índice de calidad de materias primas y marcador de bioseguridad en productos hortofrutícolas frescos y procesados. *Universidad Complutense*, 1(1), 1-223.
- Peever, T. L., Carpenter-Boggs, L., Timmer, L. W., Carris, L. M., & Bhatia, A. (2005). Citrus black rot is caused by phylogenetically distinct lineages of *Alternaria alternata*. *Phytopathology*, 95(5), 512-518.
- Pereira, B. S., Arnold, D., Mendes, R. D. S., Calegari, B. S., Smiguel, C. V., Vasco, J. F. D. M., & Rodrigues, L. S. (2019). Pesquisa de aflatoxinas e fungos toxigênicos em amendoins comercializados em Curitiba/pr e região metropolitana. *Cadernos da Escola de Saúde*, 18(1), 45-55.
- Perelló, A., Cordo, C., & Simón, M. R. (1996). A new disease of wheat caused by *Alternaria triticimaculans* in Argentina. *Agronomie*, 16(2), 107-112.

- Perelló, A.; Moreno, M.; Sisterna, M.; (2008). *Alternaria infectoria* species-group associated with black point of wheat in Argentina. *Journal of Plant Pathol*, 57 (2), 379-380.
- Peruzzo, A. M., & Pioli, R. N. (2016). Micotoxinas en harinas derivadas de trigo y soja detectadas por prueba de Elisa. *Mycotoxins in flours derived from wheat and soybean detected by the Elisa test. Pes quisa Agropecuária Brasileira*, 77 (5), 647.
- Petrasch, S., Silva, C. J., Mesquida-Pesci, S. D., Gallegos, K., van den Abeele, C., Papin, V., & Blanco-Ulate, B. (2019). Infection strategies deployed by *Botrytis cinerea*, *Fusarium acuminatum*, and *Rhizopus stolonifer* as a function of tomato fruit ripening stage. *Frontiers in Plant Science*, 10, 223.
- Phookamsak, R., Hyde, K. D., Jeewon, R., Bhat, D. J., Jones, E. G., Maharachchikumbura, S. S., & Doilom, M. (2019). Fungal diversity notes 929–1035: taxonomic and phylogenetic contributions on genera and species of fungi. *Fungal Diversity*, 95(1), 1-273.
- Pontón, J., Moragues, M. D., Gené, J., Guarro, J., & Quindós, G. (2002). Hongos y actinomicetos alergénicos. Bilbao: *Revista Iberoamericana de Micología*, 2 (1), 59-67.
- Puntsher, H., Cobankovic, I., Marko, D., & Warth, B. (2019). Quantitation of free and modified *Alternaria* mycotoxins in European food products by LC-MS/MS. *Food Control*, 102 (1), 157-165.
- Ramos AJ. 2011. *Micotoxinas y micotoxicosis*. AMV Ediciones. Madrid. 1(1), 462-463.
- Ravelo Abreu, A., Rubio Armendáriz, C., Gutiérrez Fernández, A. J., & Hardisson de la Torre, A. (2011). La ocratoxina A en alimentos de consumo humano: revisión. *Nutrición Hospitalaria*, 26(6), 1215-1226.
- Regla, M. C. A. (2003). *Determinación de ocratoxina a en cereales y productos derivados en la comunidad foral de navarra* (Doctoral dissertation, Universidad de Navarra), 1(1), 22-33.

- Requena, F., Saume, E., & León, A. (2005). Micotoxinas: Riesgos y prevención. *Zootecnia Tropical*, 23(4), 393-410.
- Rodríguez, A. (2011). Desarrollo de métodos de PCR en tiempo real para la detección y cuantificación de mohos productores de micotoxinas en alimentos. Doctoral dissertation, Universidad de Extremadura), 22 (1), 10-11.
- Rodríguez-Romero, V. M., Villanueva-Arce, R., Trejo-Raya, A. B., & Bautista-Baños, S. (2019). Chitosan and *Pseudomonas fluorescens* extracts for *Alternaria alternata* control in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 37(2), 1-18.
- Rojas, R., & Elena, M. (2019). Presencia de aflatoxinas y ocratoxina a en plantas medicinales de mercados populares y establecimientos comerciales de lima 2016. *Universidad Nacional Federico*, 7(1), 13-20.
- Romero Bernal, Á. R., Reynoso, C. M., García Londoño, V. A., Broggi, L. E., & Resnik, S. L. (2019). *Alternaria* toxins in Argentinean wheat, bran, and flour. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 12(1), 24-30.
- Romero-Cortes, T., Pérez España, V. H., López Pérez, P. A., Rodríguez-Jimenes, G. D. C., Robles-Olvera, V. J., Aparicio Burgos, J. E., & Cuervo-Parra, J. A. (2019). Antifungal activity of vanilla juice and vanillin against *Alternaria alternata*. *CyTA- Journal of Food*, 17(1), 375-383.
- Rubén, A. S. (2016 a). Estudio de la actividad antifúngica de algunos aceites esenciales. Trabajo Fin de Grado. Universidad de Jaén.
- Rubén, G. N. (2016 b). Explotación de cerezos en Tudela de Duero con sistema de riego por goteo y construcción de una Nave-almacén. Trabajo Fin de Grado. Universidad de Valladolid
- Sanchis, V., Marín, S., & Ramos, A. J. (2000). Control de micotoxinas emergentes. Situación legislativa actual. *Revista Iberoamericana Micología*, 17 (1), 69-75.

- Saubois, A., Coutaz, V. R., Cadoche, C., & Basílico, J. C. (2019). Interacción de distintos factores sobre la biosíntesis de tricotecenos por cepas de fusarium. *Boletín Micológico*, 4 (1), 77.
- Sergio, R., G. (2018). Esporas fúngicas alergénicas en el ambiente exterior. Evidencias sobre los impactos del cambio climático en la aeromicroflora atmosférica. Trabajo Fin de Grado. Universidad Complutense.
- Simmons, E.G. (2007). *Alternaria*. An identification manual. CBS Fungal Biodiversity Centre (Ed.), Utrecht, Holanda, 6(1), 774-775.
- Snowdon, A.L. (1990). A colour atlas of post-harvest diseases and disorders of fruits and vegetables. General introduction and fruits. Wolfe Scientific Ltd. (Ed.), Londres, Reino Unido, 1(1), 12-45.
- Sommer, N.F. (1985). Role of controlled environments in suppression of postharvest diseases. *Canadian Journal of Plant Pathology* 7(1), 331-339.
- Soriano del Castillo, J. M. (2007). Micotoxinas en alimentos. Ediciones Díaz de Santos. 1(1), 10-388.
- Soriano, M., Bejar, V., & Bonilla, P. (2002). Frecuencia de hongos anemófilos productores de micotoxinas en algunos mercados de Lima. Detección de patulina en manzanas en descomposición. *Ciencia e Investigación*, 5(2), 36-45.
- Souza, P. M. D., Bittencourt, M. L. D. A., Caprara, C. C., Freitas, M. D., Almeida, R. P. C. D., Silveira, D., & Magalhães, P. O. (2015). A biotechnology perspective of fungal proteases. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(2), 337-346.
- Steven T. K. & Mark B. (2016). El Moho Gris, o Pudrición de Fresa. *Division of Agriculture and Natural Resources*, 13 (1), 1-6.
- Stocco, A. F., Diaz, M. E., Rodriguez Romera, M. C., Mercado, L. A., Rivero, M. L., & Ponsone, M. L. (2019). Biocontrol of postharvest *Alternaria* decay in table grapes from Argentina. *Elsevier*, 12 (2), 33-56.

- Stocco, A. F., Diaz, M. E., Romera, M. R., Mercado, L. A., Rivero, M. L., & Ponsone, M. L. (2019). Biocontrol of postharvest *Alternaria* decay in table grapes from Mendoza province. *Biological Control*, 134 (1), 114-122.
- Sunli, C., Jun, S., Hanping, M., Xiaohong, W., Pei, W., & Xiaodong, Z. (2018). Non-destructive detection for mold colonies in rice based on hyperspectra and GWO-SVR. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(4), 1453-1459.
- Sylvania, S. A. (2017). Pudrición gris- Moho gris en vid. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, 5(1), 29-38.
- Tarkowski, L. P., Van de Poel, B., Höfte, M., & Van den Ende, W. (2019). Sweet Immunity: Inulin Boosts Resistance of Lettuce (*Lactuca sativa*) against Grey Mold (*Botrytis cinerea*) in an Ethylene-Dependent Manner. *International journal of molecular sciences*, 20(5), 1052.
- Thomidis, T., & Exadaktylou, E. (2013). Effect of a plastic rain shield on fruit cracking and cherry diseases in Greek orchards. *Crop protection*, 52(2), 125-129.
- Thomma, B. P. (2003). *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. *Molecular plant pathology*, 4(4), 225-236.)
- Timmer, L. W., Peever, T. L., Solel, Z. V. I., & Akimitsu, K. (2003). *Alternaria* diseases of citrus—Novel pathosystems. *Phytopathologia Mediterranea*, 42(2), 99-112.
- Timmer, L. W., Solel, Z., Gottwald, T. R., Ibanez, A. M., & Zitko, S. E. (1998). Environmental factors affecting production, release, and field populations of conidia of *Alternaria alternata*, the cause of brown spot of citrus. *Phytopathology*, 88(11), 1218-1223.
- Torres, C. C. M., & Silva, D. C. C. (2019). Ocratoxinas y su potencial nefrótico. *Revista de Nefrología, Diálisis y Trasplante*, 39(1), 73-81.
- Torres-Sánchez, L., & López-Carrillo, L. (2010). Consumo de fumonisinas y daños a la salud humana. *salud pública de méxico*, 52(5), 461-467.

- Trigos, Á., Ramírez, K., & Salinas, A. (2008). Presencia de hongos fitopatógenos en frutas y hortalizas y su relación en la seguridad alimentaria. *Revista mexicana de micología*, 28(1), 125-129.
- Trombete, F. M., Saldanha, T., Direito, G. M., & Fraga, M. E. (2013). Aflatoxinas y tricotecenos en trigo y derivados: incidencia de la contaminación y métodos de determinación. *Revista chilena de nutrición*, 40(2), 181-188.
- Turechek, W. W., Peres, N. A., & Werner, N. A. (2006). Preand post-infection activity of pyraclostrobin for control of anthracnose fruit rot of strawberry caused by *Colletotrichum acutatum*. *Journal of Plant disease*, 90(7), 862-868.
- Upadhyay, P., Ganaie, S. H., & Singh, N. (2019). Diversity Assessment Among *Alternaria solani* Isolates Causing Early Blight of Tomato in India. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 89(3), 987-997.
- Velluti, A. (2002). Ecofisiología de especies de *Fusarium* productoras de fumonisinas, zearalenona y deoxinivalenol en maíz: aceites esenciales como inhibidores fúngicos. *Universitat de Lleida*, 22 (2), 45-55.
- Vicent, A., Armengol, J., Sales, R., Garcia-Jimenez, J., & Alfaro-Lassala, F. (2000). First report of *Alternaria* brown spot of citrus in Spain. *Journal of Plant Disease*, 84(9), 1044-1044.
- Visagie, C. M., Houbraken, J., Frisvad, J. C., Hong, S. B., Klaassen, C. H. W., Perrone, G., & Samson, R. A. (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in mycology*, 78(1), 343-371.
- Woudenberg, J. H. C., Groenewald, J. Z., Binder, M., & Crous, P. W. (2013). *Alternaria* redefined. *Studies in mycology*, 75(1), 171-212.
- Yin, L., Du, S. F., Chaisiri, C. C., Cheewangkoon, R., & Luo, C. (2019). Phylogenetic analysis and fungicide baseline sensitivities of *Monilia mumecola* in China. *Journal of Plant Disease*, (ja). 103(2), 1943-7692.

- Zhang, J., Ma, S., Du, S., Chen, S., & Sun, H. (2019). Antifungal activity of thymol and carvacrol against postharvest pathogens *Botrytis cinerea*. *Journal of food science and technology*, 56(5), 2611-2620.
- Zinedine, A., & El Akhdari, S. (2019). Food Safety and Climate Change: Case of Mycotoxins. In *Handbook of Research on Global Environmental Changes and Human Health*, 2(1), 74-97.

## 6.2. WEBGRAFÍA

- Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN). (2019). Recuperado de [http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad\\_alimentaria/gestion\\_riesgos/Aflatoxinas\\_ficha\\_JUL15.pdf](http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/gestion_riesgos/Aflatoxinas_ficha_JUL15.pdf)
- Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). (2019). Recuperado de [http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific\\_output/files/main\\_documents/365.pdf](http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/365.pdf)
- Calidad de Cítricos. (2019). Recuperado de [http://www.tecnicoagricola.es/categoria/calidad\\_en\\_citricos/patogenos-postcosecha/](http://www.tecnicoagricola.es/categoria/calidad_en_citricos/patogenos-postcosecha/)
- Euro-lex: European Union law. (2019). Recuperado de <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/ALL/?uri=CELEX:32006R1881>
- Evaluation of certain mycotoxins in food: fifty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. (2019). Recuperado de Evaluation of certain mycotoxins in food.
- Fundación Bioquímica Argentina. (2019). Recuperado de <https://www.fba.org.ar/panel-gestion/InformeResultado/MI/mi31.pdf>
- Hongo. (2019). Recuperado de <http://biblio3.url.edu.gt/Libros/2011/bot/19.pdf>
- Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST) (2019). Recuperado de <https://www.insst.es/>

- La Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC). (2019). Recuperado de <https://www.iarc.fr/>
- Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2019). Recuperado de <http://www.fao.org/home/es/>
- Public Health Agency of Canada. Pathogen Safety Data Sheets and Risk Assessment. (2019). Recuperado de <https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment.html>
- Recomendación de la Comisión de 17 de agosto de 2006 sobre la prevención y la reducción de las toxinas de *Fusarium* en los cereales y los productos a base de cereales. (2019). Recuperado de <https://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:234:0035:0040:ES:PDF>
- Reports on tasks for scientific cooperation. Assessment of dietary intake of Ochratoxin A by the population of EU Member States (2019). Recuperado de [https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/cs\\_contaminants\\_catalogue\\_ochratoxin\\_task\\_3-2-7\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/cs_contaminants_catalogue_ochratoxin_task_3-2-7_en.pdf)
- The University of Adelaide. (2019). Recuperado de <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/zygomycetes/mucor/>