

## EL GENERO *ALTERNARIA*: CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y CAPACIDAD DE PRODUCCIÓN DE MICOTOXINAS

FABREGA, A., AGUT, M.\* Y CALVO, M<sup>a</sup> A.

### 1. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DIFERENCIALES

El género *Alternaria* forma parte de los *Fungi Imperfecti* y concretamente en la sub-clase de los Hifomicétidos, se caracteriza por poseer un soma formado por hifas septadas bien desarrolladas y presentar reproducción por medio de conidios pluricelulares que siguiendo la terminología saccardoana, se denominan dictiosporas feodicticas y se caracterizan por ser ovoides a oblongos, netamente septados transversalmente y longitudinalmente. Los conidios son dematiáceos.

En la taxonomía actual, el género *Alternaria* queda incluido entre los hongos con desarrollo conidial blástico y conidiogénesis enteroblástica trética. Los conidios forman largas cadenas y su morfología es típicamente obclavada y rostrada.

Ellis en 1971 y posteriormente en 1976, revisó la taxonomía del género *Alternaria*, señalando que ya en el año 1816, Nees, describía a este género en los términos siguientes: «Las colonias son de color marrón, gris o de color humo a verde oliva, a menudo cubiertas ligeramente por hifas aéreas coloreadas. Las hifas son septadas y oscuras los conidióforos también son oscuros, septados, algunas veces inconspicuos, ramificados o simples con conidios en el extremo; los conidios son de aspecto muriforme, pigmentados en colores oscuros, de paredes lisas o rugosas, ovales a elongados con el extremo generalmente atenuados, producidos en simples o ramificados en cadenas acropétalas».

Fries en el año 1821, expone su trabajo sobre el género que en 1832 denominó *Macrosporium* y catorce años después Mont modificó el nombre pasando a *Rhopalidium*.

Ellis en 1971, aportó una nueva definición del género *Alternaria*, expresándola en los términos siguientes:

«Las cepas del género *Alternaria*, presentan unas colonias de color grisáceo, marrón negruzco o negro. El micelio es parcialmente superficial o sumergido; las hifas

---

\* Universidad Ramón Llull. IQS. Barcelona.

son coloreadas marrón oliváceas u oliváceas. La formación de estroma es poco frecuente y carece de setas y de hifopodios. Los conidióforos son macronematosos, mononematosos, simples o irregulares y ligeramente ramificados, son de color marrón pálido y se presentan solitarios o en fascículos. Las células conidiógenas son integradas, terminales, politréticas, simpodiales o a veces monotréticas y cicatrizadas. Los conidios pueden presentar una distribución formando cadenas o ser solitarios, son típicamente ovoides u obclavados, a menudo rostrados, con coloración pálida o marrón oliváceo o marrón, lisos o verrugosos, con septas transversales y frecuentemente también oblicuas o longitudinales».

A nivel de especie, Keissler en 1812, establece *Alternaria alternata* que había sido descrita por Fries como *Torula alternata*, posteriormente Nees y Persons, en 1816 y 1817 respectivamente, denominaron a esta especie *Alternaria tenuis*.

Desde los estudios de Elliot en 1917, diversos autores centraron su atención en las especies del género *Alternaria* y a partir de los estudios realizados por Simmons en 1967, se aceptan como sinónimos las dos nomenclaturas: *Alternaria alternaria* y *Alternaria tenuis*.

Ellis en 1971, cita las veintisiete especies más frecuentes establecidas previamente por Elliott, Neergaard y Joly en función del sustrato del que pueden ser aisladas.

En la Tabla 1, se indican las especies así como los sustratos del que han sido fundamentalmente aisladas.

<i>Sustrato</i>	<i>Especie</i>
Cosmopolita	<i>A. alternata</i> , <i>A. longissima</i> , <i>A. tenuissima</i>
<i>Allium spp</i>	<i>A. porri</i>
<i>Carthamus spp</i>	<i>A. carthami</i>
<i>Cheiranthus spp</i>	<i>A. cheiranthi</i>
<i>Chrysanthemum spp</i>	<i>A. chrysanthemi</i>
<i>Cichorium spp</i>	<i>A. cichorii</i>
<i>Citrus spp</i>	<i>A. citri</i>
<i>Cruciferaeae</i>	<i>A. brassicae</i> , <i>A. brassicola</i>
<i>Cucurbitaceae</i>	<i>A. cucumerina</i>
<i>Datura spp</i>	<i>A. crassa</i>
<i>Daucus spp</i>	<i>A. dauci</i> , <i>A. radicina</i>
<i>Dianthus spp</i>	<i>A. dianthi</i> , <i>A. dianthicola</i>
<i>Gossypium spp</i>	<i>A. macrospora</i>
<i>Nicotiana spp</i>	<i>A. longipes</i>
<i>Oryzae spp</i>	<i>A. padwickii</i>
<i>Passiflora spp</i>	<i>A. passiflorae</i>
<i>Raphanus spp</i>	<i>A. raphani</i>
<i>Ricinus spp</i>	<i>A. ricini</i>
<i>Sesamum spp</i>	<i>A. sesami</i>
<i>Solanum spp</i>	<i>A. solani</i>
<i>Sonchus spp</i>	<i>A. sonchi</i>

TABLA 1. *Relación de especies y sustratos del que han sido aisladas.*

Posteriormente, Ellis en 1976 amplió el número de especies hasta cuarenta y dos. Las nuevas especies son:

*Alternaria chlamydospora*, *A. cinerariae*, *A. dennisii*, *A. gomphrenae*, *A. helianthi*, *A. multirostrata*, *A. papaveris*, *A. petroselini*, *A. phragmospora*, *A. pluriseptata*, *A. ramulosa*, *A. sparva*, *A. triticicola*, *A. triticina* y *A. zinniae*.

## 2. METABOLITOS SECUNDARIOS TÓXICOS ELABORADOS Y ACUMULADOS POR ESPECIES DEL GÉNERO *ALTERNARIA*

Las cepas del género *Alternaria* se aíslan con frecuencia a partir de alimentos destinados al consumo humano y animal (Nawaz y cols., 1977). Entre las toxinas del género *Alternaria*, se incluyen fitotoxinas (Ichihara y cols., 1983; Klotz, 1988; Lax y cols., 1988; Ram y cols., 1994) y micotoxinas que poseen una elevada toxicidad según se desprende de los estudios realizados en animales de laboratorio (Griffin y Chu, 1983; Scott y Stoltz, 1980, Yunginger y cols., 1980 e Ikins, 1991).

Los metabolitos del género *Alternaria*, con demostrada toxicidad responden a diferentes tipos de estructuras químicas (Stinson, 1985; Ram y cols., 1994). El grupo dibenzo- $\alpha$ -pireno cuyos principales representantes son: alternariol (AOH), alternariol monometil éter (AME) y altenueno (ALT): compuestos de hidroxiperilenoquinonas entre los que destaca el ácido tenuazónico (TA) que se trata de un ácido tetrámico y la tentoxina, un tetrapéptido cíclico.

Entre las toxinas elaboradas y acumuladas por cepas del género *Alternaria*, destaca la producción y acumulación del ácido tenuazónico (TA) que posee una elevada toxicidad. En el año 1980 Scott y Stolotz demostraron la capacidad de este compuesto de inhibir la síntesis proteica y del DNA. En el hombre, esta toxina ha sido implicada en desórdenes de tipo hematológico observado en regiones del sur de Africa y en el Sahara.

### 2.1. Biosíntesis de las principales micotoxinas del género *Alternaria*

#### 2.1.1. Biosíntesis del alternariol, alternariol monometil éter y altenueno

El alternariol (AOH), alternariol monometil éter (AME) y altenueno (ALT) son compuestos de estructura dibenzo- $\alpha$ -pireno que forman parte de un amplio grupo de metabolitos secundarios clasificados como policétidos.

Estudios realizados por Turner en 1976, y ampliados posteriormente por Pachter en 1980 plantearon la posibilidad de que el enzima policétido sintetasa pudiera originarse a partir de la disociación de la sintetasa de los ácidos grasos fúngicos (FAS), dado que al disociarse origina dos fracciones de las cuales una presenta estructura de tipo  $\alpha_4 \beta_4$ , composición que también se halla presente en el enzima policétido sintetasa.

En ambas síntesis se produce la condensación de acetyl-CoA y malonil-CoA, simultáneamente a la liberación de un terminal carbono ( $\text{CO}_2$ ) de la unión malonilo. Para la síntesis de los policétidos, la condensación continua sin hidrogenación hasta una cadena poli- $\beta$ -cetometileno de longitud adecuada.

En este punto de actividad de uniones metilénicas de los policétidos puede producirse una reacción espontánea con grupos carbonilos mediante una condensación

de Claisen o aldol, obteniéndose el compuesto aromático preciso y liberándose el enzima.

El crucial doble enlace puede formarse por deshidratación de un grupo carbonilo reducido o mediante un equilibrio ceto-enol cuando el oxígeno se libera en ausencia de NADPH. Este proceso de formación fue observado por Pachter (1980) para el alternariol (AOH).

Los restantes metabolitos clasificados también como policétidos se originan a partir del alternariol preformado.

Según Pachter, el AOH en presencia del enzima S-adenosil-metionina es transformado, mediante la transferencia del grupo metilo del enzima, obteniéndose el alternariol monometil éter (AME). Este se transforma en altenueno mediante un proceso de reducción. Las premisas establecidas por Pachter sobre la síntesis de estos compuestos fueron ratificadas por Hiltunen y Soederhaell en el año 1992.

Steyn y cols, 1980 establecieron la posibilidad de que las biosíntesis de los compuestos dibenzo-*a*-pirenos producidos por el género *Alternaria*, transcurra por una ruta similar a la síntesis de aflatoxinas por cepas del género *Aspergillus*, basada en la transformación de una antraquinona.

#### 2.1.2. Biosíntesis de alvertoxina I

La alvertoxina I (ATX-I) responde a una estructura dehidroxiperilenoquinona (Stinson y cols., 1982).

No se conoce el posible mecanismo de formación de este producto.

#### 2.1.3. Biosíntesis del ácido tenuazónico

El ácido tenuazónico es uno de los metabolitos secundarios tóxicos más frecuentemente producidos por cepas del género *Alternaria*. Este ácido tetrámico es elaborado asimismo por cepas de *Pyricularia oryzae* (Umetsu y Tamari, 1973) y *Phoma sorghina* (Steyn y Rabie, 1976; Rabie y cols. 1999) entre otros.

Stickings y Townsend (1961) indicaron que el ácido tenuazónico se forma a partir de una molécula de L-isoleucina y la unión de dos acetatos. Asimismo, estudios realizados por Gatenbeck y Sierankiewicz (1973) señalaron que cuando el medio de cultivo se suplementa con L-valina y L-leucina, *Alternaria* formaba el correspondiente ácido tetrámico. Estos resultados demostraron la implicación de los aminoácidos como precursores de la síntesis del ácido tenuazónico.

#### 2.1.4. Biosíntesis de la tentoxina

La tentoxina es una fitotoxina que responde a una estructura de tetrapéptido cíclico (Grable y cols., 1966, Koncewick y cols. 1973; Liebermann y Oertel, 1983; Meyer y

cols., 1971 y Woodhead y cols., 1975). La presencia de este compuesto en las plantas puede producir clorosis, posiblemente por inhibición del desarrollo de cloroplastos (Schadler y cols., 1976).

Estudios realizados por Sheu y Talburt, 1986 y Ramm y cols., 1994a, sugieren la intervención de aminoácidos como precursores de su biosíntesis. En este proceso, estaría implicado una multienzima con estructura de proteína polifuncional sin subunidades. La sintetasa implicada contiene grupos –SH activos y un integrante activo vados por metiltransferasa. Los aminoácidos precursores son activados por ATP y el enzima, produciéndose una N-metilación que puede tener lugar durante la unión enzima-amino-ácido o durante la elongación de la cadena péptida. La metionina es el principal donante de grupos metilo, pero la inmediata reacción de metilación requiere el enzima S-adenosil metionina (SAM).

El proceso de elongación puede tener lugar, bien a partir de la glicina mediante una unión alanina/metilalanina, fenilalanina/metilfenilalanina y leucina o bien por formación y unión de dos dipéptidos glicina-alanina/metilalanina y fenilalanina/metilfenilalanina-leucina.

Al final de este proceso se obtiene la dihidrotentoxina, precursora directa de la tentoxina, por ciclización. Posteriormente, la dihidrotentoxina se transforma en tentoxina. La dehidrogenación es catalizada, probablemente, por un enzima independiente de la sintetasa anteriormente citada (Liebermann, 1989). Este último proceso es reversible.

## **2.2. Influencia de las condiciones de cultivo en la producción de micotoxinas por cepas del género *Alternaria***

### *2.2.1. Efecto de la luz en la producción de micotoxinas*

Los estudios realizados por Soderhall y cols, 1978 sobre el efecto de la luz en la producción de las micotoxinas con estructura dibenzo-*a*-pireno concluyeron que al exponer cultivos de *Alternaria alternata* en fase de latencia a la luz blanca, se producía una inhibición en la producción del alternariol y del alternariol monometil eter. Sin embargo la formación de biomasa no se vió afectada bajo estas condiciones.

Durante la realización de esta experiencia, Soderhall y cols. 1978 detectó la producción de un pigmento rojo-marrón no característico. Su aparición fue atribuida a la utilización del acetil-CoA y malonil CoA por el hongo en la formación de este pigmento.

Estudios posteriores realizados por Hiltunen y Soederhaell, 1992, corroboran el efecto negativo de la luz blanca en la producción del alternariol y del alternariol monometil éter.

Hagblom, 1981, observó que cuando los cultivos de *Alternaria* eran expuestos de forma continua a la luz azul entre 400 y 500 nm, se producía una disminución en las producción del alternariol a un 69% y una disminución en la producción del alternariol monometil eter hasta un 77%. Esta disminución también fue acompañada de la producción del pigmento rojo, clasificado como un  $\beta$ -caroteno y su presencia está implicada

en un sistema de fotoprotección. Si la luz azul era sustituida por luz roja (550 a 750 nm) no se producía ninguna modificación de las micotoxinas.

### 2.2.2. Efecto de la temperatura en la producción de micotoxinas

Young y cols. 1980, estudiaron el efecto de la temperatura de incubación en la producción del ácido tenuazónico al desarrollar cepas de *Alternaria tenuissima* sobre extracto de levadura y sacarosa con suplemento de semilla de algodón. Los cultivos fueron sometidas a temperaturas entre 10° y 30°C, observándose que a 20°C se obtenía un máximo en la producción del ácido tenuazónico con un incremento del 37.5%.

Los estudios realizados por El-Aal, 1998, sobre la influencia de la temperatura de almacenamiento de alimentos destinados al consumo humano y animal en la producción de micotoxinas por *Alternaria alternata*, indicaron que la máxima producción de ácido tenuazónico, alternariol y altenueno se produjo a una temperatura de 25°C. Cuando la temperatura de almacenaje disminuyó a 15°C, la producción de micotoxinas fue muy pequeña o nula. Al utilizar una temperatura de almacenamiento de 30°C la producción de micotoxinas fue menor que a 15°C. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Dacero y cols., 1997 sobre el efecto de la temperatura de almacenamiento de la semilla de girasol en la producción de micotoxinas.

### 2.2.3. Efecto del sustrato en la producción de micotoxinas

La teoría clásica que indica que limitar un nutriente principal en el medio de cultivo implica la producción de micotoxinas fue corroborada por Burroughs y cols., 1976 con cepas de *Alternaria alternata*. El estudio se basó en cultivar las cepas en el medio de cultivo con extracto de levadura y adicionar posteriormente arroz como nutriente. En el medio suplementado con arroz, se detectó una importante disminución en la producción de alternariol.

Los estudios realizados por Sjoland y Gatenbeck, 1966, observaron que la utilización de medio de cultivo cuya composición aporte iones cinc y cobre, produce una supresión de alternariol en cepas de *Alternaria tenuis* ya que estos cationes reaccionan con los grupos sulfhidrilo del enzima sintetasa, inhibiéndolo.

Buckner y cols. 1983 y Hanel, 1985, en sus estudios sobre la producción de la tentoxina detectaron que la utilización de compuestos de fosfatos como componente del medio de cultivo producía una inhibición en su síntesis, por el contrario la adición de compuestos de acetato estimulaban la producción de este metabolito (Hanel y cols., 1985).

Estudios comparativos entre la utilización del manitol y la glucosa como fuente de carbono y su efecto en la síntesis de los policétidos (Hult y Gatenbeck, 1978) concluyeron en que la producción era óptima y equivalente cuando se utilizaban indistintamente uno de los dos azúcares.

Ramm y cols., 1994, indicaron en sus estudios sobre la producción de tentoxina en cepas del género *Alternaria*, el efecto activador que producen elevadas concentraciones de glucosa en la producción de este metabolito.

Ozcelik y Ozcelik, 1997, también observaron este mismo efecto sobre la síntesis del ácido tenuazónico, alternariol (AOH) y alternariol monometil eter (AME).

Estudios realizados por Orverhed y cols., 1988 sobre la influencia de la fuente de nitrógeno en la producción de policétidos por *Alternaria alternata* demostraron que al adicionar al cultivo  $\text{NaNO}_3$  antes de la formación de los policétidos se producía una reducción del 10% en la formación de alternariol y de alternariol monometil eter. También observaron que al utilizar glutamato y urea como fuente de nitrógeno se reducía la elaboración de AOH y de AME. Sin embargo si el  $\text{NaNO}_3$  era adicionado después de la producción de los policétidos, no se detectaba un efecto inhibitor en la acumulación del AOH. Estos resultados sugirieron que el nitrógeno inhibe la formación del enzima policétido sintetasa en *Alternaria alternata* con la consiguiente regulación de la biosíntesis de estos metabolitos secundarios.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bhandari, J.K.S. y Singh, R.S. 1976. Effect of carbon and organic nitrogen sources on the growth of *Alternaria triticina*. Indian Phytopathol. 29: 88-89.
- Bruckner, B., Hanel, I., Hanel, F. y Troger, R. 1983. Einfluß von Phosphat auf die Bildung von Tentoxin durch *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler. Z. Allg. Mikrobiol. 23: 549-556.
- Bullerman, L.B. y Olivigni, F.L. 1974. Mycotoxin producing potencial of molds isolated from cheddar cheese. J. Food Sci. 39: 1166-1168.
- Chulze, S., Tores, A., Dalcero, A. y Combina, M. 1994. Production of alternariol and alternariol monomethyl ether in natural substrates in comparison with semisynthetic culture medium. Mycotoxin res. 10: 79-84.
- Da Motta, S. y Valente, L.M. 2000. Simultaneous determination of tenuazonic and cyclopropionic acids in tomato products. Food Chem. 71: 111-116.
- Dacero, A.M., Combina, M., Etcheverry, M., Varsavsky, E. y Rodríguez, M.I. 1997. Evaluation of *Alternaria* and its mycotoxins during ensiling of sunflower seeds. Nat. toxins 5: 20-23.
- Davis, N.D., Diener, U.L. y Moragan, J.G. 1977. Tenuazonic acid production by *Alternaria alternata* and *Alternaria tenuissima* isolated from cotton. Appl. Environ. Microbiol. 34: 155-157.
- El-Aal, S.S. 1998. Effects of gamma radiation, temperature and water activity on the production of *Alternaria* mycotoxins. Egypt. J. Microbiol. 32: 379-396.
- M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. C.A.B. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- M.B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. C.A.B. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England
- Gatenbeck, S. y Sierankiewicz, J. 1973. Microbial production of tenuazonic acid analogues. Antimicrobial Agents Chemother. 3: 303-309.
- Giryn, H. y Szeke, B. 1999. *Alternaria* toxins in food of plant origin. Bromatol. Chem. Toxycol. 32: 279-284.

- Grable, C.L. Templeton, G.E. y Meyer, W.L. 1966. Purification and partial characterization of clorosis toxin of *Alternaria tenuis*. *Phytopath.* 56: 879.
- Gray, D.W. 1959. The relation of fungi to human affairs. Henry Holt and Co. Inc. (Eds.). New York.
- Griffin, G. Y Chun, F.S. 1983. Toxicity of the *Alternaria* metabolites alternariol, alternariol methyl eter, altenuene and tenuazonic acid in the chicken embryo assay. *Appl. Environ. Microbio.* 46: 1420-1422.
- Hagblom, P. y Unestam, T. 1979. Blue light inhibits mycotoxin production and increases total lipids and pigmentation in *Alternaria alternata*. *Appl. Environ. Microbiol.* 38: 1074-1077.
- Hagblom, P. 1981. Production of alternariol and alternariol monomethyl ether and morphology of *Alternaria alternata*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 77: 185-188.
- Hagblom, P. y Hiltunen, M. 1991. Regulation of mycotoxin biosynthesis in *Alternaria*. *Mycotoxin Res.* 7: 11-15.
- Hanel, I. 1985. Untersuchungen zum Phosphat-und Acetateinflug auf die Bildung der Phytoeffektors Tentosin durxh *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler. Fissertation, Friedrich-Schiller-Universitat, Jena.
- Hanel, I., Liebermann, B., Bruckner, B. y Troger, R. 1985. Einfluß von Acetat auf die Bildung des Phytoeffektors Tentoxin durch *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler. *J. Basic Microbiol.* 25: 365-371.
- Hesseltine, C.W. 1976. Mycotoxins other than aflatoxins. Biodeterioration of materials vol. 3 Sharpley and Kaplan (Ed.) Applied Sc. Publisher, Ltd. Essex, England.
- Hiltunen, M. y Soedehaell, K. 1992. Alternariol-O-methyltransferase from *Alternaria alternata*: partial purification and relation to polyketide síntesis. *Exp. Mycol.* 16: 44-51.
- Hughes, S.J. 1953. Conidiophore, conidia and classification. *Can. J. Bot.* 31: 577-659.
- Hult, K. y Gatenbeck, S. 1978. Production of NADPH in the mannitol cycle and its relation to poliketide formation in *Alternaria alternata*. *Eur. J. Biochem.* 88: 607-612.
- Ichihara, A., Tazaki, H y Sakamura, S. 1983. Solanopyones A, B and C, phytotic metabolites from the fungus *Alternaria solani*. *Tetrahedron Lett.* 24: 5373-5376.
- Ikins, W. 1991. Modern methods of analysing mycotoxins in foods. *Instrumental methods for quality assurance in foods* 5: 117-154.
- Kendrick, B. 1971. *Taxonomy of Fungi Imperfecti*. University of Toronto Press, Toronto, Ontario.
- Kendrick, W.B. y Carmichael, J.W. 1973. *Hyphomycetes. The fungi* vol. IV A. G.C. Ainsworth, F.K. Sparrow and A.S.Sussman (Eds.) Academic Press. NY.
- Klotz, M.G. 1988. The action of tentoxin on membrane processes in plants. *Physiologia Plantarum* 74: 575-582.
- Koncewick, M., Mathiaramanam, P., Uchytal, T.F., Sparapand, L., Tam, J., Rich, D.H. y Durbin, R.D. 1973. The sequence and optical configuration of amino acids in tentoxin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 53: 653-658.



- Kostecki, M., Crabarkiewicz-Szczesna, J. y Chelkowski, J. 1991. Biosynthesis and preparation of five *Alternaria* metabolites. *Mycotoxin Research* 7: 3-7.
- Kumar, C.S.K. y Rao, A.S. 1975. Utilization of nitrogenous compounds by *Alternaria triticina*. *Indian J. Microbiol.* 15. 87-89.
- Kumar, C.S.K. y Rao, A.S. 1979. Production of phytotoxic substances by *Alternaria triticina*. *Can. J. Bot.* 57: 1255-1258.
- Lax, A. R., Shepherd, H.S. y Edwards, J.V. 1988. Tentoxin, achlorosis inducing toxin from *Alternaria* as a potential herbicide. *Weed Technol.* 2: 540-544.
- Leach, C.M. 1971. A practical Guide to the effects of visible and ultraviolet light on fungi. *Methods in Microbiology* vol 4. C. Booth (Ed.) Academic Press, London and New York.
- Lee, H.B. y Yu, H.S. 1995. Distribution of mycotoxin producing isolates in the genus *Alternaria*. *Korean J. Plant Pathol.* 11: 151-157.
- Liebermann, B. y Oertel, B. 1983. Bildung und Isolierung des Phytotoxins Tentoxin aus *Alternaria alternata* Z. Allg. Mikrobiol. 23: 503-511.
- Liebermann, B. 1989. Wirkstoffsybthese durch *Alternaria alternata* unter besonderer Berucksichtigung cyclischer Peptide. Dissertation, Prom. B. Friedrich-Schiller-Universitat, Jena.
- Meyer, W.L., templenton, G.E., Grable, C.E. Sigel, C.W., Jones, R., Woodhead, S. H. y Sauer, C. 1971. The structure of tentoxin. *Tetrahedron Lett.* 25: 2357-2360.
- Nawaz, S., Scudamore, K y Rainbird, S. 1997. Mycotoxins in ingredients of animal feding stuffs: I. Determination of *Alternaria* mycotoxins in oil-seed rape meal and sunflower seed meal. *Food Addit. Contam.* 14: 249-262.
- Orvehed, M., Haeggblom, P. y Soederhaell, K. 1988. Nitrogen inhibition of mycotoxin production by *Alternaria alternata*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 2361-2364.
- Ozcelik, N. y Ozcelik, S. 1997. 1997. Investigations of some factors and strains affecting the production of *Alternaria*-toxins by the thin layer chromatographic method. *Turk. J. Agric. For.* 21: 1-5.
- Pachter, N.M. 1980. Biosynthesis of acetato-derived phenols (polyketides). The biochemistry of plants lipids: structure and function. Vol. 4 P.K. Strumpf and E.E. Con (eds.) Academic Press. New York.
- Rabie, C., Lubben, A., Stockenstrom, S., Steyn, P.S. van Den, H. y Johan, P. 1999. Toxigenicity and tenuazonic acid production by *Phoma sorghina* and other *Phoma* species. *J. Food Mycol.* 2: 261-270.
- Ram, K., Bruckner, B. y Liebermann, B. 1994. Biosynthesis of the phytotoxin tentoxin. I. Synthesis by protoplasts by *Alternaria alternata*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 49: 35-43.
- Ram, K., Ramm, M., Ebermann, B. y Reuter, G. 1994. Studies of the biosynthesis of tentoxin by *Alternaria alternata*. *Microbiol.* 140: 3257-3266.
- Ram, K., Ramm, M., Liebermann, B. y Reuter, G. 1994. Biosynthesis of phytotoxin tentoxin II. Cell-free biosynthesis of tentoxin. First evidence on the localization of toxin synthesis in *Alternaria alternata*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 49: 45-50.

- Saccardo, P.A. 1899. *Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum*. Vol. 14. Published by the author. Pavia.
- Schadler, D.L., Steele, J.A., y Durbin, R.D. 1976. Some effects of tentoxin on nature and developing chloroplasts. *Mycopathol.* 58: 101-105.
- Scott, P.M. 1982. *Mycotoxins analysis by TLC*. Touchstone and Rogers (Eds.) New York.
- Sheu, J. y Talburt, D.E. 1986. Stimulation of tentoxin synthesis by age-culture filtrates and continued synthesis in the presence of protein inhibitors. *Appl. Environ. Microbiol.* 51: 368-372.
- Soderhall, K., Svensson, E. y Ynestam, T. 1978. Light inhibits the production of alternariol and alternariol monomethyl ether in *Alternaria alternata*. *Appl. Environ. Microbiol.* 36: 655-657.
- Stack, M.E. y Prival, M.J. 1986. Mutagenicity of the *Alternaria* metabolites altertoxins I, II and III. *Appl. Environ. Microbiol.* 52: 718-722.
- Steyn, P. S. y Rabie, C.R. 1976. Characterization of magnesium and calcium tenuazonate from *Phoma sorghina*. *Phytochem.* 15: 1977-1979.
- Steyn, P.S., Vleggar, R. y Wessels, P.L. 1980. The biosynthesis of aflatoxin and its congeners. The biosynthesis of mycotoxins: a study in secondary metabolism. Academic Press. New York.
- Stickings, C.E. y Townsend, R.J. 1961. Metabolites of *Alternaria tenuis* auct.: the biosynthesis of tenuazonic acid. *Biochem. J.* 78: 412-418.
- Stinson, E.E., Bills, D.D., Osman, S.F. Siciliano, J., Ceponis, M.J. y Heisler, E.G. 1980. Mycotoxin production by *Alternaria* species grown on apples. Tomatoes and blueberries. *J. Agric. Food Chem.* 28: 960-963.
- Stinson, E.E., Osman, S.F., Heisler, E.G., Siciliano, J. Y Bills, D.D. 1981. Mycotoxin production in whole apples, oranges, and lemons. *J.Agric. Food Chem.* 29: 790-792.
- Stinson, E.E., Osman, S.F. y Pfeffer, P.E. 1982. Structure of altertoxin I, a mycotoxin from *Alternaria*. *J.Org. Chem.* 47: 4110-4113.
- Stinson, E.E. y Moreau, R.A. 1983. Studies on incorporation of precursors during biosynthesis of mycotoxins by *Alternaria alternata*. *Phytochem. Newsletter* 23:6
- Stinson, E.E. 1985. Mycotoxins: Their biosynthesis in *Alternaria*. *J.Food. Protect.* 48: 80-91.
- Templeton, G.E. 1972. *Alternaria* toxins related to pathogenesis in plant. *Microbial toxins. Fungal toxins*. Vol 8. Academic Press
- Torres, A., Gonzalez, H.L., Etcheverry, M., Resnik, S.L. y Chulze, S. 1998. Production of alternariol and alternariol monomethyl ether by isolates of spp. from Argentina maize. *Food Addit. Contam.* 15: 56-60.
- Tubaki, K. 1963. Taxonomic study of Hyphomycetes. *Am. Rep. Inst. Fermentation*. Osaka 1: 25-54.
- Turner, W.B. 1976. Polyketides and related metabolites. The filamentous fungi. *Biosynthesis and metabolism*. Vol. 2. Ed. Arnold Ltd. London.

- Ueno, Y. y Kawamura, O. 1993. Recent advances on environmental toxicology of mycotoxins. Japan J. Toxicol. Environ. Health 39: 173-188.
- Umetsu, N.J., y Tamari, K. 1973. Isolation of tenuazonic acid from blast-diseases rice plants. Agr. Biol. Chem. 37: 451-452.
- Vuillemin, P. 1910. Les conidiospores. Bull. Soc. Sci. Nancy. 11: 129-172.
- Vuillemin, P. 1911. Les aleuriospores. Bull. Soc. Sci. Nancy. 12: 151-175.
- Woodhead, S.H. Templeton, G.E., Meyer, W.L. y Lewis, R.B. 1975. Procedure for crystallization and further purification of tentoxin. Phytopath. 65: 495-496.
- Young, A.B., Davis, N.D. y Diener, U.L. 1980. Effect of temperature and moisture on tenuazonic acid production by *Alternaria tenuissima*. Physiol. Biochem. 70: 607-609.