

HONGOS FILAMENTOSOS EN LA EPIDERMIS DEL FRUTO DEL TOMATE: ENFASIS EN EL GENERO *Cladosporium* Link

(*Filamentous fungi in tomato fruit epidermis: emphasis in the genus *Cladosporium* Link*)

Fanny Encina M.* & Eduardo Piontelli L.**

*Univ. Técnica Federico Santa María

Sede Viña del Mar-José Miguel Carrera, Carrera de Alimentos.

**Univ. de Valparaíso, Escuela de Medicina, Cátedra de Micología Casilla 92 V. Valparaíso, Chile

Palabras clave: Tomate, hongos filamentosos, *Cladosporium* spp.

Key words: Tomato, filamentous fungi, *Cladosporium* spp.

RESUMEN

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) es uno de los frutos importantes en la dieta humana y como todo vegetal posee una variada microbiota epífita asociada ya sea saprofítica, fitopatológica u oportunista acorde a las zonas de cultivo, manejo y distribución de esta solanácea. Se determinó la ocurrencia, distribución e importancia de los hongos filamentosos epífitos de tomates sanos provenientes de ferias libres y locales establecidos en 2 periodos estacionales, entre abril 2008 y enero 2009.

Se procesaron un total de 27 muestras (16 en otoño y 11 en invierno) mediante lavado de los frutos con agua destilada estéril, centrifugación y posterior siembra en medio PCA en duplicado. Se detectaron un total de 8288 colonias (ufc por 1 mL), que incluyeron 24 géneros y 34 especies de hongos filamentosos identificados mediante métodos morfofisiológicos (en especial *Cladosporium*). Se enumeró además la presencia de levaduras blancas, levaduras rosadas (sin identificación genérica) y bacterias (no incluidas en el análisis). Las especies de hongos filamentosos más frecuentes en ambos periodos fueron: *Cladosporium cladosporioides* (16,91%), *C. sphaerospermum* (9,31%), *Geotrichum candidum* (4,82%), *Penicillium olsonii* (3,51%) y *Fusarium oxysporum* (3,11%). Las levaduras blancas (35,49%) fueron similares en número a los integrantes del género *Cladosporium* en otoño, pero mayoritarias sobre este en invierno, mientras las levaduras rosadas (11,66%) fueron las segundas en importancias después de las especies de *Cladosporium* en otoño, pero muy inferiores en invierno. Se encontraron algunas diferencias significativas entre las muestras de otoño y las muestras

de invierno en los siguientes géneros y/o especies: *P. olsonii*, *C. cladosporioides* y *Fusarium* spp., sin embargo, al comparar locales establecidos y ferias libres no se encontraron diferencias significativas.

Se consideraron de interés clínico 11 especies, a pesar de la escasa presencia de algunas de ellas en las muestras. Aunque, nuestros resultados no evidencian que los hongos de este fruto tengan relación con micosis en los mamíferos, pueden ser un aporte a los conocimientos de la ecología y distribución de ciertos hongos oportunistas, alérgicos o potenciales productores de micotoxinas.

ABSTRACT

Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) is one of the important fruits designed for human diet and as a vegetal bears an associated and varied epiphytial microbiota, either saprophytic, fitopathogenic or opportunistic depending on the sites of cultivation, handling and distribution of this solanaceous. The occurrence, distribution and importance of epiphytial filamentous fungi in healthy tomatoes collected from outdoor fairs and established shops were determined in two seasonal periods, within april 2008 and january 2009.

Twenty seven samples (16 in fall and 11 in winter) were processed by means of fruit wash in distillate sterile water, centrifugation and further sowing in duplicate PCA medium. An 8288 total of colonies (ufc/1ml) was detected that included 24 genera and 34 species of filamentous fungi identified by means of morpho-physiological methods (mainly *Cladosporium*). Besides the presence of white yeasts, pink yeasts (lacking generic identification) and bacteria (not included in the analysis) was determined. Most frequently occurring

Recibido el 3 de Agosto 2009

Aceptado el 10 de Noviembre 2009

species of filamentous fungi, considering both periods were: *Cladosporium cladosporioides* (16.91%), *C.sphaerospermu* (9.31%), *Geotrichum candidum* (4.82%), *Penicillium olsonii* (3.51%) and *Fusarium oxysporum* (3.11%). White yeasts (35.49%) were similar in number to those belonging to the genus *Cladosporium* in fall yet higher than them in winter whereas pink yeasts (11.66%) were in the second place of importance after the species of *Cladosporium* in fall yet had less importance in winter. Some significant differences were found among fall samples and winter samples in the following genera and/or species: *Polsonii*, *C.cladosporioides* and *Fusarium*, however no significant differences were found on comparing established shops and outdoor fairs. Eleven species were considered to be of clinical interest in spite of the scarce presence of some of them in the samples. However our results do not prove that fungi of this fruit are related to mycosis in mammals, they can help in the knowledge of the ecology and distribution of certain opportunistic, allergenic or potential mycotoxin producing fungi.

INTRODUCCION

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) de la familia **Solanaceae**, es una de las hortalizas más importantes y difundida del mundo y presumiblemente originaria en su forma silvestre, de varias regiones de los Andes de SurAmérica, a moderadas altitudes y que cubren parte de lo que hoy conocemos como Ecuador, Colombia, Perú, Bolivia y Chile. Probablemente los Aztecas y los Incas que vivieron en México domesticaron sus cultivos hace unos 1500 años (1,2).

Los países líderes en sus cultivos son: China, USA, Turquía, India, Italia. En América Latina es uno de los principales cultivos (2), y su consumo anual per cápita en Chile es de 26 kg, en Perú es alrededor de 12 kg y en Egipto cerca de 100 kg (3).

En Chile se ha transformado en la hortaliza más cultivada, alcanzando una superficie estimada de 17.900 hectáreas en el período 2003/2004 (4), representando casi el 30% del total de hortalizas consumidas (1, 5). En la V Región, se produce principalmente bajo invernadero, lo que implica su producción durante todo el año (6).

Se puede consumir de muchas formas distintas y como todas las frutas y los vegetales tiene en su superficie una microbiota diversificada (principalmente bacterias y hongos), adquiridos en las zonas de cultivos o durante el transporte, manipulación y almacenamiento (7), la cual generalmente en el tiempo interviene en los procesos de su descomposición (17).

La mayoría de las investigaciones sobre este vegetal, abarcan las plagas y enfermedades que afectan

las hojas, el tallo y el ambiente circundante a sus cultivos (5,8,9,10, 11), y los estudios sobre la superficie del fruto sano son escasos en la literatura (12,13,14,15,16). Generalmente las pudriciones y lesiones de la superficie son ocasionadas por hongos fitopatógenos como *Alternaria* (pudrición negra), *Botrytis* (pudrición por moho gris), *Geotrichum* (pudrición ácida) y *Rhizopus* (pudrición algodonosa) (17). En Chile, aparentemente, no hay trabajos relacionados con la micota del tomate comercializado.

Nuestros objetivos, consideraron el análisis en 2 períodos estacionales (otoño–invierno) de muestras de este fruto sin lesiones superficiales, en locales establecidos y ferias libres, identificar específicamente los hongos filamentosos de su superficie en el momento en que llegan al consumidor, con énfasis en los integrantes del género *Cladosporium* por su amplia distribución epífita en sustratos vegetales y dispersión anemófila en nuestra Región.

MATERIALES YMETODOS

a) Origen de las muestras

Se tomaron muestras de tomates sanos, de diferentes lugares: Valparaíso, Viña del Mar y Limache, adquiridos en ferias libres y negocios establecidos (entre ellos supermercados). Con un total de 27 muestras en forma aleatoria (4-6 tomates por muestra), los cuales se depositaron en bolsas plásticas estériles. Las muestras se refrigeraron a 4°C hasta su procesamiento, el cual que no superó las 24h.

b) Método

Cada muestra se preparó de la siguiente manera: en frascos estériles de vidrio de 1L de capacidad de boca ancha y con tapa rosca, se agregaron 100 mL de agua destilada estéril, luego se incorporaron 2-3 tomates según el tamaño de cada fruto, para luego cerrar el recipiente y someterse a una agitación manual durante 3 minutos. Posteriormente se tomaron 10 mL de agua del lavado mediante pipeta graduada y que se centrifugó durante 3 minutos a 3000 rpm. Posteriormente al centrifugado, se eliminó el sobrenadante hasta dejar 1 mL en el fondo. Luego se tomaron 0.1 mL de la solución mediante pipeta graduada y se sembró por duplicado en placas con medio agar papa zanahoria (PCA), extendiendo el inóculo mediante rastrillo. Se cultivaron las placas en estufa a 27°C por 7-10 días.

A los 5 días se contaron todas las colonias, tanto filamentosas, levaduriformes y bacterianas, marcándolas por el reverso de las placas.

Entre los 7 y 10 días de cultivo se analizó la presencia de hongos filamentosos bajo lupa estereoscópica y se

hicieron las preparaciones según el tipo y diversidad de colonias fúngicas. Las preparaciones al fresco se tiñeron con lactofenol y azul de algodón y se observaron al microscopio para determinar género y especie según datos morfométricos de sus estructuras reproductivas. La mayoría de las especies se identificaron en PCA, sin embargo, en algunos géneros se emplearon métodos específicos de cultivo según monografías, especialmente para *Penicillium*, *Aspergillus* (en Agar Malta y CYA) y *Fusarium* (agar clavel) (18, 19, 20, 21).

Las levaduras no se estudiaron a nivel genérico, sólo se clasificaron en dos grupos (blancas y rosadas), mientras para las bacterias sólo se hizo un recuento de colonias.

Para *Cladosporium*, las colonias de cada muestra se observaron con lupa en PCA y si presentaban diferente morfología o rango de crecimiento, se aisló un representante de cada una, en tubos con PDA para su posterior análisis en medios específicos.

Para la identificación de las cepas obtenidas de *Cladosporium*, se empleó la técnica descrita por Schubert *et al.*, 2007 (22). Estas se sembraron en PDA para obtener cultivos frescos de 7-10 días a 25°C y mediante el asa de platino bien cargada se depositaron las mitosporas en 1mL de agua peptonada estéril para obtener una suspensión homogenizada. Se tomaron 5 microlitros de la suspensión de cada cepa depositándose en duplicado en el centro de placas de Petri de 5 cm ya sea en el medio de cultivo PDA (agar patata dextrosa) como en SNA (Synthetischer Nährstoffarmer agar), para obtener datos morfológicos y rango de crecimiento en ambos medios. Se incubaron por 7 días a 25°C, al término de los cuales se midió el diámetro de las colonias y se efectuaron preparaciones empleando la técnica de la adhesión de las esporas y otras estructuras mediante trozos (1,5 cm de largo) de cinta adhesiva (Scotch), adosada levemente a la colonia. La cinta adhesiva se depositó luego sobre un porta objeto con una gota de ácido láctico diluido al 30% en agua y se cubrió con un cubreobjeto homogenizando la dilución. Las preparaciones se fotografiaron en un microscopio Zeiss con óptica DIC dentro de un plazo de ½ h para evitar la opacidad de la cinta adhesiva. Las imágenes obtenidas se procesaron posteriormente para la medición de sus estructuras (conidios, ramoconidios y conidióforos) con un procesador de imágenes Zeiss Ks 100, midiéndose entre 30-60 estructuras cada vez. Los cultivos anteriormente mencionados se mantuvieron hasta los 14 días solo para medir el diámetro final de las colonias. Las especies de *Cladosporium* se clasificaron según la clave Zalar *et al.*, 2007 (23) y Høet *al.* 1999(24).

Sistema de tratamiento de datos

Se utilizó el Test de Student para comparar los re-

sultados obtenidos de otoño-invierno y de ferias libres-locales establecidos.

Se calculó la diversidad ecológica por el método de Shannon Weaver.

Se realizó la prueba de Chi cuadrado para comparar otoño con invierno y supermercado con feria, utilizando 3 condiciones para cada muestra (ausente = 0 Ufc; ocasional <30; abundante >30), sólo en los casos que fue posible discriminar entre ocasional y abundante.

En el resto de los casos se usó la prueba exacta de Fisher con las condiciones de ausencia y presencia.

RESULTADOS

En agar PCA a 25°C se analizaron 27 muestras en total, 16 en otoño y 11 en invierno. Incluyendo las levaduras. Se detectaron un total de 8.288 colonias (ufc por 1 mL), que incluyeron 24 géneros y 34 especies de hongos filamentosos. Las especies de hongos filamentosos más frecuentes contabilizando ambos periodos y lugares de muestreo fueron: *Cladosporium cladosporioides* (16,91%) *C. sphaerospermu*(9,31%), *Geotrichum candidum*, (4,82%) *Penicillium olsonii* (3,51%) y *Fusarium oxysporum* (3,11%). Las levaduras blancas (35,49%) fueron similares en número a los integrantes del género *Cladosporium* en otoño, pero mayoritarias sobre este en invierno, mientras las levaduras rosadas (11,66%) fueron las segundas en importancias después de las especies de *Cladosporium* en otoño, pero muy inferiores en invierno (Tabla.1).

La determinación fina de especies de *Cladosporium* de las 27 muestras, se basó en una selección de 48 colonias con ciertas diferencias micromorfológicas en PCA y que posteriormente se recultivaron en los medios en SNA y PDA, permitiendo mediante análisis de datos morfométricos (procesador de imágenes) y fisiológicos (tasa de crecimiento) su separación en 3 grupos de especies (*C. cladosporioides* (61%), *C. sphaerospermum* (33,5%) y *C. langeroni (similis)* (5,7%), con porcentajes cercanos a los obtenidos en PCA (Tabla 1).

En otoño se aislaron 5.035 colonias fúngicas, mientras en invierno 3.253; el total de colonias filamentosas fueron 2.575 en otoño y 1.804 en invierno (Tabla 1). En otoño se presentaron 18 géneros y dos categorías (levaduras blancas y rosadas). Los géneros y categorías dominantes en número de aislamiento fueron: *Cladosporium* spp., levaduras blancas, levaduras rosadas *Penicillium* spp. y *Mucor* spp. (89,2% del total de las colonias fúngicas). En invierno se presentaron 15 géneros y 2 categorías, siendo los dominantes: levaduras blancas, *Cladosporium* spp., levaduras rosadas, *Penicillium*, *Fusarium* (76,3% del total de las colonias fúngicas). Sin

Tabla 1. Resultados. Taxa fúngicos y categorías presentes en muestras otoño-invierno (1-16=otoño; 17-27=invierno)
cuadros blancos=feria, cuadros gris=locales establecidos (Los números en las filas indican ufc./cjm

Taxa Fúngicos y categorías	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	%			
<i>Acremonium strictum</i>			36																		1	40	74					1,82			
<i>Acremonium</i> spp.			22	1								1				3			10					100				1,65			
<i>Alternaria alternata</i> complex	1	7	8								1								4												
<i>Arthrinium</i> sp.																				1											
<i>Aspergillus niger</i> complex			2	3						3																					
<i>Emicella nidulans</i>									1																						
<i>Aspergillus ochraceus</i>			2																												
<i>Aureobasidium pullulans</i> var. <i>pullulans</i>			3			5		5	6								10					3									
<i>Aureobasidium pullulans</i> var. <i>melangenium</i>															1																
<i>Botrytis cinerea</i>											1																				
<i>Chaetomium elatum</i>								2																							
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	33	206	220	90	67	2	36	63	14		228	37	30	100		3	83			100	11			30	50				16,91		
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>			60	208		1					140	13	30		10	2	77	35	80	8	76				30				9,31		
<i>Cladosporium langeroni</i> similis	41								56													20		2			12	1,58			
<i>Epicoccum nigrum</i>			2																												
<i>Fusarium oxysporum</i>			20																		138			100						3,11	
<i>Fusarium solani</i> complex														1		16									6						
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	40																														
<i>Fusarium verticillioides</i>	8																														
<i>Fusarium</i> spp.			10																												
<i>Geotrichum candidum</i>			43	6	6					58		3	10										40		30	50	1,56				
<i>Geotrichum</i> sp.																							154			178	4,82				
<i>Graphyium</i> anamorfo de <i>Ophiostoma piceae</i>																								3	144					2,47	
<i>Graphyium penicillioides</i>																															
Micelio estéril sin fructificar					1																										

Tabla 1. (Continuación) Resultados. Taxa fúngicos y categorías presentes en cada muestra otoño-invierno (1-16=otoño; 17-27=invierno) cuadros blancos=feria, cuadros grises=locales establecidos (continuación)

Taxa Fúngicos y categorías	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	%
<i>Mácor kermalis</i>			20	2		7	1	2						6					3		1							
<i>Mácor plumbeus</i>							1			2									1								1	
<i>Mácor</i> sp.									2																			
<i>Paecilomyces variotii</i>												3																
<i>Penicillium glabrum</i>							1					2			1													
<i>Penicillium</i> spp. (subgénero Aspergilloides)								2										1				1			1		1	
<i>Penicillium brevicompactum</i>																												
<i>Penicillium chrysogenum</i>			1																									
<i>Penicillium digitatum</i>																							10					
<i>Penicillium olsonii</i>	3	4	2	2							33	246				1												3, 51
<i>Penicillium</i> spp. (subgénero Penicillium)							7	1	5	2	20			10		3		2	10	1	2		1				1	
<i>Penicillium</i> spp.	10												12						6									
<i>Phoma</i> spp.																		3										
<i>Rhizopus stolonifer</i>									3			3		2														
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>																												1
<i>Sporotrichum</i> smanamorfó de <i>Ophiostoma piceae</i>																		6										
<i>Stemphylium botriosum</i>	1		1																									
<i>Trichoderma harzianum</i> complex																		10										
<i>Trichoderma</i> sección <i>Pachybasium</i>																									1			
<i>Trichoderma</i> spp.											3			4					3					3				
<i>Ulocladium atrum</i>				129							2								3									1, 61
<i>Yerucium</i> sp.									1																			
Levaduras blancas	4	3	44	330	230	337			220	368		30	66	10	2		110	270	15	25	366	4	30	320	118	40	35,49	
Levaduras rosadas	3	2	52		196	144			136	117	148	6	6	6	6						4		64	20	60	3	11,66	
Bacterias				267			56	222				62	100		340	66						80				246	234	

embargo, 10 especies presentes en invierno no lo hicieron en otoño y 16 presentes en otoño no lo hicieron en invierno (Tabla 1).

Las especies de hongos filamentosos que se presentaron en otoño fueron 26, dentro de las principales *C.cladosporioides* (Fig. 2 a,c), *C. sphaerospermum* (Fig. 2 b,d,e), *P. olsonii* (Fig.3 i), *Ulocladium atrum*, *Cladosporium* spp. y *G. candidum* (Fig. 3 k) con el 84,6% del total de ufc. de hongos filamentosos. En invierno fueron 19: *G. candidum*, *C.sphaerospermum*, *C.cladosporioides*, *Geotrichum* spp, *Fusarium* spp., *Acremonium strictum* (Fig. 2 f) y *Acremonium* spp., con el 77,8% del total de ufc de hongos filamentosos (Tabla 1).

Los mayores porcentajes de frecuencia de presencia estacional de los integrantes de los principales géneros en el total de las muestras, mostraron poca variación entre otoño e invierno especialmente en *Cladosporium*, *Penicillium*, Levaduras blancas, Levaduras rosadas, *Mucor*, *Geotrichum* y *Aureobasidium*, aunque todos ellos fueron siempre mayoritarios en otoño; sin embargo, *Fusarium*, *Acremonium*, *Alternaria* y *Trichoderma*, fueron siempre mayoritarios en invierno (Tabla 2.)

Si comparamos la constancia de presencia en las siembras entre los 6 principales géneros en ferias libres y locales establecidos en otoño e invierno se observa una mayor constancia de ellos en ferias libres en otoño (salvo *C.sphaerospermum*). En invierno se sigue la misma tendencia mayoritaria en ferias libres, salvo la ausencia de *Polsonii* y *M.hiemalis* (Fig. 1 a-b).

Las principales variaciones estacionales se observaron en *G. candidum* donde el total de colonias aumentó de un 2,6 % en otoño a un 18,4% en invierno, *F. oxysporum* de un 0,8% en otoño a un 13,2% en invierno los integrantes del género *Acremonium* de un 2,4% a 12,4% (Tabla 1).

Tabla 2. Porcentajes de presencia estacional de integrantes de los principales géneros en el total de las muestras

Taxa Fúngicos y categorías	frecuencia otoño	frecuencia invierno
<i>Cladosporium</i> spp.	100,0	90,9
<i>Penicillium</i> spp.	87,5	72,7
Levaduras blancas	75,0	90,9
Levaduras rosadas	68,8	45,5
<i>Mucor</i> spp.	50,0	36,4
<i>Geotrichum</i> spp.	37,5	36,4
<i>Aureobasidium</i> spp.	31,3	18,2
<i>Fusarium</i> spp.	25,0	63,6
<i>Acremonium</i> spp.	25,0	45,5
<i>Alternaria</i> spp.	25,0	9,1
<i>Trichoderma</i> spp.	12,5	36,4

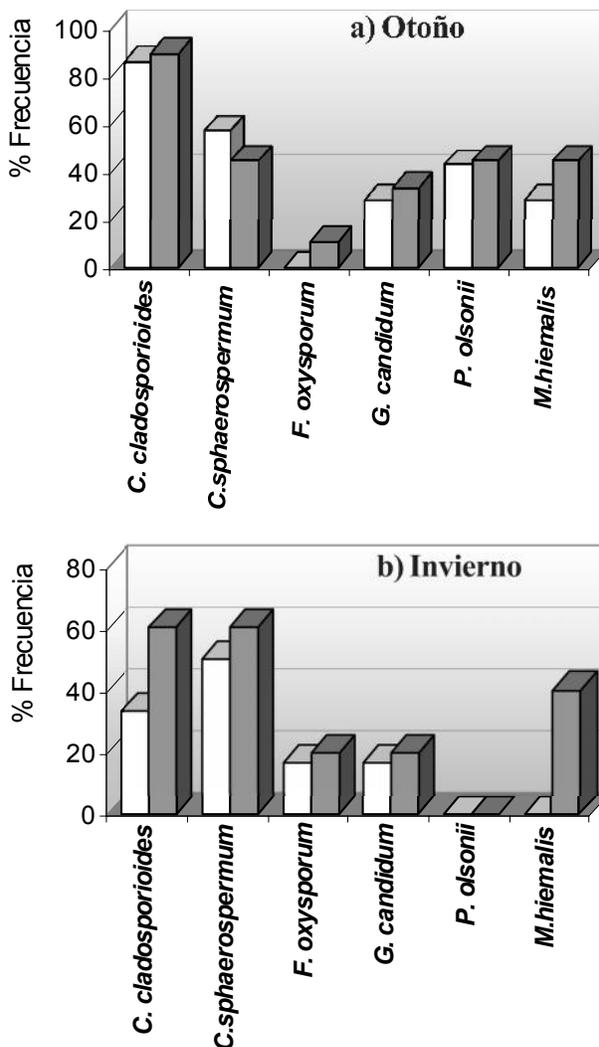


Figura 1 a y b. Géneros con mayor frecuencia de presencia (constancia) en otoño (a) e invierno (b) en Ferias libres (oscuro) y Locales establecidos (blanco).

Dentro de las especies aisladas se encuentran algunas consideradas como patógenas u oportunistas en vegetales o en mamíferos; *Acremonium strictum*, *Alternaria alternata* complex (Fig. 3 m), *Aspergillus niger* complex, *A. ochraceus*, *F.oxysporum*, *F. solani* complex, *F. sporotrichioides* (Fig. 3 l), *F.verticillioides*, *G. candidum*, *P. olsonii* y *Scopulariopsis brevicaulis*.

Dos patógenos vegetales como *Botrytis cinerea* y *Penicillium digitatum*, se encontraron una sola vez, el primero en otoño y el segundo en invierno.

Utilizando el test de Student, se comparó otoño con invierno y locales establecidos con ferias libres para el total de colonias obtenidas, géneros y especies más importantes, indicando que no existen diferencias significativas, excepto en el caso de las especies de *Fusa-*

rium que fue mayor en invierno, con un valor de $p=0.021$. El análisis de diversidad de Shannon Weaver calculando porcentajes con respecto a la máxima diversidad posible, los resultados obtenidos fueron: otoño 44,4%; invierno 37,4%; locales establecidos 54,0% y ferias libres 46,91%. Para *C. cladosporioides*, al comparar otoño con invierno, la prueba de Chi cuadrado mostró un valor de $p=0.05$. Al realizar la prueba exacta de Fisher comparando otoño con invierno, se obtuvo diferencias significativas para los siguientes taxa: *Fusarium* spp. con un valor de $p=0.05$, *C. cladosporioides* con $p=0.03$ y *Polsonii* con $p=0.01$. Al comparar locales establecidos con ferias libres no se encontraron diferencias significativas.

DISCUSION

El tomate, es un fruto climatérico que tiene la capacidad de generar etileno, la hormona necesaria para que el proceso de maduración continúe, aún separado de la planta, esto le permite alcanzar el color rojo intenso que lo caracteriza. Como regla general, cuanto más avanzada es la madurez menor es la vida de postcosecha y es mayor la probabilidad de colonización microbiana superficial, por lo que, para los mercados distantes los frutos climatéricos deben ser cosechados lo más inmaduros posible [25].

La contaminación del fruto del tomate depende de varios factores ecológicos relacionados principalmente con su época de pre y post cosecha, la vegetación circundante, las condiciones climáticas, el aire, el agua de riego, el transporte, los insectos y en especial el aporte de microorganismos del suelo (26, 27) Además el fruto puede dañarse en el momento de ser cosechado por su manejo y empaquetado y transporte, especialmente cuando los contenedores son de madera (28).

El daño inicial del fruto, lleva posteriormente en el tiempo, al inicio de su pudrición, donde los principales hongos de postcosecha descritos en la literatura son: *Alternaria solani*, *A. alternata*, *A. arborescens*, *Aspergillus* spp., *Botrytis cinerea*, *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., *Geotrichum candidum*, *Mucor hiemalis*, *Penicillium* spp., *Rhizopus stolonifer* y *Trichoderma* spp. (13, 14, 15, 26).

En nuestra investigación, que no guarda relación con la pudrición de esta solanácea, se detectaron en la superficie sana del fruto una alta presencia de hongos filamentosos, muchos de ellos detallados en el párrafo anterior como causantes de pudrición, además de la presencia de levaduras y bacterias. La susceptibilidad del tomate de post cosecha a los efectos de la contaminación y pudrición es causada generalmente por la senescencia, los cambios fisiológicos y el tiempo de almacenamiento,

en dependencia del clima y la zona geográfica analizada, pudiendo llegar a pérdidas del producto en tránsito a los lugares de expendio con porcentajes que oscilan entre un 20 al 50% (16, 28).

La literatura relacionada a la micota epífita del fruto sano previo a la venta es muy escasa, esta situación no nos permite comparar nuestros resultados con los obtenidos en otras áreas geográficas con la misma metodología, sin embargo, se puede asociar algunos de nuestros hallazgos fúngicos con los encontrados en postcosecha o en pudrición en otros países con climas diferentes al de nuestra zona central (12, 13, 16, 23, 28, 29). Debe destacarse que los hongos con capacidades fitopatogénicas, pueden actuar al mismo tiempo como saprófitos bajo circunstancias favorables, esta premisa es seguramente la situación que puede apreciarse en nuestros resultados donde muchos de nuestros aislamientos caen dentro de estas 2 categorías. En Egipto (12), los principales hongos asociados al tomate sano, fueron *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium tularensense*, *P. expansum*, *Stemphylium eturmiunum* y *S. lycopersici*. Esto difiere de nuestros resultados, a pesar que *A. niger* y *Alternaria alternata* estuvieron presentes en algunas muestras, estos taxa no fueron dominantes como los integrantes del género *Cladosporium*. Algo similar obtuvieron estudios efectuados en Nigeria (16), con predominio de *R. oryzae*, *R. stolonifer* varias especies de *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium*.

Estas variaciones se deben seguramente al tipo de clima cálido reinante durante todas las estaciones en estos países. En Turquía se estudió los tomates y las pastas de tomate encontrándose principalmente los integrantes de los siguientes géneros: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* y *Trichoderma*, siendo *Aspergillus flavus* y *A. niger* los de mayor tasa de incidencia (14).

Mientras en Florida (USA), con un clima más templado, la pudrición del tomate en cajas de madera en cuartos de maduración, se aisló *R. stolonifer*, *Mucor hiemalis* y *G. candidum* entre los más dañinos patógenos (28). Estos resultados coinciden en parte con algunos de los nuestros, en especial con *G. candidum*, *M. hiemalis* y *R. stolonifer* que solo estuvo presente en la parte final del otoño

G. candidum, es un hongo cosmopolita común del suelo, agua, aire, cereales, arroz, textiles, tomates, jugos de fruta, pastelería y productos lácteos y es parte de la microbiota endógena del hombre actuando en la descomposición de la materia orgánica (31). Además puede sobrevivir en ambientes con poca cantidad de oxígeno y adherirse a muchas superficies (32). En una investigación de 146 muestras de tomates contaminados con hongos en USA tomados de una planta procesadora de ketchup, fue

aislado en un 31% de las muestras (33). En tomates causa la pudrición ácida, la cual se caracteriza por no tener olor a ácido láctico.

El aumento del pH a medida que aumenta la maduración del tomate colonizado por hongos se atribuye a las actividades proteolíticas de la mayoría de estos microorganismos (hongos filamentosos y levaduras) y en especial a *G. candidum*, que se presenta como contaminante ya sea en el tomate fresco, maduro o dañado, favoreciendo las condiciones de crecimiento de varios serotipos de *Salmonella* capaces de causar enfermedades y daño en salud pública (34, 35).

El género *Cladosporium*, (Davidiellaceae, Capnodiales, Dothideomycetes, Ascomycota) (22, 36), fue dominante en nuestra investigación. Es uno de los géneros más heterogéneos de los llamados hyphomycetes, que incluye más de 772 nombres de especies (37), con capacidades mayoritariamente saprofitas pero también endofíticas, fungícolas, fitopatogénicas y potencialmente patógenas en humanos, especialmente alergénicas (39). Los miembros saprofitos de *Cladosporium* se presentan en toda clase de hojas muertas y senescentes, tallos herbáceos y plantas leñosas y como invasores secundarios en hojas con lesiones necróticas causadas por otros hongos. Se aísla frecuentemente del aire, suelo, alimentos, pinturas, textiles y otras variadas materias orgánicas, como también del filoplano vegetal (34,38). Más aún, algunas especies como *C. herbarum*, *C. cladosporioides* y *C. sphaerospermum*, son comunes contaminantes en laboratorios clínicos y medios de cultivos. A pesar de la relevancia de este género, no existe aún un tratamiento taxonómico moderno, sin embargo, algunas revisiones y monografías se han efectuado en las últimas décadas (35, 37, 39, 40). David 1997 (40), demostró que la estructura de los locus conidiógenos de *Cladosporium*, y *Heterosporium* son similares y por lo tanto ambos géneros son sinónimos, al mismo tiempo, introdujo el término de «coronado» para el tipo de cicatriz de unión de los conidios.

En la literatura, se cita frecuentemente *Passalora fulva* (= *Cladosporium fulvum* = *Fulvia fulva*) como agente causal de cladosporiosis en plantas de tomate, especialmente en los cultivados en invernaderos (10, 41), sin embargo, en nuestro estudio no se aislaron colonias de este hongo. Esto puede asociarse a la presencia de genes de resistencia en la mayoría de las plantas comerciales de tomate o a un control previo a la cosecha del fruto mediante fungicidas (41, 42).

Los integrantes del género *Cladosporium* aislados de la superficie del tomate, representaron más del 50% de todas las colonias de hongos filamentosos encontrados donde *C. cladosporioides* y *C. sphaerospermum* integran prácticamente la mayoría del taxon. Su asociación con el

fruto en postcosecha puede deberse a su presencia en el pedúnculo o asociarse a su amplia distribución en el ambiente circundante a los cultivos de esta solanácea, mediante dispersión aérea, riego, lluvias o neblinas (43). Los conidios de ambas especies, son muy frecuentes en la atmósfera de todo el planeta especialmente en primavera y verano incluyendo nuestro país, ocupando alrededor de un 70% de la micota, especialmente en otoño (44, 45).

Es importante mencionar la poca diversidad de especies de *Cladosporium* aislados (3 taxa), en comparación con otros géneros que fueron menos dominantes y presentaron un mayor número de especies.

C. sphaerospermum en especial, es un hongo de gran plasticidad morfológica (28) y se considera un complex de especies, muchas de estas aisladas incluso de ambientes hipersalinos y substratos orgánicos, incluyendo plantas y paredes de baños, considerándose un halotolerante (23). Se ha aislado de ambientes osmóticamente con alto estrés, pero también de nichos ecológicos sin estrés y puede crecer a una baja actividad de agua (a_w 0,86-0,81). Sus cualidades como endófito en raíces en diversos vegetales ha sido estudiado recientemente en varias plantas de cultivo, entre ellas *Glycine max* (Soja), promoviendo el crecimiento de esta planta. Esta relación simbiótica mutualística es por ende benéfica para ambos integrantes, con resultados exitosos en agricultura (48).

La planta de tomate y el fruto son susceptibles a varios ataques por hongos, en especial a las especies del complex *A. alternata*, no obstante en nuestra investigación obtuvo baja representación salvo en Otoño (seguramente incluyó *A. arborescens* (= *A. alternata* f.sp. *lycopersici*) (30, 58). *A. alternata* y otras spp. pueden producir en los tomates las toxinas eter monometil alternariol y alternariol (60)

Los integrantes del género *Penicillium*, tuvieron generalmente bajos aislamientos pero buena constancia en especial en otoño, con dominancia de especies integrantes del subgénero *Penicillium*. Destaca entre ellos por su marcada frecuencia en otoño *P. olsonii* dentro de la sección *Coronata* Pitt y la serie *P. olsonii*, Pitt. Actualmente se incluyen en esta sección 3 especies similares como *P. brevicompactum* (escasamente representado) y *P. biolowiense*, todos ellos difieren en la complejidad de sus penicilios, generalmente compactos y apretados (47). Estas especies son cosmopolitas, destacándose *P. olsonii* por ser el más frecuente de todos y de hábitat común en zonas tropicales montañosas, especialmente en zonas de cultivo de café. Sin embargo, está disperso también en áreas subtropicales, especialmente en viveros y comúnmente se asocia al fruto de tomate en varias regiones del mundo como hábitat primario (34, 47), siendo capaz de deteriorar el fruto ya sea sobre la planta como en su distribución comercial y almacenamiento (21).

También se ha encontrado en la maduración de los salames, en porotos, así como en suelos con plantas ornamentales y en ambientes internos de viviendas. *P. olsonii* no tiene una fase sexual, sin embargo, algunos de sus aislamientos producen esclerocios largos y blancos, en especial en los aislados tropicales. Puede producir algunos metabolitos tóxicos tales como verrucolone, 2(4-hidroxifenil)-2-oxoacetoaldeideoxima, entre otros (21). Una de las características de *P. olsonii* es su más rápido crecimiento que las otras 2 especies incluidas en la sección.

Las 58 especies de *Penicillium* actualmente incluidas dentro del subgénero *Penicillium*, producen un gran número de compuestos bioactivos (metabolitos secundarios), incluyendo varias micotoxinas. Un mínimo de 132 familias de compuestos tóxicos se han reportado, con un rango de 5 familias de compuestos (extrolitos) por especie. Los más dispersos son la roquefortina C, (producida por 25 especies), las cyclopeninas (17 especies) y la patulina (13 especies). La toxina nefrotóxica ocratoxina A (2 especies) y la citrinina (alrededor de 13 especies). Esta capacidad de producir metabolitos secundarios tóxicos debe considerarse, en especial debido a que la mayoría de los penicilios no clasificados corresponden a este subgénero. Una amplia revisión del tema con más detalles y mayor cantidad de diversos compuestos secundarios puede obtenerse en el trabajo de Frisval *et al.*, 2004 (57). *P.tularensis*, se ha encontrado en tomates de supermercados que desarrollaron lesiones por hongos, esta especie puede producir sustancias tóxicas, entre ellas: paspalinas, paxilina y 3-0 acetoxipaxilina (59).

Los integrantes del género *Fusarium* fueron escasos en nuestro análisis y solo destaca en ufc. *F.oxysporum*, que potencialmente puede producir Tricotecenos inmunosupresivos y tóxicos (del tipo toxina T-2, toxina HT-2 y diacetoxyscirpenol). *F. sporotrichioides* produce también la toxina T-2, como algunas cepas de *F.solani*. *F. verticillioides* (= *F. moniliforme*), es un gran productor de fumonisinas mientras el complejo *F. graminearum* (*Gyberella zeae*) y *F. culmorum* son productores de deoxinivalenol (53, 54). Las especies de *Fusarium* se encuentran en los vegetales antes de la cosecha, persistiendo en los productos almacenados, si la actividad del agua es apropiada, causando contaminación y deterioro del alimento, sin embargo, no tienen la capacidad de competir con las especies de *Aspergillus* y *Penicillium* (47).

El género *Aspergillus* lo constituyen más de 250 especies y sólo 3 fueron aisladas en escasa cantidad en nuestra investigación. El complejo *A.niger*, que se presentó escasamente sólo en otoño, marca una diferencia con otras investigaciones de zonas más cálidas, donde los integrantes del género superan el 60% de las especies aisladas (14) y *A.niger* el 80% (12). La importancia de sus especies radica en su capacidad de crecer a 37°C o más y

la inhalación de sus conidios pueden afectar al ser humano con compromiso inmune produciendo diversos cuadros clínicos de aspergilosis. Además pueden producir un gran número de productos extracelulares tóxicos para las células de los mamíferos (55). Los *Aspergillus* de la sección **Nigri** (de conidios negros), representan algunos de los más comunes contaminantes en alimentos y pueden producir diferentes metabolitos secundarios tóxicos para los humanos y animales. Entre los más problemáticos tenemos la ocratoxina A, presente en solo el 6% de las cepas de *A.niger* (el más común de los integrantes de la sección) y a veces la fumonisina B₂ (56).

La pudrición por *Botrytis cinerea* es una de las enfermedades más importantes en tomates cultivados en invernaderos en Chile, pudiendo afectar a las hojas, flores, frutos y tallos (15, 41). En Argentina se han hecho estudios demostrando antagonismos contra *B.cinerea*, uno se refiere a la importancia de las levaduras como control biológico del patógeno en el período de post cosecha del tomate (61). Otro estudio demostró que existe antagonismo entre las cepas *Epicoccum nigrum*, *Trichoderma harzianum* y *Fusarium* spp. con *B. cinerea* (62). En nuestros resultados, la mayoría de las muestras presentaron gran cantidad de levaduras, quizás una de las razones por las cuales *B. cinerea* fue aislado una sola vez. Con respecto a los otros antagonistas mencionados solo las especies de *Fusarium* estuvieron presentes con baja frecuencia en las muestras.

La producción de micotoxinas depende de varios factores como: el tipo de vegetal, zona geográfica, condiciones climáticas, tratamientos de pre cosecha, métodos de cosecha, tratamientos de postcosecha y condiciones de almacenamiento (49,50). Pueden estar presentes como contaminantes naturales en frutas y hortalizas, tienen gran importancia debido a su capacidad de desencadenar diversas alteraciones y cuadros patológicos en el hombre y animales (51), por lo que es necesario reducir al máximo la posibilidad de desarrollo de micotoxinas en las frutas y hortalizas. Existe un gran número de micotoxinas identificadas, siendo unas de las más importantes las aflatoxinas, ocratoxinas, tricotecenos y fumosinas debido a su alta toxicidad (50, 52).

A pesar que nuestros resultados no evidencian que los hongos de este fruto tengan relación con micosis en los mamíferos, pueden ser un aporte a los conocimientos de la ecología y distribución de ciertos hongos oportunistas, alergénicos o potenciales productores de micotoxinas.

CONCLUSIONES

En la epidermis del fruto del tomate sano, se detectaron entre sus integrantes en ambas estaciones 24

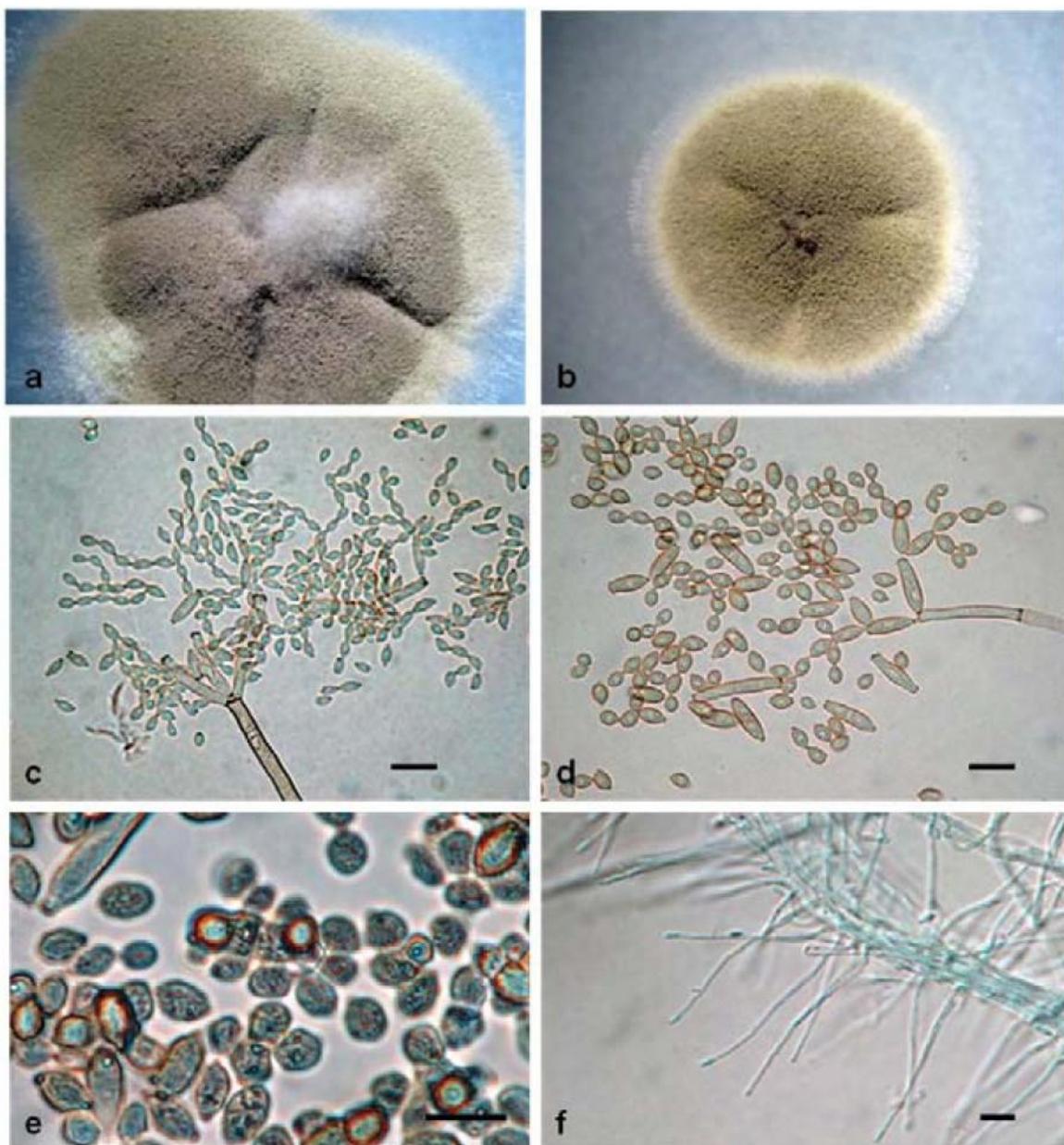


Figura 2. a) Colonia de *Cladosporium cladosporioides*. b) Colonia de *C. sphaerospermum*. c) *C. cladosporioides*, conidióforo, ramoconidios, conidios. d-*C. sphaerospermum*, conidióforo, ramoconidios, conidios y vista de conidios rugosos en burbuja de aire. f) *Acremonium strictum*, conidióforos desde fascículos y conidios. Barra =10µm

géneros y 34 especies de hongos filamentosos. Estos taxa que representan comportamientos ecológicos saprofiticos patogénicos u oportunistas; fueron principalmente: *C. cladosporioides*, *C. sphaerospermum*, *G. candidum*, *P. olsonii*, entre varias especies de *Fusarium*, *Penicillium*, *Acremonium* y *Aspergillus*. A pesar que nuestro objetivo fue identificar solamente los hongos filamentosos, se consideraron también las levaduras blancas y rosadas (solo enumerándolas), las cuales mantuvieron altos índices

de presencia especialmente en otoño.

No existen diferencias significativas entre los hongos epífitos del fruto del tomate aislados en distintos puntos de distribución comercial.

Existen diferencias significativas en algunos de los hongos epífitos del tomate en diferentes épocas del año como es el caso de *C. cladosporioides*, *Fusarium* spp. y *P. olsonii*, entre otoño e invierno. Al comparar locales establecidos con ferias libres no se encontraron diferen-

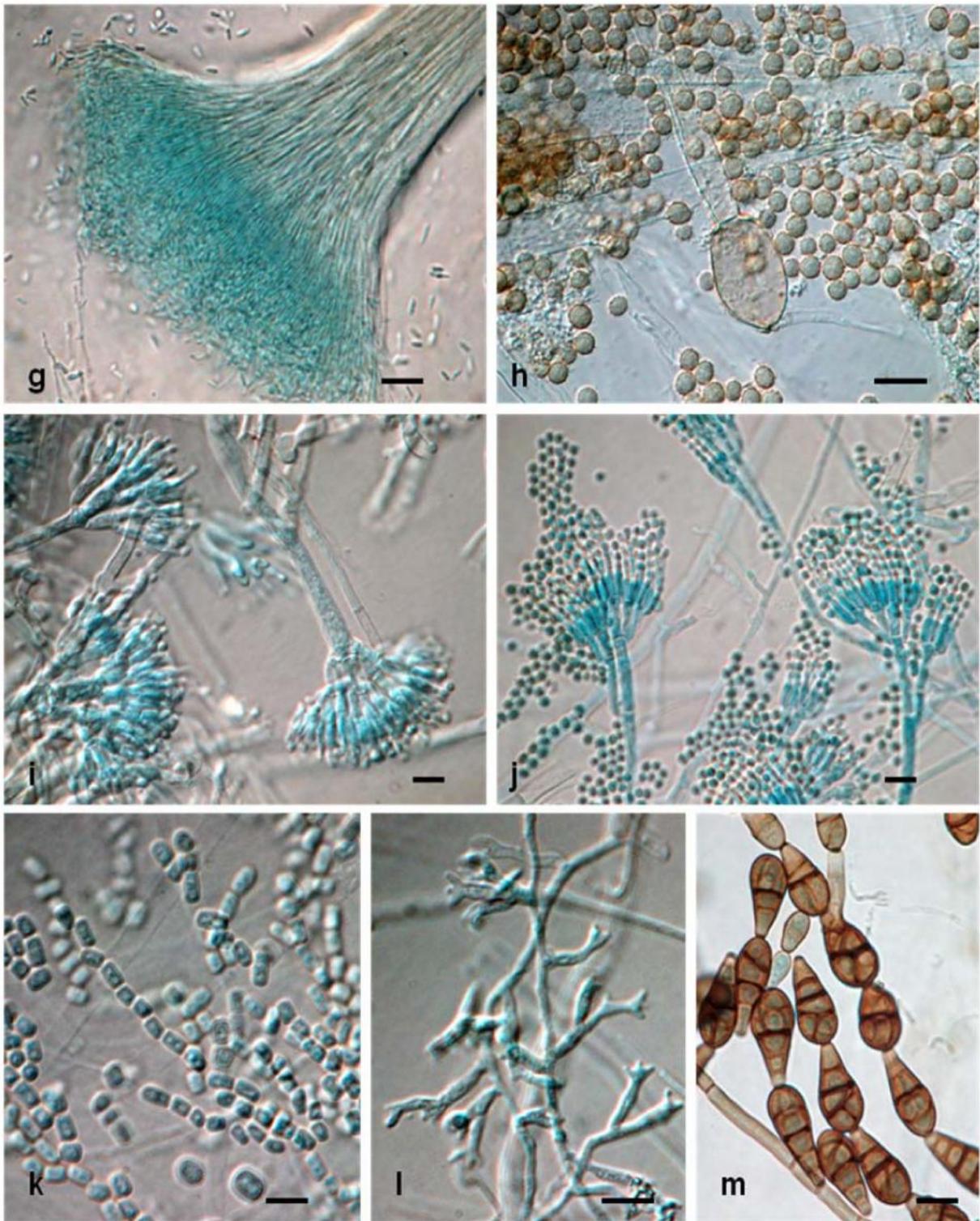


Figura 3. g) *Graphium* anamorfo de *Ophiostoma piceae*, sinnema, anélides y conidios. h) *Mucor plumbeus*, esporangióforo, columela y esporangioconidios. i) *Penicillium olsonii*, conidióforos, métulas, fiálides y conidios. j) *Penicillium chrysogenum*, conidióforos, métulas, fiálides y conidios. k) *Geotrichum candidum*, hifas desarticuladas en artroconidios. l) *Fusarium sporotrichioides* fiálides poliblasticas. m) *Alternaria alternata* complex, conidióforo y conidios tréticos en cadenas. Barra=10µm

cias significativas. Varios taxa fueron similares a los aislados en otras áreas geográficas, lo que indica cierta especificidad de su micota.

REFERENCIAS

1. Leon, J. (2000). Botánica de cultivos tropicales. 3ª Edición. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José. 445 p.
2. Sustainable tomato production Pest Management. Notes No. 13. Disponible en <http://www.pan-uk.org/g/Internat/IPMinDC/pmn13.pdf>
3. T euber, Osvaldo . (2006). Región de Aysén. Potencialidad Hortícola de sus valles. Tierra adentro 39:17
4. ODEPA. (2005). Mercado del tomate para consumo en fresco www.odepa.gob.cl/odepa/web/.
5. Bruna V . & Tobar, C. (2004). Determinación de *Phytophthora nicotinae* , causante del cancro del tallo de tomate en Chile. Agricultura técnica 64:223-330
6. Escaff, M.; Saavedra, G . & Blanco, C. (2001). Especies hortícolas destacadas como fuente de nutraceuticos. Tierra Adentro 71:17
7. Alia, T.I. (2000). Temperaturas de almacenamiento y maduración en frutos de mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. More & Stearn). Revista Chapingo Serie Horticultura 6:73-77
8. Del Huerto, C. M. (2002). Manejo de enfermedades en cultivos protegidos de tomate. Instituto nacional de tecnología agropecuaria (INTA) Argentina. Revista IDIA XXI
9. Guía Productores de hortalizas . (2006). En: http://vegetablemendonline.ppath.cornell.edu/NewsArticles/Tomato_Spanish.pdf
10. Pérez, G . A. (1999). Encuentros en la Biología. N°59 Departamento de Microbiología de la Universidad de Málaga
11. Torres, E.; Innacone, J. & Gomez, H. (2008). Biocontrol del moho foliar del tomate *Cladosporium fulvum* empleando cuatro hongos antagonistas. Bragantia vol.6 no.
12. Abdel-Mallek, A.Y; Hemida, S.K. & Bagy , M.M.K. (1995). Studies on fungi associated with tomato fruits and effectiveness of some comercial fungicides against three pathogens. Mycopathologia 130:109-116
13. Iwu, L. & Oladiran, A. (1993). Studies on the fungi associated with tomato fruit rots and effects of environment on storage. Mycopathologia. 121:157-161
14. Kalyoncu, F .; Tammer, Ü. & Oskay , M. (2005). Determination of Fungi Associated with Tomatoes (*Lycopersicon esculentum* M.) and Tomato Pastes. Plant Pathology Journal 4:146-149
15. Mahovic, M. J.; Steven, A.S.; Jerry . A. B.; Elena E. L. K. (2008)- Identificación y Control Postcosecha de las Enfermedades del Tomate en la Florida. edis.ifas.ufl.edu/TOPIC_SPA_Postharvest
16. Shehu, K.; Muhammad. S. & Amusa, N. A. (2004). Survey of the market diseases and aflatoxin contamination of tomato (MILL) fruits in Sokoto, northwestern Nigeria. Nutrition & Food Science 34:72 -76
17. Cantwell, M. & Suslow , T. V. (2002). Recomendaciones para mantener la calidad postcosecha. Tomate: (Jitomate). Department of Vegetable Crops, University of California, Davis, CA 95616
18. Domsh, K.H.; Gams, W. & Anderson, T. (1993). Compendium of soil fungi. Vol I, II, Academic Press, London.
19. Nelson, P.E.; Toussoun, T.A. & Cook, R.J. (1982) *Fusarium*, diseases, biology and taxonomy . Pennsylvania State Univ . Press.
20. Pitt, J. I. (2000). A laboratory guide to common *Penicillium* species. 2ª ed. Food Science Australia.
21. Samson, R. A.; Hoekstra, E.; Frisvad, J. & Filtenborg, O. (2004). Introduction to food and airborne fungi. 7ª Edition, CBS.
22. Scubert, K.; Groenewald, J.Z.; Braun, U.; Dijksterhuis, J.; S tarink, M.; Hill, C.F .; Zalar , P.; Hoog, G .S. de.; Cr ous, P.W. (2007). Biodiversity in the *Cladosporium herbarum* complex (Davidiellaceae, Capnodiales), with standardisation of methods for *Cladosporium* taxonomy and diagnostics. Studies in Mycology 58:105-156
23. Zalar , P.; Hoog, G .S.; Schr oers, H.-J.; Cr ous, P .W.; Groenewald, J.Z.; Gunde, N. (2007). Phylogeny and ecology of the ubiquitous saprobe *Cladosporium sphaerospermum* with descriptions of seven new species from hypersaline environments. Studies in Mycology 58:157-183
24. Ho, M.H.-M.; Castañeda, R.F .; Dugan, F .M. & Jong, S.C. (1999). *Cladosporium* and *Cladophialophora* in culture: description and an expanded key . Mycotaxon 72:1 15-157
- 25 Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas. (2005). Depósito de documentos de la FAO Disponible en: <http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4893S/y4893s04.htm>
26. Filtenborg, O.; Frisvad, J. C. & Thrane, U . (1996). Moulds in food spoilage. International journal of food microbiology 33:85-102
27. Göçmen, H. & Özkan, V.K. (2001). A research on the microfungi flora of some greenhouse soils in the vicinity of Lapseki Çanakkale Turkey. Mycopathologia, 153:103-112
28. Sonoda, R.M.; Hayslip, N.C. & Stof fella, P ., J. (1981) Tomato fruit rot infection cycle in a fresh market packing operation. Universidad de Florida.
29. Sommer, N.F .; For tlage, R.J. & Edwards, D.C. (1992).. Postharvest diseases of selected commodities Chapter 15. In: A.A. Kader, Editor , Postharvest Technology of Horticultural Crops, University of California, Oakland, CA. pp. 117-160
30. Dijksterhuis, J. & Samson, R.A. (2007). Food Mycology: A Multifaceted Approach to Fungi and Food. CRC Press.
31. Emrick, J.H. (1977). Machinery mold: indicator of insanitation in food plants. Food Prod./Management 34:14-16

32. Baudoin, A.B.A.M. & Eckert, J.W. (1982). Factors influencing the susceptibility of lemons to infection by *Geotrichum candidum*. *Phytopathology* 72:1592-1597
33. Mislivec, P. B.; Bruce, V.R.; Sack, M.E. & Bandler, R. (1987). Molds and tenuazonic acid in fresh tomatoes used for catsup production. *J. Food Prot.* 50:38-41
34. Islam, M. & Hasin, F. (2000). Studies on phylloplane mycoflora of *Amaranthus viridis* L. *National Academy Science Letters, India* 23:121-123
35. Wade, W. N.; Vasdinnyeb, R.; Deakb, T. & Beuchata, L. R. (2003). Proteolytic yeasts isolated from raw, ripe tomatoes and metabiotic association of *Geotrichum candidum* with *Salmonella*. *International Journal of Food Microbiology* 86:101-111
36. Braun, U.; Crous, P.W.; Dugan, F.M.; Groenewald, J.Z.; Hoog, G.S. de. (2003). Phylogeny and taxonomy of cladosporium-like hyphomycetes, including *Davidiella* gen.nov., the teleomorph of *Cladosporium* s.str. *Mycological Progress* 2:3-18.
37. Dugan, F.M.; Schubert, K. & Braun, U. (2004). Check-list of *Cladosporium* names. *Schlechtendalia* 11:1-103
38. Levetin, N. E. & Dorsey, K. (2006). Contribution to leaf surface fungi to the air spora. *Aerobiologia* 22:3-12
39. Hoog, G.S. de.; Guarnó, J.; Gené, J. & Figueras, M.J. (2000). *Atlas of clinical fungi*, 2nd ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht and Universitat Rovira I Virgili, Reus
40. David, J.D. (1997). A contribution to the systematics of *Cladosporium*. Revision of the fungi previously referred to *Heterosporium*. *Mycological Papers* 172:1-157
41. Escarot, M.; Gil, P.; Ferrera, R.; Estay, P.; Bruna, A.; Maldonado, P.; Barrera, C. (2005). Cultivo del tomate bajo invernadero. *Boletín INIA* 128.pp. 79
42. Jaevic, B. (2001). Parasitic Diseases of Tomato, Publicación De La Univ. De MN, Número 248 Disponible en: <<http://www.extension.umn.edu/info-u/spanish/sp248.html>>
43. Bustan, A.; Cohen, S.; Erlich, O. & Tsror, L. (2007). *Cladosporium* species and *Alternaria alternata* cause serious postharvest early calyx decay (PHED) in truss tomatoes in Israel. *New Disease Reports* 15:7-12
44. Aira M.; Jato V.; Iglesias I. et al. (2005) Calidad del aire. Polen y esporas en la Comunidad Gallega. Xunta de Galicia. Consellería del medio ambiente
45. Henriquez, V. I.; Villegas, G. R. & Nolla, J.M. (2001). Airborne fungi monitoring in Santiago, Chile. *Aerobiologia* 17:137-142
46. Frisval, J. C. & Samson, R. A. (2004). Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Studies in Mycology* 49:1-174
47. Samson, A. R. & Frisvad, J. (2004). *Penicillium* subgenus *Penicillium*: new taxonomy schemes, mycotoxins and other extrolites. *Studies in mycology* 49. CBS Utrecht. Netherland pp.53-60.
48. Muhammad, H.; Sumera, A.K.; Nadeem, A.; Dong-Sheng, T.; Sang-Mo, K.; Chae-In, N.; Eun-young, S.; Young-Hyun, H. et al. (2009). *Cladosporium sphaerospermum* as a new plant growth-promoting endophyte from the roots of *Glycine max* (L.) Merr. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 25:627-632
49. Barkai, R.; Golan, L. & Paster, N. (2008). Moldy fruits and vegetables as a source of mycotoxins. *World Mycotoxin Journal* 11:147-159
50. Swanson, B.G. (1987). Mycotoxins on fruits and vegetables. *Acta Horticulturae* 207:49-61
51. Desjardins, A. E. (2006). *Fusarium* Mycotoxins, Chemistry, Genetics, and Biology. APS Press
52. Abarca, M. L.; Bragulat, M. R. & Castellá, G. (2000). Hongos productores de micotoxinas emergentes. *Rev. Iberoam. Micol.* 17 S: S63-S68
53. Jackson, L.S.; DeVries, J.W. & Bullerman, L.B. (1996). *Fumonisin in Food*. Plenum Press, New York.
54. Moss, M.O. & Thrane, U. (2004). *Fusarium* taxonomy with relation to trichothecene formation. *Toxicology letters* 153:23-28
55. Sanabria, F., S. (2009). Aspergilosis pulmonar (revisión bibliográfica). *Rev. Med. Costa Rica y Centroam.* 66:67-71
56. Nielsen KF, Mogensen JM, Johansen M, Larsen TO, Frisvad JC. (2009). Review of secondary metabolites and mycotoxins from the *Aspergillus niger* group. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 395:1225-1242
57. Frisvad, J.C.; Smedsgaard, J.; Larsen, T. O. & Samson, R.A. (2004). Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. *Studies in Mycology* 49:201-241
58. Morris, P.F.; Connolly, M.S. & St Clair, D.A. (2000). Genetic diversity of *Alternaria alternata* isolated from tomato in California assessed using RAPDs. *Mycological Research* 104: 286-292
59. Andersen, B. & Frisvad, J.C. (2004). Natural occurrence of fungi and fungal metabolites in Moldy tomatoes. *J. Agr. Food Chem.* 52:7507-7513
60. Motta, S. & Soares, L.M. V. (2000). A method for the determination of two *Alternaria* toxins, alternariol and alternariol monomethyl ether, in tomato products. *Braz. J. Microbiol.* 31:315-320
61. Dal Bello G.; Monaco, C.; Rollan, M. C.; Lampugnani, G.; Arteta, N.; Abramoff, C.; Ronco, L.; Stocco, M. (2008). Biocontrol of Postharvest Grey Mould in Tomato by Yeasts. *Journal of Phytopathology* 156:257-263
62. Monaco, C.; Dal Bello, G.; Rollan, M. C.; Ronco, L.; Lampugnani, G.; Arteta, N.; Abramoff, et al. (2009). Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato using naturally occurring