RIDAA
Repositorio Institucional
Digital de Acceso Abierto de la
Universidad Nacional de Quilmes

Universidad
Nacional
de Quilmes

Temperini, Carolina Virginia

Biodiversidad, concentración y caracterización de hongos fitopatógenos y micotoxicogénicos en ambientes agrícolas de la región productora del Alto Valle del río Negro

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Argentina.
Atribución - No Comercial - Sin Obra Derivada 2.5
https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.5/ar/

Documento descargado de RIDAA-UNQ Repositorio Institucional Digital de Acceso Abierto de la Universidad Nacional de Quilmes de la Universidad Nacional de Quilmes

Cita recomendada:
Temperini, C. (2018). Biodiversidad, concentración y caracterización de hongos fitopatógenos y micotoxicogénicos en ambientes agrícolas de la región productora del Alto Valle del río Negro. (Tesis de doctorado). Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Argentina. Disponible en RIDAA-UNQ Repositorio Institucional Digital de Acceso Abierto de la Universidad Nacional de Quilmes http://ridaa.unq.edu.ar/handle/20.500.11807/3938

Puede encontrar éste y otros documentos en: https://ridaa.unq.edu.ar

Universidad Nacional de Quilmes
Roque Sáenz Peña 352 // Bernal
Buenos Aires // Argentina
t.: (+41 11) 4365 7100
f.: (+54 11) 4365 7101
info@unq.edu.ar

Carolina Virginia Temperini, Repositorio Institucional Digital de Acceso Abierto,
Julio de 2018, pp. 575,
http://ridaa.unq.edu.ar,
Universidad Nacional de Quilmes, Secretaría de Posgrado,
Doctorado en Ciencia y Tecnología

Biodiversidad, concentración y caracterización de hongos fitopatógenos y micotoxicogénicos en ambientes agrícolas de la región productora del Alto Valle del río Negro

TESIS DOCTORAL

Carolina Virginia Temperini

ctemperini@unrn.edu.ar

Resumen

Argentina es un país principalmente agrícolo-ganadero y la provincia de Río Negro es la primera productora y exportadora de frutas de pepitas del país. Su cultivo se concentra principalmente en el Alto Valle del río Negro.

Los hongos filamentosos están ampliamente distribuidos alrededor del mundo y su desarrollo se ve afectado por varios factores ambientales tales como temperatura, humedad, viento y localización geográfica. Ha sido reportado que los hongos aerotransportados son los microorganismos más comunes que provocan efectos adversos sobre la salud humana y animal y sobre los cultivos. Son capaces de colonizar los cultivos y pueden acumular en los productos contaminados gran cantidad de micotoxinas que representan un gran riesgo para la salud humana y animal debido a los efectos adversos que su contacto, inhalación o ingestión provoca. Por lo tanto, para evaluar sistemáticamente la relación entre hongos ambientales y sus efectos adversos, los tipos de hongos y sus frecuencias relativas en ambientes externos necesitan ser conocidos.

En Argentina, los datos disponibles sobre la micobiota del aire principalmente de ambientes agrícolas son sumamente escasos y la información respecto a la micoflora y biodiversidad de hongos fitopatógenos y micotoxicogénicos en la región del Alto Valle del río Negro es nula. Así, el objetivo general del presente trabajo será estudiar la biodiversidad y concentración de hongos, incluyendo particularmente aquellos fitopatógenos y micotoxicogénicos, en ambientes rurales de la región productora del Alto Valle del río Negro, pretendiendo posteriormente realizar una caracterización morfofisiológica y molecular de las especies determinadas.

Los objetivos específicos son:

- Determinar la concentración, frecuencia y distribución, geográfica y estacional, de mohos cultivables en ambientes rurales externos.
- Realizar la Identificación morfológica y molecular de las distintas especies fúngicas.
- Estudiar la patogenicidad de los aislamientos sobre los cultivos más representativos de la región.
- Relacionar las variables climatológicas con la micobiota aérea determinada en la región.

La información obtenida a partir del presente trabajo puede contribuir a la evaluación de los posibles riesgos para la salud de humanos, animales y plantas (cultivos), a la determinación de procedimientos de remediación y al establecimiento de medidas preventivas y estrategias de control para futuras patologías que se desarrollen en la región.

Repositorio Institucional Digital de Acceso Abierto, Universidad Nacional de Quilmes

Universidad Nacional de Quilmes

Doctorado en Ciencia y Tecnología

"Biodiversidad, concentración y caracterización de hongos fitopatógenos y micotoxicogénicos en ambientes agrícolas de la región productora del Alto Valle del río Negro"

Bqca. Carolina Virginia Temperini

Directora: Dra. Graciela N. Pose

Codirector: Dr. Alejandro G. Pardo

Bernal, Buenos Aires, Argentina

-2018-

El presente trabajo fue llevado a cabo en las instalaciones de laboratorios de la subsede de Villa Regina perteneciente a la sede de Alto Valle y Valle Medio de la Universidad Nacional de Río Negro. El mismo se realizó en el marco de una beca doctoral CONICET (2013-2018) bajo la dirección de la Dra. Graciela N. Pose y la co-dirección del Dr. Alejandro G. Pardo. El financiamiento para su desarrollo fue obtenido a través de dos Proyectos de Investigación otorgados por la UNRN y dirigidos por el Dr. Pardo: PI UNRN 2013 (Cód. 40-A-308) y PI UNRN 2014 (Cód. 40-A-382).

“Cuando el misterio es demasiado impresionante es imposible desobedecer.”

Antoine de Saint-Exupéry

A mis padres por su amor y apoyo incondicional, porque son mi refugio y mi sostén siempre.

A mi adorada abuela, Eliana, por darme tanto amor desde el día que llegué a este mundo. Te llevo siempre conmigo.

Mis más sinceros y profundos agradecimientos:

A la Universidad Nacional de Río Negro y a la Universidad Nacional de Quilmes por hacer posible la ejecución de esta tesis doctoral.

A mis directores, Graciela y Alejandro, por darme la oportunidad de realizar este trabajo y por la confianza depositada en mí, por su inestimable aporte científico y humano.

A mi familia, en especial a mis padres y a mi hermano, quienes me apoyaron en todo momento a lo largo de este camino. Por alentarme a superar los obstáculos y compartir los logros. Por participar tan intensamente en cada una de las etapas de mi vida, conteniéndome y animándome siempre a más.

A dos personas que me vieron comenzar este camino y que, aunque ya no estén, siempre me acompañan. A mi nona, por enseñarme buenos valores y que, con voluntad, se pueden lograr grandes cosas, por ser un gran ejemplo de vida y de resiliencia. A mi padrino, por incentivarme y creer en mí siempre, por su incansable alegría por la vida, de esa que contagia y revive.. Esa que extraño tanto.

A mis amigas, las que me acompañan desde el jardín y a las que fui conociendo en diferentes etapas de mi vida hasta el momento presente. A Nanny, Nati, Flor y a mis amigas de la uni (¡que son muchas por suerte!) por su paciencia ante mis ausencias y por sus palabras de aliento, por estar siempre presentes, muchas de ellas, a pesar de la distancia.

A mis amigas de ruta, Luisa y Eli, por compartir tantos momentos y emociones durante este trayecto. Por la mano tendida y la oreja a tiempo, por volver agradables y llevaderos los ratos más difíciles.

A Maxi Faría por su amistad y por estar siempre presente escuchando y acompañando nuestras penas y alegrías. ¡Y por ayudarme con el análisis estadístico!

A Javi Alonso por colaborar y llevar a cabo su trabajo final de graduación en el marco de esta tesis con gran responsabilidad y esmero.

Al Ing. Adrián Colodner, por su asesoramiento profesional, de aporte muy valioso para el desarrollo de esta tesis. Por la compañía en las largas jornadas de muestreo y por las charlas y los buenos ratos compartidos.

A los dueños y al personal de trabajo de las chacras que nos recibieron en sus establecimientos productivos con tanta amabilidad, interés y excelente predisposición para coordinar los muestreos.

A todos los “choferes” que en algún momento aceptaron acompañarme en el “tour agrícola” de los muestreos: a mi papá, a mi hermano, a Maxi y a Gra.

A todas aquellas personas que, de alguna forma, acompañaron y contribuyeron con el desarrollo de este trabajo tanto en el aspecto técnico como emocional: Juan, Majo, Carlos, Juli, Minna y Sergio Ziaurriz. A todos ellos gracias por estar siempre dispuestos a colaborar con su conocimiento, críticas constructivas y buenos consejos.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Análisis microbiológico del aire 1

1.1.1 Aerobiología 1

1.1.2 Aeromicología 3

1.1.2.1 Métodos de muestreo 5

1.1.2.2 Estudios de la micoflora aérea a nivel mundial y local 10

1.2 Aeromicobiota 13

1.2.1 Dinámica y fluctuaciones espaciales y estacionales de las esporas fúngicas en el aire 13

1.2.2 Influencia de los parámetros meteorológicos y el cambio climático sobre la aeromicobiota 16

1.3 Aplicaciones de la aeromicología 21

1.3.1 Impacto en la salud humana y animal 21

1.3.2 Impacto en cultivos de importancia económica 37

1.4 Región del Alto Valle del río Negro 48

1.4.1 Características geográficas 48

1.4.2 Características climatológicas 49

1.4.3 Producción frutícola 55

1.4.4 Principales enfermedades causadas por hongos aerotransportados en frutos de pepita de la región 60

2. OBJETIVOS 71

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Muestreo 73

3.1.1 Equipamiento 73

3.1.2 Optimización y puesta a punto 74

3.1.3 Ejecución y desarrollo 76

3.2 Determinación de la micoflora 84

3.2.1 Cálculo de las unidades formadoras de colonias por m^3 de aire 84

3.2.2 Recuento total y por género 85

3.2.3 Identificación de los aislamientos a nivel especie 86

3.2.3.1 Identificación de las especies del género *Alternaria* 88
3.2.3.2 Identificación de las especies del género *Fusarium* 90
3.2.3.3 Identificación de las especies de los géneros *Penicillium*, *Aspergillus* y *Eurotium* 92
3.2.3.4 Identificación de las especies del género *Cladosporium* 95
3.2.3.5 Identificación de especies pertenecientes a los géneros *Stemphylium* y *Pleospora* 101
3.2.3.6 Identificación de especies pertenecientes al género *Phoma* 103

3.3 Plan de procesamiento y análisis de datos 105
3.3.1 Determinación de la densidad relativa de géneros y especies 105
3.3.2 Determinación de la distribución geográfica y estacional de géneros y especies 105
3.3.3 Recopilación de datos meteorológicos 105
3.4 Conservación de los aislamientos 106
3.5 Determinación de la patogenicidad y especificidad del hospedante 107
3.5.1 Especies de *Cladosporium* 107
3.5.2 Especies de *Stemphylium* y *Pleospora* 110

4. RESULTADOS

4.1 Determinación de la concentración, densidad y distribución anual, estacional, geográfica y por sistema productivo de la micoflora total y de los géneros hallados 114
4.1.1 Determinación de la micoflora total anual 114
4.1.2 Determinación de la micoflora total por estación 116
4.1.3 Determinación de la micoflora total por zona geográfica 121
4.1.4 Determinación de la micoflora total por sistema productivo 125
4.1.5 Determinación de la concentración, densidad y distribución anual de géneros 129
4.1.6 Determinación de la concentración, densidad y distribución estacional de géneros 133

4.1.7 Determinación de la concentración, densidad y distribución geográfica de géneros 149

4.1.8 Determinación de la concentración, densidad y distribución por sistema productivo de géneros 157

4.2 Identificación, caracterización y distribución de las especies pertenecientes a los géneros *Cladosporium, Alternaria, Fusarium, Penicillium, Aspergillus, Eurotium, Stemphylium, Pleospora y Phoma* 165

4.2.1 Especies del género *Cladosporium* 166

4.2.2 Especies del género *Alternaria* 202

4.2.3 Especies del género *Fusarium* 204

4.2.4 Especies del género *Penicillium* 210

4.2.5 Especies de los géneros *Aspergillus* y *Eurotium* 216

4.2.6 Especies de los géneros *Stemphylium* y *Pleospora* 219

4.2.7 Especies del género *Phoma* 226

4.3 Determinación de la concentración, densidad y distribución anual, estacional, geográfica y por sistema productivo de las especies halladas 233

4.3.1 Determinación de la concentración, densidad y distribución anual de especies 233

4.3.2 Determinación de la concentración, densidad y distribución estacional de especies 237

4.3.3 Determinación de la concentración, densidad y distribución geográfica de especies 253

4.3.4 Determinación de la concentración, densidad y distribución por sistema productivo de especies 261

4.4 Relación de las variables climatológicas con la biodiversidad fúngica aérea de la región 270

4.4.1 Recopilación e interpretación de los datos meteorológicos 270

4.4.2 Relación de los parámetros meteorológicos con los recuentos fúngicos estacionales 282

4.5 Determinación de la patogenicidad y especificidad del hospedante 285

4.5.1 Especies de *Cladosporium* 286

4.5.2 Especies de *Stemphylium* y *Pleospora* 296

5. DISCUSIÓN

5.1 Determinación de la concentración, densidad y distribución anual, estacional, geográfica y por sistema productivo de la micoflora total y de los géneros hallados 317

5.1.1 Determinación de la micoflora total, anual, estacional, geográfica y por sistema productivo 327

5.1.2 Distribución anual de géneros fúngicos 329

5.1.3 Distribución estacional de géneros fúngicos 331

5.1.4 Distribución geográfica de géneros fúngicos 337

5.1.5 Distribución por sistema productivo de géneros fúngicos 338

5.2 Determinación de la concentración, densidad y distribución anual, estacional, geográfica y por sistema productivo de las especies halladas 339

5.2.1 Distribución anual de especies fúngicas 341

5.2.2 Distribución estacional de especies fúngicas 349

5.2.3 Distribución geográfica de especies fúngicas 351

5.2.4 Distribución por sistema productivo de especies fúngicas 352

5.3 Relación de las variables climatológicas con la biodiversidad fúngica aérea de la región 353

5.4 Determinación de la patogenicidad y especificidad del hospedante de especies de *Cladosporium* y especies de *Stemphylium* y *Pleospora* 355

5.4.1 Especies de *Cladosporium* 355

5.4.2 Especies de *Stemphylium* y *Pleospora* 357

6. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS 360

7. BIBLIOGRAFÍA 364

8. PUBLICACIÓN DE RESULTADOS

8.1 Presentaciones a congresos nacionales e internacionales 410

8.2 Publicación en revista con referato internacional 412

ANEXOS

I Composición de medios de cultivo y soluciones

II Tablas de recuento fúngico diferencial

III Geles, secuencias de genes y cromatogramas

IV Datos climatológicos

INTRODUCCIÓN

1.1 Análisis microbiológico del aire

1.1.1 Aerobiología

La atmósfera terrestre es un excelente medio de dispersión rápida y global de partículas, en la cual el movimiento de masas de aire, la temperatura, la humedad, las precipitaciones, los sistemas brisa-contrabrisa, y los fenómenos de inversión térmica, entre otros factores, favorecen la dispersión o concentración de estos elementos. Los componentes biológicos suspendidos en esta capa gaseosa incluyen esporas de hongos, granos de polen, bacterias, pequeños insectos, micotoxinas y alergenos entre otros, que inciden en diverso grado tanto en la vida del hombre como en su entorno. Su presencia en el aire es el resultado de la dispersión desde un sitio de colonización o crecimiento (Srikanth y col., 2008; Ríos, 2011).

Aunque la atmósfera es un ambiente hostil para los microorganismos, determinadas localizaciones de la troposfera pueden resultar en hábitats adecuados para el crecimiento de los mismos. Las nubes poseen agua y en zonas industriales, puede existir la suficiente concentración de sustancias orgánicas que permita el crecimiento de algunos microorganismos heterótrofos. Además, pueden ser transportados rápidamente, en forma de bioaerosoles, a través de grandes distancias con el movimiento del aire principalmente aunque algunos han creado adaptaciones especializadas que favorecen su supervivencia y su dispersión (De la Rosa y col., 2002).

El término Aerobiología data de 1930 y fue definido por Fred C. Meier. Se trata de una disciplina científica cuyo propósito es estudiar la presencia de bio-aerosoles en el aire atmosférico. Los componentes aerobiológicos generalmente pasan por una serie de etapas que resultan ser el foco de atención de esta área de estudio, las cuales incluyen la liberación desde su sitio de origen, transporte, deposición en algún agente receptor (suelo, agua, vegetación, vías respiratorias de los seres vivos) y resuspensión de estos componentes nuevamente al aire para volver a ser transportados. Por todas estas características también se ha señalado a la Aerobiología como la ecología de la atmósfera (Isard y col., 2007; Almaguer y col., 2008).

La investigación de organismos vivos aerotransportados comenzó en el siglo XIX, con Pasteur y Miquel quienes diseñaron métodos para estudiar el número y tipo de microorganismos presentes en diversos ambientes así como también la influencia de diversos factores (temperatura, lluvia, corrientes de aire, altitud, número de personas, etc.) y la posibilidad de transmisión por el aire de enfermedades contagiosas (Miquel y Cambert, 1901; De la Rosa y col., 2002). Hoy en día numerosos investigadores se abocan al estudio de esta área alrededor de todo el mundo y a su impacto en diversos aspectos de la vida humana (Loera y col., 1994; De la Rosa y col., 2002; Nitiu y Mallo, 2011; Fernstrom y Goldblatt, 2013).

Algunos componentes biológicos del aire, principalmente los aeroalergenos, tienen la capacidad de desarrollar enfermedad en los seres vivos, razón por la cual los aerobiólogos se concentran en identificar y determinar su concentración y su capacidad inmunogénica ya que algunos se encuentran en el aire en cantidades tan ínfimas que prácticamente no se pueden medir, pero sí pueden penetrar en los alveolos pulmonares y provocar episodios de asma y otros trastornos como los antígenos polínicos y fúngicos. En este sentido, uno de los principales estudios de los aerobiólogos consiste en la elaboración de modelos estadísticos que permitan predecir el tipo y la concentración de biopartículas aéreas (Ríos, 2011).

Por lo expuesto previamente se puede establecer que las investigaciones aero-biológicas son útiles para detectar organismos potencialmente peligrosos o destructivos y en función de los conocimientos generados pueden tomarse las medidas adecuadas para que el daño biológico pueda ser evitado (Haas y col., 2007; Wang y col., 2011).

1.1.2 Aeromicología

La Aeromicología es la rama de la Aerobiología cuyo objetivo es determinar la presencia y cuantificación de los bioaerosoles fúngicos en la capa atmosférica. Los hongos presentes en el aire son de los organismos más comunes en la naturaleza y están relacionados a la polución del aire. Más de 80 géneros fúngicos fueron reportados por su asociación con síntomas de alergias de las vías del tracto respiratorias y alrededor de 100 especies de hongos fueron involucradas con infecciones en humanos y animales, mientras que otras pueden causar serias enfermedades en plantas (Fang y col., 2005; Hameed y col., 2009), por lo cual este campo de estudio se convierte en una herramienta crucial para la vigilancia de la calidad del aire (Ríos, 2011). Además, muchos de ellos presentan capacidad biodeteriorante, ya que pueden causar efectos perjudiciales sobre los edificios, monumentos, materiales almacenados y documentos de gran valor histórico (Aira y col., 2007; Borrego y col., 2008; Ogórek y col., 2014; Almaguer, 2015).

La presencia de esporas fúngicas en la atmósfera ha sido puesta de manifiesto mediante muestreos con equipos de monitoreo biológico y su posterior desarrollo en medios de cultivo, aún luego de estar expuestas a diferentes factores de estrés ambiental, debido a su baja actividad metabólica (Oliveira y col., 2009a). No obstante, estas esporas sólo representan una pequeña fracción de la población fúngica presente en el aire atmosférico ya que el resto podrían ser no viables o si lo son podrían no ser cultivables (Rosas y col., 2005).

Actualmente se conoce que el aire presente en los ambientes exteriores puede ser la fuente de esporas fúngicas contaminantes de los ambientes internos, pudiendo llegar a concentraciones del orden de 10^6 esporas/m^3 (D'amato y Spieksma, 1995). Por lo tanto, a menos que haya una fuente específica en el ambiente interior que genere bioaerosoles, las concentraciones dentro generalmente serán menores que en el exterior (Muilenberg, 1995). No hay un cierto nivel de los hongos ambientales que puede ser considerado como seguro y si bien no existe una normativa que regule contenido fúngico, Godish (2001) establece que concentraciones mayores a 1000 UFC/m^3 definen a un ambiente como no aceptable y concentraciones mayores a 10000 esporas/m^3 a un ambiente como contaminado. Por lo tanto, la información

concerniente a la diversidad y abundancia de los hongos presentes en el aire es relevante tanto para la medicina como también para las ciencias biogeológicas, la climatología, la ecología, la higiene industrial, entre otras (Sun y Ariya, 2006; Elbert y col., 2007) y esto ha conducido a una demanda actual de la definición de estándares con respecto a la carga fúngica en el aire.

Aunque los estudios aeromicológicos aportan una importante cantidad de información sobre datos cuantitativos y cualitativos de la micoflora aérea que permiten la implementación de medidas de monitoreo y control de la calidad del aire para poder realizar los ajustes necesarios, no existe aún hoy una metodología de estudio consensuada que establezca mediciones continuas y la identificación taxonómica de las muestras (D'Amato y Spieksma, 1995; Nikkels y col., 1996).

1.1.2.1 Métodos de muestreo

Los estudios aeromicológicos están compuestos por dos etapas: una primera que involucra la toma de muestras y una segunda en la que se lleva a cabo la detección e identificación de los hongos obtenidos.

La etapa de muestreo constituye un paso importante en la determinación y cuantificación de esporas fúngicas y existen varios métodos que se pueden utilizar para llevarla a cabo. A continuación se describen brevemente cada uno de ellos.

Métodos gravitacionales: un sustrato adhesivo en un portaobjetos o una placa de Petri con agar son expuestos a la atmósfera durante un tiempo determinado para recolectar las esporas que se depositan por gravedad. Es un método sencillo y económico pero como desventaja cabe mencionar que no es volumétrico por lo cual no brinda información sobre la concentración de estas partículas en el aire (Srikanth y col., 2008; Ríos, 2011).

Métodos de impacto: Son los más utilizados. Las esporas fúngicas son retenidas en placas de Petri o tiras con medio de cultivo sólido o semisólido, líquido o en portaobjetos de vidrio para su posterior incubación y análisis microscópico. Permiten estimar la concentración de los microorganismos presentes en el aire del ambiente bajo estudio ya que se conoce el volumen de aire muestreado. Cabe mencionar que estos métodos sólo permiten la determinación de microorganismos viables y cultivables. La ventaja de emplear placas permite que los hongos puedan ser captados directamente en el medio de cultivo para luego realizar el conteo de las colonias crecidas sin necesidad de un procesamiento posterior al muestreo como ocurre con el "impingement" o muestreo en medio líquido que se describirá más adelante. No obstante, la toma de muestras en un medio líquido preserva mejor la viabilidad de los microorganismos y así se incremente la eficiencia de captación. A continuación se describen brevemente los muestreadores más utilizados por estos métodos.

Muestreadores de impactación en placa de agar

- Impactador multiorificio. La entrada de aire está conformada por cabezales que contienen múltiples orificios circulares. Se pueden colocar en posición horizontal o vertical para recoger la muestra y, además, suelen ser portátiles. Pueden trabajar a un caudal elevado lo que permite el análisis de ambientes con baja concentración de partículas. Existen diversos modelos y entre ellos se encuentra el muestreador Microflow que se utilizó para el desarrollo de esta tesis (Fig. 1).

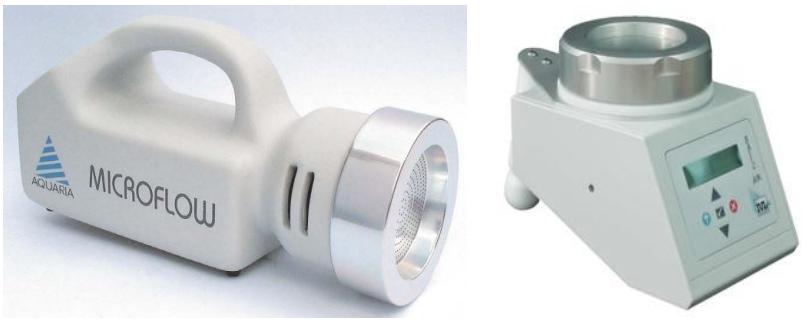


Fig. 1: Muestreadores de impactación multiorificio.

- Impactador en cascada: Este tipo de muestreador separa las partículas en diversas fracciones que difieren en su tamaño. Existen modelos de 2 y 6 etapas, que constan de cabezales con 200 y 400 orificios, respectivamente, cuyo diámetro va disminuyendo progresivamente y operan a un caudal de 28,3 L/min. También existe la versión de una etapa, adaptada de la última fase del muestreador Andersen de 6 etapas. Suelen utilizarse como referencia para determinar la eficacia de otros muestreadores (Fig. 2).

Fig. 2: Muestreadores Andersen de una etapa y de 6 etapas.

Muestreadores de impactación en portaobjetos o láminas

En ellos se fuerza un volumen de aire conocido a través de un orificio o hendidura estrecha, provocando que las partículas impacten en una lámina o portaobjetos de vidrio impregnado con una sustancia adhesiva transparente que luego permite el análisis por técnicas de microscopía con tinción. La sustancia adhesiva puede ser aceite de silicona o adhesivos a base de vaselina que permite retener eficientemente las partículas durante el proceso de tinción, manipulación y transporte. Los colorantes más empleados son el naranja de acridina y el azul de lactofenol. Entre estos muestreadores se pueden citar la trampa de esporas Burkard (Fig. 3), trampa de esporas Allergenco MK-3 e impactadores en portaobjetos desechable como Air-O-Cell, Allergenco-D, Micro-5. Estos últimos presentan dimensiones reducidas, por lo que pueden emplearse en espacios estrechos como cavidades de paredes para investigar la presencia de moho oculto, o en el interior de los conductos del sistema HVAC. Permiten tiempos de muestreo muy cortos, de hasta 10 min.

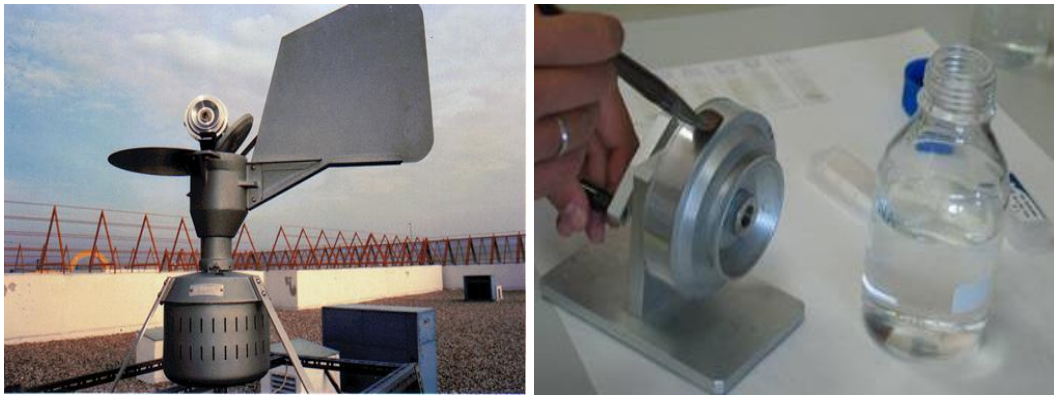


Fig. 3: Trampa de esporas Burkard y aplicación de fluido siliconado.

Muestreadores de impactación en medio líquido: Borboteo o impingement

Aquí el aire es captado a través de una entrada curvada y las esporas son recogidas en un líquido de volumen conocido, que puede ser agua desmineralizada, tampón fosfato salino o agua peptonada suplementado con proteínas, antiespumantes y anticongelantes para preservar la viabilidad de los microorganismos. Son muy versátiles, ya que el líquido puede analizarse por diversas técnicas, como cultivo, microscopía y también análisis de metabolitos microbianos. Los borboteadores más empleados son los All Glass Impingers AGI-30 y AGI- 4 (Fig. 4), y Biosampler.

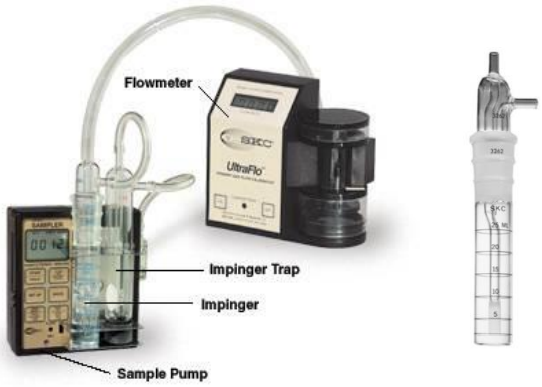


Fig. 4: Muestreador All Glass Impinger (AGI).

Centrifugación

El muestreador RCS (Reuter Centrifugal Sampler) es el modelo más convencional y se trata de un muestreador portátil en el que la fuerza centrífuga generada por un rotor de aspas origina la impactación de los microorganismos en el medio de cultivo contenido en una tira de plástico (Fig. 5).

Fig. 5: Muestreador RCS high flow touch luftkeimsammler y tiras de agar HYCON.

Métodos de filtración: las partículas impactan en filtros con un tamaño de poro determinado a través de diversos mecanismos como la impactación, la interceptación o la difusión, y por fuerzas eléctricas o gravitacionales. Estos métodos se emplean para la captación de microorganismos totales (viables y no viables) y otros componentes biológicos que son retenidos por su tamaño y luego son lavados de la superficie del filtro con una solución. La muestra obtenida puede analizarse por diversas técnicas, incluyendo el cultivo de los microorganismos recolectados. Los muestreadores Button, IOM (Fig. 6) y de cassette de 37 mm son ejemplares de este tipo de equipos.

Fig. 6: Componentes del muestreador IOM.

Finalmente, luego de realizado el muestreo se prosigue con la fase de detección e identificación de los microorganismos en la cual se hace el recuento de las unidades formadoras de colonias (UFC) y si el equipo empleado lo permite se puede realizar el cálculo por volumen de aire muestreado para determinar las concentraciones fúngicas. La identificación de los hongos aislados se lleva a cabo mediante la observación de las características macroscópicas de las colonias y de las características microscópicas que, además, se pueden complementar con técnicas bioquímicas y moleculares.

Fuente: Culver González, M. (2015). Calidad del aire interior. Contaminantes biológicos (II). Tipos de muestreo. NTP N° 1065. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT).

1.1.2.2 Estudios de la micoflora aérea a nivel mundial y local

El estudio de las esporas fúngicas en el aire es importante para micólogos, patólogos de plantas, microbiológos, tanto como para alergistas, por lo cual, durante la última década los investigadores están enfocando su atención al estudio de la composición aeromicológica de ambientes externos e internos (Muhsin y Adlan, 2012).

Si bien la atmósfera no contiene una microbiota autóctona y, la distribución fúngica, en términos de concentración y composición de géneros y especies varía respecto de las áreas geográficas, la estacionalidad y otros factores ambientales (Halwagy, 1989; Burger 1990; Cosentino y col., 1990; De Lara y col., 1990; Pei-Chih y col., 2000; Haas y col., 2007), la mayoría de los estudios de hongos del aire en todo el mundo han demostrado que los géneros *Cladosporium*, *Aspergillus* y *Penicillium* son los más comunes en varias latitudes (Shelton y col., 2002; Angulo y González, 2007; Treves y Martens, 2010), y de hecho las esporas más numerosas encontradas en el aire son los conidios de *Cladosporium*, constituyendo entre el 40 y el 90% del conteo anual de esporas. También resultan importantes los géneros *Alternaria*, *Epicoccum* y *Botrytis* (Kasprzyk, 2008; Ríos, 2011).

En las últimas décadas se han publicado numerosos trabajos aeromicológicos alrededor del mundo.

En el continente asiático se han realizado estudios generales de la concentración y diversidad fúngica en ambientes externos e internos de ciudades de China, Corea del Sur, India, Irak y Taiwán y su relación con parámetros meteorológicos (Lim y col., 1998; Fang y col., 2005; Wang y col., 2011; Chakrabarti y col., 2012; Muhsin y Adlan, 2012).

En África, la mayoría de las investigaciones se llevaron a cabo en países del norte, entre ellos Egipto, en los que se estudió la composición microbiana y la diversidad fúngica así como sus oscilaciones temporales y su relación con las variables meteorológicas (Hameed y col., 2009; Uzochukwu y Nkpouto, 2013).

En el continente oceánico se destacan los estudios realizados por Mitakakis y Guest (2001) en Australia, donde se determinó la composición aeromicológica y su variación.

En Europa, se han llevado a cabo trabajos en diversos países como España, Portugal y Francia en los que se determinaron la concentración y diversidad fúngica de varias ciudades, además de su correlación con las variables climáticas (Sabariego y col., 1999; Herrero y col., 2006; Sabariego y col., 2007; Oliveira y col., 2009a; Sautour y col., 2009; Aira y col., 2012; 2013).

En América del Norte, más precisamente en Estados Unidos se destacan investigaciones aeromicológicas que estudiaron la diversidad y dinámica de las esporas fúngicas atmosféricas en ambientes externos e internos de diversas ciudades (Shelton y col., 2002; Lee T. y col., 2006; Tsai y col., 2007).

Desde hace varios años existe un resurgimiento de las investigaciones aeromicológicas en Latinoamérica, destacándose estudios llevados a cabo principalmente en Brasil y México (Rosas y col., 1993; Calderon y col., 1995; Menezes y col., 2004; Rocha Estrada y col., 2013; Hernández-Castillo y col., 2014; Almaguer, 2015).

En Argentina los estudios aeromicológicos han sido llevados a cabo históricamente en ambientes externos o internos de zonas urbanizadas principalmente, siendo muy pocos los que estudian ambientes agrícolas. Particularmente, en la región del Alto Valle del río Negro es nula la información respecto a la micoflora y biodiversidad de hongos fitopatógenos y micotoxicogénicos.

Las primeras investigaciones aeromicológicas en nuestro país datan de la década del 80 donde se llevaron a cabo estudios en las ciudades de Resistencia y Córdoba (Quiroga de Pascual y Nobile, 1985; Mangiaterra y col., 1993). Posteriormente Rodríguez de Kopp y col. (1998) estudiaron la flora fúngica ambiental de la biblioteca de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, a los fines de evaluar los posibles riesgos tanto para la salud de los asistentes como por el probable deterioro de las colecciones existentes. Se detectaron hongos que poseen una alta capacidad celulolítica deteriorante y otros agentes de reconocida participación en procesos clínicos patógenos y en afecciones alérgicas. En 2003, Bueno y col., analizaron los hongos presentes en una biblioteca científica situada en un centro de investigaciones en Tucumán e identificaron 33 géneros fúngicos entre los cuales *Cladosporium* (30,1%), *Fusarium* (8,6%), *Alternaria* (8,4%), *Acremonium* (6,4%) y *Aspergillus* (5,5%) presentaron la mayor frecuencia (Bueno y col., 2003). Durante este

año también se presentó otro trabajo aeromicológico llevado a cabo por Esquivel y col. (2003) en el que su objeto de estudio fueron los microhongos anemófilos de las ciudades de Resistencia y Corrientes y como resultado del mismo hallaron que los géneros más frecuentes en ambas ciudades fueron: *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Phoma*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Curvularia* y *Trichoderma*.

En la provincia de Santa Fe, Basílico y col. (2007) estudiaron la influencia de los factores ambientales sobre la carga de esporas fúngicas en hogares, mientras que Aríngoli y col. (2008) determinaron los géneros fúngicos más abundantes en hogares de esta provincia que resultaron ser: *Cladosporium* (58,9%) y *Alternaria* (8,7%), seguido por *Epicoccum* (5,7%), *Fusarium* (5,4%), *Curvularia* (3,5%), *Acremonium* (1,3%), *Drechslera* (1,3%), *Penicillium* (1,3%) y *Aspergillus* (1,1%).

Nitiu y un equipo de colaboradores han llevado a cabo varios estudios de esporas fúngicas y polínicas en la provincia de Buenos Aires y más específicamente en la ciudad de La Plata. En el año 2010 a partir del análisis del registro aeromicológico de la ciudad de La Plata se propuso la definición de Grupos Morfológicos de esporas del Reino Fungi con el objetivo de realizar un aporte metodológico a la identificación y recuento de una fracción de la micobiota atmosférica. Como resultado se crearon 4 nuevos grupos y se incorporaron otros tipos esporales a las clasificaciones previas (Nitiu y col., 2010).

En el año 2011, Nitiu y Mallo evaluaron las variaciones en la estacionalidad de polen y esporas fúngicas en la atmósfera de la ciudad de La Plata y como resultado identificaron esporas de Oomycota, Zygomycota, Myxomycota, Ascomycota y Basidiomycota. Estos bioaerosoles estuvieron presentes durante todo el año y en altas concentraciones siendo más abundantes en verano – otoño. El máximo aporte se registró en febrero dado por las esporas de *Cladosporium* (Nitiu y Mallo, 2011).

Otro trabajo para mencionar es el desarrollado por Frisón y col. (2012) quienes evaluaron la diversidad fúngica en ambientes externos e internos de industrias alimentarias en localidades de la provincia de Santa Fe, Argentina. Los resultados mostraron que hay 3 géneros predominantes: *Cladosporium*, *Alternaria* y *Epicoccum* con porcentajes de abundancia superiores a otros géneros.

1.2 Aeromicobiota

1.2.1 Dinámica y fluctuaciones espaciales y estacionales de las esporas fúngicas

Las esporas fúngicas promueven la propagación de material reproductivo y pueden influir sobre la química y física atmosférica, la biosfera, el clima y la salud pública, por lo cual algunos investigadores plantean la necesidad de caracterizar los patrones de migración y dispersión de la aeromicoflora (Loera y col., 1994; Stennett y Beggs, 2004).

Como fuera mencionado previamente un estudio aeromicológico requiere el conocimiento de la fuente emisora, liberación, dispersión y depósito de las esporas presentes en la atmósfera y de su relación con los fenómenos que las mantienen suspendidas en el aire (Spieksma, 1992) (Fig. 7).

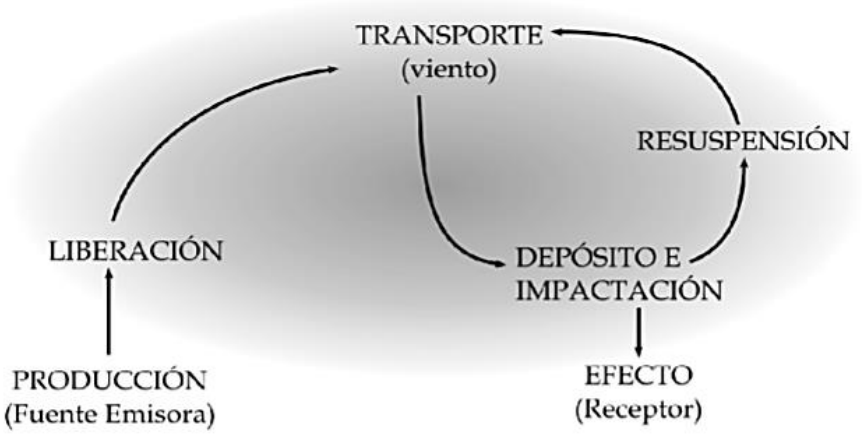


Fig. 7: Etapas del proceso aeromicológico (modificado de Spieksma, 1992).

- *Producción.* Las esporas fúngicas suspendidas en el aire pueden provenir de numerosas fuentes de origen natural como el suelo, la vegetación, y los cuerpos de agua que se encuentran en las zonas de bosques, pastizales y reservas naturales. Por otro lado, existen también fuentes de origen en zonas urbanas relacionadas a la actividad humana como los sistemas de tratamientos de agua residual o residuos orgánicos, compostaje o rellenos sanitarios (Rodríguez y col., 2005; Pereira y col.,

2009), la turbulencia vehicular y la mayor densidad poblacional humana (Rosas y col., 2005). Se estima que la concentración de esporas fúngicas en el aire atmosférico puede variar entre menos de 200 a más de 2 millones/m^3, según el tipo de vegetación que predomine, el microambiente local y la actividad humana (Adhikari y col., 2004).

- *Liberación.* Es un proceso en el que intervienen los fenómenos biológicos propios de los hongos como la ruptura de paredes celulares de los esporangios para liberar las esporas allí encerradas, mientras que en otros intervienen fundamentalmente factores meteorólogicos como el viento (Nieto-Lugilde, 2008).

- *Transporte.* La mayoría de los hongos utilizan las corrientes de aire para la dispersión de sus esporas (Kasprzyk, 2008). El transporte y tiempo de permanencia de estas biopartículas en la atmósfera es afectado en gran medida por sus propiedades aerodinámicas como el tamaño, volumen, peso y forma. Así, las más pequeñas pueden viajar largas distancias por largos períodos de tiempo alejándose de su fuente emisora pero no pueden ascender a grandes alturas (Isard, 2007; Nieto-Lugilde, 2008). Las partículas pueden medir entre 0,3 y 100 micras de diámetro; sin embargo, la fracción que se respira varía entre 1 a 10 micras y generalmente permanecen flotando en el aire por largos períodos de tiempo manteniendo su potencial infeccioso.; mientras que las más grandes tienden a depositarse sobre las superficies (Srikanth y col., 2008; Ríos, 2011). Desde un punto de vista toxicológico, un aumento del material particulado en el aire y una escasa ventilación reducen las posibilidades de movilización de las esporas y favorecen su permanencia en el aire aumentando su impacto en la salud humana (Labarreren y col., 2003; Nava y col., 2004). Además de sus propiedades físicas, el comportamiento de las esporas fúngicas en el ambiente exterior también depende de los factores ambientales característicos de cada región. Si bien son cosmopolitas, ya que pueden sobrevivir en numerosos ambientes, incluso en climas hostiles, la distribución de esporas no es igual en todo el planeta, existiendo diferencias entre las zonas templadas y los trópicos (Quintero y col., 2010). En países de clima tropical y subtropical los hongos tienen las condiciones óptimas para su desarrollo y para la producción y liberación de esporas, ya que la temperatura media anual oscila entre 25 °C y 30 °C, y la humedad relativa es superior al 70%, (Salonen y col., 2014). También

cabe destacar que la concentración fúngica tiende a ser mayor en regiones templadas y tropicales que en las altas latitudes y desiertos, donde las condiciones climáticas adversas restringen el desarrollo fúngico (Almaguer, 2015).

- *Depósito e impactación*. Cuando la fuerza de gravedad supera la intensidad del viento, las partículas pueden sedimentar en diversos tipos de sustratos especialmente para las de mayor tamaño y, si las condiciones ambientales son óptimas podrían germinar cerrando el ciclo biológico (Nieto-Lugilde, 2008).

- *Resuspensión*. Las corrientes atmosféricas, turbulencias o actividades humanas pueden generar la resuspensión de las esporas sedimentadas nuevamente en el aire para comenzar un nuevo ciclo aerobiológico (Nieto-Lugilde, 2008).

Con respecto a las fluctuaciones espaciales, la mayoría de las investigaciones aeromicológicas a nivel global han sido enfocadas a determinar la micoflora en áreas urbanas principalmente, a diferencia de las zonas rurales (Simeray y col., 1993; Nikkels y col., 1996; Corden y col., 2003). Sin embargo, algunos estudios han reportado la existencia de mayores concentraciones fúngicas en zonas rurales que en zonas urbanas debido a la existencia de la abundante materia orgánica en descomposición que es requerida por el metabolismo heterótrofo de los hongos (Rodríguez-Rajo y col., 2002).

1.2.2 Influencia de los parámetros meteorológicos y el cambio climático sobre la aeromicobiota

Los fenómenos meteorológicos frecuentemente gobiernan la dinámica de las poblaciones fúngicas en la atmósfera. Por lo tanto es de suma importancia conocer el efecto directo de los procesos climáticos sobre el movimiento y supervivencia de la micobiota aérea para implementar estrategias preventivas sobre la salud humana, animal y agrícola (Loera y col., 1994). En este último aspecto, la micoflora aérea presente en ecosistemas rurales y sus variaciones en relación con los factores ambientales han sido poco estudiados. Sin embargo, esto resulta esencial para lograr un buen pronóstico y establecer modelos predictivos para próximos años o nuevas cosechas y contribuir a una mayor protección del cultivo (Kasprzyk y Konopiñska, 2006; Kasprzyk y Worek, 2006; Almaguer y col., 2008).

La influencia de los parámetros climáticos sobre los distintos tipos de hongos depende del estado fenológico en el que se encuentra al emitir las esporas y pueden generar diferencias en la variación estacional de los distintos géneros fúngicos (Lyles y col., 2005; Almaguer, 2015). Numerosos trabajos han demostrado que los géneros *Cladosporium*, *Aspergillus* y *Penicillium* son los más comunes en varias latitudes (Shelton y col., 2002; Angulo y González, 2007; Treves y Martens, 2010).

Muchos autores han destacado los efectos de las condiciones climáticas en cuanto a temperatura, humedad relativa, velocidad del viento, insolación y precipitaciones sobre la presencia de esporas de hongos en el aire en muchos dominios geográficos (Aríngoli y col., 2008; Oliveira y col., 2009a; Wang y col., 2011; Almaguer, 2015). Sin embargo, aún no se ha podido estimar la importancia relativa de cada uno, ya que analizar de forma individual la influencia de cada parámetro climático sobre el contenido fúngico resulta muy complicado dado que estas variables actúan de forma sinérgica (Almaguer, 2015).

A continuación se mencionarán y describirán las variables climáticas más relevantes para los procesos aeromicológicos.

- *Temperatura*. Este parámetro ejerce un rol fundamental en favorecer el crecimiento del organismo emisor de partículas e incrementar de esta manera el contenido fúngico ya que los hongos pueden desarrollarse desde 10 °C hasta 80 °C, con un rápido crecimiento entre 25 y 35 °C fundamentalmente (Nieto-Lugilde, 2008; Despot y Klarić, 2014; Almaguer, 2015). Las variaciones estacionales que experimentan las esporas fúngicas dependen del tipo de clima. En los climas templados, la máxima concentración de esporas ocurre en el verano y a inicios del otoño; mientras que en las regiones tropicales y sub-tropicales la mayor abundancia de esporas ocurre en los meses más fríos (Ríos, 2011).

- *Humedad relativa*. Los hongos filamentosos crecen en general a una humedad relativa superior al 80% a excepción de los hongos xerofílicos que pueden crecer a partir de un 65% (Valentín, 2001; Almaguer, 2015). No obstante, Pasanen y col. (1991) alegaron que el crecimiento fúngico depende fundamentalmente del contenido de humedad de su sustrato y que la humedad relativa ambiente sólo tiene una influencia indirecta. Pero, al igual que sucede con la temperatura, numerosos autores afirman que este parámetro presenta una correlación positiva con los recuentos fúngicos ya que influye directamente en el mecanismo de liberación de las esporas (Stennett y Beggs, 2004; Rodríguez-Rajo y col., 2005; Ianovici y Tudorica, 2009). Sin embargo, muchos otros observaron que el contenido de esporas fúngicas se ve favorecido por los descensos de humedad (Almaguer, 2015). En base a este factor, las esporas pueden dividirse en dos grupos: las de clima húmedo y las de clima seco. En este último grupo se encuentran los conidios de los géneros *Cladosporium*, *Epicoccum* y *Alternaria* que se ven favorecidos por un clima seco (Ríos, 2011; Almaguer, 2015).

- *Viento*. Esta variable es de suma importancia para la dispersión y suspensión de esporas fúngicas en el aire y posee dos componentes a analizar: velocidad y dirección. Cuando la velocidad es muy alta, el contenido fúngico se diluye y algo parecido sucede cuando la disminución de la velocidad es excesiva ya que el transporte se vuelve más lento y la liberación de esporas se puede detener. En cuanto a la dirección, este componente también ejerce influencia ya que puede provocar el desplazamiento de nubes fúngicas que cambien la composición aeromicológica de un sector durante un

determinado lapso de tiempo (Nieto-Lugilde, 2008). La turbulencia atmosférica, incluido el desarrollo de remolinos también adquiere un rol importante ya que favorece una dispersión más extensa redistribuyendo las esporas y posibilitando la elevación de las mismas en altura sobre su lugar de origen (Casadesús y Pazos, 1989; Almaguer y col., 2008).

- *Precipitaciones.* Las lluvias pueden favorecer la liberación de esporas porque estimulan la turgencia celular y porque el movimiento de las gotas puede facilitar la liberación de las mismas al aire (Nieto-Lugilde, 2008). Por otro lado, la accesibilidad a sustratos frescos para el desarrollo fúngico también afecta las concentraciones de esporas en el aire. En los países templados, durante el invierno e inicios de la primavera, cuando hay poco sustrato fresco disponible para el crecimiento fúngico, el contenido de esporas desciende de manera importante (Ríos, 2011). Por otro lado, si la temperatura es elevada la evaporación del agua de lluvias puede contribuir al aumento de la humedad relativa. De lo dicho anteriormente se desprende que las precipitaciones tienden a aumentar las concentraciones globales de esporas fúngicas en el aire. Sin embargo, también se debe mencionar que las precipitaciones pueden ejercer un efecto de lavado atmosférico ya que, al arrastrar las biopartículas suspendidas en la atmósfera, disminuyen en ella su concentración (Almaguer, 2015).

- *Insolación*. Si bien la luz solar no es imprescindible para el desarrollo fúngico, si influye en los procesos de esporulación, ya que por ejemplo los fotoperiodos o ciclos de luz-oscuridad repercuten en la cantidad de esporas formadas (Ghanbarnia y col., 2011; Almaguer, 2015). Sin embargo, su efecto debe analizarse en combinación con otras variables tales como la temperatura, humedad relativa y ventilación (Valentín, 2001; Almaguer, 2015). Además, es importante tener en cuenta que la radiación UV que los rayos solares emiten puede afectar la viabilidad de las esporas fúngicas (Smits y col., 2004; Grijalbab y col., 2009).

Como fue mencionado previamente, la concentración de esporas en el aire está influenciada por un gran número de factores biológicos y medioambientales, entre los que destacan las variables climáticas. Por lo tanto la producción, liberación y

dispersión de las esporas de los hongos también puede verse afectada por los cambios en el clima. Los cambios climáticos o eventos climáticos extremos son actualmente parte de nuestra vida diaria y pueden ser vistos cada vez más frecuentemente. Así, el fenómeno del "cambio climático" es actualmente de importancia sin igual y las discusiones de su impacto sobre el futuro de la humanidad son cada vez más habituales. El tercer informe confeccionado por integrantes del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (Intergovernmental Panel on Climate Change - IPCC) plantea que el aumento de la temperatura media registrado en todo el planeta, es de 0,6 °C (+/- 0,2 °C) durante todo el siglo XX y se calcula que para el siglo en curso será de 1,4 °C (IPCC, 2004). Con respecto a las precipitaciones la tendencia indica un aumento de la frecuencia y severidad de etapas de sequías e inundaciones (IPCC, 2004; Nordenstrom, 2006).

Existe falta de información sobre el cambio climático y la ciencia de los alimentos, lo que supone un déficit aún mayor respecto a las micotoxinas. Muchos datos indican que las epidemias en cultivos son influenciados climáticamente (Paterson y Lima, 2010a). Cambios de la temperatura y en las precipitaciones pueden poner en peligro la seguridad de los alimentos, lo que tendrá un impacto negativo sobre todo en los países en desarrollo (Paterson y Lima, 2011). Como fuera mencionado previamente, datos referidos a biodiversidad fúngica, fisiología del crecimiento y producción de micotoxinas serán necesarios para poder predecir el comportamiento fúngico en función de las alteraciones previstas en el clima (Paterson y Lima, 2010a; b; c; d; Paterson y Lima, 2011; Magan y col., 2011).

El cambio climático en curso puede afectar profundamente la producción y dispersión de esporas de hongos, con la consiguiente modificación de su concentración de aire. El monitoreo de las esporas de hongos en el aire, especialmente si se combina con datos habitualmente adquiridos para otros parámetros físico-químicos, puede ser útil para detectar perfiles espaciales y temporales de un clima cambiante (Beggs, 2010; Bocacci y col., 2017). Por ejemplo se obtuvieron correlaciones significativas entre la concentración de *Cladosporium* en la atmósfera y la temperatura máxima, media y mínima en la ciudad de Sevillla, España. Por lo tanto, si las tendencias del calentamiento global se cumplen cabe esperar que los niveles de sus esporas en aire sufran un incremento (Morales González, 2007). Por otro lado, Morales González

(2007) expone que un aumento de las temperaturas no provocará un aumento en la concentración de esporas de ascomicetes. Sin embargo, los cambios previstos en las tendencias de las precipitaciones podrían generar un incremento de los niveles de esporas de ascomicetes en el aire, ya que estos hongos utilizan las salpicaduras de gotas de lluvia como mecanismo de liberación de sus esporas, que ven aumentada su proporción en días lluviosos.

Finalmente cabe mencionar que estudios previos han descubierto que *Alternaria* produce hasta tres veces más esporas cuando los niveles de dióxido de carbono atmosférico (CO_2) son altos. Las actuales tendencias del cambio climático pueden intensificar el problema. Estos resultados sugieren que el aumento continuo del CO_2 atmosférico asociado con el cambio climático global aumentará el nivel de exposición a *Alternaria* (Zaidman y col., 2017).

1.3 Aplicaciones de la Aeromicología

1.3.1 Impacto en la salud humana y animal

La exposición de poblaciones humanas y animales a los hongos presentes en el aire es universal y se da de forma constante. Sin embargo, los individuos pueden presentar diferencias en cuanto a la sensibilidad y a la aparición de las enfermedades que estos pueden ocasionar (Agarwal y col., 2014).

El incremento de problemas relacionados a la salud debido a la presencia mohos en espacios internos ha conducido a la demanda de la definición de estándares con respeto a la carga fúngica en el aire. Sin embargo, no hay métodos de detección estandarizados, ni existen criterios de evaluación autorizados para el estudio de la carga de hongos en los espacios interiores. Por lo tanto, recomendaciones universalmente aceptadas y una estandarización de la metodología son necesarias (Haas y col., 2007). Sin embargo, aunque no existe un rango de niveles de esporas fúngicas que pueda ser considerado como seguro se estableció que la concentración de hongos en ambientes internos por encima de 2.000 UFC/m^3 puede ser considerada como un factor de riesgo serio para la salud de los ocupantes (Bueno y col., 2003; Klanova, 2000). Varios estudios han mostrado que especialmente entre los niños, las enfermedades respiratorias son significativamente más frecuentes cuando viven en espacios que muestran daños debidos a humedad o contaminación fúngica visible (Haas y col., 2007).

Existen tres vías de exposición a los patógenos del aire: respiratoria que es la más importante, oral y transcutánea (Srikanth y col., 2008). Los patógenos fúngicos se propagan en el ambiente a través de partículas que pueden provenir de la piel o de gotas generadas en las vías respiratorias superior e inferior, boca, nariz, tracto gastrointestinal (vómito y diarrea), entre otras fuentes. A su vez, estas gotas pueden producirse naturalmente al respirar, hablar, estornudar y/o toser o, menos frecuentemente, generarse durante la toma de muestras de aspirados nasofaríngeos o mediante el uso de nebulizadores, ventiladores o máscaras de oxígeno (Eames y col., 2009; Ríos, 2011).

Numerosos estudios mostraron que la exposición a hongos podría estar asociada con efectos tóxicos agudos, alergias y asma (Robbins y col., 2000; Lee S. y col., 2006). En términos generales, los posibles efectos sobre la salud asociados con los hongos generalmente se dividen en tres grupos:

- *Alergias*: sensibilización y respuestas inmunes tales como rinitis alérgica, asma o neumonitis por hipersensibilidad, entre otras.
- *Infecciones*: crecimiento de los hongos sobre el cuerpo, tales como aspergillosis o histoplasmosis.
- *Intoxicaciones*: disrupción de las funciones celulares e interacción con el ADN, tal como ocurre con los cánceres inducidos por aflatoxinas (Robbins y col., 2000).

Algunos hongos pueden presentar algunas de estas capacidades de forma individual pero a menudo pueden hacerlo simultáneamente.

Alergias

Las proteínas (alérgenos) presentes en la pared o en el interior de las esporas fúngicas pueden desencadenar una reacción alérgica, un tipo de respuesta que depende de la concentración de esporas en el aire y de su capacidad para inducir sensibilización en los individuos. La incidencia de alergias fúngicas oscila entre 6 y 24% en la población general y 80% en los asmáticos. Entre ellos, en los niños asmáticos la incidencia es del 45% mientras que en adultos asmáticos es del 70% (Simon-Nobbe y col., 2008). La severidad de los cuadros depende del tipo de hongo, de la zona de las vías respiratorias donde se depositen las esporas y de la susceptibilidad de cada persona (Almaguer, 2015). Las alergias a hongos se clasifican en cuatro tipos según la reacción de hipersensibilidad que desencadenan: las de tipo I que son las inmediatas mediadas por macrófagos y las de tipo II, III y IV que son más tardías y están mediadas por linfocitos.

Numerosos autores reportan la existencia de más de 80 géneros fúngicos capaces de desencadenar cuadros alérgicos entre los que se destacan por su mayor importancia clínica *Alternaria* y *Cladosporium* en ambientes externos y *Aspergillus* y *Penicillium* en ambientes internos (Almaguer, 2015).

En Europa, *Alternaria* y *Cladosporium* son los géneros que más respuestas alérgicas desencadenan en la población (Ríos, 2011). Sin embargo, a pesar de que la concentración de *Cladosporium* en el aire es mayor, el número de individuos alérgicos a *Alternaria* es más elevado, ya que sus aeroalergenos producen reacciones más fuertes (Almaguer, 2015). Numerosos autores citan a *Alternaria* como el hongo alergénico y productor de asma más importante (Morales González, 2007; Simon-Nobbe y col., 2008) y, según Caretta (1992), la concentración de esporas de *Alternaria* capaz de producir síntomas alérgicos en el hombre es de 1.200 esporas/m^3. Dentro de las especies de este género, *A. alternata* es la más frecuentemente asociada a los trastornos alérgicos y hoy en día se han identificado 13 alergenos de esta especie, cuya mayoría corresponden a proteínas de mantenimiento intracelulares capaces de desencadenar respuestas de hipersensibilidad (Simon-Nobbe y col., 2008; Pavón Moreno y col., 2012).

Cladosporium, es después de *Alternaria*, el género que causa con mayor frecuencia síntomas alérgicos. Se destaca por su abundancia ya que las medias diarias obtenidas durante el periodo de máxima concentración, en otoño, ascienden hasta las 7.264 esporas/m^3, niveles muy elevados que superan con creces el umbral establecido por Caretta (1992) de 3.000 esporas/m^3 a partir del cual se producen trastornos respiratorios alérgicos. *Cladosporium herbarum* es el complejo de especies más importante desde el punto de vista alergológico. En este género y hasta el momento, se han identificado 14 alérgenos, dentro de los cuales sólo uno de ellos (Cla h 8) resulta muy inmunogénico (Simon-Nobbe y col., 2008).

Algunos autores han demostrado que existe una reactividad cruzada entre estos géneros, dado que poseen un gran número de proteínas alergénicas homólogas (Rocha y col., 2013), lo cual provoca que las elevadas concentraciones de *Cladosporium* potencien la respuesta inmunológica a esporas de *Alternaria* (Sánchez-Espinosa y Almaguer Chávez, 2014).

Los representantes del género *Aspergillus* presentan características que favorecen su capacidad de producir alergias como el tamaño pequeño de sus esporas, su tolerancia térmica que permite el crecimiento a la temperatura corporal humana, su resistencia al daño oxidativo y su capacidad de producir pequeños metabolitos y enzimas con actividad proteolítica o incluso inmunosupresora (Simon-Nobbe y col.,

2008). De todas las especies que conforman este género, la más importante desde el punto de vista alergénico es *A. fumigatus* que, en comparación con otras especies de *Aspergillus*, se encuentra generalmente en concentraciones bajas en el aire (Almaguer, 2015). Sin embargo, hay otras especies de *Aspergillus* que son alergénicas como *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. niger* y *A. oryzae*. Se han caracterizado a la actualidad más de 40 alérgenos para este género y particularmente más de 35 para *A. fumigatus* (Simon-Nobbe y col., 2008).

También se consideran como hongos alergénicos a los géneros *Helminthosporium* Link, *Epicoccum* Link, *Fusarium*, *Rhizopus* y *Mucor* (Almaguer, 2015). Sin embargo, existe una larga lista de géneros que pueden inducir enfermedades alérgicas entre los que se encuentran *Botrytis*, *Stemphylium* y *Torula*, como también géneros pertenecientes a los basidiomycetes (*Ganoderma*, *Puccinia*, *Ustilago* y *Coprinus*) o a los ascomycetes (*Leptosphaeria*, *Chaetomium* y *Erysiphe*) que causan cuadros alérgicos con menor frecuencia (Ríos, 2011).

En la Tabla N° 1 se detallan las enfermedades ocasionadas por diferentes géneros fúngicos alergénicos que desarrollan los cuatro tipos de reacciones de hipersensibilidad (I, II, III y IV).

Tabla N° 1: Enfermedades causadas por hongos alergénicos.

TIPO DE REACCIÓN ALÉRGICA	ENFERMEDAD	SÍNTOMAS	HONGOS QUE LA CAUSAN	REFERENCIAS
I	Rinitis alérgica	Se caracteriza por estornudos, rinorrea, prurito y obstrucciones nasales (Fig. 8 A, B).	*Alternaria*, *Aspergillus*, *Bipolaris*, *Cladosporium*, *Curvularia* y *Penicillium.*	11
	Asma alérgico	Inflamación crónica del tejido pulmonar que puede generar reactividad bronquial en niños o, incluso, la muerte en adultos (Fig. 8 C).	*Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Helminthosporium*, *Epicoccum*, *Aureobasidium* y *Penicillium.*	6; 8; 9; 10; 11
	Dermatitis atópica	Enfermedad inflamatoria crónica de la piel (Fig. 8 D).	*Malassezia furfur* principalmente y *Saccharomyces cerevisiae.*	4; 5; 11
II-III-IV	Micosis alérgica broncopulmonar	Inflamación bronquial persistente que induce bronquiectasias en pacientes asmáticos. La más frecuente es la Aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA).	*A. fumigatus*, *Candida albicans*, *Curvularia*, *Geotrichum* y *Helminthosporium*.	7; 11
	Sinusitis alérgica	Afectación de los senos nasales sin invasión de los tejidos. Algunos pacientes también pueden mostrar hipersensibilidad cutánea a los alergenos (Fig. 8 E).	*Aspergillus*, *Curvularia*, *Alternaria* y *Bipolaris.*	2; 7; 11
III-IV	Pneumonitis hipersensitivas (también conocidas como alveolitis alérgicas extrínsecas)	La repetida inhalación de alérgenos provoca reacciones alérgicas que pueden llevar a la destrucción pulmonar.	*Aspergillus*, *Penicillium* y basidiomycetes como *Lentinus edodes* , *Merulius lacrymans* y *P. ostreatus*	1; 3; 11

Referencias bibliográficas: [1]O' Brien y col., 1978; [2]Brummund y col., 1986; [3]Sastre y col., 1990; [4]Kortekangas-Savolainen y col., 1993; [5]Leung, 2000; [6]Zureik y col., 2002; [7]Kurup, 2003; [8]Bush y Prochnau, 2004; [9]Denning y col., 2006; [10]Niedoszytko y col., 2007; [11]Simon-Nobbe y col., 2008.

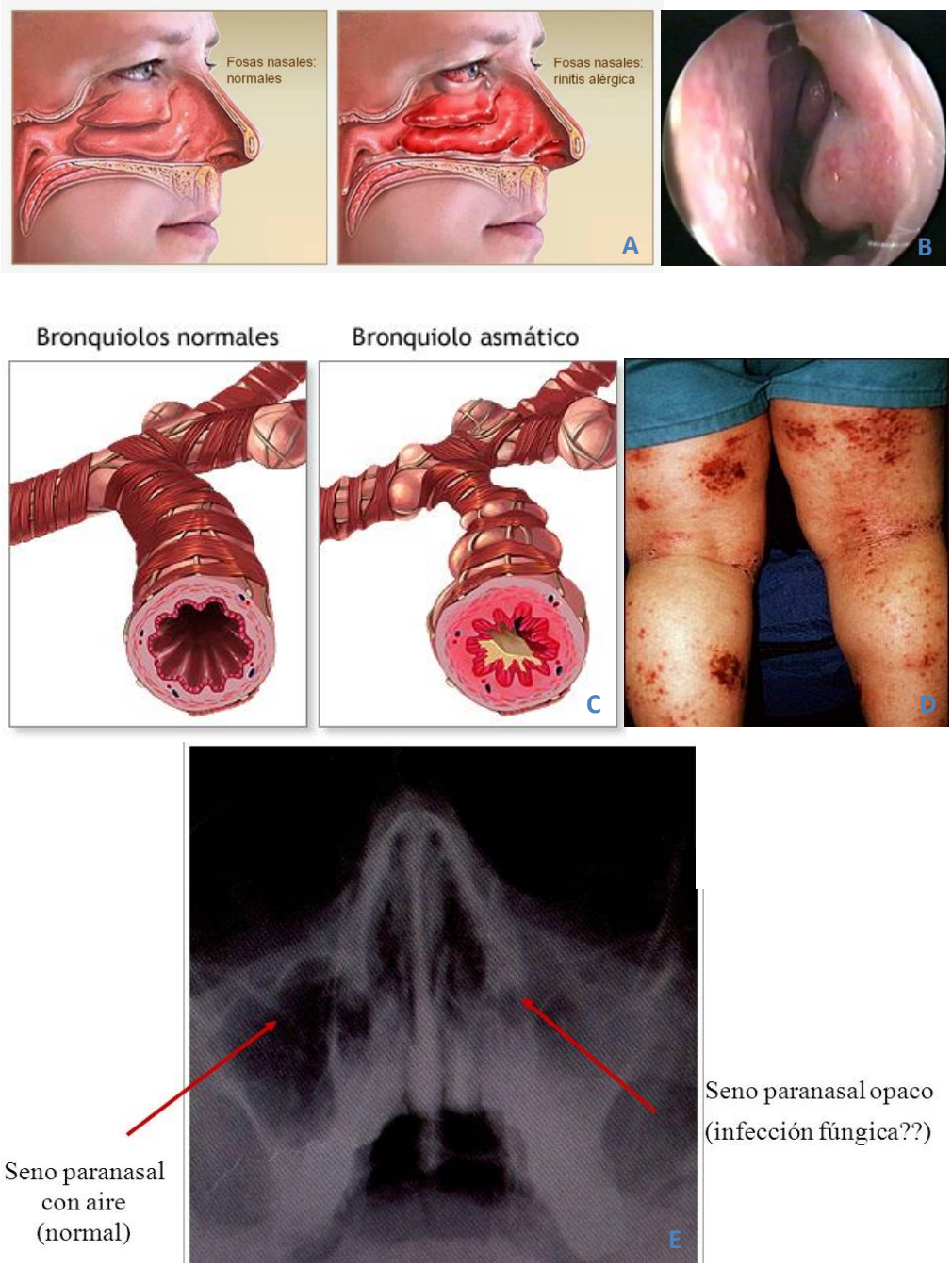


Fig. 8: Enfermedades causadas por hongos alergénicos. *Rinitis alérgica*. Aspecto de la mucosa nasal en condiciones normales y patológicas (MedlinePlus) (A). Imagen donde se observa inflamación de la mucosa de los cornetes nasales de la fosa izquierda (B). *Asma alérgico.* Aspecto de los bronquiolos en condiciones normales y patológicas (Medline Plus) (C). *Dermatitis atópica.* Lesiones cutáneas en piernas (MedlinePlus) (D). *Sinusitis alérgica* causada por *Aspergillus* spp., vista transversal de las cavidades nasales (Fundación Barcelo Facultad de Medicina) (E).

Infecciones

Diversos factores determinan la capacidad patogénica de los microorganismos como el inóculo, el sistema de defensa del hospedante, la cepa del organismo entre otros factores, aún no definidos (Denning y col., 2014; Almaguer 2015).

La mayoría de las infecciones causadas por hongos aerotransportados se asocian al género *Aspergillus*; sin embargo, hay otros que también las causan como *Penicillium*, *Fusarium* y *Candida* (Srikanth y col., 2008; Ríos, 2011). Las infecciones fúngicas invasivas han aumentado en frecuencia en los últimos años y se caracterizan por altas tasas de morbilidad y mortalidad y por ocurrir con mayor frecuencia en los pacientes inmunocomprometidos. Es por esto que la Aeromicología es una herramienta preventiva de vital importancia para la Medicina (Ríos, 2011)**.**

Para que un hongo pueda causar una infección en humanos y animales debe poder crecer a la temperatura corporal (37 °C), capacidad que poseen algunas levaduras patógenas y varias especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, entre otros. De hecho existen 20 especies de *Aspergillus* que se reconocen como patógenas humanas, pero entre las cuales *A. fumigatus* y *A. flavus* se destacan principalmente porque el tamaño pequeño de sus conidios facilita su inhalación y penetración a las vías respiratorias. La infección por especies de *Aspergillus* siempre debe ser considerada como una infección de heridas lentamente progresivas, pero localmente destructivas (Hedayati y col., 2007; Ríos, 2011). *A. fumigatus* tiene, además, la habilidad de adherirse a superficies epiteliales y posiblemente endoteliales lo cual le permite invadir los vasos sanguíneos y producir un gran número de productos extracelulares tóxicos para las células de los mamíferos (Oliveira y Caramalho, 2014; Almaguer, 2015).

Diversas especies del género *Fusarium* también son capaces de causar infecciones en individuos inmunocompetentes (fusariosis) que pueden manifestarse de manera local o asociadas a dispositivos, localmente invasivas o diseminadas. Este es un género ubicuo y tiene como puertas de entrada la piel, las uñas, la vía respiratoria, el sistema gastrointestinal y los ojos (Almaguer, 2015).

Dentro de los hongos viables que existen en la atmósfera se encuentra un grupo de patógenos llamados oportunistas que son capaces de causar enfermedad en

individuos con su sistema inmunológico deprimido, interfiriendo básicamente con las funciones celulares (Cafarchia y col., 2014). Las inmunodeficiencias presentes en enfermos neutropénicos como pacientes leucémicos o transplantados de médula ósea especialmente, bajo terapia corticoesteroide, quimioterapia citotóxica y afectados por el Síndrome de Inmunodeficiencia adquirida (SIDA) son causas predisponentes para el desarrollo de complicaciones médicas (Almaguer, 2015).

Varias especies de los géneros *Aspergillus* y *Fusarium*, así como *Cryptococcus neoformans* se destacan dentro de los agentes causales de las micosis sistémicas oportunistas (De la Rosa y col., 2002). Es en este contexto en el que la Aeromicología adquiere mayor importancia para la Medicina.

En las Tablas N° 2 y N° 3 se detallan diversas infecciones fúngicas ocasionadas en pacientes inmunocompetentes y en distintos tipos de pacientes inmunocomprometidos respectivamente.

Tabla N° 2: Infecciones fúngicas en pacientes inmunocompetentes.

HONGO	SÍNTOMAS	REFERENCIA
A. fumigatus	-Aspergilosis: micosis exógena que produce lesiones granulomatosas inflamatorias en la piel, oído externo, senos nasales (aspergiloma sinusal), órbita, ojo y especialmente bronquios y pulmones (aspergilosis pulmonar cavitaria crónica-APCC). -Sinusitis crónica.	1; 2; 4; 5; 8; 9
A. flavus	-Rinosinusitis fúngica: pueden ser agudas o crónicas invasivas, crónicas no invasivas o crónicas granulomatosas. Esta última se caracteriza por una sinusitis progresiva con inflamación granulomatosa de la mucosa que eventualmente lleva a la erosión del hueso ocasionando una aspergilosis cráneo-cerebral. -Aspergilosis pulmonar cavitaria crónica (APCC) y aspergiloma sinusal. -Aspergilosis cutánea: Ingresa a través de lesiones cutáneas preexistentes y, en ocasiones, puede diseminarse por sangre a partir de un foco pulmonar o por extensión por contigüidad a partir de una cavidad como el seno maxilar. Clínicamente se caracteriza por la presencia de máculas violáceas, pápulas, placas, nódulos, pústulas, abscesos subcutáneos, ampollas hemorrágicas y ulceraciones con necrosis central con o sin formación de escara (Fig. 9 A). -Osteomielitis postraumática. -Queratitis. -Endoftalmitis en raras ocasiones.	4; 5; 6; 8
A. niger	-Endocarditis (Fig. 9 B). -Onicomicosis (Fig. 9 C).	3; 4; 8
Candida spp.	Endocarditis, meningitis, infección osteoarticular.	7; 8
Fusarium spp.	-Sinusitis, queratitis debido al uso de lentes de contacto (Fig. 9 D). -Infección osteoarticular y onicomicosis.	6; 8

Referencias bibliográficas: [1]Cruz y col., 2005; [2]Augustowska y Dutkiewicz, 2006; [3]Mobin y Salmito, 2006; [4]Hedayati y col., 2007; [5]Srikanth y col., 2008; [6]Bourgeois y col., 2010; [7]Cordeiro y col., 2010; [8]Ríos, 2011; [9]Almaguer, 2015.

Fig. 9: Infecciones fúngicas en pacientes inmunocompetentes. *Aspergilosis cutánea*. Lesión ulceronecrótica en dedo pulgar de mano derecha causada por *A.* spp. (Aldama Caballero y col., 2016) (A). *Endocarditis*. Lesión en válvula mitral por *A. niger* (Barnes y Poynton, Cardiff © Fungal Research Trust) (B). *Onicomicosis.* Lesión subungueal causada por *A. niger* (Álvarez-Salafranca y col., 2017) (C). *Queratitis*. Lesión causada por *Fusarium* spp. presentando ulceración e infiltrados algodonosos (Buitrago Torrado y col., 2013) (D).

Tabla N °3: Infecciones fúngicas en pacientes inmunosuprimidos.

HONGO	SÍNTOMAS	TIPO DE DEFICIENCIAS INMUNOLÓGICAS	REFERENCIA
***Curvularia* spp.**	Sinusitis alérgica, queratitis ocular, neumonías, micosis severas y endocarditis o absceso cerebral.	Uso de esteroides o inmunosupresión.	17; 18; 19
A. fumigatus	-Aspergilosis invasiva: se manifiesta como fiebre que no remite y presencia de infiltrados pulmonares persistentes. Puede haber dolor torácico, frote pleural, efusión pleural y hemoptisis (Fig. 10 A, B). También suele haber signos clínicos y radiológicos de sinusitis. Se asocia a elevadas tasas de mortalidad.	Trasplantados de pulmón y médula ósea, leucemia aguda, SIDA y enfermedad granulomatosa crónica.	1; 2; 13; 14
***Candida* spp.**	-Candidiasis oral (Fig. 10 C). -Enfermedades invasivas como artritis, osteomielitis, endocarditis, endoftalmitis y meningitis. -La enfermedad aguda diseminada se caracteriza por fiebre, escalofríos, polimialgia, poliartralgia, exudados retinianos, taquicardia, taquipnea, hipotensión y la aparición de nódulos subcutáneos eritematosos y no dolorosos. Alta tasa de mortalidad.	No especificado	9; 13
Cryptococcus neoformans	Micosis sistémica que puede afectar múltiples órganos y que ingresa al hospedador por la vía respiratoria (Fig. 10 D).	VIH, uso de esteroides, trasplantes, neoplasias malignas, diabetes, cirrosis hepática y falla renal crónica.	19

-F. solani ***-F. oxysporum*** ***-F. moniliforme*** ***-F. verticillioides***	-Fusariosis localmente invasivas: sinusitis, neumonía y lesiones en piel. -Fusariosis diseminada: se caracteriza por lesiones cutáneas y hemocultivos positivos con o sin neumonía. La vía de ingreso es el tracto respiratorio o daños en la piel preexistentes. Las lesiones cutáneas se caracterizan por máculas y pápulas eritematosas o grisáceas que evolucionan para desarrollar una escara central que se torna negra rodeada por un halo eritematoso (Fig. 10 E). La tasa de mortalidad es del 100% si el paciente persiste neutropénico.	Neutropenias prolongadas, inmunodeficiencias, neoplasias malignas hematológicas, uso de corticosteroides y trasplantes hematopoyéticos.	7; 8; 10; 13; 16; 19
Penicillium marneffei	Micosis sistémica emergente que puede ser fatal y se caracteriza por fiebre, anemia, pérdida de peso, linfadenopatía, hepatoesplenomegalia, afección respiratoria y cutánea. Esta última se detecta por la aparición de máculas, pápulas y pápulas con áreas de necrosis central que afectan principalmente a la cabeza y el cuello pero que pueden estar diseminadas. También puede haber afección mucosa y osteoarticular.	Principalmente pacientes con SIDA.	3; 14
***-Rhizopus* spp.** ***-Mucor* spp.** ***-Absidia* spp.**	Zigomicosis: infecciones que afectan principalmente a los pulmones y los senos paranasales pudiéndose extender por contigüidad provocando la zigomicosis rino-órbito-cerebral. Las lesiones cutáneas se caracterizan por placas hemorrágicas o necróticas que se ulceran (Fig. 10 F). Esta afección puede evolucionar a daño muscular y óseo. Presentan elevada tasa de mortalidad.	Diabetes mellitus, neoplasias malignas o trasplantes.	11; 12; 13; 14; 19
Histoplasma capsulatum	Histoplasmosis: infección sistémica importante que puede afectar el sistema reticuloendotelial (Fig. 10 G).	No especificado	4; 5; 19
-Coccidioides* spp.** ***-Paracoccidioides brasiliensis ***-Blastomyces dermatitidis***	Micosis sistémicas endémicas originadas por una primoinfección pulmonar que sólo desarrolla enfermedad progresiva en un porcentaje muy bajo de los enfermos.	No especificado	6; 9; 13; 14; 15; 19

Referencias bibliográficas: [1]Warris y col., 2001; [2]Guinea y col., 2005; [3]Vanittanakom y col., 2006; [4]Bohse y Woods, 2007; [5]Wheat, 2007; [6]Srikanth y col., 2008; [7]Álvez y col., 2010; [8]Bourgeois y col., 2010; [9]Cordeiro y col., 2010; [10]Giraldo y col., 2010; [11]Hocker y col., 2010; [12]Mayayo y col., 2010; [13]De Pauw, 2011; [14]Ríos, 2011; [15]Bonifaz, 2012; [16]Zhang y col., 2012; [17]Frenguelli, 2013; [18]Rocha y col., 2013; [19]Almaguer, 2015.

Fig. 10: Infecciones fúngicas en pacientes inmunosuprimidos. *Aspergilosis pulmonar invasiva* en pacientes con leucemia linfoide aguda. Nódulo aspergilar indicado por las flechas (A) y lesión necrótica redondeada (asterisco) en pulmón (B) (Parrón y col., 2008). *Candidiasis oral* en un paciente con VIH/SIDA en la que se observa la lesión pseudomembranosa en la mucosa bucal (Tovar, 2002) (C). *Criptococosis cutánea* (MedlinePlus) (D). *Fusariosis diseminada* ocasionada por *F. oxysporum* en un paciente adulto con leucemia mieloide aguda y neutropenia severa (Olivares y col., 2005) (E). *Zigomicosis* en paciente con linfoma no Hodgkin donde se observa una lesión inflamatoria y necrótica con despegamientos ampollares en el antebrazo (Curutchet, 2010) (F). *Histoplasmosis diseminada* en un paciente con SIDA que presenta afectación cutánea con lesiones máculo-papulares eritemato-violáceas, en ocasiones descamativas en la mano izquierda (Caballero Escuti y col., 2014) (G).

Intoxicaciones

Asimismo, aunque se conoce claramente que los mohos pueden afectar la salud humana, animal y de plantas, también resulta sumamente interesante investigar respecto a la probable asociación a posibles efectos sobre la salud debido a la exposición de micotoxinas (Robbins y col., 2000).

Las micotoxinas son metabolitos secundarios complejos de naturaleza orgánica producidas por hongos de diversos géneros con gran estabilidad química y térmica secretadas durante el proceso de degradación de la materia orgánica como mecanismo de defensa frente a otros microorganismos. Se han identificado más de 400 micotoxinas producidas por al menos 350 hongos. Desde el punto de vista agrometeorológico, las esporas fúngicas diseminadas por el aire pueden depositarse sobre los cultivos, y en condiciones favorables para su desarrollo, hongos micotoxicogénicos pueden crecer acumulando en los productos infectados gran cantidad de micotoxinas.

Desde una perspectiva ambiental y agroclimatológica, las micotoxinas que presentan un mayor interés debido a su toxicidad son las aflatoxinas, ocratoxina, fumonisinas, patulina, zearalenona y tricotecenos. La mayoría de estas micotoxinas son producidas por hongos de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* (Tabla N° 4) (Aubert y col., 2010). Cabe también destacar a las micotoxinas producidas por especies del género *Alternaria* como ácido tenuazónico (TeA), alternariol (AOH), alternariol metil éter (AME), altenueno (ALT), y altertoxinas (ATX) I, II y III. Todas ellas han sido reportadas como causantes de patologías humanas y son producidas por los grupo-especies *A. alternata*, *A. arborescens* y *A. tenuissima* (Pavón Moreno y col., 2012).

Entre las propiedades tóxicas de las micotoxinas se pueden hallar efectos mutagénicos, cancerígenos, tóxicos para la reproducción, hepatotóxicos, inmunotóxicos, neurotóxicos, hematotóxicos, necróticos y desórdenes de tipo hormonal (Aubert y col., 2010). En el caso de las micotoxinas de *Alternaria*, los efectos sólo han sido determinados en ensayos *in vitro* sobre ratas, embriones de pollo y cultivos celulares humanos (Tabla N° 5) (Pavón Moreno y col., 2012).

Todas estas toxinas han sido detectadas en el medio ambiente como contaminantes naturales en diversas áreas del mundo, inclusive en nuestro país (Cast, 2003).

Tabla N° 4: Micotoxinas y principales hongos que las producen.

MICOTOXINAS	HONGOS
Aflatoxinas B1, B2, G1,G2	*Aspergillus* (*A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*).
Ocratoxina A	*Aspergillus* (*A. ochraceus*, *A. fumigatus*, *A. versicolor*, *A. niger*), *Penicillium verrucosum*.
Fumonisinas B1, B2, B3	*Fusarium* (*F. moniliforme*, *F. proliferatum*).
Patulina	*Penicillium* (*P. patulum*, *P. expansum*), *Aspergillus* (*A. clavatus*, *A. terreus*).
Zearalenona	*Fusarium* (*F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*).
Tricotecenos	*Fusarium* spp., *Stachybrotis* spp., *Myrothecium* spp., *Trichothecium* spp., *Trichoderma* spp., *Memnoniella* spp.
AOH, AME, ALT, TeA, ATX	*Alternaria* (*A. alternata*, *A. arborescens*, *A. tenuissima*).

Tabla N° 5: Efectos toxicológicos de las micotoxinas.

MICOTOXINAS	EFECTOS SOBRE LA SALUD
Aflatoxinas	Cancerígeno, mutágeno, teratógeno, hepatotóxico, inmunotóxica.
Ocratoxina A	Nefrotóxico, cancerígeno, mutágeno, teratógeno, embriotóxico, inmunotóxico.
Fumonisinas B1	Cancerígeno, hepatotóxico, citotóxico, inmunotóxico, nefrotóxico, neurotóxico.
Patulina	Neurotóxico, mutágeno (in vitro), teratógeno, inmunotóxico, citotóxico.
Zearalenona	Estrogénico, disruptor endócrino, efectos sobre la fertilidad y la reproducción.
Tricotecenos	Hematotóxico, inmunotóxico, citotóxico, mielotóxico.
AOH	Actividad genotóxica en cultivos animales. Actividad citotóxica en cultivos de camarón (*Artemia salina*).
AME	Actividad genotóxica en cultivos animales. Alteraciones precancerosas en mucosa esofágica de ratones. Actividad citotóxica en cultivos de camarón (*Artemia salina*).
ALT	Actividad citotóxica en cultivos de camarón (*Artemia salina*).
TeA	Hemorragias internas en perros y aves. Alteraciones precancerosas en mucosa esofágica de ratones. Desorden hematológico en personas (Onyalai).
ATX	Actividad genotóxica en cultivos celulares de ratón (ATX-I y ATX-III).

1.3.2 Impacto en cultivos de importancia económica

Los cultivos pueden ser dañados por diversos tipos de microorganismos fitopatógenos como virus, hongos, bacterias, nematodos y viroides. Sin embargo, los hongos conforman el grupo que más enfermedades ocasiona y por lo tanto se convierten en los más estudiados, reportándose más de 8,000 especies capaces de causar patologías en las plantas (Guzmán, 2001).

Anualmente y en diversos lugares del mundo las pérdidas en las cosechas, debido a enfermedades fúngicas alcanzan sumas importantes, ocasionando grandes pérdidas económicas de tipo cuantitativo y/o cualitativo (sabor, textura, color y forma) a los sectores productivos (Ashworth y col., 1981; Agrios, 1988; Kasprzyk, 2008; Almaguer, 2015). Las de naturaleza cualitativa son el resultado de enfermedades localizadas superficialmente sobre el producto, haciéndolo menos atractivo a pesar de no haber una destrucción real del tejido aprovechable, lo cual se vuelve importante en productos de exportación ya que, en ellos, se enfatiza en la calidad visual del alimento y aún daños pequeños pueden volverlo inaceptable en el mercado. Con respecto a las pérdidas cuantitativas, estas son el resultado de la destrucción rápida y extensiva de tejido del producto. En estos casos generalmente ocurre una infección inicial por uno o más patógenos primarios, seguido por la masiva infección secundaria de microorganismos oportunistas que aunque puedan ser débilmente patogénicos, se reproducen en el tejido senescente debido a la infección primaria (Rivera, 2008). Como fue mencionado previamente cabe destacar que algunos hongos pueden producir metabolitos tóxicos de mayor preocupación para el consumidor que cualquier efecto sobre la apariencia del producto (Lacey, 1989). Las micotoxinas producidas se distribuyen con facilidad en el sustrato y pueden llegar a ser perjudiciales, aún cuando se encuentran en concentraciones muy bajas, poniendo en riesgo la inocuidad del alimento. Según la FAO (2001), un 25% de las cosechas de alimentos a nivel mundial están contaminadas con algún tipo de micotoxinas, lo cual representa un importante riesgo para la salud humana y animal de países importadores de alimentos que no controlan estos tipos de contaminantes (Trigos y col., 2008).

Por lo tanto, dado que la atmósfera es el medio más común para la dispersión de esporas fúngicas, la determinación de la micobiota aérea de una región,

particularmente de la fracción fitopatógena, aporta información útil para tomar medidas preventivas contribuyendo a mejorar la productividad y sanidad de los cultivos (Picco y Rodolfi, 2002; Isard y col., 2007; Almaguer, 2015).

En este aspecto, la aplicación de ciertos productos químicos como fungicidas y aceites esenciales sobre los cultivos es uno de los métodos más utilizados para prevenir y controlar las enfermedades fúngicas (Juárez-Becerra y col., 2010). Sin embargo esta práctica no siempre es efectiva ya que la severidad puede variar de forma significativa de un año a otro y, además, el empleo de grandes dosis de fungicidas puede ocasionar daños al medio ambiente (Hahn, 2014). Por otro lado, es bien conocido que la liberación y dispersión de esporas fúngicas en el aire se ve altamente influenciada por parámetros meteorológicos como las precipitaciones y el viento. Este último factor es el más importante y, en algunos casos, es responsable de dispersar enfermedades en plantas a través de distancias de 500 km o más (Aylor, 1998). Por lo tanto, información sobre las variaciones estacionales y espaciales de esporas fúngicas permite la confección de calendarios de presencia de esporas en aire para realizar pronósticos de aparición de patógenos en función de las variables climáticas registradas y así llevar a cabo de forma óptima las aplicaciones de agroquímicos correspondientes (Coello y col., 2002; Almaguer y col., 2008).

Los hongos presentes en el aire de ambientes rurales y sus variaciones en relación con las condiciones ambientales han sido poco estudiados (Kasprzyk y Worek, 2006). Sin embargo, es bien sabido que la supervivencia y actividad de la mayoría de los hongos fitopatógenos depende fundamentalmente de la temperatura y humedad. El micelio libre, o en contacto con superficies húmedas como el exterior o el interior de plantas hospedantes, puede sobrevivir dentro de un rango de temperaturas de 5-45 °C. Con respecto a las estructuras de resistencia, la mayoría de las esporas soportan intervalos mucho más amplios de temperatura y humedad, y permite que el hongo sobreviva a los días cálidos y a las bajas temperaturas. No obstante se debe tener en cuenta que para poder germinar estas esporas requieren condiciones adecuadas de humedad y temperatura (Agrios, 2005).

En diversas partes del mundo se han realizado estudios aeromicológicos que han señalado la existencia de una amplia variedad de hongos fitopatógenos que afectan cultivos de importancia económica (Pérez y col., 2003). Entre ellos se destacan géneros

como *Fusarium*, *Curvularia*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Nigrospora*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Colletotrichum* (Gaztambide, 2005), *Bipolaris* (Picco y Rodolfi, 2002), *Gibberella* (Almaguer y col., 2008), *Stemphylium* (Prados-Ligero y col., 2003) y *Botrytis* (Almaguer, 2015). En Argentina, luego de consultar la literatura no se han hallado estudios tendientes a establecer la concentración de esporas fúngicas en el aire de ambientes agrícolas en relación a la salubridad de los cultivos y menos aún en la zona del Alto Valle del río Negro, en la cual la producción frutihortícola es la principal actividad económica. Por lo tanto, considerando lo expuesto previamente resulta de vital importancia determinar la carga fúngica y la biodiversidad existente en el aire de ambientes rurales de esta zona valletana.

Enfermedades en cultivos causadas por hongos

Los hongos pueden sobrevivir y diseminarse en el campo a través de diferentes estructuras: micelio, esclerocios, clamidosporas y esporas que pueden estar presentes en tejidos infectados, hojas y frutos caídos, en el suelo y dentro o sobre semillas y material vegetativo. Como fuera previamente mencionado, si bien el viento es el factor determinante para la dispersión de estas estructuras, existen otros factores bióticos responsables de su diseminación en el campo como el agua (riego por aspersión o escurrimiento de agua de lluvia o canales de riego), vectores (insectos y/o ácaros) y el movimiento humano, de maquinaria o animales (Lastres y Soza, 2009).

Los hongos pueden considerarse como patógenos de plantas de diferente grado de severidad o como saprófitos superficiales que dañan los alimentos. La presencia de daños mecánicos en la superficie del producto, es casi un requisito obligatorio para el desarrollo de muchas enfermedades causadas por hongos debido a que son la vía para ingresar a los tejidos internos; sin embargo, ciertas especies de hongos son capaces de penetrar directamente la epidermis de hojas, tallos y frutos y causar el mismo daño (Rivera, 2008).

Las enfermedades causadas por hongos producen en sus hospedantes una amplia variedad de signos y síntomas. Los signos reflejan la presencia visible de los patógenos a través de una o más estructuras mientras que los síntomas corresponden a la manifestación externa de la enfermedad que es percibida por los sentidos (Cadenas, 2009). Las Tablas N° 6 y N° 7 y resumen los signos y síntomas más comunes causados por hongos fitopatógenos.

Tabla N° 6: Compendio y descripción de los signos ocasionados por hongos más comúnmente hallados en cultivos.

Signos	Características	Hongos causales
Micelio y esporulación	Estructura vegetativa formada por el conjunto de hifas de los hongos y producción de esporas (Fig. 11 A, B).	*Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Botrytis* spp.
Esclerocios	Estructuras de conservación de algunos hongos que consisten en una masa de hifas cubiertas de una pared de melanina. Pueden ser redondos, alargados, irregulares u de coloración oscura (Fig. 11 C).	*Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*.
Royas	Son causadas por hongos que esporulan abundantemente en las hojas y tallos verdes a través de pústulas.	*Puccinia graminis*, *Uromyces appendiculatus*.
Oidiosis	Es producida por hongos parásitos obligados del orden Erysiphales, cuyo micelio crece superficialmente en hojas, flores, frutos, tallos, etc. y esporulan abundantemente formando colonias pulverulentas de color blanco (Fig. 11 D).	*Eryshiphe* spp.
Carbón	Es ocasionado por hongos parásitos semiobligados del orden Ustilaginales que invaden el tejido de reserva de almidón de las plantas reemplazándolo por masas pulverulentas de esporas de color negruzco (FIg. 11 E).	*Ustilago* spp.
Exudaciones	Suelen ser de tipo mucilaginosas y salen al exterior de los tejidos a través de estomas, lenticelas, heridas, etc. (Fig. 11 F).	*Lasiodiplodia theobromae.*

Fuente: Departamento de Académico de Entomología y Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria La Molina (Cadenas, 2009).

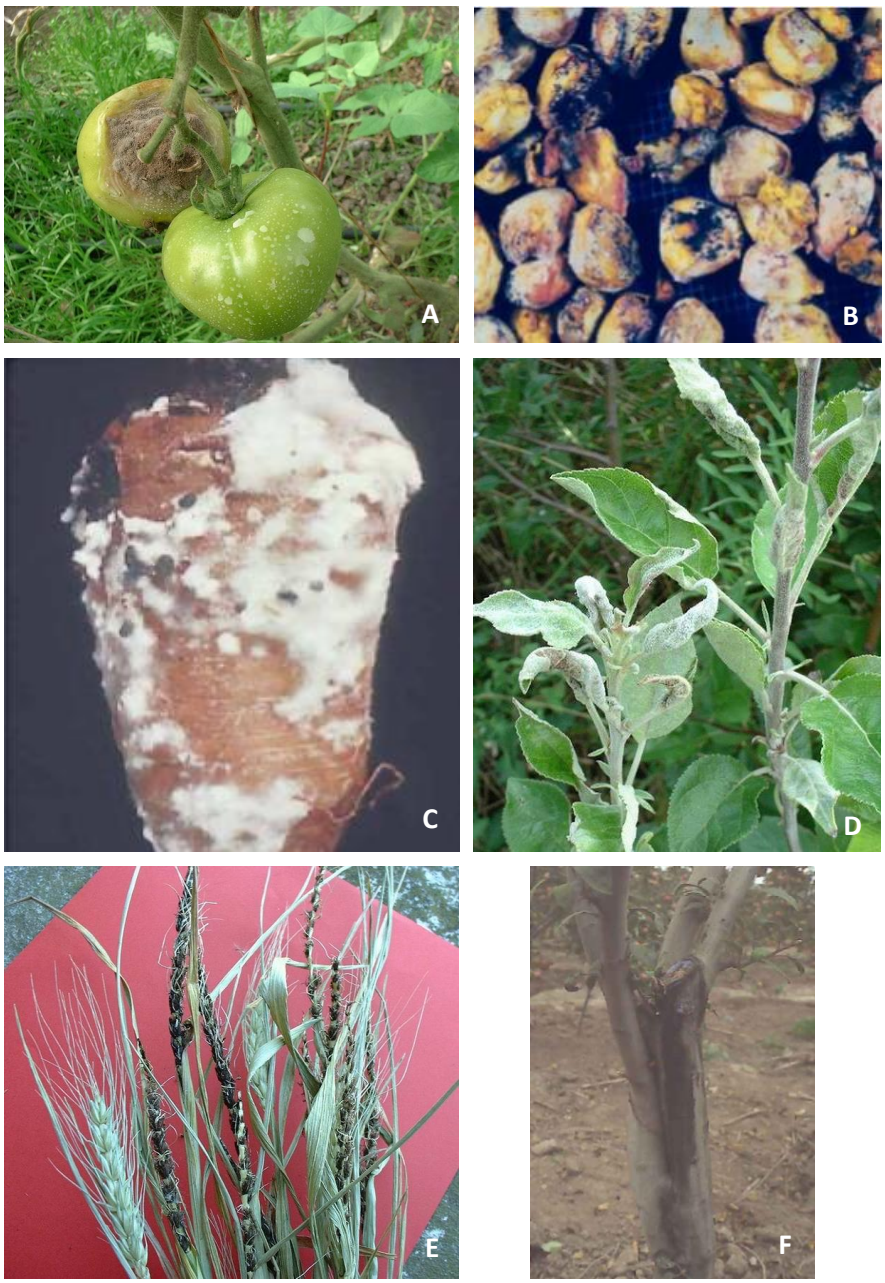


Fig. 11: Diversidad de signos causados por hongos fitopatógenos. Desarrollo de *micelio y esporulación* de *Botrytis* spp. en tomate (A) y de *Aspergillus niger* en maíz (B) (Cadenas, 2009; Facultad de Agronomía, Departamento de Sanidad Vegetal, Montevideo, Uruguay). *Oidiosis* en manzano (Facultad de Agronomía, Departamento de Sanidad Vegetal, Montevideo, Uruguay) (C). *Esclerocios* desarrollados por *Sclerotinia sclerotiorum* en zanahoria (Cadenas, 2009) (D). Espigas de trigo con *carbón* (Facultad de Agronomía, Departamento de Sanidad Vegetal, Montevideo, Uruguay) (E). *Exudaciones* producidas por *Lasiodiplodia theobromae* en tallo de manzana (Cadenas, 2009) (F).

Tabla N° 7: Compendio y descripción de los síntomas ocasionados por hongos más comúnmente hallados en cultivos.

Síntomas	Tipos y características	Hongos causales
Prenecróticos: Anteceden a la muerte celular y/o tisular.	*Enrojecimiento*: Viraje al color rojo de los tejidos previo a la muerte tisular por la acumulación de antocianinas (Fig. 12 A).	*Wilsonomyces carpophilus*, *Alternaria alternata*, *Alternaria dauci*
	Marchitamiento: Pérdida de turgencia de los tejidos debido al impedimento de la absorción de agua por las raíces (Fig. 12 D).	*Fusarium oxysporum*, *Verticillium alboatrum*
Necróticos: se producen por la muerte celular y/o tisular.	*Podredumbre*: destrucción completa del tejido atacado. Puede ser dura o blanda, seca o húmeda (Fig. 12 B, C) fragante o fétida.	*Fusarium solani*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Penicillium* spp., *Ganoderma applanatum*
	Cancro: lesión hundida con bordes suberificados que se presentan en la corteza de las plantas tanto leñosas como suculentas (Fig. 12 E).	*Rhizoctonia solani*
	Resquebrajamientos: se pueden producir en la corteza de especies leñosas o en frutos.	Oidiosis, *Lasiodiplodia theobromae*
	Manchas necróticas: áreas necróticas redondeadas irregulares que pueden presentarse en hojas y/o frutos y, en ocasiones, exhiben anillos concéntricos (Fig. 12 F).	*Alternaria* spp., *Cercospora* spp., *Phoma* spp.
	Estrías necróticas: la necrosis se produce en forma de líneas paralelas a las nervaduras (común en gramíneas u hojas con venación paralela).	*Drechslera graminis*
	Perforaciones o cribado: se producen cuando la el tejido necrosado se desprende de las hojas y cae (Roya).	*Alternaria betae*
	Escaldadura: la epidermis se desprende del parénquima y se necrosa el tejido adyacente.	*Rhynchosporium secalis*
	Pústulas: los patógenos se desarrollan en la subepidermis o subperidermis y ejercen presión para salir a la superficie	*Puccinia graminis*

	rompiendo la epidermis típico de las Royas (Fig. 12 G).	
	Abolladuras: lesiones necróticas hundidas o cóncavas, generalmente en frutos (Fig. 12 H).	*Aspergillus niger*
Hipertróficos: se presentan cuando hay hiperplasia o hipertrofia de tejidos.	*Encrespamiento*: se hiperplasia el tejido internerval debido a que las nervaduras crecen a un ritmo mayor (Fig. 12 H).	*Taphrina deformans*
	Suberificación: Tejido de cicatrización formado en lesiones de tejidos leñosos o suculentos (Fig. 12 I).	Oidiosis, *Venturia* spp.
Complejos y especiales: son síntomas que reúnen dos o más de los síntomas anteriores o que no pueden ser agrupados en ninguno de ellos.	*Exudaciones*: síntoma especial que se caracteriza por arrojar al exterior sustancias como látex, goma, resinas, etc. (Gomosis).	*Lasiodiplodia theobromae*.

Fuente: Departamento de Académico de Entomología y Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria La Molina (Cadenas, 2009).

Fig. 12: Diversidad de síntomas causados por hongos fitopatógenos. *Enrojecimiento* por *A. dauci* en zanahoria (A). *Podredumbre seca* en tubérculos de papa por *F. solani* (B) (Cadenas, 2009). *Podredumbre húmeda* en manzanos por *Penicillium* spp. (C). *Marchitamiento* en planta de morrón producido por *Sclerotium rolfsii* (D). *Cancros* en manzanos (E). *Manchas necróticas* en manzana por *Alternaria* spp. (F). *Pústulas* con uredosporas en hojas de ajo producida por *Puccinia allii* (G). *Abolladura* y *encrespamiento* en hojas de durazno producido por *Taphrina deformans* (H). *Suberificación* en manzano por ataque de *Venturia inaequalis* (I) (Facultad de Agronomía, Departamento de Sanidad Vegetal, Montevideo, Uruguay).

Origen del deterioro fúngico en los cultivos

Saber cuándo los productos se contaminan con esporas y las formas en que estas se dispersan pueden ayudar a identificar el momento y el lugar donde las medidas de control deben ser empleadas con mayor eficacia. Los hongos pueden acumularse sobre las superficies de las plantas, provenir del aire, estar presentes en la maquinaria de recolección o pueden contaminar el agua utilizada para el lavado de los frutos. Sin embargo, su dispersión puede estar restringida por materiales de empaque que puede prevenir la infección disminuyendo los golpes o como resultado de incorporar agentes de control químico (Lacey, 1989).

Los frutos son productos perecederos, susceptibles al ataque de hongos fitopatógenos antes o después de la cosecha y durante su almacenamiento, causando pérdidas de la materia seca y de la calidad que difieren mucho en sus determinantes ecológicos (Lacey, 1989).

Patógenos precosecha: Los hongos presentes en las plantas antes de la cosecha se conocen tradicionalmente como hongos de campo. Estos están sujetos a condiciones extremas, dependiendo de la naturaleza del cultivo y de las características microclimáticas como fluctuaciones diurnas de temperatura, velocidad del viento, presión de vapor y radiación. Típicamente éstos incluyen especies de *Cladosporium*, *Alternaria*, *Epicoccum*, *Verticillium*, *Fusarium* entre otros hongos fitopatógenos. Los hongos de campo pueden persistir en los alimentos frescos después de la cosecha y causar en ellos lesiones desfigurantes. Es importante tener en cuenta que existe un cierto grupo de hongos que se encuentran presente en pequeño número antes de la cosecha que podrían crecer en algún momento durante el almacenamiento. Estos corresponden principalmente a especies de *Aspergillus* y *Penicillium* que, a medida que aumenta el contenido de agua en los productos almacenados, el crecimiento fúngico se vuelve más vigoroso, llevando al calentamiento espontáneo del sustrato y al crecimiento de hongos más termotolerantes, incluyendo especies de *Absidia*, *Rhizomucor* y *Humicola* a menudo acompañadas de actinomicetes termófilos (Lacey, 1989).

Patógenos poscosecha: Las enfermedades de poscosecha de los productos agrícolas son aquellas que se presentan después de la cosecha, provocando el deterioro de los mismos antes de ser consumidos o procesados (Rivera, 2008). La incidencia de las enfermedades de poscosecha depende de muchas variables como:

- Presencia de infecciones latentes que se inician en el campo durante la estación de cultivo.
- Contaminación con inóculo en el momento de la cosecha.
- Efectividad de los tratamientos a campo y poscosecha (fertilización-sanitización-fungicidas).
- Cambios fisiológicos como la senescencia y la maduración de los frutos.
- Daños físico-mecánicos causados por magulladuras por roce, compresión, o impacto durante la cosecha, almacenamiento o transporte.
- Condiciones de almacenamiento y comercialización.

Con respecto a este último punto, las condiciones durante el almacenamiento son más uniformes que las del campo y, para algunos alimentos, la temperatura, la humedad y/o la composición gaseosa pueden ser controladas estrechamente. Los productos químicos también pueden utilizarse para modificar el medio ambiente y prevenir el desarrollo de microorganismos como los hongos de almacenamiento (Lacey, 1989). Los hongos de almacenamiento muestran un crecimiento óptimo a 20-25 °C pero pueden tolerar temperaturas máximas de 32-38 °C aunque algunas especies pueden crecer a temperaturas aún mayores como *Rhizopus* spp.. Las temperaturas inferiores a 15 °C usualmente inhiben el desarrollo de patógenos, aunque existe un grupo selecto de hongos (como *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* y *Cladosporium herbarum*) que pueden crecer y causar deterioro a temperaturas de refrigeración entre –1 y 1 °C. La mayoría de las infecciones poscosecha ocurren como consecuencia de los daños en su integridad física que sufren durante y después de la cosecha (Rivera, 2008).

1.4 Región del Alto Valle del río Negro

1.4.1 Características geográficas

El Alto Valle está ubicado en la confluencia de los ríos Limay, Neuquén Inferior y río Negro superior y está comprendido entre 38° 40’ y 39° 20’ de latitud sur y de 65° 50’ 68° 20’ de longitud oeste extendiéndose por encima de los límites políticos entre las provincias de Río Negro y Neuquén. De esta manera el valle del río Neuquén y el del río Limay se unen en un punto cercano a la ubicación de la ciudad de Neuquén denominado Confluencia, a partir del cual el nuevo cauce se llama río Negro. Este nuevo valle en forma de “Y” está dispuesto latitudinalmente y es conocido como Alto Valle del río Negro. Los valores de altitud van de 400 metros al oeste del valle a 200 metros sobre el nivel del mar (snm) al este del valle (Rodríguez y Muñoz, 2006). Esta región está compuesta por 19 municipios y una Comisión de Fomento (Valle Azul) y los puntos que comprenden los extremos de la misma son San Patricio del Chañar y Senillosa en la provincia de Neuquén y Chichinales en Río Negro (Fig. 13).

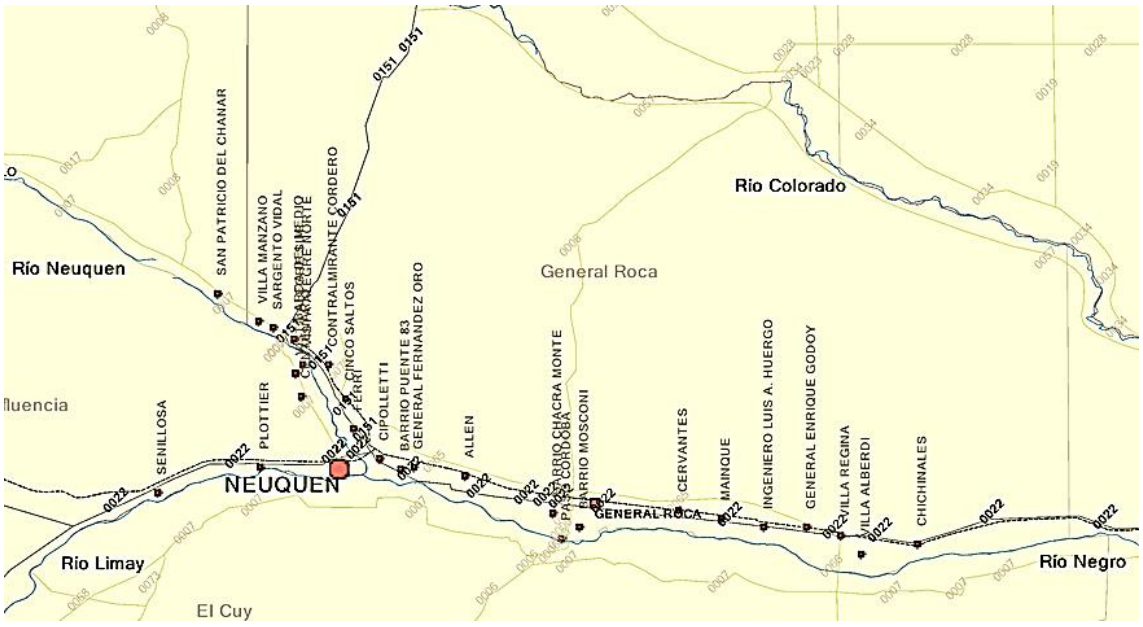


Fig. 13: Mapa del Alto Valle del río Negro (CC BY 2.5, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1079988)

1.4.2 Características climatológicas

La zona del Alto Valle se encuentra ubicada en el sector Norte de la Patagonia y está incluida en la clasificación climática de Köeppen en el tipo BWk, clima seco desértico frío con verano cálido (Köeppen, 1931). De acuerdo con Thornthwaite, la región presenta un clima árido a semiárido, mezo termal y con lluvias deficientes durante todo el año (Rodríguez y Muñoz, 2006).

Históricamente, con el fin de realizar la caracterización climática de una zona geográfica, se utilizan los datos meteorológicos obtenidos de campos de observación instalados en aeropuertos, estaciones experimentales y otros puntos particulares. En general los factores medidos pueden incluir temperatura, precipitación, humedad relativa, heliofanía y radiación global, evaporación, presión atmosférica y velocidad y dirección del viento (Nordenstrom, 2006). En esta región, esta tarea es llevada a cabo por un Observatorio Agrometeorológico que pertenece al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) situado en la localidad de Contraalmirante Guerrico que, desde 1923 hasta la fecha, reúne el registro de las mencionadas variables climatológicas efectuadas en estaciones experimentales de diversas localidades de la región y también del Valle Medio (Fig. 14).

Fig. 14: Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Alto Valle en la localidad de Contraalmirante Guerrico donde se sitúa el Observatorio Agrometeorológico.

Un estudio agroclimatológico llevado a cabo en la región durante el período 1990-2004 por Rodríguez y Muñoz fue publicado en el año 2006 y contiene información sobre los eventos climatológicos sucedidos durante dicho período de 15 años brindando estudios estadísticos de los diferentes parámetros analizados.

Los autores describen que la zona se caracteriza por tener una temperatura media anual de 15,0 °C siendo el mes de enero el más caluroso con temperaturas medias de 23,6 °C y el mes de julio el más frío con temperaturas medias de 6,6 °C (Fig. 15). Las altas temperaturas estivales provocan, a pesar de ser esta la época de mayores precipitaciones, grandes deficiencias hídricas por evapotranspiración. La amplitud térmica de la región es marcada y propia de su carácter continental con valores medios anuales de 17 °C. Con respecto al régimen de heladas la frecuencia anual media es de 67,5 heladas pero el 40% de los quince años comprendido entre el período 1990-2004 exceden esta media. La máxima intensidad se dio en el año 1995 durante el mes de agosto con un valor de temperatura mínima de -11 °C (Rodríguez y Muñoz, 2006).

Otro parámetro registrado es la humedad relativa cuya media anual es de 65%. Los valores medios por encima del 70% ocurren entre mayo y julio y puede alcanzar valores máximos de hasta un 90%. Los valores más bajos pueden llegar al 43% y suelen darse en el período primavero-estival entre los meses de noviembre a febrero (Rodríguez y Muñoz, 2006).

Por otro lado, la precipitación media anual es de 243,7 mm. La importancia agrometeorológica de este factor en la zona se basa principalmente en el desarrollo fúngico. En términos generales se registra una mayor cantidad de mm de lluvia acumulados durante las estaciones otoñales y primaverales. Sin embargo, se observan grandes variaciones de un año a otro, como resulta característico de los climas áridos (Fig. 16) (Rodríguez y Muñoz, 2006).

En relación al viento, Prohaska (1976) en su descripción de las características generales del clima en la Argentina, indicó que el clima en la Patagonia está caracterizado principalmente por un solo elemento meteorológico por su constancia e intensidad: el viento. Este es un factor climático de importancia en la zona principalmente en los meses de octubre a diciembre y su presencia hace necesaria la implantación de cortinas protectoras, principalmente alamedas. Los vientos varían

entre suaves y fuertes pero se caracterizan por la ocurrencia de ráfagas de hasta 100 km/h. El período con mayor frecuencia de días de calma se registra entre los meses de abril y julio. Durante el período 1990-2004 la velocidad media del viento tiene un valor promedio 6,7 km/h y la intensidad máxima de las ráfagas registrada fue de 74 km/h (Fig. 17) (Rodríguez y Muñoz, 2006). La dirección predominante del viento es del Oeste y Suroeste y las frecuencias del viento proveniente de los sectores Norte y Sur muestran valores menores debido a la presencia de la meseta que actúa como muro reparador (Fig. 18). Según Cogliati y Mazzeo (1999), un adecuado conocimiento de este factor meteorológico en la región posibilitaría su utilización como recurso para ejecutar métodos de defensa frutícola como por ejemplo en la prevención de enfermedades fúngicas a campo.

Debido a su ubicación geográfica la región posee altos valores de radiación global con un valor anual medio de 391,4 cal.gr/cm^2.día y los máximos valores se alcanzan durante las estaciones de primavera y verano (Fig. 19) (Rodríguez y Muñoz, 2006).

Finalmente se debe hacer mención a la situación que experimenta la región valletana con respecto al fenómeno del cambio climático. Al igual que sucede a nivel global, se han registrado diferencias en los valores registrados de diversos parámetros meteorológicos en la región con respecto a los históricos. Durante el período 1990-2004 la temperatura media del aire se ha incrementado en 0,5 °C con respecto a la media histórica registrándose la mayor diferencia durante la primavera con valores entre 1 y 1,2 °C por encima de los históricos. Las temperaturas máximas absolutas mensuales han sido inferiores a los valores históricos mientras que las mínimas absolutas mensuales han sido siempre superiores, lo cual se puede ver reflejado en la amplitud térmica de la región que no ha variado significativamente respecto al registro histórico. En relación a la frecuencia anual de heladas, fue algo menor para el período 1990-2004 (67,5 días) respecto del valor histórico (71,9 días). Las precipitaciones medias mensuales se han incrementado fundamentalmente en los meses de febrero a junio respecto al registro histórico, como así también el valor medio anual ascendiendo de 197,7 mm a 243,7 mm acumulados. No se observa variabilidad respecto a las estadíticas históricas para los vientos (Rodríguez y Muñoz, 2006).

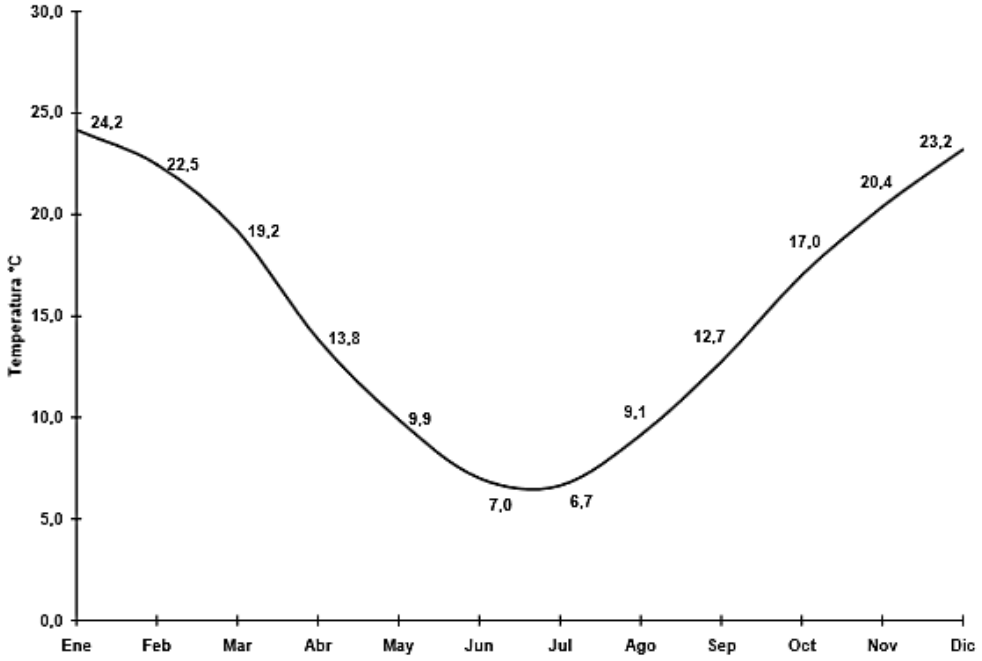


Fig. 15: Régimen anual de temperatura media mensual para el período 1990-2004 (Rodríguez y Muñoz, 2006).

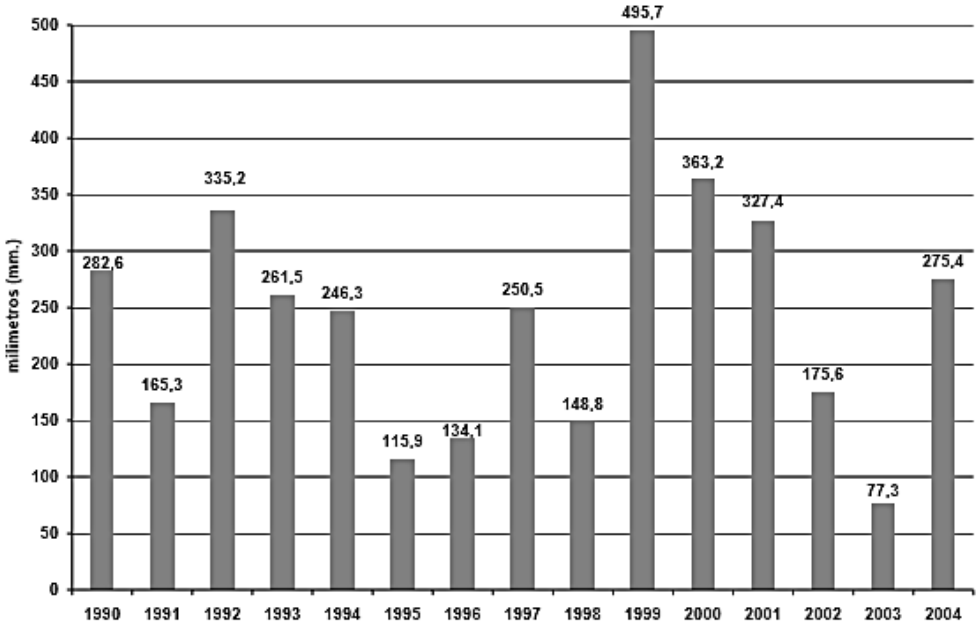


Fig. 16: Precipitaciones anuales para el período 1990-2004 (Rodríguez y Muñoz, 2006).

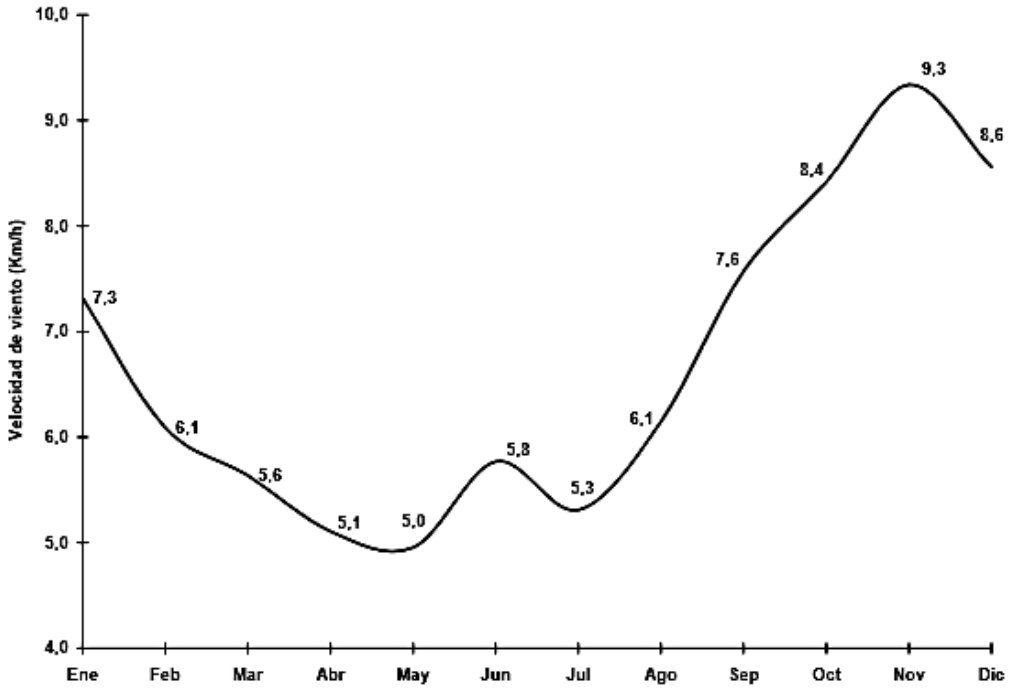


Fig. 17: Velocidad mensual media del viento para el período 1990-2004 (Rodríguez y Muñoz, 2006).

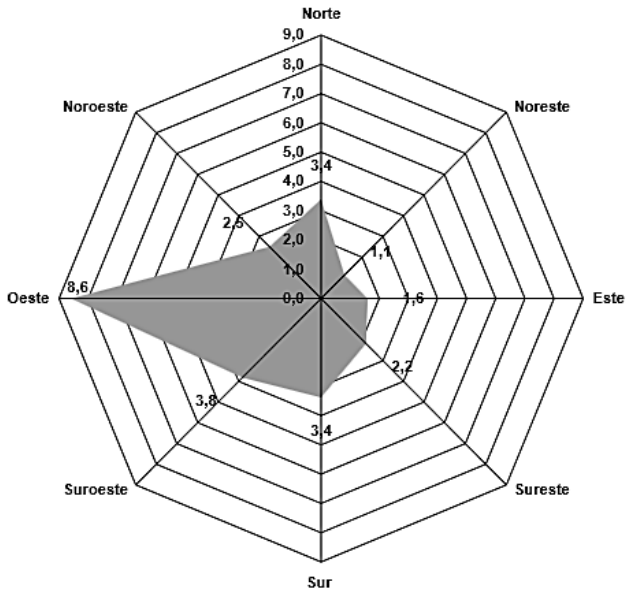


Fig. 18: Frecuencia media de direcciones del viento para el período 1990-2004 (Rodríguez y Muñoz, 2006).

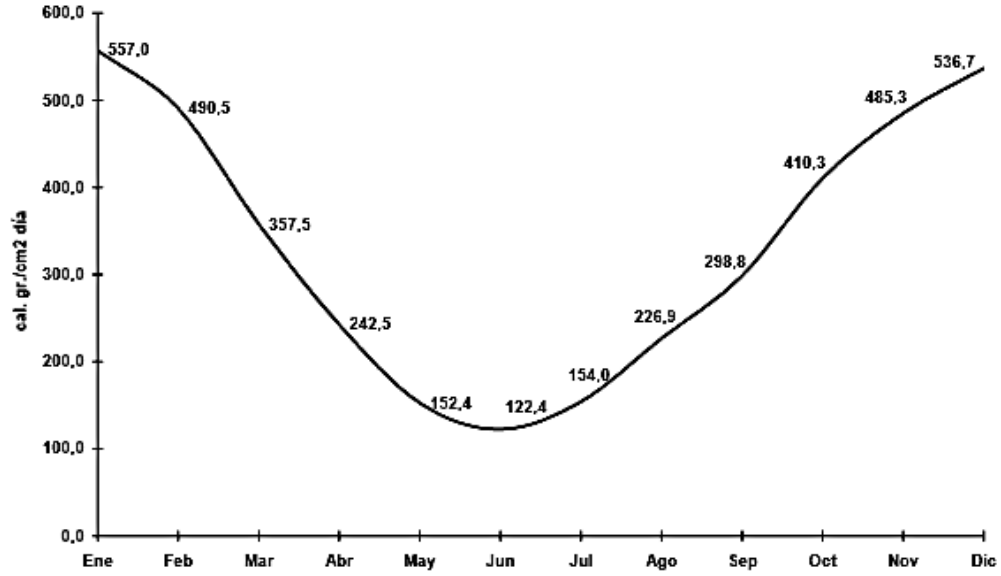


Fig. 19: Radiación global media mensual para el período 1990-2004 (Rodríguez y Muñoz, 2006).

1.4.3 Producción frutícola

Producción mundial y nacional

La producción de frutos de pepita en el Alto Valle supera en un 90% al total de frutos cultivados en la región seguido por la producción de frutos de carozo y uva (SENASA, 2017a). A nivel global, según un informe publicado en diciembre de 2017 por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) la producción mundial de manzanas durante el periodo 2016/2017 fue de aproximadamente 79 millones de toneladas y la de peras fue de 25 millones de toneladas. China se posicionó como el principal productor de manzanas con un 55,74% de la producción mundial y Argentina se ubicó por debajo de los diez primeros puestos con 530.000 toneladas producidas. Con respectos a las peras, China también fue el principal productor con un 75,13% de la producción mundial y Argentina se posicionó en el cuarto lugar con 530.000 toneladas (USDA, 2017). De estos resultados se puede concluir que, en Argentina, la producción de peras y manzanas está distribuida en partes prácticamente iguales alcanzando un volumen total de aproximadamente 1.060.000 toneladas de pomáceas. Asimismo, las regiones del Alto Valle y Valle Medio de Río Negro concentran el 85% de la producción de manzana y el 75% de la de pera, mientras que el resto se reparte entre el Valle de Uco (Mendoza), 25 de Mayo (La Pampa) y el Valle del Tulum (San Juan), entre otros sitios del país (CAFI, 2014).

Superficie cultivada

Según el último anuario estadístico publicado por el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), la superficie total plantada con manzanos supera las 13815 ha en la provincia de Río Negro y las 2933 ha en la provincia de Neuquén. Con respecto a la superficie destinada a plantaciones de perales, en Río Negro supera las 17024 ha y en Neuquén las 2296 ha observándose una mayor densidad de cultivos en la zona centro-este de la región (Tablas N° 8 y N° 9) (SENASA, 2017a).

Tabla N° 8: Superficie cultivada con frutas de pepita (ha) por localidad y especie en la provincia de Río Negro.

Localidad	Manzana	Pera
Allen	2.826	3.008
General Roca	1.918	2.540
Villa Regina	1.834	2.304
Cipolletti	1.201	1.624
Chichinales	794	1.288
Gral. E. Godoy	982	1.044
Ing. Luis A. Huergo	861	1.134
Cervantes	749	997
Mainqué	603	914
Campo Grande	635	596
Cinco Saltos	484	553
Gral. Fernández Oro	432	478
Valle Azul	332	359
Contralmte. Cordero	164	185
Superficie Total	13.815	17.024

Tabla N° 9: Superficie cultivada con frutas de pepita (ha) por localidad y especie en la provincia de Neuquén.

Localidad	Manzana	Pera
San Patricio del Chañar	1.538	1.082
Centenario	577	661
Vista Alegre	326	172
Plottier	205	163
Senillosa	141	114
Neuquén	146	104
Superficie Total	2.933	2.296

Variedades de manzanas y pera cultivadas

Con respecto a las manzanas, Red Delicious y sus clones se presenta como la variedad predominante en la región ocupando aproximadamente un 63,5% de la superficie total plantada. En orden de importancia le siguen Granny Smith, Gala, Cripps Pink y Rosy Glow A1 mientras que el resto de las variedades se encuentran en porcentajes inferiores al 1% (Fig. 20) (SENASA, 2017a).

Fig. 20: Variedades de manzana predominantes en la región: Red Delicious (izquierda) y Granny Smith (derecha).

En relación a las peras, la variedad con mayor superficie plantada es Williams alcanzando un 40,3% de la superficie total. En segundo lugar le sigue Packham's Triumph y luego las variedades Beurre D'anjou, Abate Fetel, Red Bartlett, Beurre Bosc y Beurre Giffard. El resto de las variedades presentan porcentajes inferiores al 1% (Fig. 21) (SENASA, 2017a).

Fig. 21: Variedades de pera predominantes en la región: Williams (izquierda) y Packham's Triumph (derecha).

Tipos de sistemas de cultivos

Los sistemas de producción agrícola que se encuentran en vigencia a nivel mundial se pueden clasificar en tres tipos: convencional o tradicional, orgánico y transgénico. Estos sistemas tienen el reto y objetivo de suplir la creciente demanda de alimentos (Perdomo, 2013). En la región del Alto Valle del río Negro sólo existen los dos primeros y cada uno de ellos tiene ventajas y desventajas que los caracterizan como las que se describen a continuación.

Sistemas de producción orgánica:

- Se deben realizar en áreas libres de productos agroquímicos por un período de 3 años o más.
- Las semillas y todos los insumos que se utilicen no pueden haber tomado contacto con agroquímicos durante su producción.
- Utilizan métodos naturales para combatir las plagas, abonos naturales (estiércol) y sólo se pueden emplear algunos químicos de origen mineral como azufre y cobre, sin embargo, para fertilizar no se pueden utilizar abonos minerales como potasio y fósforo.
- En función de aumentar la productividad, la principal desventaja de estos sistemas es que registran menores rendimientos, aproximadamente entre un 20 y 40% menos que la producción convencional.

Sistemas de producción tradicional:

- Se pueden emplear todas las herramientas tecnológicas disponibles en el mercado.
- Los suelos se preparan con labranza mínima o intensiva.
- Utiliza semillas tradicionales, mejoradas y tratadas.
- Nutre y protege al cultivo con tecnologías de síntesis química u orgánica.

- Tiende a ser un tipo de producción más extensiva y con mayor rendimiento por el uso de las herramientas que facilitan esta productividad. Sin embargo, este tipo de sistema exige al agricultor conocimientos sobre el manejo responsable de las tecnologías para tener mayor rendimiento y proteger los recursos naturales.

Fuente: José Perdomo, 2013.

Actualmente, en la región, el sistema de cultivo tradicional es el más extendido pero el sistema orgánico comienza a crecer y desarrollarse. Según un informe emitido por el Senasa en el año 2017 respecto de la "Situación de la Producción Orgánica en la Argentina durante el año 2016", las principales provincias productoras fueron Río Negro (52%); Tucumán (17%) y Neuquén (16%). Tanto en Río Negro como en Neuquén este sistema se volcó a los cultivos de frutales de pepita y carozo. En relación a la superficie cultivada, de las 6.475 ha cosechadas de frutales, los cultivos más importantes fueron la pera (34%) y la manzana (32%) (SENASA, 2017b).

Actualmente muchos agricultores realizan una conversión desde un sistema manejado con insumos agroquímicos de tipo tradicional a un sistema más diversificado de tipo orgánico con el objetivo de lograr una producción de calidad y estable. Además de esta manera se logra independizar de insumos disminuyendo así los costos de producción, y promoviendo a la conservación de los recursos naturales como suelo, agua y agrobiodiversidad (Altieri, l995). El objetivo final de reconvertir a sistemas orgánicos es diseñar agroecosistemas que presenten alta resistencia a plagas y enfermedades, capacidad de reciclaje y retención de nutrientes, como también altos niveles de biodiversidad (Gliessman, l998; Altieri y Nicholls, 2007).

1.4.4 Principales enfermedades causadas por hongos aerotransportados en frutos de pepita de la región

La mayoría de las enfermedades fúngicas que se desarrollan en frutos de pepita de la región del Alto Valle causadas por hongos aerotransportados ocurren en la época de poscosecha y las más importantes incluyen a *Penicillium expansum* y *Botrytis cinerea*. Las patologías causadas por *Cladosporium* spp., *Alternaria* spp. y *Athelia epiphylla* son de aparición más esporádica. Cabe mencionar además que se han suscitado en la región otras enfermedades en peras y manzanas ocasionadas por los zigomicetes *Mucor piriformis* y *Rhizopus stolonifer* y, únicamente en peras, por *Trichothecium roseum*. A campo se puede observar como patología relevante la sarna del manzano y del peral causada por especies del género *Venturia*, pero su incidencia es baja dadas las condiciones de humedad que requiere este patógeno para desarrollar su ciclo (Colodner, 2013). A continuación se describirán las enfermedades producidas por los géneros previamente mencionados que causan mayor impacto biológico y económico en los cultivos de en la región.

Género *Penicillium*: La presencia del moho azul, atribuido principalmente a la especie *Pencillium expansum*, causa una podredumbre destructiva muy común en los frutos durante la etapa de almacenamiento principalmente (Willet y col., 1989). El hongo puede desarrollarse tanto en los tejidos externos como internos. Las manifestaciones externas corresponden a lesiones ligeramente deprimidas y blandas al tacto en las que, generalmente, se pueden observar los conidios del patógeno de un color azul verdoso (Fig. 22). El hongo puede ingresar al interior a través de heridas ocasionadas por insectos mientras el fruto se encuentra en el campo o por la incorrecta manipulación de la fruta durante la cosecha y/o el almacenamiento que causa contusiones en los frutos. Además, también se producen pudriciones por el contacto directo de frutas contaminadas con frutas sanas (Anguiano y col., 2012).

Las condiciones ambientales como la humedad, la ventilación y la temperatura influyen directamente en el desarrollo de la descomposición. El almacenamiento a baja temperatura puede disminuir la tasa de decaimiento, pero no evitará la infección. El

hongo crece bien a la humedad en que normalmente se encuentran los frutos en el almacenamiento en frío (Willet y col., 1989).

Penicillium expansum representa un riesgo para la salud por la producción de patulina en el fruto infectado. El rango amplio de temperatura a las que el hongo crece y produce patulina, es de 0 °C a 24 °C, lo cual dificulta el control de la micotoxina, especialmente en la etapa de post-cosecha. Que el patógeno puede desarrollarse en el interior del fruto, no siendo evidente su presencia a simple vista, por lo que se ha reportado la contaminación con patulina en jugos y papillas de manzana elaboradas con frutos contaminados (Anguiano y col., 2012). Por lo tanto, el manejo cuidadoso de la fruta, el saneamiento del empaque, el enfriamiento inmediato de la fruta y el manejo apropiado de la temperatura durante el período de almacenamiento son claves para reducir el moho azul (Willet y col., 1989).

Fig. 22: Podredumbre azul causada por *Penicillium expansum* en manzanas (Facultad de Agronomía, Departamento de Sanidad Vegetal, Montevideo, Uruguay) y en peras (INTA EEA Alto Valle).

Género *Botrytis*: *Botrytis cinerea* es un saprófito que causa a menudo pudriciones de la fruta antes y después de la cosecha, enfermedad que comúnmente se conoce como “podredumbre gris”. Este hongo coloniza a través de pinchazos y heridas. El hongo crece y esporula abundantemente sobre el material vegetal muerto y moribundo especialmente durante el tiempo fresco y húmedo (Fig. 23). La infección puede ocurrir en el campo o en cualquier momento en el proceso de manipulación en

el que las esporas entran en contacto con heridas de la fruta sin protección o con tejido susceptible. Estas frutas inicialmente podridas propagan la enfermedad a las frutas en contacto con ellas para producir nidos o bolsas de fruta en descomposición. La enfermedad también se conoce a menudo como nido o podredumbre de racimo (Willet y col., 1989).

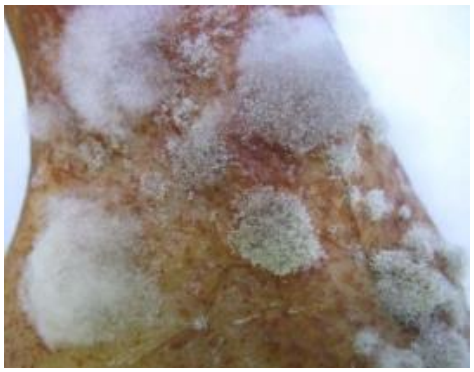


Fig. 23: Podredumbre gris causada por *Botrytis cinerea* en peras (EEA Alto Valle).

Género *Alternaria*: *Alternaria* es un componente común de la micoflora de la mayoría de las plantas y puede causar infección en manzanas y peras en cualquier etapa de producción. Sus esporas contaminan la fruta en el campo o durante el proceso de manipulación y la velocidad de decaimiento depende de la condición de la fruta (Willet y col., 1989). En la región producen enfermedad principalmente en manzanas. En la literatura actualmente se reportan tres enfermedades en manzanas causadas por especies de este género: la mancha foliar y la mancha de los frutos ambas causadas por *A. mali* y el corazón mohoso causado por *A. alternata*, esta última patología generalmente se presenta como un problema poscosecha, aunque la infección comienza en el campo (Horlock, 2006).

Las lesiones foliares se observan como manchas pequeñas, redondas y negruzcas, que aumentan gradualmente a 2-5 mm de diámetro, con un borde de color marrón-púrpura. La mayoría de los puntos experimentan una fase de ampliación secundaria y adquieren una forma irregular y un color mucho más oscuro (Fig. 24 A). Las lesiones en los pecíolos hacen que las hojas se pongan amarillas y en pleno verano hasta el 50% de defoliación puede ocurrir en los árboles no tratados (Horlock, 2006). La podredumbre en los frutos comienza en las lenticelas o en la zona calicinal y van

avanzando en extensión superficial pero también hacia el interior. Es una podredumbre de color negro a marrón oscuro, de consistencia firme y seca con un desarrollo circular que puede abarcar casi la totalidad del fruto (Fig. 24 B). El patógeno no provoca que la fruta se pudra en el campo o en el almacenamiento. Las manchas surgen como una mancha o podredumbre seca en las manzanas infectadas (Almenar y col., 2013).

El corazón mohoso suele presentarse en las variedades rojas, de las cuales, Red Delicious es una de las más susceptibles. Se manifiesta con podredumbres internas que comienzan en las semillas y que deteriora la calidad de los frutos (Fig. 24 C). Su presencia está generalizada en los montes frutales durante todo el año, aunque el momento crítico para el desarrollo es la primavera, durante la floración, cuando el hongo se pone en contacto con los órganos florales y puede ingresar al cáliz y a los carpelos produciendo la infección. En la región, el INTA llevó a cabo una investigación para caracterizar los aspectos más importantes de esta enfermedad. Como resultado se detectó que esta patología está relacionada a factores climáticos como abundantes precipitaciones, principalmente en momentos previos y durante la floración. Es importante destacar que del total de frutos infectados con *Alternaria* spp. a lo sumo el 27% desarrolló el síntoma típico de la enfermedad. Se evaluó además, el desarrollo de esta enfermedad en cámaras de frío convencional y de atmósfera controlada y, en ambos casos, se observó que el patógeno se desarrolló a lo largo de la conservación (Di Masi, 2014).

Finalmente, resulta importante mencionar que *Alternaria alternata* es motivo de preocupación porque produce varias micotoxinas que se acumulan en los frutos durante la etapa de precosecha, incluyendo el ácido tenuazónico, el alternariol, el éter monometílico de alternariol, el altenueno y las altertoxinas, de los cuales el primero es probablemente el más tóxico mientras que otros pueden ser mutagénicos (Lacey, 1989).

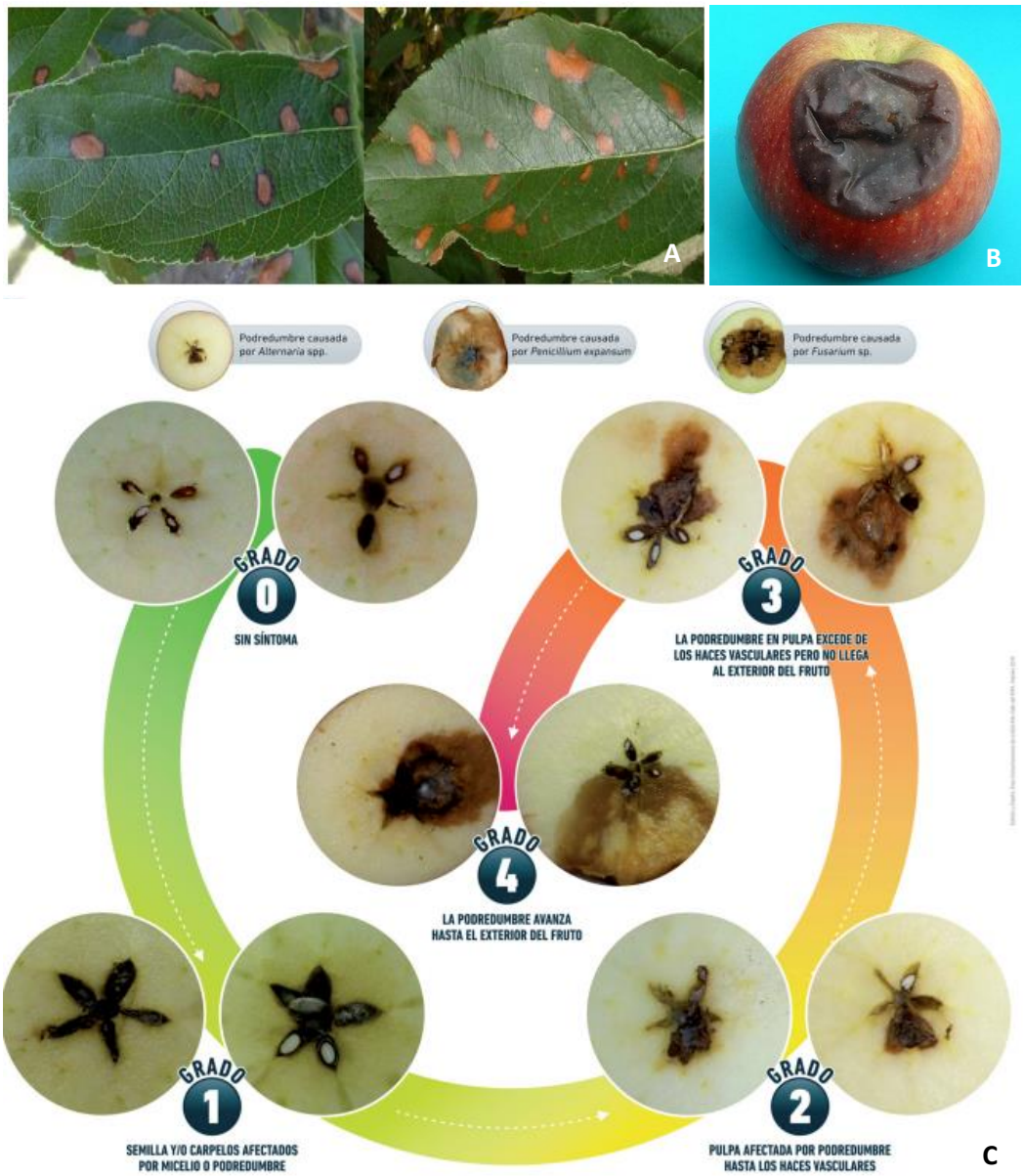


Fig. 24: Enfermedades en cultivos de manzana y pera causadas por especies de *Alternaria*. Manchas foliares en cultivos de manzanos (Horlock, 2006) (A). Podredumbre negra en frutos de manzanos (Facultad de Agronomía, Departamento de Sanidad Vegetal, Montevideo, Uruguay) (B). Afiche informativo sobre los distintos grados de afectación de corazón mohoso (INTA EEA Alto Valle) (C).

Género *Cladosporium*: *Cladosporium herbarum* ha sido reportado como una de las principales causas de pérdidas en cultivos de peras por pudriciones laterales causando la descomposición de frutos recién cosechados, lo que resulta en grandes pérdidas económicas particularmente en cultivares susceptibles. Investigadores

destacan la capacidad de especies nucleadas en el complejo-especie *C. herbarum* de causar pudriciones secundarias que se vuelven problemáticas en peras almacenadas durante largos períodos (Fig. 25) (Sugar y Powers 1986, Benbow y Sugar 1999). Un estudio local llevado a cabo en la región del Alto Valle informó decaimientos por *Alternaria* spp. en conjunto con *Cladosporium* spp. en frutos de pera "Bosc" durante el almacenamiento en frío (Lutz y col., 2016). Las esporas pueden ingresar al tejido de la planta a través de lesiones mecánicas o por enfriamiento o después de que la barrera cutánea de la planta ha sido comprometida por otros organismos. Las esporas de *Cladosporium* también pueden acceder a los frutos a través de las cajas de embalaje o de fruta contaminada con suelo del campo. Su capacidad de crecer a bajas temperaturas permite el crecimiento de productos refrigerados y congelados (De Lucca, 2007).

Fig. 25: Pudrición casuada por *Cladosporium herbarum* Link en peras de la variedad Bartlett (Repositorio digital de la Universidad Nacional de California).

Género *Athelia*: *Athelia epiphylla* es un patógeno poscosecha que ha sido observado en forma esporádica en la región. Es un basidiomicete responsable de causar una patología llamada “ojo de pescado” que en el Alto Valle, a diferencia de otras regiones del mundo, sólo infecta a cultivares de peras. Los síntomas de la enfermedad se inician en un punto aislado del fruto y adquieren una forma circular de color marrón claro y bordes definidos. El centro de la lesión se deprime, se oscurece y, en ocasiones, se rompe el tejido. En ataques avanzados, pueden surgir nuevas lesiones en el fruto y por encima de ellas se puede observar el desarrollo de un micelio blanquecino en forma de abanico (Fig. 26) (Dobra y col., 2007).

Fig. 26: Sintomatología causada por *Athelia epiphylla* en peras (INTA EEA Alto Valle).

Género *Venturia*: especies de este género producen una de las micosis de mayor importancia económica a nivel mundial: la sarna del manzano (*Venturia inaequalis*) y del peral (*Venturia pirina*). Si bien es detectada anualmente en las regiones de Valle Medio y Valle Inferior, en la región del Alto Valle no es frecuente dado que las condiciones de humedad requeridas para su ciclo no son las óptimas. El hongo produce pseudotecios en los tejidos de hojas muertas o en frutos caídos de temporadas pasadas que en condiciones agrometeorológicas adecuadas liberan ascosporas maduras que son transportadas por el viento hacia nuevos tejidos vegetales para iniciar la infección primaria. Luego el hongo germina y atraviesa su fase asexual produciendo conidios que se diseminan por las lluvias a nuevas hojas y frutos deteriorándolos por completo y cerrando su ciclo de vida (Cichón y col., 1996).

Esta enfermedad ataca hojas, flores, frutos y ramas pero los síntomas más evidentes se dan en hojas y frutos. En hojas comienzan con manchas pardas circulares, que luego se vuelven verde oliváceas, de aspecto aterciopelado. Estas manchas con el tiempo se necrosan y aumentan de tamaño afectando gran parte de la hoja que finalmente se seca y cae anticipadamente. En frutos, inicialmente aparecen pequeñas manchas de color pardo verdoso que lentamente se extienden conservando una forma circular, adquiriendo luego un aspecto aterciopelado. En frutos jóvenes se observan atrofias, malformaciones, rajaduras y algunas veces caída de los mismos. En ataques a frutos próximos a su cosecha, las lesiones son menos marcadas y generalmente consisten en un reticulado suberificado de la epidermis (Fig. 27) (Lucero y col., 2003).

Fig. 27: Lesiones en hojas y fruto de manzana causada por *Venturia inaequalis* (Facultad de Agronomía, Departamento de Sanidad Vegetal, Montevideo, Uruguay) y lesiones en pera causada por *Venturia pirina* (INTA EEA Alto Valle).

Patógenos emergentes en la región

Recientemente han sido detectadas a través de estudios realizados por la agencia del INTA EEA Alto Valle potenciales enfermedades emergentes en frutales de pepita en la región del Alto Valle de Río Negro, producidas por hongos de los géneros *Botryosphaeria obtusa*, *Cytospora spp.*, *Valsa ceratosperma* (Fig. 28), *Sthemphylium vesicarium* y *Venturia pyrina* (Dra. Susana DI Masi -INTA-, comunicación personal).

Se ha focalizado en dos patógenos de interés para la región, para cada uno de los cuales existen numerosos estudios previos en otros países que los reportan. Los patógenos definidos son *Stemphilyum vesicarium* causante de la mancha negra del peral (Falloon y col., 1987; Singh y col., 2000; Rossi y col., 2005; Llorente y Montesinos, 2006; Kohl y col., 2009) y *Venturia pirina* causante de la sarna del peral (Shabi, 1988; Spotts y col., 1994; Rossi y col., 2009; Sokolova y col., 2014).

En una nota realizada a la Ing. Agr. Susana Di Masi de la EEA Alto Valle, por la prensa local, en marzo de 2017, se informa la presencia de una nueva patología en las principales variedades de pera de Alto Valle y Valle Medio en los últimos años. Se trata de la mancha negra del peral causada por un hongo que es identificado como *Stemphylium vesicarium* en su etapa asexual y como *Pleospora alli* en la sexual. Ambos estados del patógeno producen síntomas tanto en hojas como en frutos. El ciclo de vida del hongo es similar al de la sarna del manzano y del peral, comenzando con la

liberación de ascosporas en primavera, logrando la infección primaria y a partir de ahí, con sucesivas infecciones secundarias por medio de conidios, cada vez que las condiciones climáticas son propicias. En estudios realizados por INTA se verificó el desarrollo de los dos ciclos en la zona. Si bien la incidencia del patógeno aún es incipiente se registraron casos en algunos montes de perales del Alto Valle y Valle Medio que han afectado enormemente a la región en la temporada de cosecha 2017. La infección se da desde la primavera hasta luego de la cosecha y se la ha diagnosticado en las variedades Williams, Packham's y con mayor frecuencia en D´Anjou. Los síntomas se presentan en hojas, produciendo manchas necróticas en forma de "V" siguiendo las nervaduras, también puede desarrollar un moteado y cuando el ataque es importante se produce la desfoliación de la planta, Las manchas sobre los frutos son circulares, marrones oscuras, de consistencia dura y un poco deprimida, de tamaño variable y rodeadas de un halo rojizo en algunas ocasiones (Fig. 29). Aparecen en el campo o posteriormente en la etapa de poscosecha, durante la conservación. Si no se conocen bien los síntomas de esta patología, éstos se pueden confundir con los que produce *Alternaria* spp. (Di Masi, 2017). *Stemphylium vesicarium* produce, además, dos toxinas hospedador-específicas (THEs) en filtrados de cultivos (toxina SV-I y SV-II) que ocasionan una necrosis venosa causante del síntoma en "V" específico de este patógeno en cultivares de pera. La severidad de la necrosis podría estar relacionada con la concentración de toxina y con la susceptibilidad varietal (Singh y col, 1999; Köhl y col., 2008). Singh y col. (2000) reportaron que estas toxinas ejercen su acción sobre la membrana plasmática generando una disfunción celular lo cual revela un papel sumamente importante para estas toxinas en la virulencia o patogenicidad del hongo. Esta enfermedad produce importantes pérdidas en zonas productoras de Europa y Japón (Tanahashi y col., 2017). En España, particularmente en la ciudad de Girona, tienen actualmente una superficie importante de cultivos gravemente afectados, con pérdidas económicas que pueden llegar hasta el 90% de la producción. En el resto de España, existen referencias de ataques en Lérida, Huesca, Navarra, La Rioja y Asturias (Di Masi, 2017).

Otro patógeno que, si bien no es emergente en la región como ha sido previamente mencionado, ha causado daños importantes en los últimos años es *Venturia pirina*, causante de la sarna del peral. En una nota realizada al director de la

EEA Alto Valle, Ing. Agr. Jorge Toranzo, por la prensa local, en junio de 2017 se menciona la afectación notoria y reciente por este patógeno a la región. Esta enfermedad se presentó históricamente en forma muy esporádica en la zona pero, en los últimos años fue incrementando su presencia, hasta convertirse en un serio problema en la temporada 2016/2017 en la que se observaron numerosos montes de peral con ataques de sarna que, en algunos casos llegaron a producir daños de tal magnitud que impidieron la cosecha de la fruta, especialmente en pera Williams. Sin embargo, también se observaron daños en otras variedades como Packham's Triumph y Beurre D'Anjou. La causa de estos ataques se produjo, seguramente, porque las últimas tres primaveras fueron muy lluviosas y las condiciones de humedad fueron propicias para el incremento del inóculo. Por lo tanto, la detección a campo de las esporas de *Venturia pirina* es importante para el desarrollo de las alarmas regionales para las próximas temporadas (Toranzo, 2017).

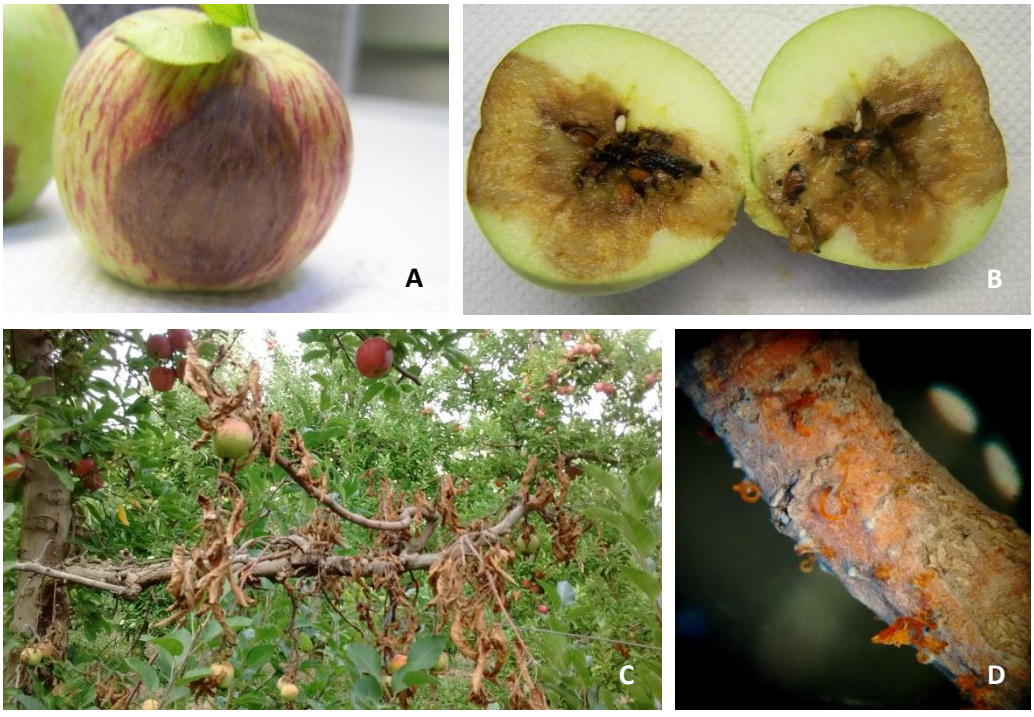


Fig. 28: Daño en frutos y árboles ocasionado por *Botryosphaeria obtusa* (A, B y C). Lesiones ocasionadas en ramas por *Cytospora* spp. (anamorfo) y *Valsa ceratosperma* (teleomorfo) (D) (Fotos: Susana Di Masi, EEA Alto Valle).

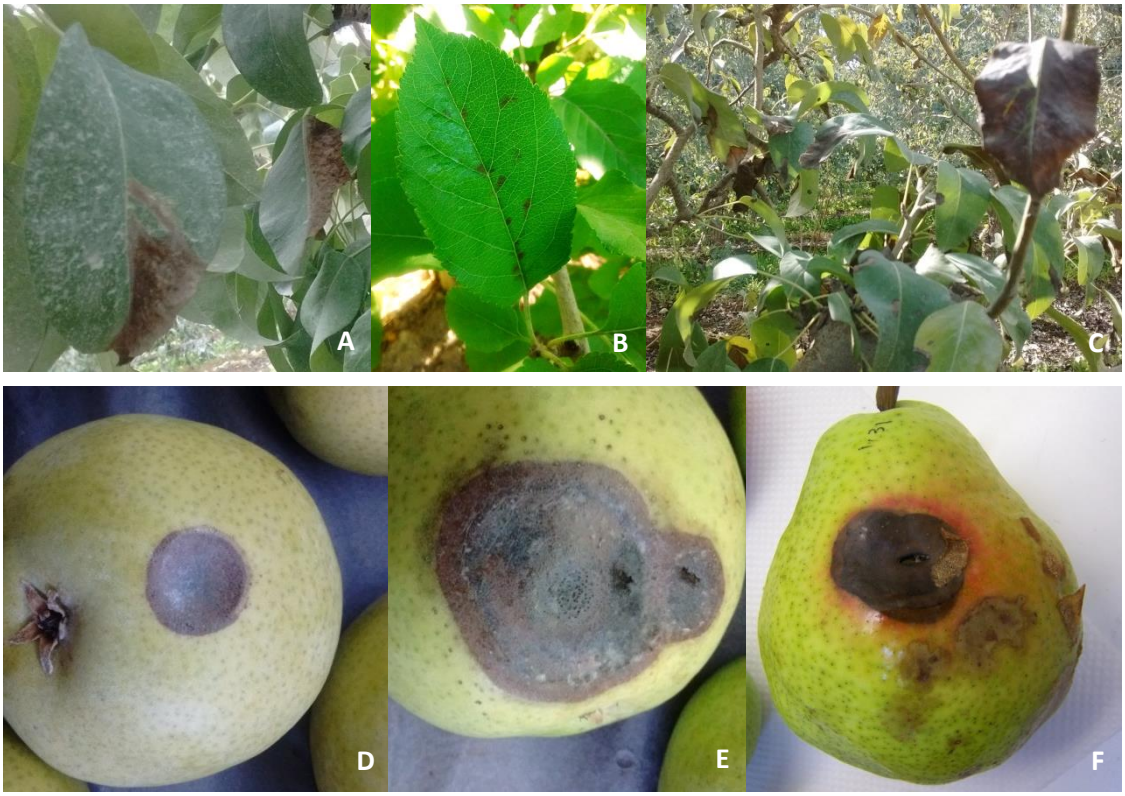


Fig. 29: Lesiones en hojas y frutos de cultivares de pera ocasionadas por *Stemphylium vesicarium* (anamorfo) y *Pleospora alli* (teleomorfo). Lesión en forma de "V" (A) y moteado (B). Afectación de un árbol con diferentes tipos de lesión y necrosis total en algunas hojas (C). Lesión típica en frutos (D), con desarrollo de pseudotecios (E) y halo rojo (F). (Fotos: Susana Di Masi, EEA Alto Valle).

OBJETIVOS

Argentina es un país principalmente agrícolo-ganadero y la provincia de Río Negro es la primera productora y exportadora de frutas de pepitas del país. Su cultivo se concentra principalmente en el Alto Valle del río Negro.

Los hongos filamentosos están ampliamente distribuidos alrededor del mundo y su desarrollo se ve afectado por varios factores ambientales tales como temperatura, humedad, viento y localización geográfica. Ha sido reportado que los hongos aerotransportados son los microorganismos más comunes que provocan efectos adversos sobre la salud humana y animal y sobre los cultivos. Son capaces de colonizar los cultivos y pueden acumular en los productos contaminados gran cantidad de micotoxinas que representan un gran riesgo para la salud humana y animal debido a los efectos adversos que su contacto, inhalación o ingestión provoca. Por lo tanto, para evaluar sistemáticamente la relación entre hongos ambientales y sus efectos adversos, los tipos de hongos y sus frecuencias relativas en ambientes externos necesitan ser conocidos.

En Argentina, los datos disponibles sobre la micobiota del aire principalmente de ambientes agrícolas son sumamente escasos y la información respecto a la micoflora y biodiversidad de hongos fitopatógenos y micotoxicogénicos en la región del Alto Valle del río Negro es nula. Así, el objetivo general del presente trabajo será estudiar la biodiversidad y concentración de hongos, incluyendo particularmente aquellos fitopatógenos y micotoxicogénicos, en ambientes rurales de la región productora del Alto Valle del río Negro, pretendiendo posteriormente realizar una caracterización morfofisiológica y molecular de las especies determinadas.

Los objetivos específicos son:

- Determinar la concentración, frecuencia y distribución, geográfica y estacional, de mohos cultivables en ambientes rurales externos.
- Realizar la Identificación morfológica y molecular de las distintas especies fúngicas.
- Estudiar la patogenicidad de los aislamientos sobre los cultivos más representativos de la región.

- Relacionar las variables climatológicas con la micobiota aérea determinada en la región.

La información obtenida a partir del presente trabajo puede contribuir a la evaluación de los posibles riesgos para la salud de humanos, animales y plantas (cultivos), a la determinación de procedimientos de remediación y al establecimiento de medidas preventivas y estrategias de control para futuras patologías que se desarrollen en la región.

MATERIALES
Y MÉTODOS

3.1 Muestreo

3.1.1 Equipamiento

La toma de muestras se llevó a cabo empleando un muestreador de aire Microflow (Microflow α 90 Aquaria versión 3.0.0.) que permite muestrear volúmenes de aire hasta un máximo de 2.000 L a cinco velocidades diferentes: 30 L/min, 60 L/min, 90 L/min, 100 L/min y 120 L/min.

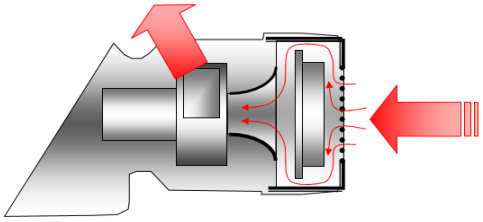
Posee un cabezal desmontable con 380 agujeros de 1 mm de diámetro cada uno autoclavable y desinfectable con soluciones alcohólicas que permite contener placas de Petri descartables de 90 mm de diámetro.

En su parte posterior posee un "display" con una botonera que permite el ajuste de los parámetros necesarios para setear a la hora de la toma de muestras.

La base del muestrador se adaptó para que el mismo se pueda colocar sobre un trípode fotográfico que puede regularse en altura y permite, además, sostener firmemente y libre de cualquier movimiento al equipo mientras está realizando la toma de muestras (Fig. 30).

Muestreador RCS

Display y botonera



Flujo de aire dentro del equipo

Muestreador sobre trípode fotográfico

Fig. 30: Características del muestreador, sus componentes y su funcionamiento.

3.1.2 Optimización y puesta a punto

Dado que no existen registros de concentraciones fúngicas en ambientes rurales externos se realizó una prueba piloto durante la estación estival de 2014 en un establecimiento rural que luego fue incluido como punto de muestreo y, consultando la bibliografía, se testearon diferentes medios de cultivo y diferentes volúmenes de aire y velocidades. El muestreador se colocó a una altura de 1,50 m, sobre el trípode fotográfico y entre cada toma de muestra el cabezal se limpió con iso-propanol.

De esta manera se llevaron a cabo diversos ensayos: primero se testeó el medio Agar Diclorán Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) (Anexo I) (Shelton y col., 2002), empleando volúmenes de aire de 40L, 100L y 180L de manera de tomar en cuenta dos extremos y un punto intermedio. Cada uno de los volúmenes se muestreó a tres velocidades diferentes: 30L/min, 90L/min y 120L/min. testeando los mismos volúmenes y velocidades (Fig. 31).

30L/min 60L/min 90L/min

Fig. 31: Ensayo sobre medio DRBC, volumen empleado: 180L.

Luego se llevó a cabo el mismo ensayo testeando el medio Agar Papa Dextrosa (PDA) (Anexo I) suplementado con Cloranfenicol (0,1 g/L) (Bueno y col., 2003; Muhsin y Adlan, 2012) (Fig.32).

30L/min 60L/min 90L/min

Fig. 32: Ensayo sobre medio PDA con Cloranfenicol (0,1 g/L), volumen empleado: 100L.

Debido a que en algunas de estas placas se observó desarrollo de hongos invasores se procedió a agregar Diclorán (2 mg/L) al medio, según la concentración del mismo empleada en el medio DRBC (Pitt y Hocking, 2009) y se volvió a repetir el ensayo (Fig. 33 y 34).

30L/min 60L/min 90L/min

Fig. 33: Ensayo sobre medio PDA con Cloranfenicol (0,1 g/L) y Diclorán (2 mg/L), volumen empleado: 100L.

Fig. 34: Ensayo sobre medio PDA con Cloranfenicol (0,1 g/L) y Diclorán (2 mg/L), volumen empleado: 100L y velocidad empleada: 30L/min.

Con respecto al medio de cultivo a emplear, se observó que el medio DRBC es más eficiente para controlar los diámetros de las colonias pero dificulta un poco la observación de algunos géneros y sus pigmentos al momento de realizar el recuento diferencial, y su preparación y conservación es, además, más laboriosa. Por lo tanto el medio de cultivo de elección fue PDA suplementado con Cloranfenicol (0,1 g/L) y Diclorán (2 mg/L) ya que disminuye el riesgo de imposibilitar el recuento en las placas por la presencia de hongos invasores.

Con respecto a la selección del volumen y velocidad de muestreo, los resultados arrojaron recuentos excesivamente elevados que superaban las 100 unidades formadoras de colonias por placa empleando volúmenes de 100L o más a velocidades mayores de 30L/min. Además, se observó una alta variabilidad de recuentos en diferentes puntos del mismo establecimiento empleando el mismo volumen y velocidad, por lo cual se decidió tomar las muestras por duplicado en cada punto de muestreo empleando dos volúmenes diferentes: 50L y 100L, trabajando siempre a la velocidad más baja del muestreador, 30 L/min.

3.1.3 Ejecución y desarrollo

Ocho establecimientos productivos fueron seleccionados en conjunto con personal del INTA, quienes además asistieron y acompañaron en las campañas de muestreo; cuatro de ellos localizados en la zona este del Alto Valle, entre las localidades de Chichinales y Villa Regina y los otros cuatro localizados en la zona centro del Alto Valle, entre las localidades de Padre Stefenelli y Contralmirante Guerrico (Fig. 35) abarcando una distancia de 50 km aproximadamente entre ambas zonas.

A su vez, durante el diseño del plan de muestreo surgió la propuesta de seleccionar chacras con sistemas de producción tradicional (SPT) y otras con sistemas de producción orgánico (SPO) para poder comparar la biodiversidad existente en cada uno (Fig. 36). De esta manera, en cada zona del Alto Valle (este y centro) se escogieron dos chacras con cada sistema para poder posteriormente analizar si existen diferencias dentro de un mismo sistema debido a causas geográficas y/o climatológicas. En la Tabla N° 10 se describen las características de los sitios de muestreo.

Tabla N° 10: Características de los establecimientos productivos muestreados.

Establecimiento	Tipo de sistema	Localidad	Zona	Referencia de establecimiento
Chacra N°1	Tradicional	Villa Regina	Este	Tradicional 1
Chacra N°2	Tradicional	Villa Regina	Este	Tradicional 2
Chacra N°3	Orgánico	Villa Regina	Este	Orgánica 1
Chacra N°4	Orgánico	Chichinales	Este	Orgánica 2
Chacra N°5	Tradicional	General Roca	Centro	Tradicional 3
Chacra N°6	Tradicional	General Roca	Centro	Tradicional 4
Chacra N°7	Orgánico	Contralmirante Guerrico	Centro	Orgánica 3
Chacra N°8	Orgánico	Padre Stefenellli	Centro	Orgánica 4

Fig. 35: Mapa de la región del Alto Valle del río Negro detallando las zonas geográficas y los ocho establecimientos productivos en los que se llevaron a cabo los muestreos.

Chacra Tradicional 1

Chacra Tradicional 2

Chacra Tradicional 3

Chacra Tradicional 4

Chacra Orgánica 1

Chacra Orgánica 2

Chacra Orgánica 3

Chacra Orgánica 4

Fig. 36: Imágenes de los establecimientos productivos en los cuales se realizaron los muestreos.

Todos los establecimientos cuentan con el sistema de conducción en espaldera, ya que actualmente es el más difundido en toda la región, según datos aportados por el INTA. Este sistema consiste de plantaciones de árboles muy próximos entre sí formando una valla otorgándoles a las plantas formas convenientes a través de la poda para favorecer y aumentar su fructificación además de brindarles protección para poder sobrevivir al aire libre ante los fuertes vientos e intensa radiación (Fig. 37).

Fig. 37: Sistemas de conducción en espaldera (INTA)

Dentro de cada chacra, se seleccionaron tres cuadros con producción de frutos de pepita (manzanas y peras), y en el centro de cada uno de ellos se realizó la toma de muestras. La misma se realizó de manera georreferenciada, tomando con un GPS las coordenadas geográficas de latitud y longitud de cada sitio de muestreo. Esta georreferenciación permite tener la certeza del lugar muestreado y la posibilidad de realizar los sucesivos muestreos en los mismos puntos. La latitud y longitud se expresaron en números decimales que presentan las siguientes características:

- Latitud entre 0° y 90 °: Hemisferio Norte.
- Latitud entre 0° y -90°: Hemisferio Sur.
- Longitud entre 0° y 180°: Al este del meridiano de Greenwich.
- Longitud entre 0° y -180°: Al oeste del meridiano de Greenwich.

En la Tabla N° 11 se detallan las coordenadas geográficas de los cuadros de cada establecimiento productivo muestreado y en las Fig. 38 y 39 se presentan las imágenes satelitales.

Tabla N° 11: Datos geográficos de los puntos de muestreo.

Establecimiento	Número de cuadro	Coordenada de latitud	Coordenada de longitud
Tradicional 1	1	-39.1333	-67.14352
	11B	-39.1322	-67.14642
	12	-39.1322	-67.14644
Tradicional 2	1	-39.10316	-67.07132
	2	-39.1039	-67.07109
	4	-39.10542	-67.07194
Orgánica 1	5	-39.15022	-67.12855
	11	-39.15203	-67.12741
	16	-39.15261	-67.12878
Orgánica 2	5	-39.14977	-66.96645
	6	-39.14873	-66.9662
	7	-39.14772	-66.96596
Tradicional 3	1	-39.07091	-67.60496
	2	-39.071	-67.6078
	3	-39.07242	-67.6081
Tradicional 4	8	-39.0543	-67.60752
	10	-39.05215	-67.60853
	11	-39.05414	-67.60896
Orgánica 3	5	-39.04824	-67.70794
	9	-39.05089	-67.70874
	18	-39.05142	-67.70644
Orgánica 4	2	-39.0693	-67.54963
	3	-39.06698	-67.55045
	5	-39.06789	-67.55202

Chacra Tradicional 1

Chacra Tradicional 3

Chacra Tradicional 2

Chacra Tradicional 4

Fig. 38: Imágenes satelitales en las que se pueden observar los puntos de muestreo en cada establecimiento productivo de sistema tradicional.

Chacra Orgánica 1

Chacra Orgánica 2

Chacra Orgánica 3

Chacra Orgánica 4

Fig. 39: Imágenes satelitales en las que se pueden observar los puntos de muestreo en cada establecimiento productivo de sistema orgánico.

La frecuencia de muestreo fue una vez por cada estación del año (en la mitad de cada trimestre) durante tres años comprendidos entre verano del año 2014 y verano del año 2017 (Fig. 40).

Muestreo de la estación estival

Muestreo de la estación otoñal

Muestreo de la estación invernal

Muestreo de la estación primaveral

Fig. 40: Muestreos llevados a cabo en las diferentes estaciones del año.

3.2 Determinación de la micoflora

3.2.1 Cálculo de las unidades formadoras de colonias por m^3 de aire (UFC/m^3):

Una vez finalizada la toma de muestras en el campo, las placas se trasladaron selladas en recipientes de telgopor al laboratorio y se incubaron en estufa a 25 °C durante 7 días. Transcurrido ese período se determinaron las unidades formadoras de colonia por m^3 de aire (UFC/m^3), teniendo en cuenta la ecuación que se describe a continuación.

$$\boldsymbol{Número\ de\ UFC\ por\ m^3 de\ aire} = \frac{\boldsymbol{Número\ de\ colonias\ x\ 1000}}{\boldsymbol{Volumen\ de\ aire\ muestreado}}$$

Donde: Volumen de aire muestreado puede variar entre dos magnitudes: 50L ó 100L.

3.2.2 Recuento total y por género

Se obtuvo el recuento de la micoflora total empleando la ecuación previamente mencionada para determinar el número de UFC/m^3 de aire y se procedió a realizar el recuento diferencial por género (Fig. 41). El mismo se llevó a cabo según Samson y col. (2000) y Pitt y Hocking (2009) por medio del análisis macroscópico de las colonias en diferentes medios de cultivo y el análisis microscópico empleando una lupa binocular estereoscópica Arcano ST 30L/2L y un microscopio Motic BA210. Las fotografías fueron tomadas con una cámara digital Sony Cyber-shot DSC-W650 16.1 MP. Las tablas de recuento diferencial por establecimiento productivo y año de muestreo se detallan en el Anexo II.

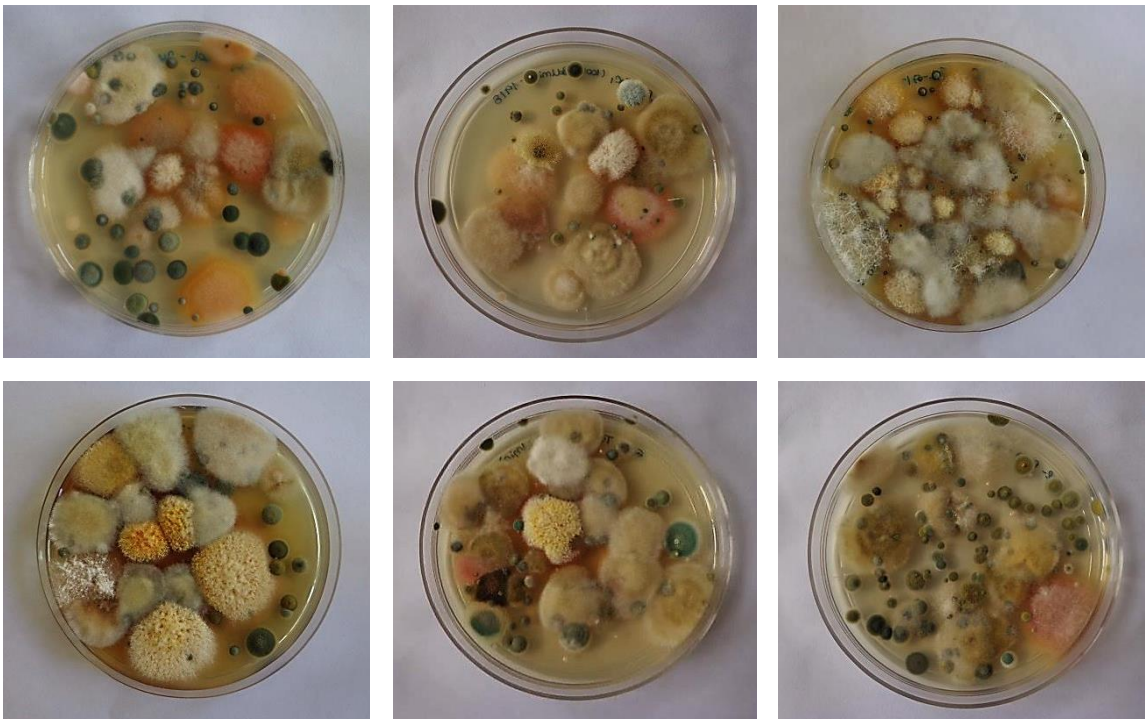


Fig. 41: Placas de recuento total y diferencial.

3.2.3 Identificación de los aislamientos a nivel especie:

Con el objetivo de realizar la identificación a nivel especie de los principales géneros fúngicos propuestos, se realizó un aislamiento de las colonias presentes en las placas de recuento para obtener cultivos puros. De esta manera, colonias de los géneros *Alternaria* y *Fusarium* fueron subcultivadas en placas de Petri de 60 mm con medio Agar Papa Dextrosa (PDA) (Anexo I). El resto de las colonias cuyos géneros pudieron ser identificados fueron subcultivadas en medio Agar Extracto de Malta (MEA) (Anexo I) y aquellas a las que no se les pudo atribuir un género fueron subcultivadas en medio Agar Agua (AA) (Anexo I) para facilitar su esporulación y posterior identificación de género. Las placas se incubaron a 25 °C en estufa durante 7 días y se confirmó visualmente la identidad de los aislamientos y la ausencia de contaminación.

La identificación a nivel de especie de los géneros obtenidos se realizó empleando los aislamientos de los dos primeros años de muestreo, mientras que los aislamientos del tercer año se circunscribieron a la identificación de género únicamente.

La misma se llevó a cabo siguiendo el protocolo propuesto por Pitt y Hocking (2009), en el cual se emplean los medios de cultivo CYA (Agar Czapek Extracto de Levadura) (Anexo I), MEA y G25N (Agar 25% Glicerol Nitrato) (Anexo I) a tres temperaturas de incubación (25 °C, 37 °C y 5 °C) durante 7 días de acuerdo con el esquema que se describe en la (Fig. 42) ejemplificado para la siembra de dos aislamientos.

La identificación de especies de los géneros *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Stemphylium*, *Pleospora* y *Phoma* se realizó siguiendo los procedimientos descriptos por los referentes científicos de cada género, que se describirán en las siguientes secciones para cada uno de ellos.

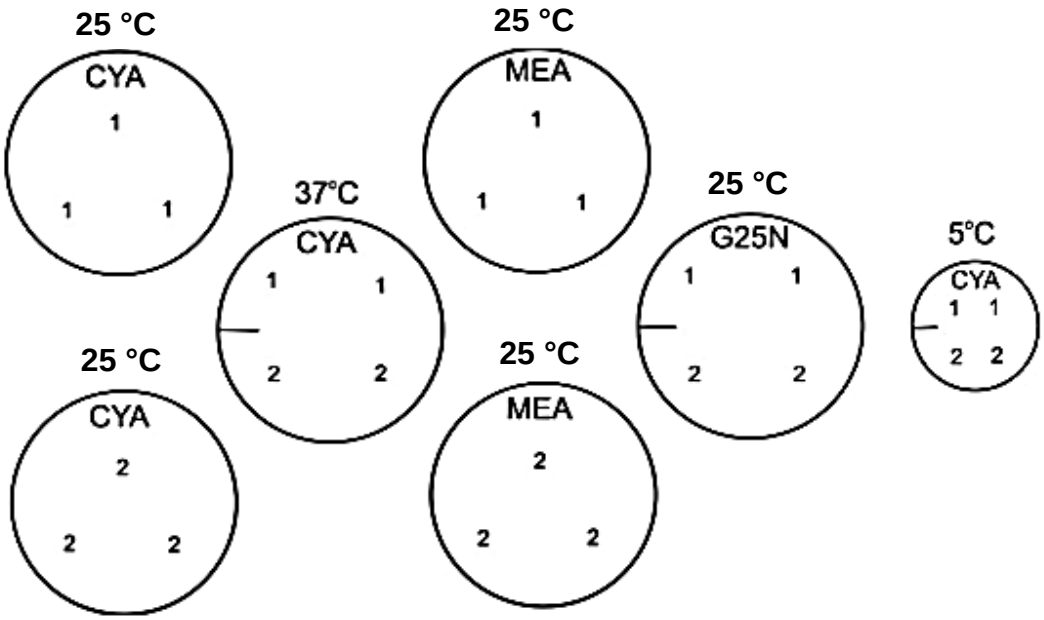


Fig. 42: Esquema de identificación propuesto por Pitt y Hocking (2009) en el que se detalla la siembra de dos aislamientos en los medios CYA (Agar Czapek Extracto de Levadura), MEA (Agar Extracto de Malta) y G25N (Agar 25% Glicerol Nitrato) a las temperaturas de 25 °C, 37 °C y 5 °C.

3.2.3.1 Identificación de las especies del género *Alternaria*

La identificación a nivel especie de 415 aislamientos recolectados durante los dos primeros años de muestreo se realizó en base a la determinación del grupo-especies al cual cada aislamiento pertenecía, según el patrón de esporulación que presentaba y las características morfológicas de los conidios (Simmons y Roberts, 1993; Simmons, 2007) (Fig. 43).

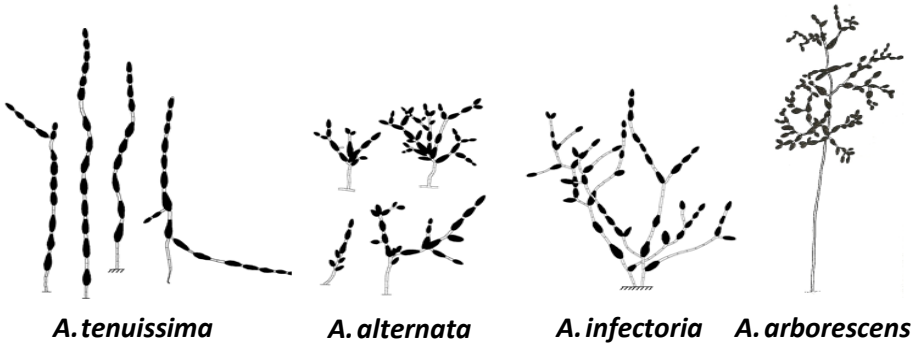


Fig. 43: Patrones de esporulación de grupo-especies de *Alternaria.*

Para ello, cada especie a identificar debe iniciarse a partir de un cultivo monospórico (Nelson y col., 1983), cuyo procedimiento se describe a continuación:

1. Se colocan 5 gotas de agua destilada estéril con micropipeta uniformemente distribuidas y separadas en los bordes de una placa de Petri de 90 mm con una capa delgada de medio AA.
2. Se posa un ansa ojal sobre una gota de agua de manera de cargar con líquido el anillo.
3. Luego, con la misma se toman esporas del aislamiento a identificar y se depositan sobre una de las gotas de agua estriando en forma de zig-zag desde el borde hacia el centro de la placa.
4. Posteriormente se repite este procedimiento con las restantes gotas para lograr un efecto de dilución.
5. Las placas se incuban a 25 °C durante 24 hs.
6. Transcurrido el período de incubación se examinan las placas bajo lupa estereoscópica con magnificación de 4X y con una aguja estéril se corta una porción de agar que contenga un único conidio germinado.

7. Luego se dividen las hifas en dos mitades y se coloca una de ellas en una placa de Petri de 90 mm con medio PDA o agar 8 verduras (V8) (Anexo I) y la otra mitad en una placa de Petri de 60 mm con medio Agar Papa Zanahoria (PZA) (Anexo I).
8. Se dejan incubar las placas a 25 °C en estufa durante 5 días con períodos de luz-oscuridad de 8-16 hs y se realiza de manera aséptica un corte rectangular en el agar de cada medio de aproximadamente 1cm x 2cm.
9. Se procede con la incubación durante 2 días más y se examinan las placas bajo lupa para determinar las características de las colonias en el medio PDA o V8 y el patrón de esporulación en las placas de PZA para determinar el grupo-especies de cada aislamiento según la clave propuesta por Simmons (Fig. 44).

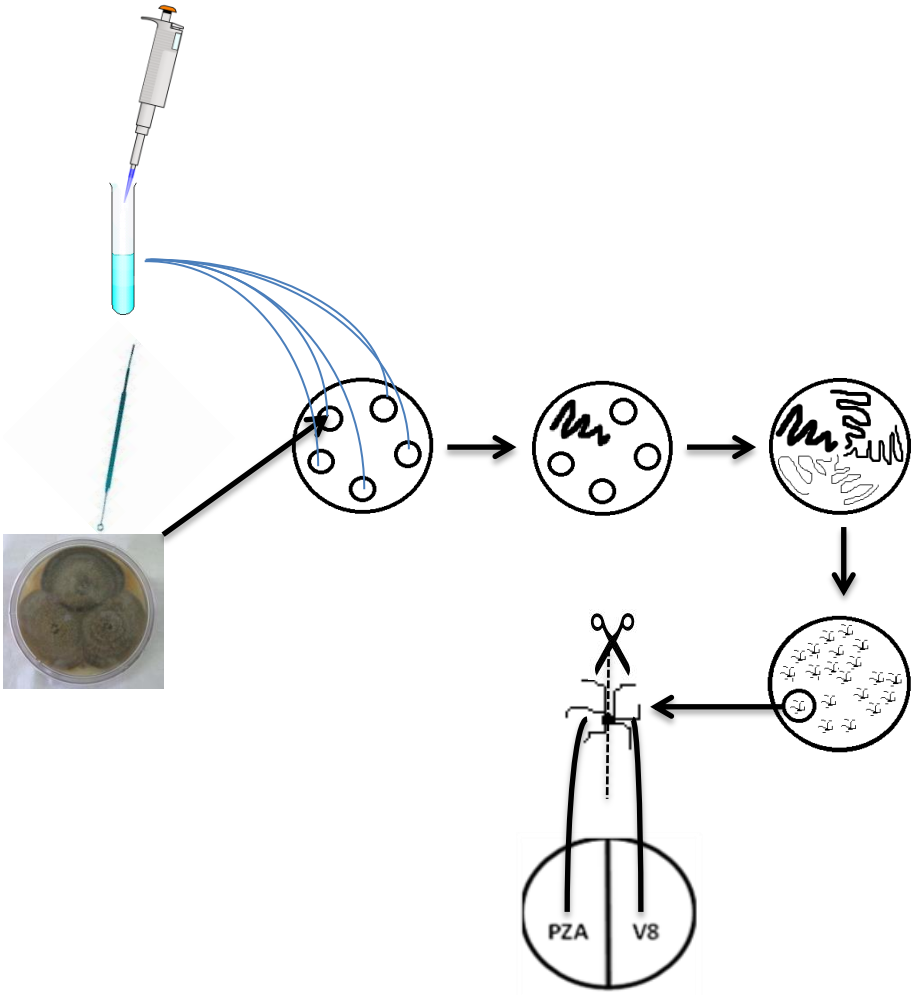


Fig. 44: Esquema de realización y obtención de cultivos monospóricos.

3.2.3.2 Identificación de las especies del género *Fusarium*:

La identificación a nivel especie de 83 aislamientos se llevó a cabo en base a los criterios macroscópicos de las colonias en medio PDA junto a los criterios microscópicos observados en medio Agar SNA (Spezieller Nahrstoffarmer Agar) (Anexo I) en placa y en microcultivo, teniendo en cuenta las claves propuestas por Nelson y col. (1983) y Leslie y Summerell (2006).

El proceso de identificación se inició a partir de cultivos monospóricos, llevando a cabo el mismo procedimiento descripto previamente para las especies de *Alternaria*. En este caso, la mitad de las hifas originadas a partir de un macroconidio germinado son sembradas en placas de Petri de 90 mm conteniendo medio PDA para la descripción de las características morfológicas de las colonias y la otra mitad es sembrada en placas de Petri de 60 mm conteniendo medio SNA con una pequeña porción de papel de filtro de 1cm x 2cm previamente esterilizado, el cual se agrega para favorecer la esporulación (Fig. 45). Las placas se incuban a 25 °C con un ciclo de luz-oscuridad de 8-16 hs durante 10 y 15 días, respectivamente.

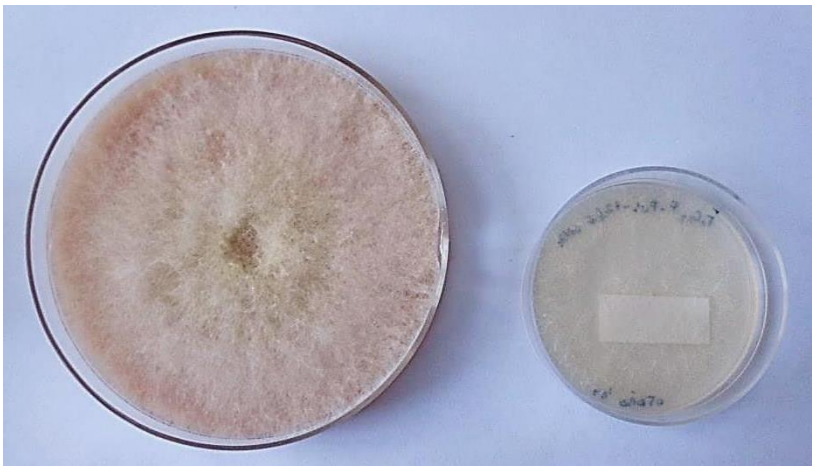


Fig. 45: Cultivo de *F. poae* en medio PDA y SNA.

En paralelo y a partir de los cultivos monósporicos obtenidos, se llevó a cabo la técnica de microcultivo con el fin de determinar la forma de los microconidios y su disposición o arreglo (simples, en falsas cabezas o en cadena y sostenidos por mono o polifiálides). Para realizar los microcultivos se cortaron cuadrados de medio SNA de aproximadamente 1,5 cm de lado, y 2mm de espesor. Los mismos se depositaron

asépticamente sobre un portaobjetos contenido en una placa de Petri de vidrio de 90 mm de diámetro previamente esterilizada a 160-180 °C durante 4 hs. Posteriormente se sembró con ansa aguja cada uno de los lados del trozo de agar con la especie a identificar y se cubrió el mismo con un cubreobjetos previamente esterilizado. Para garantizar condiciones de humedad se colocó dentro de la placa un trozo de algodón autoclavado embebido en agua destilada estéril (Fig. 46 y 47). Finalmente se incubaron los microcultivos a 25 °C durante 2-3 días con ciclos de luz oscuridad de 8-16 hs. Transcurrido dicho tiempo se examinó la disposición o arreglo de los microconidios bajo lente microscópica de 100X y 400X de magnificación.

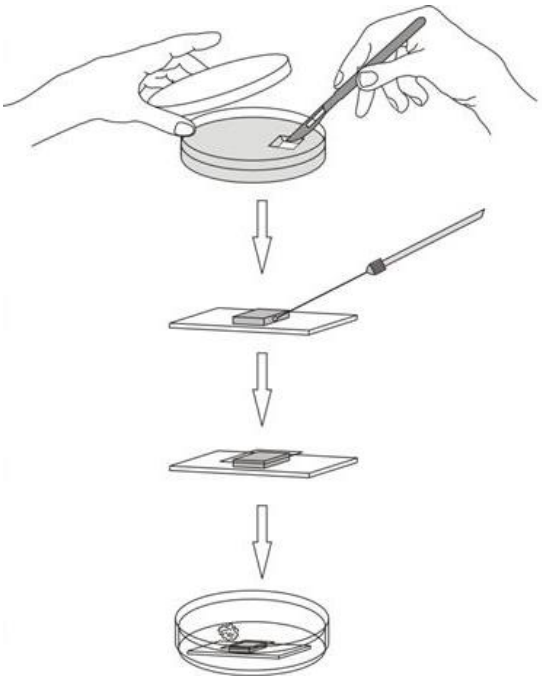


Fig. 46: Esquema para la realización de microcultivos.

Fig. 47: Microcultivo de *F. proliferatum.*

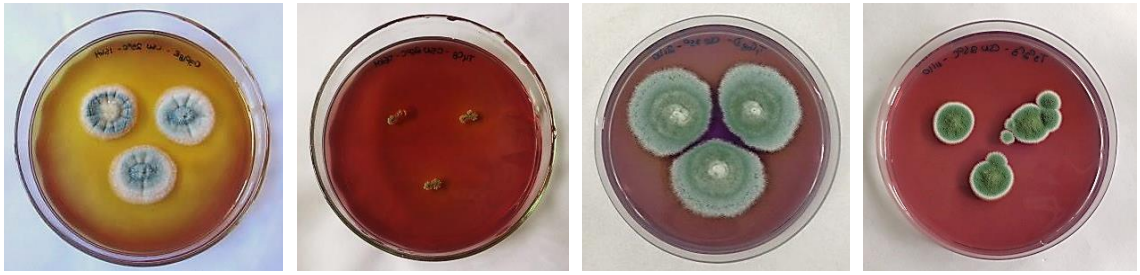
3.2.3.3 Identificación de las especies de los géneros *Penicillium*, *Aspergillus* y *Eurotium*

Se identificaron 60 aislamientos del género *Penicillium*, 11 aislamientos de *Aspergillus* y 5 del género *Eurotium*.

La identificación de las especies se realizó siguiendo el protocolo explicado previamente propuesto por Pitt y Hocking (2009) Como complemento al esquema utilizado, se emplearon otros medios de cultivo y técnicas adicionales para la identificación de cada género (Pitt y Hocking, 2009).

Género Penicillium:

Medio CSN (Agar Creatina Sacarosa Neutro): Muchas especies pertenecientes al género *Penicillium* clasificadas en el subgénero *Penicillium* son morfológicamente muy similares entre sí y la identificación mediante técnicas morfológicas tradicionales sigue siendo difícil. Por lo cual se creó el medio de cultivo CREA (Agar Creatina Sacarosa) como un nuevo enfoque para abordar el problema (Frisvad, 1981; 1985). Frisvad señaló que las especies de este subgénero se dividen en dos grupos: los que tienen afinidad por alimentos proteicos y los que crecen vigorosamente en alimentos ricos en carbohidratos. CREA fue diseñado para permitir la diferenciación entre estos dos grupos. Sin embargo, la discriminación entre respuestas positivas y negativas no siempre fue clara y por ello Pitt (1993) modificó el medio CREA dando como resultado el medio CSN (Agar Creatina Sacarosa Neutro) (Anexo I), un medio que ha demostrado ser muy útil en la identificación de especies de este subgénero, produciendo ocho reacciones diferentes entre las especies más comunes. Por lo tanto los aislamientos pertenecientes al subgénero *Penicillium* fueron inoculados en medio CSN e incubados a 25 °C durante 7 días y la identificación se llevó a cabo teniendo en cuenta parámetros tales como rapidez de crecimiento de la colonia, diámetro de la colonia, viraje del indicador del medio (púrpura de bromocresol) y color del reverso de la colonia (Fig. 48).



Reacción fuertemente ácida | Reacción débilmente ácida | Reacción alcalina | Reacción neutra

Fig. 48: Reacciones observadas en medio CSN por viraje del indicador Púrpura de bromocresol.

Test de Ehrlich: La especie descripta como *Penicillium roqueforti* por Pitt (1979; 2000) y Pitt y Hocking (1997) comprende más de un taxón (Frisvad y Samson, 2004). Sobre la base de diferencias sustanciales en el ADN de los ITS, Boysen y col. (1996) separaron a *P. roqueforti* en tres especies: *P. roqueforti*, *P. carneum* y *P. paneum*. Estas tres especies son difíciles de distinguir entre sí morfológicamente. En la búsqueda de métodos fiables para identificar especies en el subgénero *Penicillium*, Lund (1995) desarrolló una prueba simple que emplea el reactivo de Ehrlich para visualizar la producción de ácido ciclopiazónico y otros alcaloides usando un método de papel de filtro. En esta prueba, *P. roqueforti* y *P. carneum* producen un color violeta como resultado de la reacción, mientras que *P. paneum* no lo hace. Aquellos aislamientos que en los medios del esquema general presentaron características compatibles con estas tres especies fueron sometidos al test de Ehrlich. Para ello se cortó un taco de agar de 4 mm de diámetro del centro de una colonia cultivada en medio CYA (incubada 5-9 días a 25 °C) y se apoyó sobre el lado micelial del mismo un trozo cuadrado (1 cm de diámetro) del papel de filtro (Whatman N° 1) humedecido en el reactivo. La reacción fue positiva al visualizar un anillo violeta después de 2-6 min, lo cual indicó la presencia de ácido ciclopiazónico o alcaloides relacionados en el cultivo. Es importante tener en cuenta que después de 10 min el anillo violeta se desvanece, por lo tanto los resultados se visualizaron entre los dos y diez minutos posteriores a iniciada la reacción (Fig. 49).

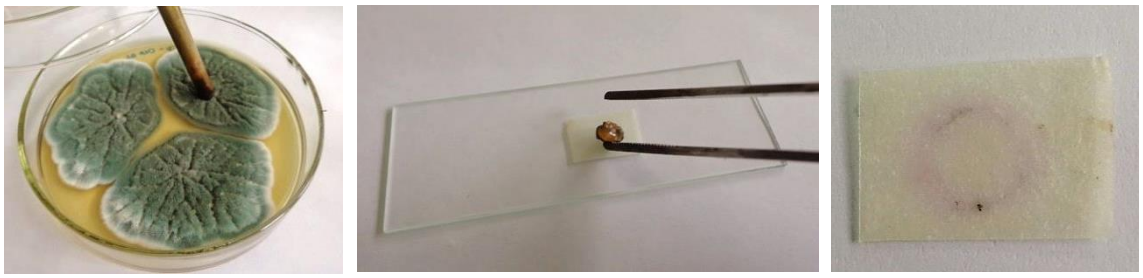


Fig. 49: Test de Ehrlich.

Género Eurotium:

Medio CY20S (Agar Czapek Extracto de Levadura con 20% de Sacarosa): Dado que las especies de *Eurotium* son xerófilas, se requiere de medios de cultivo con muy alta aw para permitir el desarrollo, tanto del estadio anamorfo como teleomorfo, para lograr la identificación de las especies. De esta manera, cuando se ha identificado un aislamiento como *Eurotium*, usando los medios estándares y las condiciones de incubación, el cultivo debe inocularse sobre agar CY20S (Agar Czapek Extracto de Levadura con 20% de Sacarosa) (Anexo I), el cual fue introducido por Pitt y Hocking (1985) para permitir el desarrollo de los cuerpos fructíferos y la posterior liberación de las ascosporas (Fig. 50). Por lo tanto todos los aislamientos identificados a través del esquema de Pitt como *Eurotium*, fueron inoculados en medio CY20S e incubados durante 7 días a 25 ˚C. Al cabo de este periodo se registraron los datos morfológicos de la colonia, y luego las placas se llevaron nuevamente a la incubadora. La identificación se completó cuando se observó la producción de ascos y liberación de ascosporas maduras, aproximadamente 14 días posteriores a la siembra.

Fig. 50: Cultivo de *Eurotium chevalieri* en medio CY20S.

3.2.3.4 Identificación de las especies del género *Cladosporium*

Caracterización morfológica

Se desarrolló una clasificación de 302 aislamientos puros subcultivados a partir de las placas de recuento obtenidas en los dos primeros años de muestreo. La misma se llevó a cabo en base a características morfológicas de los aislamientos según Schubert y col. (2007), Bensch y col. (2010; 2012; 2015). Para ello se sembraron los aislamientos en los medios PDA, MEA y OA (agar avena) (Anexo I) y las placas se incubaron a 25 °C durante 14 días bajo luz UV cercano luego de los cuales se tomó registro de las características macroscópicas de las colonias. Para determinar las características microscópicas de los aislamientos, los cultivos se sembraron en medio SNA y se incubaron en las mismas condiciones.

Luego se tomaron de manera proporcional y al azar ejemplares de cada grupo obtenido sumando un total de 59 aislamientos y se procedió al análisis molecular de los mismos mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa y posterior secuenciación empleando tres genes diferentes: gen de actina, factor de elongación 1-α (EF1-α) y espaciador interno transcrito (ITS) de los genes codificantes del ARNr.

Caracterización molecular

Colección de micelios para extracción de ADN:

Los aislamientos se cultivaron en medio MEA durante 7 días a 25 °C. A partir de ellos se tomaron asépticamente fragmentos de micelio y se inocularon en un vial de penicilina conteniendo 5 ml de caldo YES (Caldo Extracto de levadura Sacarosa) (Anexo I). Los viales se incubaron en un agitador orbital a 100 rpm a 25 °C durante 48 a 96 horas hasta la observación de una capa de micelio filamentoso libre de conidios en la superficie o el desarrollo de bolas miceliares en el seno del líquido (Fig. 51). A continuación las micelios fueron llevados a sequedad con papel de filtro Whatman N° 1 bajo flujo laminar, se pesaron y se almacenaron en tubos Eppendorf de 1,5 ml de

capacidad, previamente esterilizados en autoclave a 121 °C durante 15 minutos a -80 °C hasta el momento de su utilización.

Fig. 51: Crecimiento de micelios de *Cladosporium* en viales con medio YES.

Extracción de ADN total y cuantificación de los extractos*:*

Los micelios ultracongelados se molieron con nitrógeno líquido empleando pilones plásticos autoclavados dentro de los tubos Eppendorf en los cuales fueron almacenados (Fig. 52).

Fig. 52: Molienda de micelios con nitrógeno líquido empleando pilones de plástico.

Posteriormente se procedió a la extracción y obtención de ADN utilizando el kit comercial DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen), siguiendo las instrucciones propuestas por el fabricante. Los extractos así obtenidos fueron cuantificados en un fluorómetro Qubit 2.0 y la calidad del ADN se evaluó por electroforesis en gel de agarosa al 1%

conteniendo Gel Red. La corrida electroforética se realizó con un buffer TBE 0,5X (Tris base, ácido bórico y EDTA) (Sambrook y col., 1989) (Anexo I) a 70V por aproximadamente 30 minutos. Las bandas fueron observadas bajo luz UV de un lector de geles Maestro Gen SMU-01 por determinación de la fluorescencia emitida por el agente intercalante en las moléculas de ADN.

Reacciones de amplificación por PCR y secuenciación de los productos:

A continuación se describen los protocolos utilizados para amplificar las regiones correspondientes a los genes de actina, factor de elongación 1-α e ITS junto a sus respectivas condiciones de reacción. En la Tabla N° 12 se brinda información específica sobre los primers empleados para cada gen. En cada caso las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un volumen total de 40 µl conteniendo 20 ng de molde de ADN y se utilizó agua como control negativo. Las condiciones de reacción fueron las siguientes para cada gen empleado: etapa de desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 minutos seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 30 segundos, temperatura de hibridación a 50 °C durante 30 segundos y extensión a 72 °C durante 1 minuto, con un paso final de extensión a 72 °C durante 5 minutos.

Genes de actina y factor de elongación 1-α: Los tubos de reacción contenían 1X de buffer de PCR, 0,5 µM de cada primer (GBT Oligos, Buenos Aires), 0,2 mM de una mezcla de dNTPs, 2 mM de MgCl2, 1% de DMSO y 0,5 U de ADN Taq polimerasa (Thermo Fischer Scientific, Invitrogen Argentina SA).

ITS de los genes codificantes del ARNr: Las reacciones contenían 1X de buffer de PCR, 1 µM de cada primer (GBT Oligos, Buenos Aires), 0,2 mM de una mezcla de dNTPs, 1,5 mM MgCl2, 1% de DMSO y 1 U de ADN Taq polimerasa (Thermo Fischer Scientific, Invitrogen Argentina SA).

En todos los casos los tubos de reacción se colocaron en un termociclador (Multigene Gradient Labnet International Cycler) con las condiciones de reacción especificadas anteriormente.

Para visualizar los amplicones obtenidos se sembraron 10 µl de cada producto de reacción con 5 µl de un buffer de carga 6X (sacarosa y azul de bromofenol) (Sambrook y col., 1989) (Anexo I) sobre un gel de agarosa al 1% conteniendo Gel Red. En párelo se sembró el control negativo y un marcador de peso molecular de 100 pares de bases (pb). La corrida electroforética se realizó con buffer TBE 0,5X a 90V por aproximadamente 60 minutos. Las bandas fueron observadas bajo luz UV del lector de geles.

La purificación y secuenciación de fragmentos amplificados se realizó a través del servicio que ofrece la empresa Macrogen Inc. (Seúl, Corea del Sur).

Tabla N° 12: características de los primers empleados para amplificar los genes de actina, factor de elongación 1-α e ITS.

Locus	Nombre	Secuencia de DNA (5' – 3')	Referencias
ACT	ACT-512F	ATGTGCAAGGCCGGTTTCTC	Carbone & Kohn, 1999
	ACT-783R	TACGAGTCCTTCTGGCCCAT	
EF1-α	EF1-728F	CATCGAGAAGTTCGAGAAGG	Carbone & Kohn, 1999
	EF1-986R	TACTTGAAGGAACCCTTACC	
ITS	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	White y col., 1990
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	

Análisis filogenéticos:

Las secuencias proporcionadas por Macrogen fueron comparadas con secuencias de ADN fúngico de la base de datos GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) de NCBI (National Center for Biotechnology Information) usando una búsqueda de BLAST para identificar las especies. Luego se procedió a los análisis filogenéticos de las secuencias de cada uno de los genes bajo estudio con el paquete de programas MEGA 7 (Kumar y col., 2016). Para ello, secuencias de referencia de las diferentes especies de *Cladosporium* identificadas a través de la búsqueda de Blast fueron obtenidas de GenBank. Los nombres de las mismas con sus respectivos números de acceso se indican en la Tabla N° 13. Las secuencias de *Cercospora beticola* (CBS:116456) se utilizaron como grupo externo (especie evolutivamente distante respecto de las especies en estudio) para enraizar los árboles (Bensch y col., 2012). Todas las secuencias, tanto las incógnitas como las de referencia fueron editadas y convertidas a formato Fasta. Luego se alinearon usando el método Muscle (Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation. EMBL-EBI) y posteriormente se inspeccionaron visualmente y se editaron. Finalmente se llevó a cabo el análisis filogenético de cada gen mediante el método Maximum Likelihood (Lesk, 2002), utilizando el modelo de Kimura de dos parámetros y el modelo de distribución Gamma y tratando las brechas en los aislamientos como deleciones parciales (Greco y col., 2015). Los valores de “bootstrap” fueron generados con 1000 repeticiones.

Tabla N° 13: Secuencias de referencia empleadas en los análisis filogenéticos.

		Número de acceso a GenBank		
Especies	**Aislamiento**	**Actina**	**EF1-α**	**ITS**
Cladosporium aggregatocicatricatum	CPC:14709	KT600645		
	CBS:113151	KT600646		
C. allicinum	CBS:121624	EF679502	EF679425	EF679350
	CPC:11840	EF679497	EF679420	EF679345
C. asperulatum	CBS:126340	HM148485		
C. cladosporioides	CPC:11121	HM148505		
	CPC:11123	HM148507		
	CPC:13978	HM148551		
	MUT ITA 4985	KU315007		
	MUT ITA 1729	KU935615		
	UTHSC DI-13-209	LN834543		
C. limoniforme	CBS:113737	KT600591		
	CPC:12039	KT600592		
C. macrocarpum	CPC:12757	EF679532		
	UTHSC DI-13-191	LN834563		
C. pseudocladosporioides	CPC:11841	HM148657		
	CPC:14010	HM148671		
	CPC:14020	HM148674		
C. ramotenellum	CBS:109031	KT600615		
	CPC:13789	KT600629		
C. sinuosum	CBS:121629	EF679450	EF679464	EF679386
	CPC:17632	KT600642	KT600544	KT600445
C. sphaerospermum	CPC:13995	EU570273		
	CPC:14016	EU570274		
C. subtilissimum	CBS:17252	EF679544		
	CBS:113741	EF679545		
C. tenellum	CPC:11813	EF679553		
	CPC:12051	EF679554		
Cercospora beticola	CBS:116456	AY840458	AY840494	NR121315

3.2.3.5 Identificación de especies pertenecientes a los géneros *Stemphylium* y *Pleospora*:

La identificación de las especies de estos géneros se llevó a cabo mediante un análisis morfológico de 11 aislamientos a nivel macroscópico y microscópico complementado con un estudio molecular y filogenético basado en el gen del factor de elongación de la traducción 1-α (EF1-α) según Kurose y col. (2015).

Análisis morfológico:

Los aislamientos fueron cultivados en medio PDA, V8 y PZA a 15-25 °C bajo luz azul negra para inducir la esporulación durante un período de incubación de al menos 14 días, basado en el protocolo propuesto por Kurose y col. (2015). Al cabo de los mismos se realizó una caracterización macroscópica y microscópica de los aislamientos.

Análisis molecular:

La identificación molecular se llevó a cabo empleando la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa y posterior secuenciación del gen del factor de elongación 1-α (EF1-α). Para ello se emplearon los 11 aislamientos y el análisis molecular y filogenético se llevó a cabo empleando la metodología descripta previamente para las especies de *Cladosporium*.

Los nombres de las secuencias de referencia con sus respectivos números de acceso a GenBank se indican en la Tabla N° 14. En este caso se utilizó *Cercospora beticola* (CBS:116456) como grupo externo para enraizar el árbol.

Tabla N° 14: Secuencias de referencia empleadas en el análisis filogenético.

Especies	Aislamiento	Número de acceso a GenBank
Pleospora herbarum	ATCC 11681	JQ672394
P. paludiscirpi	EGS31-016	AY324769
P. tarda	ATCC 42170	JQ672391
P. triglochinicola	EGS36-118	AY324753
Stemphylium eturmiunum	EGS29-099	AY324712
S. lancipes	CBS 333.73	KC113194
S. loti	NO 1364	AY324776
S. lycopersici	KuNBY4	AB828259
S. majusculum	EGS16-068	AY324710
S. sarciniforme	EGS29-188	AY324746
S. solani	EGS42-027	AY324760
S. trifolii	EGS12-142	AY324744
S. vesicarium	BRIP:65181	KY009905
S. xanthosomatis	EGS17-137	AY324758
Cercospora beticola	CBS:116456	AY840494

3.2.3.6 Identificación de especies pertenecientes al género *Phoma*:

La identificación de las especies de este género se llevó a cabo mediante un análisis morfológico de 25 aislamientos recolectados durante los primeros dos años de muestreo basado en la metodología y clave propuesta por Boerema y col. (2004). Para ello se emplearon los medios MEA y OA y las placas fueron incubadas a 25 °C en completa oscuridad durante 7 días, luego de los cuales se utilizó un fotoperiodo de 11 hs de oscuridad y 13 hs de luz UV cercano por 7 días más.

Luego se seleccionaron 20 de ellos y se realizó un estudio molecular empleando la Reacción en Cadena de la Polimerasa y posterior secuenciación de los genes de actina y espaciador interno transcrito (ITS) de los genes codificantes de ARNr. El análisis molecular y filogenético se llevó a cabo empleando la metodología descripta previamente para las especies de *Cladosporium*. En la Tabla N° 15 se indican los nombres de las secuencias de referencia utilizadas para este estudio con sus respectivos números de acceso a GenBank. Se seleccionaron especies de referencia pertenecientes a cada una de las 9 secciones descriptas por Boerema y col. (2004).

Tabla N° 15: Secuencias de referencia utilizadas en los análisis filogenéticos.

			Número de acceso a GenBank	
Especies	**Sección**	**Aislamiento**	**Actina**	**ITS**
Phoma aliena	*Phoma*	E34	-	KC311486
P. herbarum		CBS 567.63	AY748978	JF810528
P. plurivora		ICMP:6875	KT309344	KT310010
P. aquilegiicola	*Heterospora*	ICMP:15688	KT309228	KT309891
P. betae	*Pilosa*	F742	KM249133	KM249077
P. complanata	*Sclerophomella*	CBS 268.92	-	FJ515608.1
P. nigrificans		CBS 740.96	AY748981	-
P. gardeniae	*Paraphoma*	CBS 302.79	FJ426894	FJ427002
P. glomerata	*Peyronellaea*	ICMP:6829	KT309333	KT309999
P. medicaginis	*Phyllostictoides*	CBS 316.90	AY831530	AY831563
P. sclerotioides	*Plenodomus*	SK 7-12	HM157418	HM589500
P. xanthina	*Macrospora*	ICMP:11608	KT309182	KT309844
Cercospora beticola		CBS:116456	AY840458	NR121315

3.3. Plan de procesamiento y análisis de datos

3.3.1 Determinación de la densidad relativa de géneros y especies

La densidad relativa (frecuencia de aparición) para cada género y especie hallados se calculó de acuerdo a Smith (1980) mediante la siguiente ecuación (Borrego y col., 2011):

$$\boldsymbol{Densidad\ relativa\ (DR) = \frac{N°\ de\ aislamientos\ de\ un\ género\ o\ especie\ x\ 100}{N°\ total\ de\ aislamientos\ de\ todos\ los\ géneros\ o\ especies}}$$

3.3.2 Determinación de la distribución geográfica y estacional de géneros y especies

Empleando la ecuación previamente descripta los datos fueron organizados por períodos anuales (primer, segundo y tercer año de muestreo), estacionales (verano, otoño, invierno y primavera), por zonas geográficas (zona este y zona centro del Alto Valle) y por sistema productivo (tradicional y orgánico). Se empleó para tal fin el programa informático Microsoft Excel®.

Asimismo, se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) y Prueba de Comparaciones Múltiples con un p-valor de 0,05 utilizando el programa informático Matlab® R2015a.

3.3.3 Recopilación de datos meteorológicos:

En paralelo y durante los tres años de muestreo se tomaron los datos meteorológicos mensuales promedio correspondientes a temperatura, humedad relativa, velocidad del viento y radiación global, aportados por el área de Agroclimatología de la Estación Experimental Agropecuaria Alto Valle del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). El acceso a estos datos se encuentra especificado en el Anexo IV.

3.4 Conservación de los aislamientos

Los aislamientos se conservaron inoculando trozos de micelio en tubos Eppendorf conteniendo medio PDA para las especies de los géneros *Alternaria* y *Fusarium* a temperaturas de refrigeración (4 °C). A su vez las especies de *Alternaria* se conservaron en viales conteniendo agua destilada estéril y cubos de agar con porciones de micelio a temperatura de refrigeración (4 °C). El resto de las especies se conservaron en tubos Eppendorf con medio MEA a 4 °C.

Para almacenamiento por tiempo prolongado la conservación se realizó a temperaturas de ultracongelación (-80 °C), depositando conidios y/o cubos de agar con micelio en solución crioprotectora de agua con glicerol al 18% v/v.

3.5 Determinación de la patogenicidad y especificidad del hospedante

Respecto a la patogenicidad de los géneros fúngicos determinados, *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Aspergillus* están reconocidos dentro de los más importantes géneros fitopatógenos (Lacey, 1989; Willet y col., 1989; Sawamura, 1990; Roberts, 2005; Horlock, 2006; Anguiano y col., 2012; Sever y col., 2012; Wenneker y Köhl, 2013; Di Masi, 2014; Harteveld y col., 2014; Louw, 2014; Louw y Korsten, 2014; Yu y col., 2016; Liu y col., 2017). Sin embargo, la patogenicidad de las especies de *Cladosporium*, *Stemphylium* y *Pleospora* ha sido menos frecuentemente estudiada (Sugar y Powers 1986; Benbow y Sugar 1999; Singh y col., 2000; Rossi y col., 2005; Llorente y Montesinos, 2006; Köhl y col., 2009) siendo prácticamente escasa la información de sus efectos sobre cultivos de la región (Lutz y col., 2016). Dada la abundancia de *Cladosporium* en aire y la emergente ocurrencia en la región de *Stemphylium* y *Pleospora* durante las últimas temporadas de cosecha (Di Masi, 2017) se propuso determinar la patogenicidad y especificidad de hospedante de estos géneros.

3.5.1 Especies de *Cladosporium*

Para llevar a cabo este análisis se emplearon 26 aislamientos representativos de las especies identificadas molecularmente seleccionados al azar cuya patogenicidad y especificidad del hospedante fueron determinadas sobre peras (*Pyrus communis*) de las variedades Packham's y Abate Fetel y manzanas (*Malus domestica*) de la variedad Red Delicious (Fig. 53).

Pera Packham's Triumph

Pera Abate Fetel

Manzana Red Delicious

Fig. 53: Variedades de pera y manzana empleadas en el ensayo de patogenicidad.

Las pruebas se realizaron inmediatamente después de la cosecha de los frutos, utilizando la técnica de los escarbadientes (Andersen y col., 2002). Para ello, escarbadientes fueron divididos en mitades y se esterilizaron en autoclave a 121 °C durante 15 minutos 5 veces en agua destilada y una vez en Caldo de Extracto de Malta. Una vez esterilizados, se colocaron asépticamente por pares en placas de Petri de 90 mm de diámetro que contenían medio MEA suplementado con Cloranfenicol (0,1 g/L) (Fig. 54). Las placas se inocularon en el centro de cada par con cada uno de los aislamientos a evaluar y se incubaron a 25 °C durante 7 días.

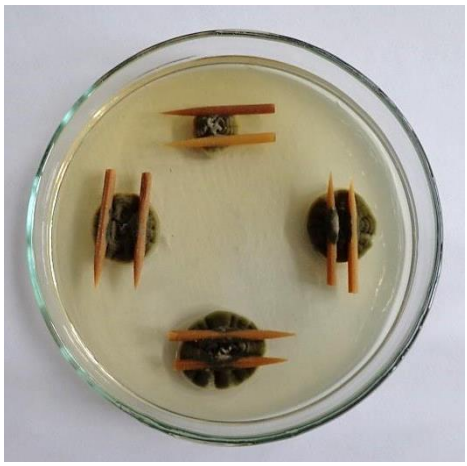


Fig. 54: Placa con cultivos de *Cladosporium* inoculados entre escarbadientes.

Ensayos

Los frutos se desinfectaron superficialmente sumergiéndolos en una solución de hipoclorito de sodio (10%) durante 5 minutos y se enjuagaron dos veces con agua destilada estéril bajo flujo laminar. Posteriormente se rociaron con una solución de alcohol 70° y se dejaron secar. Se inocularon los frutos introduciendo asépticamente tres palillos en cada fruto separados de manera equidistante entre sí a una profundidad de aproximadamente 1 cm, dos de ellos estaban cubiertos por micelio de cada aislamiento de *Cladosporium* a analizar y uno estaba libre de crecimiento fúngico, el cual se usó como control (Fig. 55). Los ensayos se llevaron a cabo por duplicado. A continuación, se colocaron los frutos individualmente en bolsas de plástico transparentes cerradas y se incubaron a 25 °C durante 14 y 21 días. Después de cada

período de incubación, se observaron las lesiones externas e internas de los frutos y se describieron las características visuales de las mismas. La patogenicidad se determinó según la capacidad o no del aislamiento para producir lesión en los frutos y se confirmó de acuerdo con los postulados de Koch (Koch, 1884; Koch, 1890). La especificidad del hospedante se determinó según la producción de lesión o no en cada variedad de fruto analizada.

Fig. 55: Frutos de pera de ambas variedades y de manzana lesionados con palillos conteniendo micelio fúngico.

3.5.2 Especies de *Stemphylium* y *Pleospora*

Para llevar a cabo el análisis de patogenicidad se emplearon 9 aislamientos del género *Pleospora* y 2 aislamientos de *Stemphylium*, cuya patogenicidad y especificidad del hospedante fueron determinadas tanto en frutos como en hojas.

Ensayos sobre frutos

Los tipos y variedades de frutos empleados fueron los mismos que los utilizados para el género *Cladosporium*: peras Packham's Triumph y Abate Fetel y manzanas Red Delicious al igual que los procedimientos llevados a cabo para la obtención de los aislamientos y la realización del ensayo como fue previamente mencionado (Fig. 56).

Fig. 56: Placa con cultivos de *Pleospora* inoculados entre escarbadientes.

Ensayos sobre hojas

La metodología de estos ensayos fue llevada a cabo según los protocolos propuestos por Tanahashi y col. (2017) en los que se utilizaron, por un lado, suspensiones conidiales de los aislamientos y, por otro lado, filtrados de cultivo en los que se estimuló la producción de toxinas hospedador específicas (toxinas SV) de los aislamientos. Se emplearon para tal fin hojas jóvenes de plantas hospedantes de pera de las variedades D' Anjou, Abate Fetel, Williams y Packham's Triumph y de plantas no hospedantes de manzana Red Delicious y de rosa.

Ensayos con suspensiones conidiales

Los aislamientos fueron sembrados en medio V8 e incubados por al menos 14-21 días a 25 °C bajo luz azul negra fluorescente hasta lograr la esporulación de los mismos. Luego las placas fueron inundadas con 5 ml de agua destilada estéril y los conidios se colectaron gentilmente con un ansa ojal. En los casos en que fue necesario las suspensiones se filtraron empleando una gasa estéril para eliminar trozos de micelio. Luego se vortexearon y se procedió al recuento en cámara de Neubauer para ajustar la concentración a 5 x 10^5 conidios/ml con agua destilada estéril.

Para llevar a cabo el test de patogenicidad las hojas fueron lavadas con agua destilada y atomizadas en su anverso con las suspensiones obtenidas. Luego se incubaron en cámara húmeda a 25 °C en las condiciones de oscuridad descriptas anteriormente durante 48-72hs, al cabo del cual se registraron las lesiones producidas y se determinó el daño según el porcentaje de extensión sobre la superficie foliar. Este ensayo se realizó por duplicado (Fig. 57).

Fig. 57: Ensayos de patogenicidad con suspensiones conidiales. Atomización de las hojas (A y B) e incubación de las mismas (C).

Ensayos con filtrados de cultivo

Se tomaron tacos de micelio de 5 mm de diámetro de cada aislamiento y se depositaron en Erlenmeyers de 500 ml conteniendo medio líquido Richard modificado (Anexo I). Estos fueron incubados sin agitación a 27 °C bajo luz difusa continua durante 20 días. Al cabo de este periodo, los medios de cultivo fueron filtrados en una primera instancia con papel de filtro Whatman N° 1 y luego con papel de filtro Whatman N° 50 ayudado por una bomba de vacío (Fig. 58).

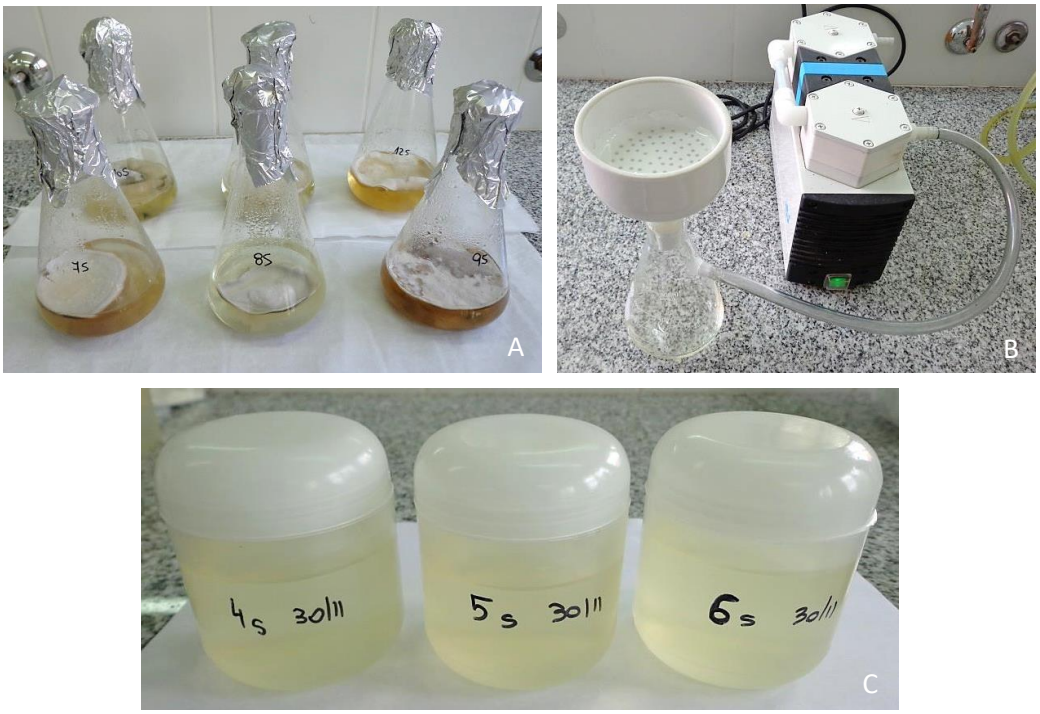


Fig. 58: Obtención de los filtrados de cultivo. Incubación en medio Richard modificado (A); Filtrado del medio líquido (B) y filtrados de cultivo empleados en el análisis de patogenicidad.

El filtrado obtenido de cada cultivo se empleó para realizar los análisis de patogenicidad en hojas que consistieron en depositar una gota de 40 µl en una porción del anverso de las hojas previamente dañada con pinzas. Las hojas fueron incubadas en las mismas condiciones que en los ensayos con suspensiones conidiales y los resultados se registraron utilizando el mismo criterio. El ensayo fue realizado por duplicado (Fig. 59).

Fig. 59: Ensayo de patogenicidad en hojas con filtrados de cultivo.

RESULTADOS

4.1 Determinación de la concentración, densidad y distribución geográfica, estacional y por sistema productivo de la micoflora total y de los géneros fúngicos hallados

4.1.1 Determinación de la micoflora total anual

Se obtuvieron y analizaron un total de 278 placas de recuento obtenidas en los muestreos realizados en los ocho establecimientos rurales mencionados durante las cuatro estaciones del año por tres años consecutivos correspondidos entre otoño 2014 y verano 2017.

El recuento fúngico total determinado en el primer año comprende valores entre 5,19E+03 y 4,01E+04 UFC/m^3 de aire, en el segundo año se determinaron recuentos en el rango de 9,40E+03 y 3,25E+04 UFC/m^3 de aire y en el tercer año los recuentos se situaron entre 9,06E+03 y 2,41E+04 UFC/m^3 de aire. De esta manera se puede observar que el recuento promedio anual (RPA) de esporas fúngicas viables en ambientes rurales del Alto Valle del río Negro se mantuvo en el orden de E+04 en los tres años de muestreo. El conjunto de resultados obtenidos observa en la Tabla N° 16 y en la Fig. 60.

A partir del análisis de ANOVA los resultados no arrojan diferencias significativas ($p>0,05$) entre los RPA de cada año de muestreo (Fig. 61).

Tabla N° 16: Resultados del recuento fúngico total (UFC/m^3) determinado en cada año de muestreo.

Recuento	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Promedio	**2,10E+04**	**1,73E+04**	**1,64E+04**
Mínimo	5,19E+03	9,40E+03	9,06E+03
Máximo	4,01E+04	3,25E+04	2,41E+04
Desvío estándar	1,46E+04	8,09E+03	4,80E+03

Fig. 60: Resultados del recuento promedio anual (UFC/m^3) determinado en cada año de muestreo.

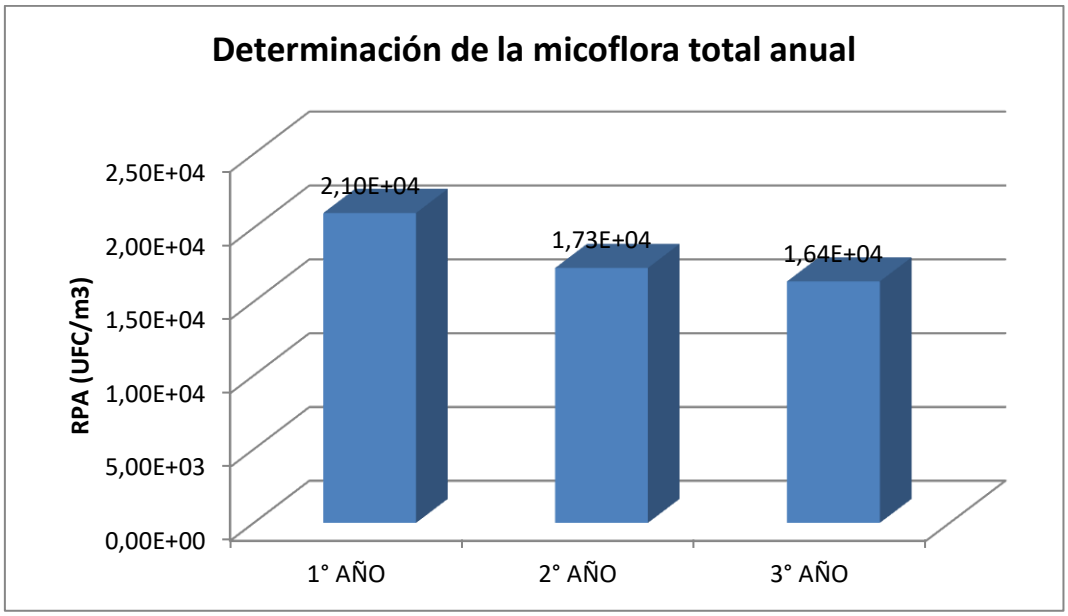
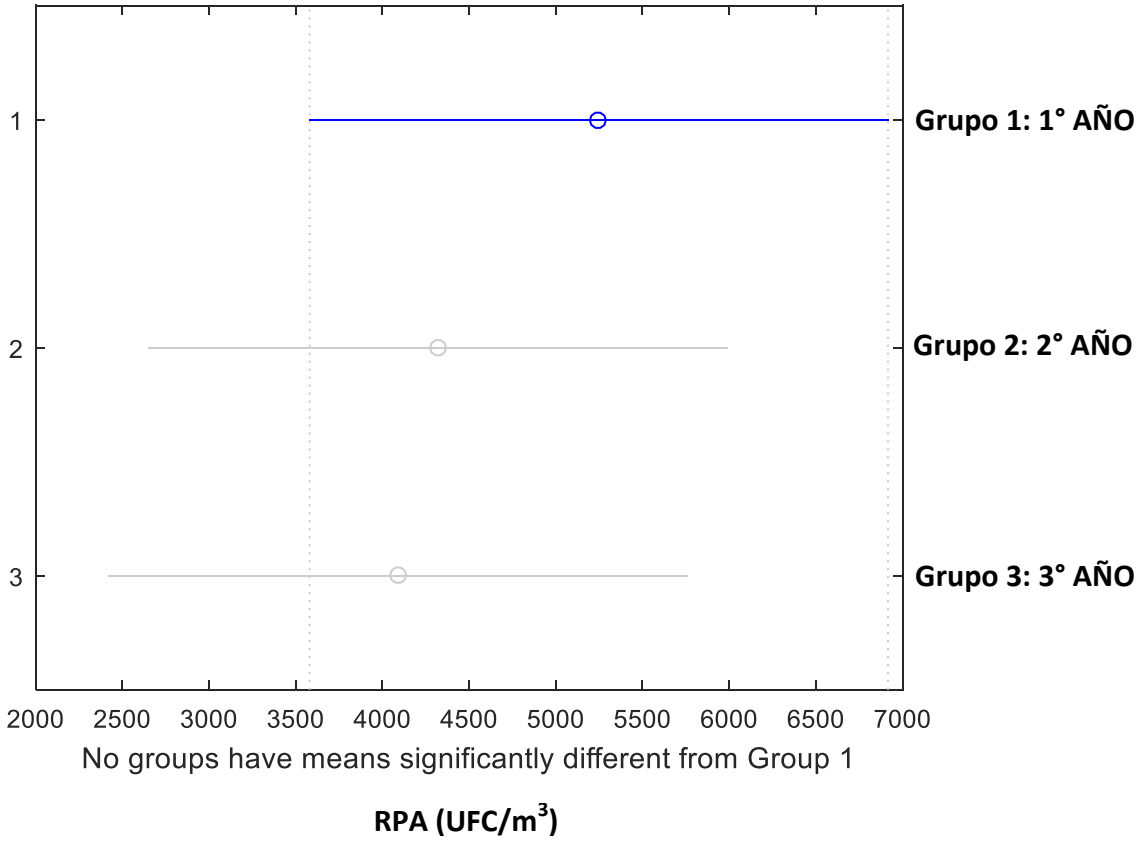


Fig. 61: Resultados del ANOVA sobre el recuento promedio anual (UFC/m^3) determinado en cada año de muestreo.



4.1.2 Determinación de la micoflora total por estación

Se analizaron un total de 24 placas de recuento por cada estación de cada año de muestreo. Los recuentos fúngicos obtenidos en la estación otoñal del primer año registraron valores entre 9,30E+02 y 9,67E+03 UFC/m^3 de aire, en el segundo año comprendieron el rango de 2,36E+03 y 2,50E+04 UFC/m^3 de aire y en el tercer año se ubicaron entre 9,70E+02 y 6,91E+03 UFC/m^3. En la estación invernal los recuentos variaron entre 7,80E+02 y 4,52E+03 UFC/m^3 durante el primer año, entre 2,12E+03 y 5,77E+03 UFC/m^3 durante el segundo año y entre 6,80E+02 y 9,00E+02 UFC/m^3 durante el tercer año. En primavera los resultados comprendieron el rango entre 5,50E+02 y 6,60E+03 UFC/m^3 en el primer año, entre 4,50E+02 y 2,84E+03 UFC/m^3 en el segundo y entre 4,80E+02 y 5,94E+03 UFC/m^3 en el tercer año de muestreo. Finalmente, en la estación estival los recuentos se ubicaron entre 1,21E+03 y 2,91E+04 UFC/m^3 durante el primer año, entre 2,22E+03 y 1,70E+04 UFC/m^3 durante el segundo año y entre 4,64E+03 y 1,69E+04 UFC/m^3 durante el último año. El conjunto de resultados obtenidos observa en las Tablas N° 17, 18, 19 y 20.

Tabla N° 17: Resultados del recuento fúngico total (UFC/m^3) determinado en la estación otoñal de cada año de muestreo.

Recuento Otoño	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Promedio	**3,02E+03**	**7,30E+03**	**3,44E+03**
Mínimo	9,30E+02	2,36E+03	9,70E+02
Máximo	9,67E+03	2,50E+04	6,91E+03
Desvío estándar	2,83E+03	7,37E+03	2,21E+03

Tabla N° 18: Resultados del recuento fúngico total (UFC/m^3) determinado en la estación invernal de cada año de muestreo.

Recuento Invierno	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Promedio	**2,24E+03**	**3,42E+03**	**7,48E+02**
Mínimo	7,80E+02	2,12E+03	6,80E+02
Máximo	4,52E+03	5,77E+03	9,00E+02
Desvío estándar	1,71E+03	1,50E+03	7,01E+01

Tabla N° 19: Resultados del recuento fúngico total (UFC/m^3) determinado en la estación primaveral de cada año de muestreo.

Recuento Primavera	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Promedio	**3,06E+03**	**1,07E+03**	**2,56E+03**
Mínimo	5,50E+02	4,50E+02	4,80E+02
Máximo	6,60E+03	2,84E+03	5,94E+03
Desvío estándar	2,23E+03	7,94E+02	2,02E+03

Tabla N° 20: Resultados del recuento fúngico total (UFC/m^3) determinado en la estación estival de cada año de muestreo.

Recuento Verano	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Promedio	**1,27E+04**	**5,49E+03**	**9,61E+03**
Mínimo	1,21E+03	1,69E+03	4,64E+03
Máximo	2,91E+04	1,70E+04	1,69E+04
Desvío estándar	1,15E+04	4,87E+03	4,30E+03

De acuerdo a los resultados observados en el primer y tercer año, la estación estival presenta los mayores recuentos promedio (RP), mientras que los menores recuentos suelen darse en la estación invernal. Este resultado se apoya en el estudio ANOVA que arroja diferencias significativas ($p<0,05$) entre el RP estival respecto de las otras estaciones. Sin embargo, en el segundo año, las diferencias entre estaciones no son tan marcadas aunque se observa que la estación otoñal registró el mayor recuento fúngico mientras que el menor recuento se determinó en la estación de primavera. Este resultado se apoya en el estudio ANOVA que arroja diferencias significativas ($p<0,05$) solamente entre los RP de la estación otoñal y la estación primaveral. La Fig. 62 muestra los RP (UFC/m^3) estacionales de cada año y la Fig. 63 muestra los resultados del análisis de ANOVA.

Fig. 62: Resultados del recuento promedio (UFC/m^3) determinado por estación de cada año de muestreo.

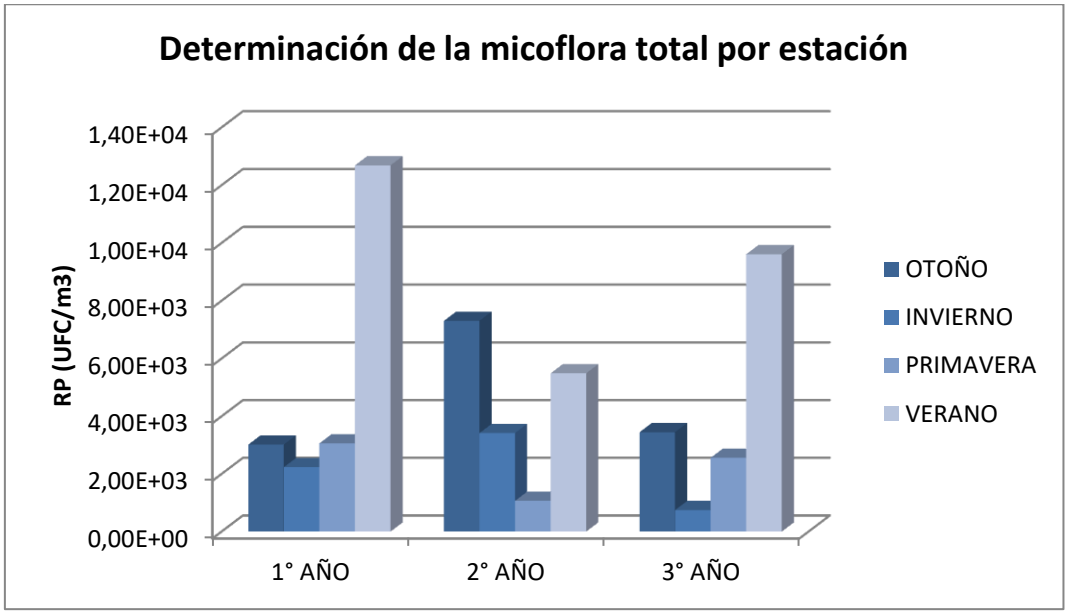
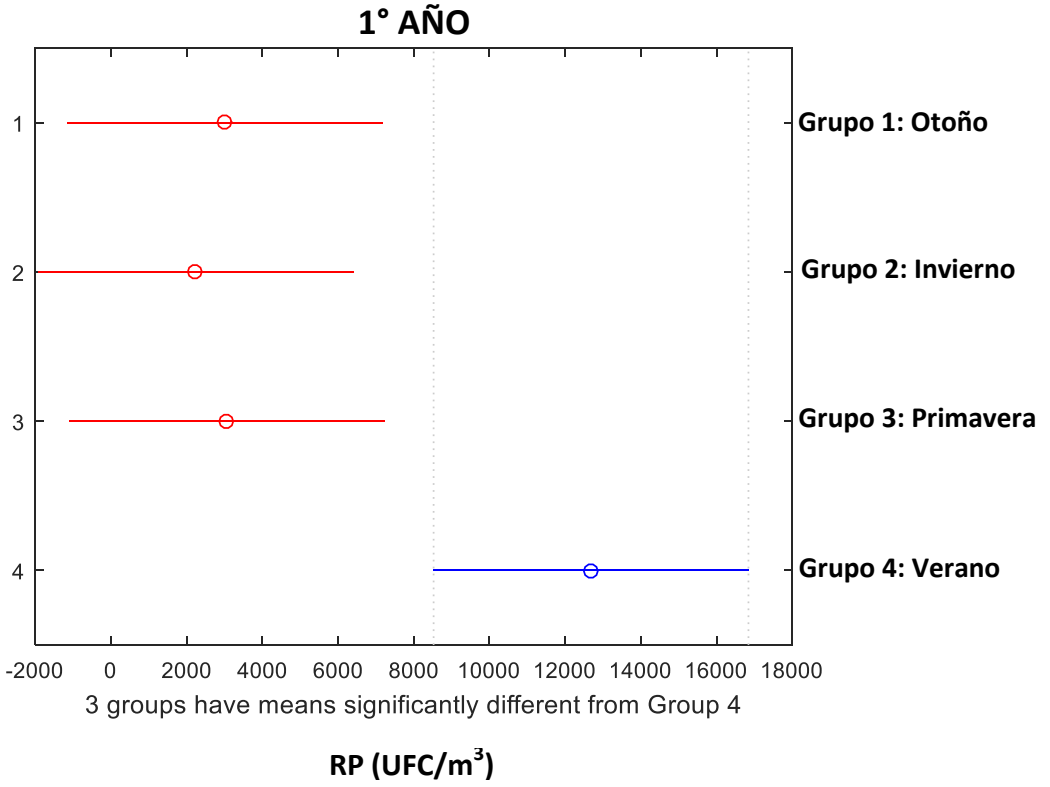
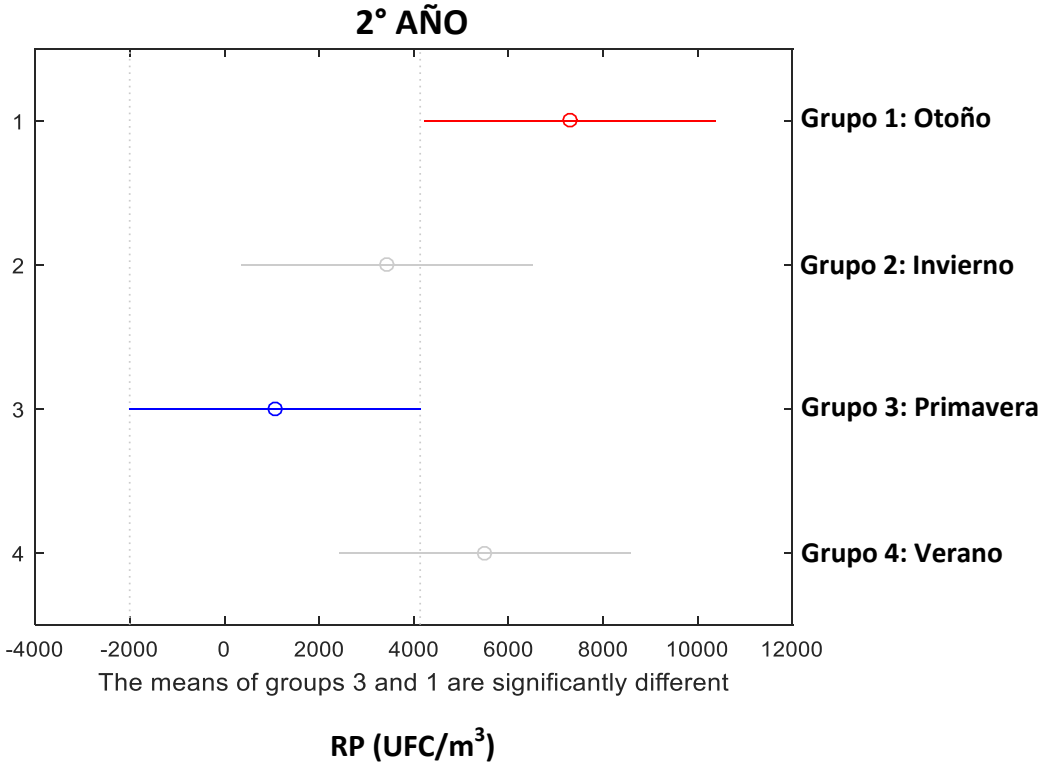
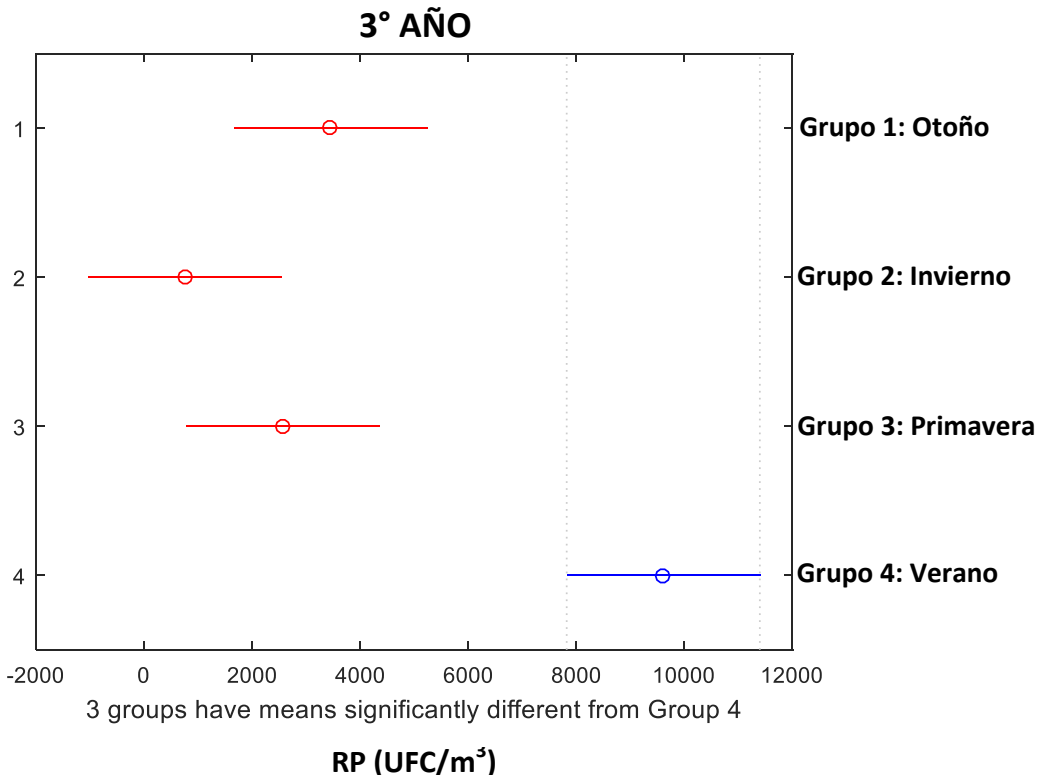


Fig. 63: Resultados del ANOVA sobre el recuento promedio estacional (UFC/m^3) determinado en cada año de muestreo.






3° AÑO
1
2
3
4
Grupo 1: Otoño
Grupo 2: Invierno
Grupo 3: Primavera
Grupo 4: Verano
-2000
0
2000
4000
6000
8000
10000
12000
3 groups have means significantly different from Group 4
RP (UFC/m³)

4.1.3 Determinación de la micoflora total por zona geográfica

Se analizaron un total de 48 placas de recuento obtenidas en la zona Este del Alto Valle rionegrino y 48 placas obtenidas en la zona Centro durante cada año de muestreo. Los recuentos fúngicos obtenidos en la zona Este del primer año comprenden valores entre 5,19E+03 y 3,93E+04 UFC/m^3 de aire, en el segundo año se obtuvo un rango entre 9,40E+03 y 3,25E+04 UFC/m^3 de aire y en el tercer año se registraron recuentos que se situaron entre 9,06E+03 y 1,59E+04 UFC/m^3 de aire. Con respecto a la zona Centro, durante el primer año el rango de valores se ubicó entre 7,83E+03 y 4,01E+04 UFC/m^3 de aire, en el segundo año entre 9,99E+03 y 2,61E+04 UFC/m^3 de aire y en el último año los recuentos oscilaron entre 1,27E+04 y 2,41E+04 UFC/m^3 de aire. El conjunto de resultados obtenidos observa en las Tablas N° 21 y 22.

Tabla N° 21: Resultados del recuento fúngico total (UFC/m^3) determinado en la zona Este de cada año de muestreo.

Recuento Zona Este	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Promedio	**2,41E+04**	**1,86E+04**	**1,35E+04**
Mínimo	5,19E+03	9,40E+03	9,06E+03
Máximo	3,93E+04	3,25E+04	1,59E+04
Desvío estándar	1,57E+04	9,96E+03	3,13E+03

Tabla N° 22: Resultados del recuento fúngico total (UFC/m^3) determinado en la zona Centro de cada año de muestreo.

Recuento Zona Centro	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Promedio	**1,78E+04**	**1,59E+04**	**1,92E+04**
Mínimo	7,83E+03	9,99E+03	1,27E+04
Máximo	4,01E+04	2,61E+04	2,41E+04
Desvío estándar	1,50E+04	7,00E+03	4,74E+03

Si bien en los tres años los recuentos promedio anuales (RPA) determinados en cada zona geográfica se encuentran en el mismo orden parecería observarse que en la zona Este el recuento promedio anual es ligeramente mayor que en la zona Centro en los dos primeros años de muestreo, situación que se invierte en el último año donde el recuento es mayor en la zona Centro que en la zona Este (Fig. 64). Sin embargo, a partir del análisis de ANOVA, los resultados no arrojan diferencias significativas ($p>0,05$) entre los RPA de ambas zonas geográficas en cada año de muestreo (Fig. 65).

Fig. 64: Resultados del recuento promedio anual (UFC/m^3) determinado en cada zona geográfica en cada año de muestreo.

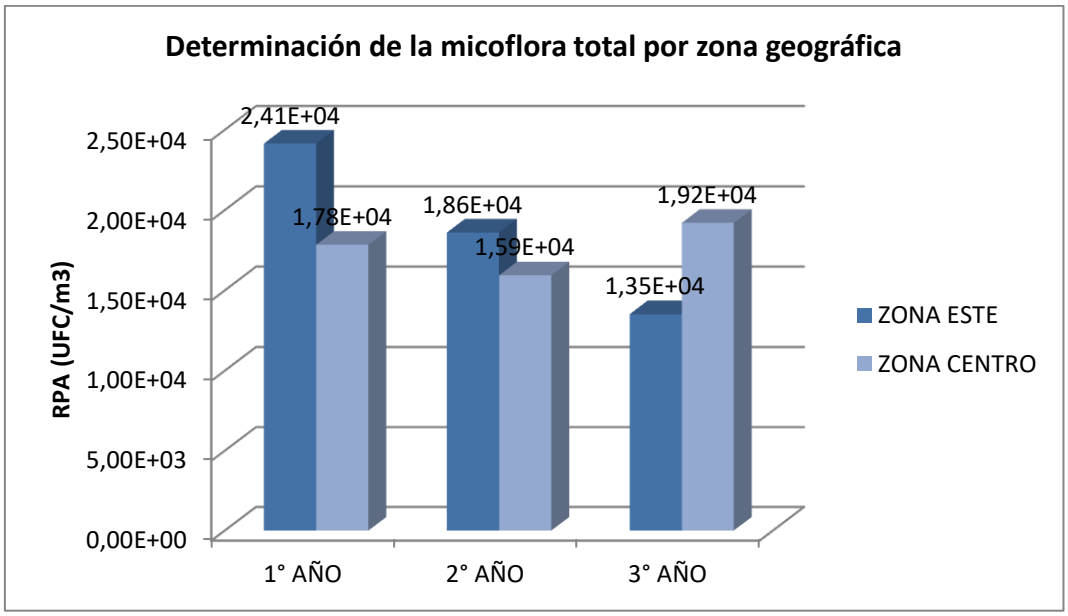
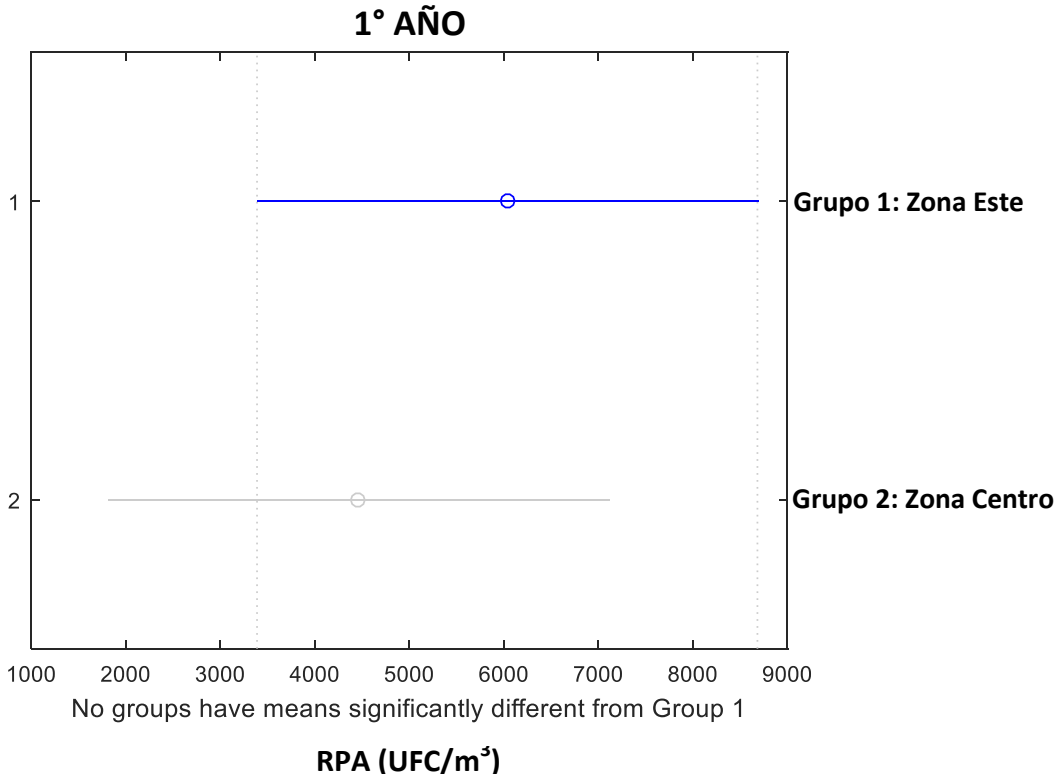
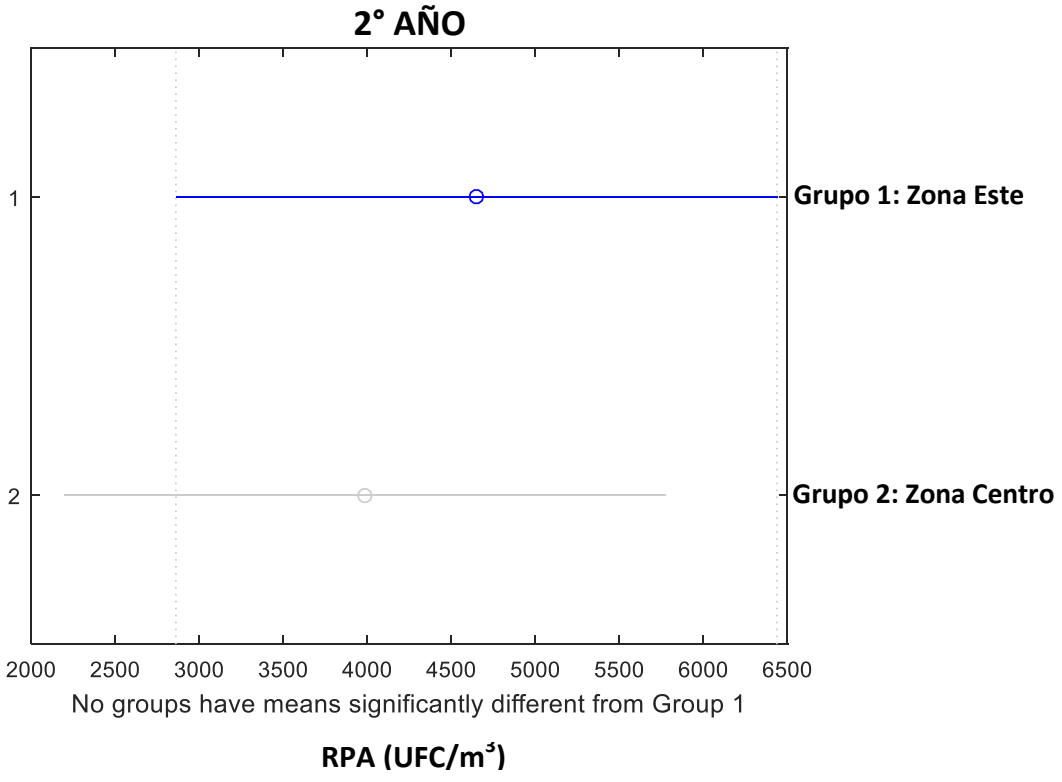
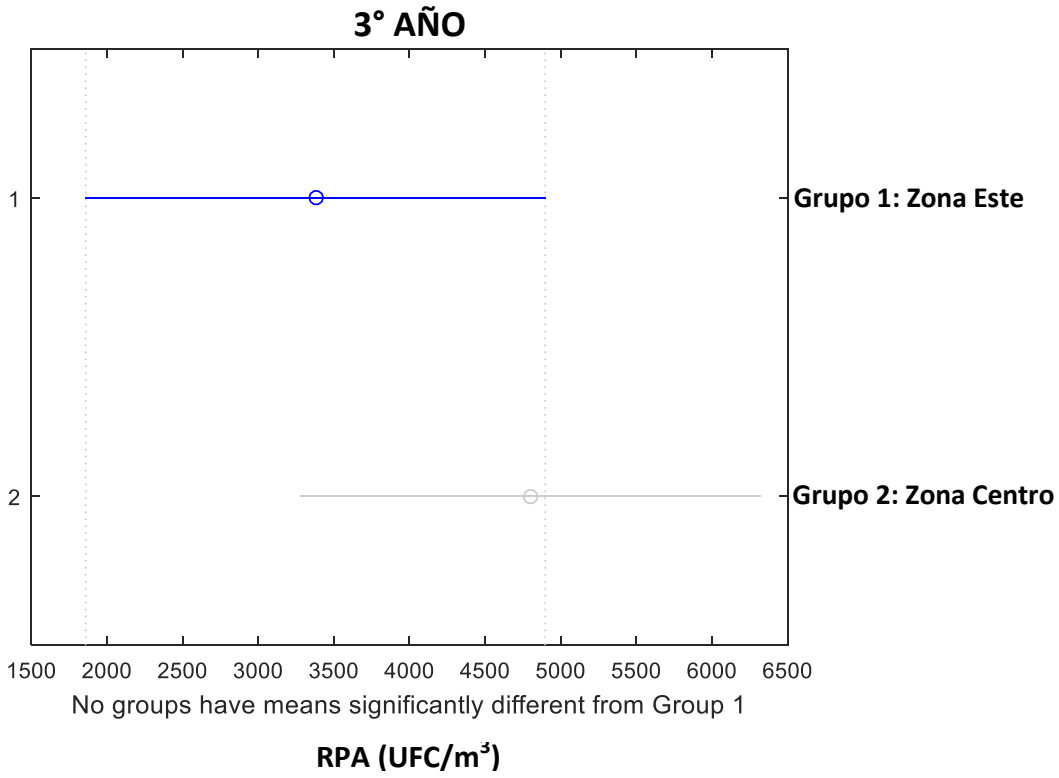


Fig. 65: Resultados del ANOVA sobre el recuento promedio anual (UFC/m^3) de cada zona geográfica determinado en cada año de muestreo.






3° AÑO
1
2
Grupo 1: Zona Este
Grupo 2: Zona Centro
1500 2000 2500 3000 3500 4000 4500 5000 5500 6000 6500
No groups have means significantly different from Group 1
RPA (UFC/m³)

4.1.4 Determinación de la micoflora total por sistema productivo

Se analizaron un total de 48 placas de recuento obtenidas en los establecimientos con sistema productivo tradicional (SPT) y 48 placas obtenidas en los establecimientos con sistema productivo orgánico (SPO) durante cada año de muestreo. Los recuentos obtenidos en SPT durante el primer año de muestreo comprenden valores entre 5,18E+03 y 4,01E+04 UFC/m^3 de aire, en el segundo año se sitúan entre 9,99E+03 y 3,25E+04 UFC/m^3 de aire y en el tercer año entre 9,06E+03 y 1,99E+04 UFC/m^3 de aire. En cuanto a los SPO, los recuento registrados durante el primer año se encuentran entre 7,84E+03 y 3,93E+04 UFC/m^3 de aire, entre 9,40E+03 y 2,61E+04 UFC/m^3 de aire durante el segundo año y en el tercer año comprenden valores entre 1,37E+04 y 2,41E+04 UFC/m^3 de aire. El conjunto de resultados obtenidos observa en las Tablas N° 23 y 24.

Tabla N° 23: Resultados del recuento fúngico total (UFC/m^3) determinado en sistemas productivos tradicionales (SPT) de cada año de muestreo.

Recuento SPT	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Promedio	**1,87E+04**	**1,77E+04**	**1,44E+04**
Mínimo	5,18E+03	9,99E+03	9,06E+03
Máximo	4,01E+04	3,25E+04	1,99E+04
Desvío estándar	1,52E+04	1,01E+04	4,61E+03

Tabla N° 24: Resultados del recuento fúngico total (UFC/m^3) determinado en sistemas productivos orgánicos (SPO) de cada año de muestreo.

Recuento SPO	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Promedio	**2,33E+04**	**1,68E+04**	**1,83E+04**
Mínimo	7,84E+03	9,40E+03	1,37E+04
Máximo	3,93E+04	2,61E+04	2,41E+04
Desvío estándar	1,59E+04	7,15E+03	4,71E+03

En la Fig. 66 se puede observar que tanto en SPT como en SPO los recuentos promedio anuales (RPA) se encuentran en el mismo orden aunque parecen registrarse valores mayores en SPO que en SPT en el primer y tercer año de muestreo pero ligeramente inferiores en el segundo. Sin embargo, a partir del análisis de ANOVA, los resultados no arrojan diferencias significativas ($p>0,05$) entre los RPA de ambos sistemas productivos en cada año de muestreo (Fig. 67).

Fig. 66: Resultados del recuento promedio anual (UFC/m^3) determinado en cada tipo de sistema productivo en cada año de muestreo.

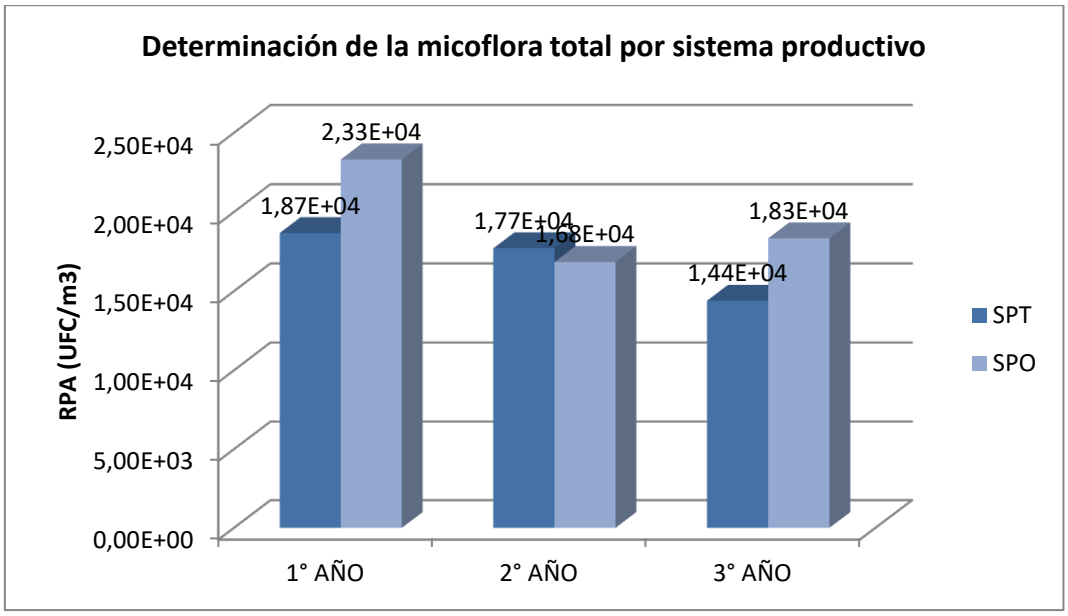
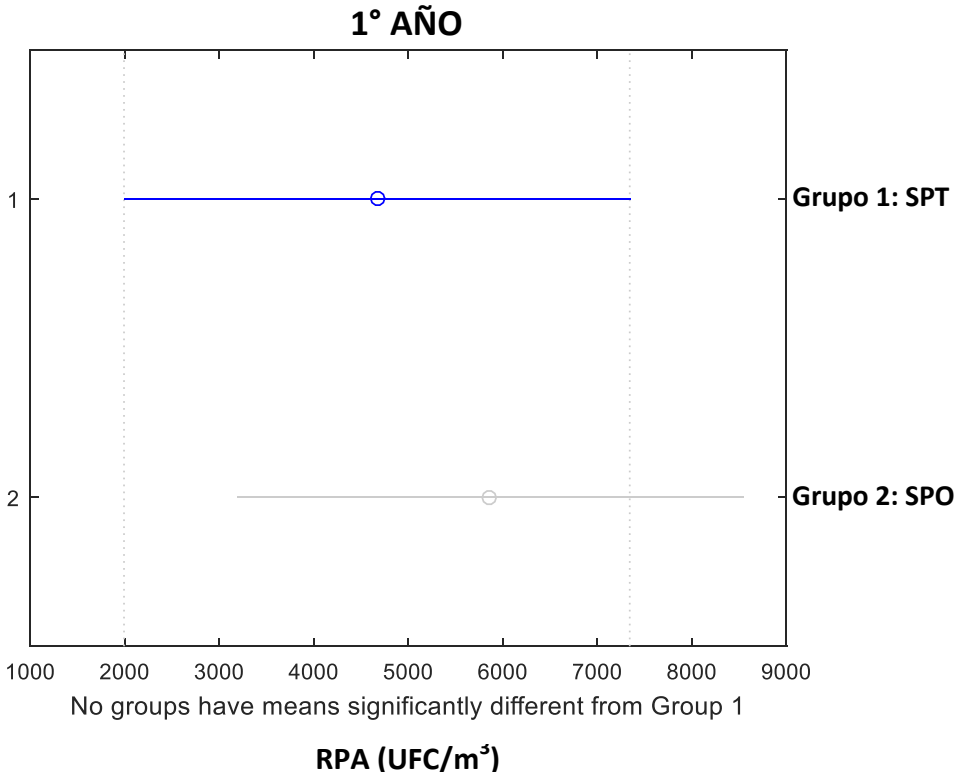
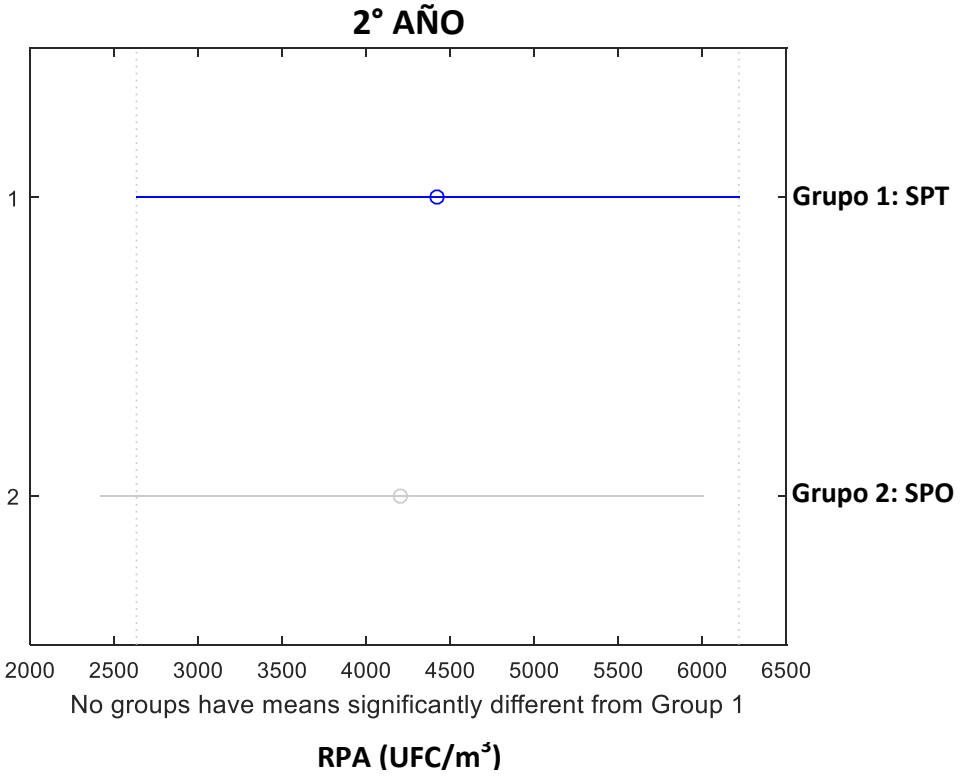
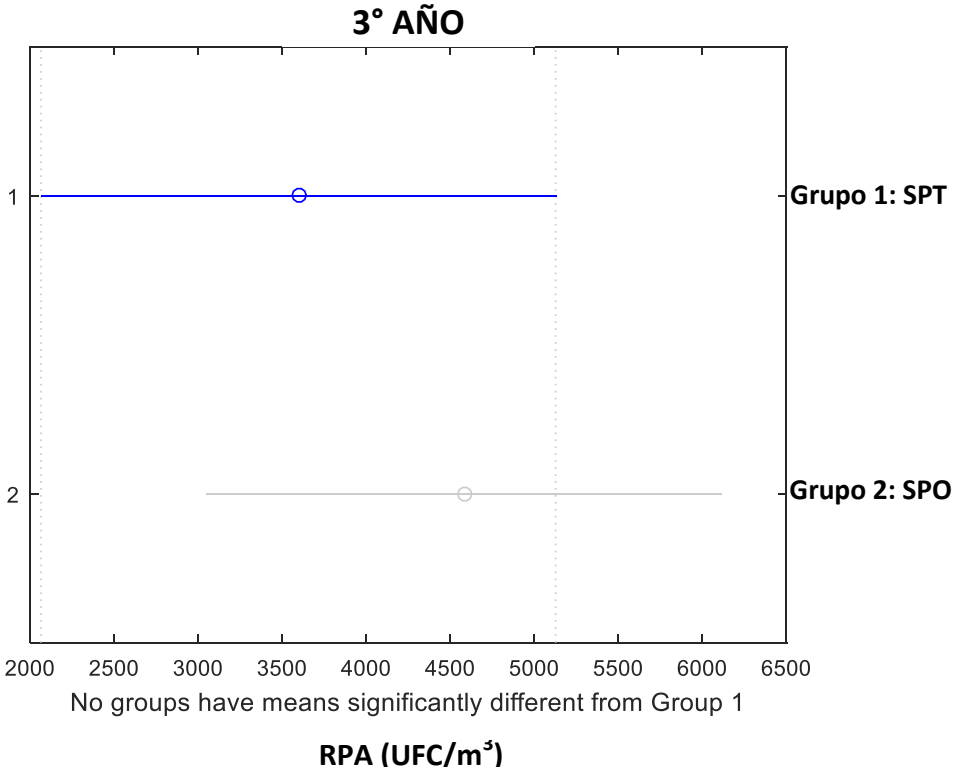


Fig. 67: Resultados del ANOVA sobre el recuento promedio anual (UFC/m^3) de cada sistema productivo determinado en cada año de muestreo.






3° AÑO
1
2
Grupo 1: SPT
Grupo 2: SPO
2000
2500
3000
3500
4000
4500
5000
5500
6000
6500
No groups have means significantly different from Group 1
RPA (UFC/m³)

4.1.5 Determinación de la concentración, densidad y distribución anual de géneros

Se halló una gran diversidad fúngica en los ambientes rurales del Alto Valle del río Negro en cada año de muestreo realizado. En el primer año se determinaron al menos 26 géneros, en el segundo se hallaron al menos 24 géneros y, en el último año se detectaron al menos 19 géneros fúngicos.

En los tres años se determinaron los géneros *Acremonium*, *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Bipolaris*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Phoma*, *Pleospora* y *Ulocladium*.

Sólo en el primer año se hallaron los géneros *Eurotium*, *Moniliella*, *Scopulariopsis*, *Stachybotrys*, *Stemphylium*, *Trichothecium* y *Wallemia*. Sólo en el segundo año se determinaron los géneros *Chrysonilia*, *Emericella*, *Neosartorya* y *Sordaria*. *Geotrichum* y *Mucor* fueron determinados en los dos primeros años y *Trichoderma* en el segundo y tercer año.

El género predominante en cada año fue *Cladosporium* (72,08 – 81,26%), seguido por *Alternaria* (11,46 – 15,67%) en segundo lugar y *Epicoccum* (2,31 – 6,73%) en tercer lugar. En el cuarto lugar de importancia se determinó *Aureobasidium* (1,12%) en el primer año y *Botrytis* en el segundo y tercero (2,31 – 2,45%). El quinto lugar de predominancia fue para *Botrytis* (0,89%) en el primer año, *Fusarium* (0,88%) en el segundo y *Aureobasidium* (1,08%) en el tercero.

En la Tabla N° 25 se detallan los géneros obtenidos en los tres años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas y en la Fig. 70 se observan los resultados.

Tabla N° 25: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de los géneros hallados en cada año de muestreo.

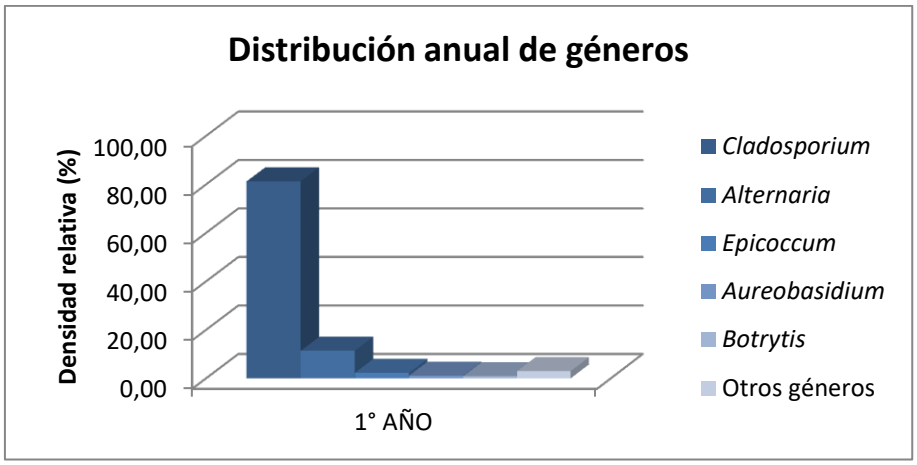
	1° AÑO		2° AÑO		3° AÑO	
Géneros	RPA	**DR**	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Acremonium	6	**0,03**	5	**0,03**	1	**0,01**
Alternaria	2398	**11,42**	2708	**15,67**	1712	**10,46**
Arthrinium	42	**0,20**	37	**0,22**	76	**0,46**
Aspergillus	9	**0,04**	6	**0,04**	3	**0,02**
Aureobasidium	236	**1,12**	128	**0,74**	177	**1,08**
Bipolaris	12	**0,06**	38	**0,22**	15	**0,09**
Botrytis	187	**0,89**	424	**2,45**	379	**2,31**
Chrysonilia	ND	**ND**	3	**0,02**	ND	**ND**
Cladosporium	17064	**81,26**	12450	**72,08**	12527	**76,55**
Curvularia	8	**0,04**	3	**0,02**	6	**0,03**
Drechslera	29	**0,14**	60	**0,35**	59	**0,36**
Emericella	ND	**ND**	1	**0,01**	ND	**ND**
Epicoccum	486	**2,31**	826	**4,78**	1101	**6,73**
Eurotium	8	**0,04**	ND	**ND**	ND	**ND**
Fusarium	117	**0,56**	152	**0,88**	45	**0,27**
Geotrichum	1	**0,00**	3	**0,02**	ND	**ND**
Moniliella	1	**0,00**	ND	**ND**	ND	**ND**
Mucor	4	**0,02**	3	**0,02**	ND	**ND**
Neosartorya	ND	**ND**	3	**0,02**	ND	**ND**
Nigrospora	7	**0,03**	35	**0,20**	1	**0,01**
Penicillium	44	**0,21**	70	**0,41**	16	**0,10**
Phoma	24	**0,11**	23	**0,13**	91	**0,56**
Pleospora	11	**0,05**	9	**0,05**	5	**0,03**
Scopulariopsis	6	**0,03**	ND	**ND**	ND	**ND**
Sordaria	ND	**ND**	1	**0,01**	0	**0,00**
Stachybotrys	1	**0,00**	ND	**ND**	ND	**ND**
Stemphylium	1	**0,00**	ND	**ND**	ND	**ND**
Trichoderma	ND	**ND**	5	**0,03**	3	**0,02**

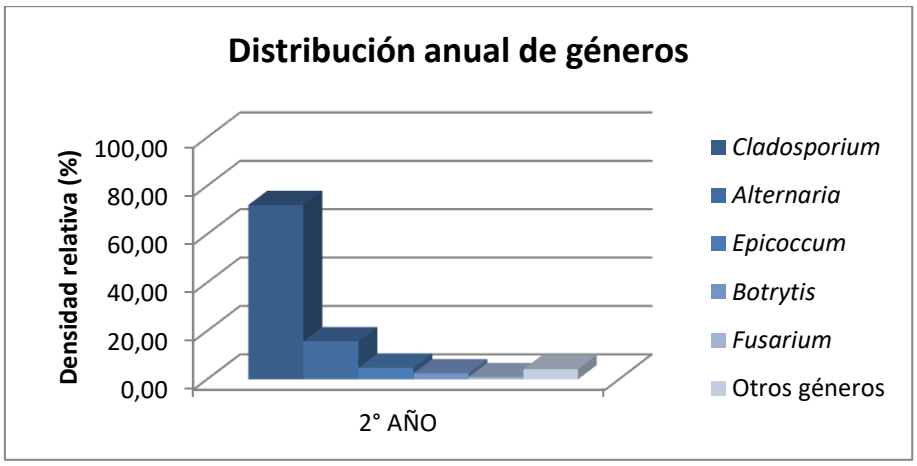
Trichothecium	3	**0,01**	ND	**ND**	ND	**ND**
Ulocladium	38	**0,18**	32	**0,19**	18	**0,11**
Wallemia	1	**0,00**	ND	**ND**	ND	**ND**
Micelio estéril	56	**0,27**	24	**0,14**	41	**0,25**
Otros	198	**0,94**	225	**1,30**	90	**0,55**

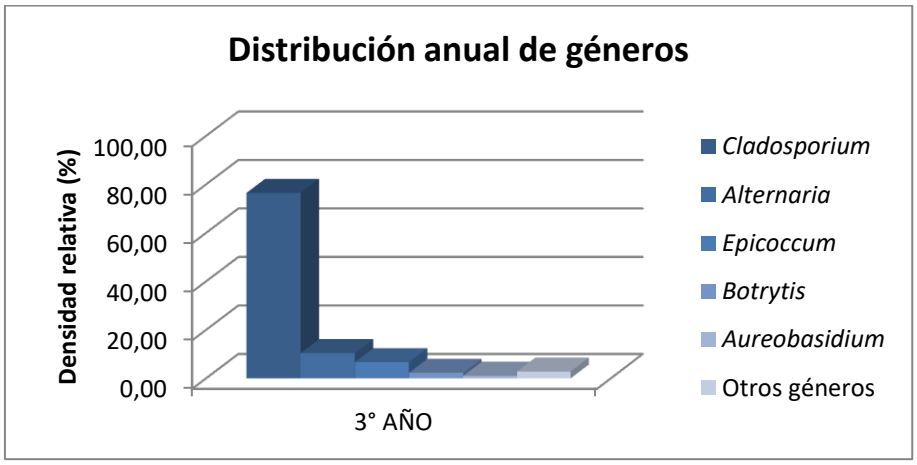
ND: No Determinado

Notas: Bajo la denominación de "Otros" se agruparon a aquellos géneros que no pudieron ser identificados por las claves propuestas por Samson y col. (2001) y Pitt y Hocking (2009). Bajo la denominación "Micelio estéril" se incluyeron a aquellos hongos que no produjeron esporas, asexuales o sexuales, en los medios de cultivo empleados y bajo las condiciones de incubación especificadas en la sección "Materiales y Métodos".

Fig. 70: Densidades relativas (%) de los cinco géneros predominantes en cada año de muestreo.







4.1.6 Determinación de la concentración, densidad y distribución estacional de géneros

Estación otoñal

Se determinaron al menos 14 géneros durante el primer año de muestreo, 18 géneros durante el segundo año y 16 géneros durante el tercero.

En los tres años de muestreo se hallaron los géneros *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Bipolaris*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Ulocladium*. Los géneros *Acremonium*, *Geotrichum*, *Mucor* y *Sordaria* sólo fueron determinados en el segundo año.

Phoma y *Pleospora* fueron hallados en el primer y tercer año de muestreo mientras que *Curvularia* fue hallado en el segundo y tercer año. En la Tabla N° 26 se detallan los géneros obtenidos en los tres años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas.

Cladosporium fue el género de mayor importancia en la estación otoñal de cada año muestreado (61,15 – 76,38%) seguido por *Alternaria* durante los dos primeros años (13,09 – 13,21%) y por *Epicoccum* en el tercero (5,12 – 17,35%). *Botrytis* fue el cuarto en orden de predominancia en cada año (1,31 – 3,64%) seguido por *Aureobasidium* (1.39 – 1,59%) a excepción del segundo año, donde fue determinado *Penicillium* (0,70%) (Fig. 71).

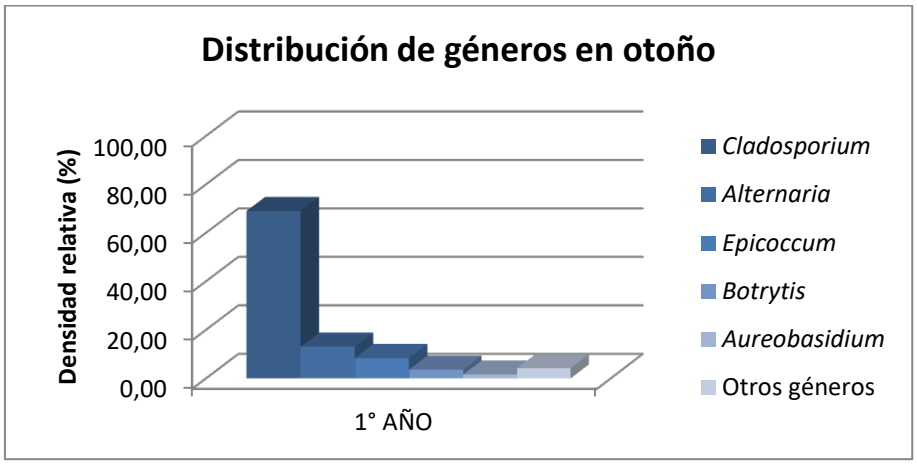
Tabla N° 26: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de los géneros hallados en la estación otoñal de cada año de muestreo.

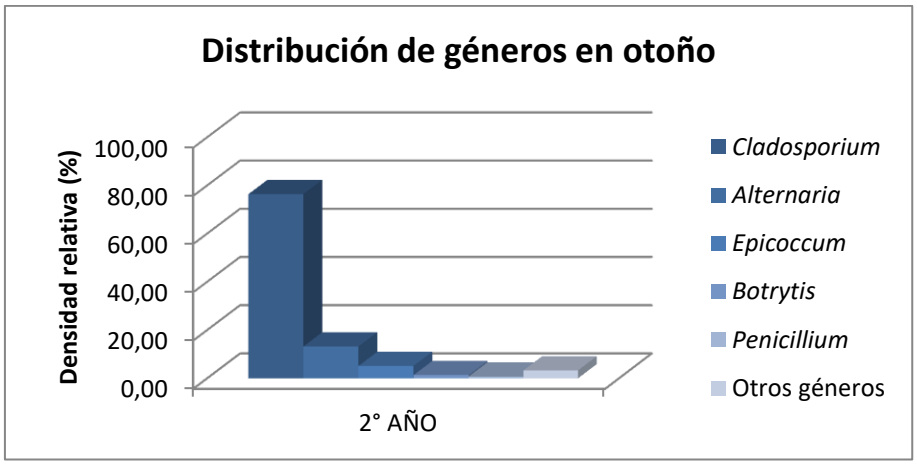
	1° AÑO		2° AÑO		3° AÑO	
Géneros	RPA	**DR**	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Acremonium	ND	**ND**	3	**0,04**	ND	**ND**
Alternaria	395	**13,09**	965	**13,21**	483	**14,01**
Arthrinium	10	**0,33**	9	**0,12**	10	**0,29**
Aspergillus	3	**0,10**	1	**0,01**	1	**0,03**
Aureobasidium	48	**1,59**	43	**0,59**	48	**1,39**
Bipolaris	6	**0,20**	6	**0,08**	3	**0,09**
Botrytis	110	**3,64**	96	**1,31**	121	**3,51**
Cladosporium	2084	**69,05**	5578	**76,38**	2108	**61,15**
Curvularia	ND	**ND**	1	**0,01**	3	**0,09**
Drechslera	5	**0,17**	11	**0,15**	4	**0,12**
Epicoccum	254	**8,42**	374	**5,12**	598	**17,35**
Fusarium	19	**0,63**	48	**0,66**	1	**0,03**
Geotrichum	ND	**ND**	3	**0,04**	ND	**ND**
Mucor	ND	**ND**	3	**0,04**	ND	**ND**
Nigrospora	ND	**ND**	8	**0,11**	1	**0,03**
Penicillium	10	**0,33**	51	**0,70**	3	**0,09**
Phoma	4	**0,13**	ND	**ND**	4	**0,12**
Pleospora	3	**0,10**	ND	**ND**	3	**0,09**
Sordaria	ND	**ND**	1	**0,01**	ND	**ND**
Ulocladium	20	**0,66**	8	**0,11**	3	**0,09**
Micelio estéril	16	**0,53**	ND	**ND**	18	**0,52**
Otros	31	**1,03**	94	**1,29**	35	**1,02**

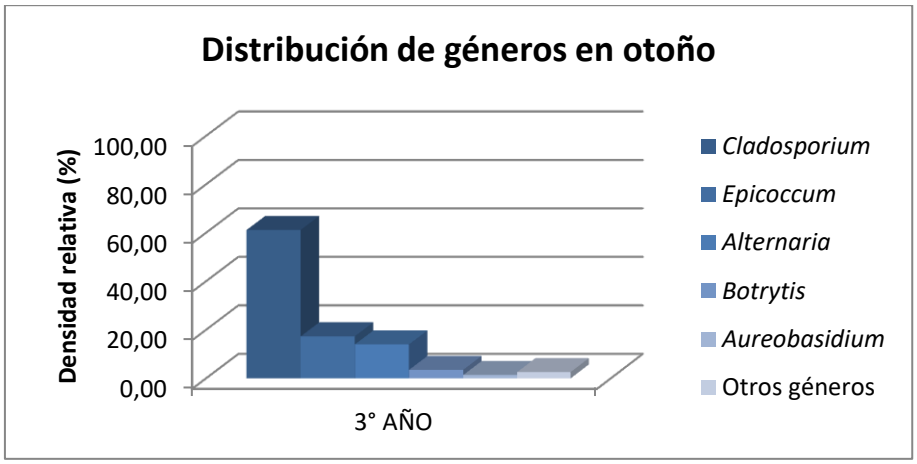
ND: No Determinado

Notas: Bajo la denominación de “Otros” se agruparon a aquellos géneros que no pudieron ser identificados por las claves propuestas por Samson y col. (2001) y Pitt y Hocking (2009). Bajo la denominación “Micelio estéril” se incluyeron a aquellos hongos que no produjeron esporas, asexuales o sexuales, en los medios de cultivo empleados y bajo las condiciones de incubación especificadas en la sección “Materiales y Métodos”.

Fig. 71: Densidades relativas (%) de los cinco géneros predominantes en la estación otoñal de cada año de muestreo.







Estación invernal

Se determinaron al menos 20 géneros durante el primer año de muestreo, 16 géneros durante el segundo año y 14 géneros durante el tercero.

En los tres años de muestreo se hallaron los géneros *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Bipolaris*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Pleospora* y *Ulocladium*.

Los géneros *Curvularia*, *Eurotium*, *Nigrospora*, *Scopulariopsis*, *Stachybotrys* y *Trichothecium* sólo fueron determinados en el primer año de muestreo. Neosartorya sólo se hallo en el segundo año, el género *Acremonium* se determinó en el primer y segundo año y *Phoma* en el segundo y tercero. En la Tabla N° 27 se detallan los géneros obtenidos en los tres años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas.

Cladosporium fue el género predominante en la estación invernal de cada año muestreado (57,22 – 77,29%) seguido por *Alternaria* (11,45 – 18,72%). En tercer orden de importancia, durante el primer y tercer año, fue determinado *Aureobasidium* (3,36 – 5,88%) y, en el segundo año, *Epicoccum* (2,17%). Este último género se posiciona cuarto en orden de predominancia en el primer y tercer año (1,70 – 5,75%) mientras que, en el segundo, fue determinado *Botrytis* (0,61%). En quinto orden sigue el género *Penicillium* en los dos primeros años (1,12 – 0,53%) y el género *Fusarium* en el último (1,47%) (Fig. 72).

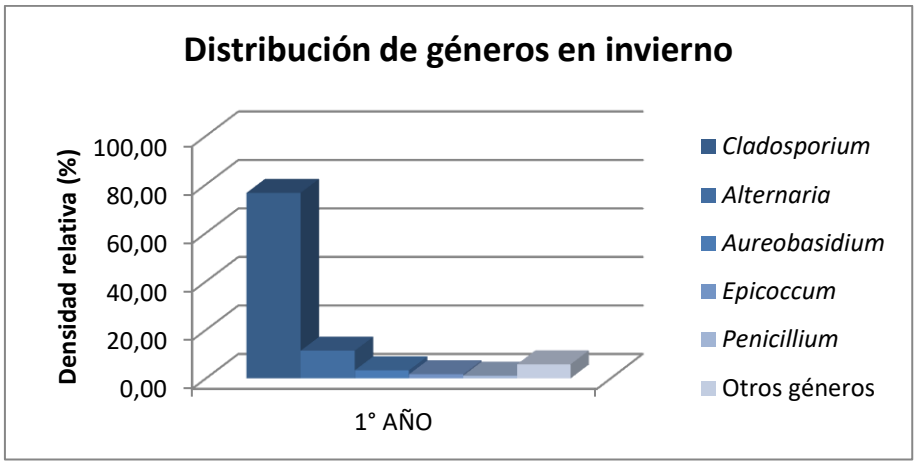
Tabla N° 27: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de los géneros hallados en la estación invernal de cada año de muestreo.

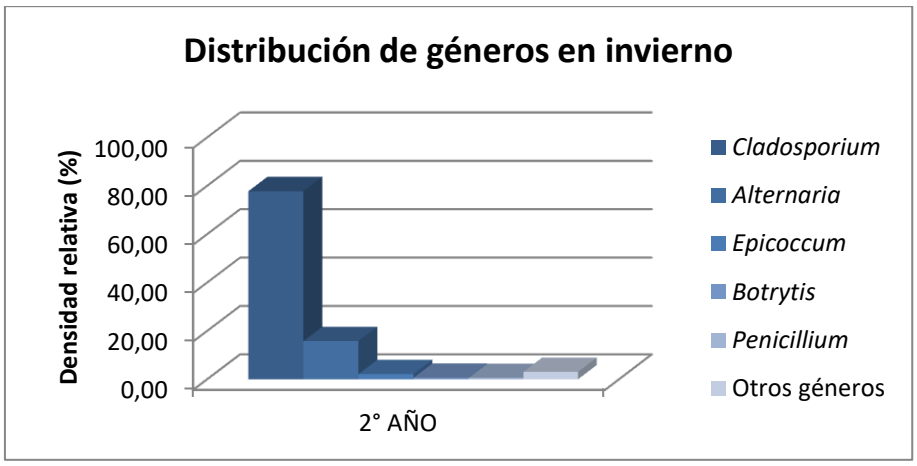
	1° AÑO		2° AÑO		3° AÑO	
Géneros	RPA	**DR**	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Acremonium	4	**0,18**	1	**0,03**	ND	**ND**
Alternaria	256	**11,45**	541	**15,83**	140	**18,72**
Arthrinium	20	**0,89**	9	**0,26**	9	**1,20**
Aspergillus	1	**0,04**	1	**0,03**	1	**0,13**
Aureobasidium	75	**3,36**	15	**0,44**	44	**5,88**
Bipolaris	6	**0,27**	3	**0,09**	1	**0,13**
Botrytis	5	**0,22**	21	**0,61**	29	**3,88**
Cladosporium	1711	**76,55**	2658	**77,79**	428	**57,22**
Curvularia	3	**0,13**	ND	**ND**	ND	**ND**
Drechslera	8	**0,36**	11	**0,32**	4	**0,53**
Epicoccum	38	**1,70**	74	**2,17**	43	**5,75**
Eurotium	8	**0,36**	ND	**ND**	ND	**ND**
Fusarium	11	**0,49**	11	**0,32**	11	**1,47**
Neosartorya	ND	**ND**	3	**0,09**	ND	**ND**
Nigrospora	4	**0,18**	ND	**ND**	ND	**ND**
Penicillium	25	**1,12**	18	**0,53**	6	**0,80**
Phoma	ND	**ND**	4	**0,12**	8	**1,07**
Pleospora	1	**0,04**	8	**0,23**	1	**0,13**
Scopulariopsis	6	**0,27**	ND	**ND**	ND	**ND**
Stachybotrys	1	**0,04**	ND	**ND**	ND	**ND**
Trichothecium	3	**0,13**	ND	**ND**	ND	**ND**
Ulocladium	10	**0,45**	5	**0,15**	1	**0,13**
Micelio estéril	5	**0,22**	5	**0,15**	6	**0,80**
Otros	34	**1,52**	29	**0,85**	16	**2,14**

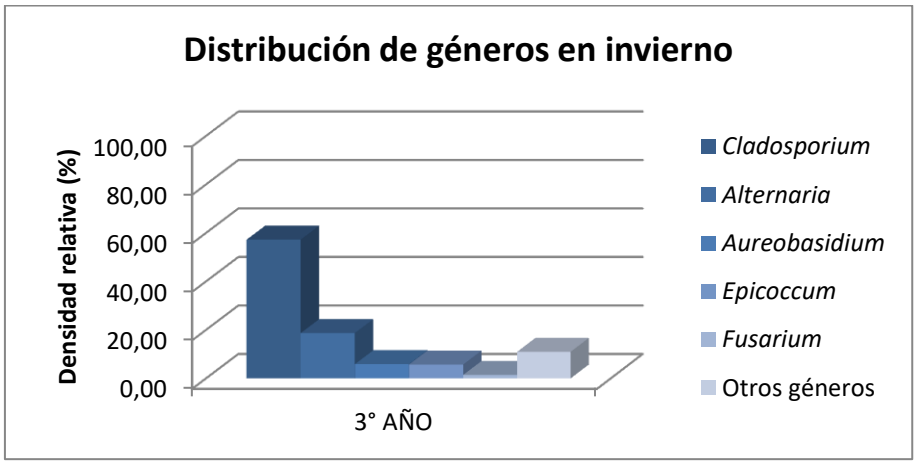
ND: No Determinado

Notas: Bajo la denominación de “Otros” se agruparon a aquellos géneros que no pudieron ser identificados por las claves propuestas por Samson y col. (2001) y Pitt y Hocking (2009). Bajo la denominación “Micelio estéril” se incluyeron a aquellos hongos que no produjeron esporas, asexuales o sexuales, en los medios de cultivo empleados y bajo las condiciones de incubación especificadas en la sección “Materiales y Métodos”.

Fig. 72: Densidades relativas (%) de los cinco géneros predominantes en la estación invernal de cada año de muestreo.







Estación primaveral

Se determinaron al menos 17 géneros durante el primer año de muestreo, 18 géneros durante el segundo año y 14 géneros durante el tercero.

En los tres años de muestreo se hallaron los géneros *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aureobasidium*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Phoma*.

Los géneros *Geotrichum*, *Moniliella*, *Mucor*, *Stemphylium* y *Wallemia* sólo fueron determinados únicamente en el primer año de muestreo. *Curvularia*, *Aspergillus* y *Emericella* sólo fueron hallados en el segundo año y *Bipolaris* sólo en el tercero. *Nigrospora* y *Pleospora* se encontraron en el primer y segundo año mientras que los géneros *Acremonium*, *Trichoderma* y *Ulocladium* se encontraron en el segundo y tercer año. En la Tabla N° 28 se detallan los géneros obtenidos en los tres años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas.

Cladosporium fue el género más abundante en la estación primaveral de cada año muestreado (65,95 – 77,31%) seguido por *Alternaria* (10,74 – 18,20%). Durante el primer y tercer año *Botrytis* fue el tercer género predominante (1,99 – 8,83%), mientras que *Aureobasidium* lo fue en el segundo año (2,72%). Este género es el cuarto en orden de importancia en el primer año (1,57%) mientras que en el segundo y tercero fue determinado *Epicoccum* (1,78 – 4,30%). El quinto género más abundante durante el primer año fue *Epicoccum* (0,75%) y, durante los últimos dos, fue hallado *Arhtrinium* (1,69 – 1,91%) (Fig. 73).

Tabla N° 28: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de los géneros hallados en la estación primaveral de cada año de muestreo.

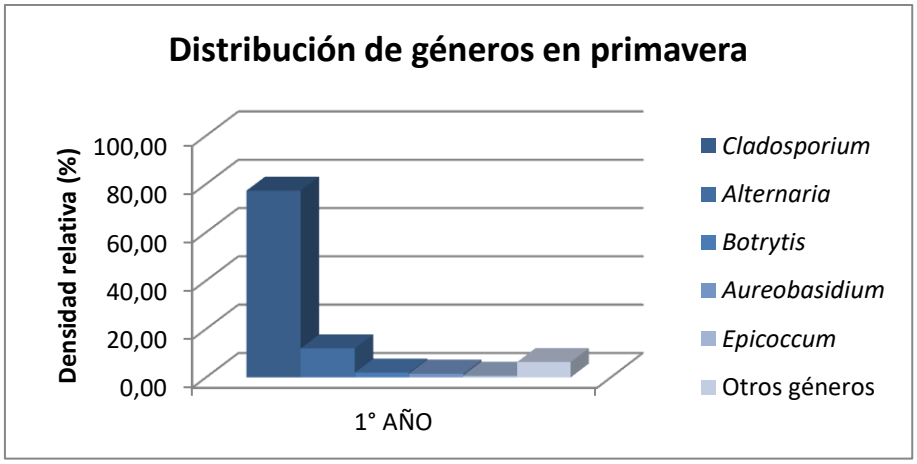
	1° AÑO		2° AÑO		3° AÑO	
Géneros	RPA	**DR**	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Acremonium	ND	**ND**	1	**0,09**	1	**0,04**
Alternaria	368	**12,03**	194	**18,20**	275	**10,74**
Arthrinium	8	**0,26**	18	**1,69**	49	**1,91**
Aspergillus	ND	**ND**	3	**0,28**	ND	**ND**
Aureobasidium	48	**1,57**	29	**2,72**	39	**1,52**
Bipolaris	ND	**ND**	ND	**ND**	3	**0,12**
Botrytis	61	**1,99**	13	**1,22**	226	**8,83**
Cladosporium	2365	**77,31**	703	**65,95**	1771	**69,18**
Curvularia	ND	**ND**	1	**0,09**	ND	**ND**
Drechslera	3	**0,10**	9	**0,84**	16	**0,63**
Emericella	ND	**ND**	1	**0,09**	ND	**ND**
Epicoccum	23	**0,75**	19	**1,78**	110	**4,30**
Fusarium	3	**0,10**	4	**0,38**	9	**0,35**
Geotrichum	1	**0,03**	ND	**ND**	ND	**ND**
Moniliella	1	**0,03**	ND	**ND**	ND	**ND**
Mucor	4	**0,13**	ND	**ND**	ND	**ND**
Nigrospora	3	**0,10**	11	**1,03**	ND	**ND**
Penicillium	4	**0,13**	1	**0,09**	1	**0,04**
Phoma	19	**0,62**	6	**0,56**	13	**0,51**
Pleospora	4	**0,13**	1	**0,09**	ND	**ND**
Stemphylium	1	**0,03**	ND	**ND**	ND	**ND**
Trichoderma	ND	**ND**	5	**0,47**	3	**0,12**
Ulocladium	ND	**ND**	11	**1,03**	1	**0,04**
Wallemia	1	**0,03**	ND	**ND**	ND	**ND**
Micelio estéril	29	**0,95**	ND	**ND**	9	**0,35**
Otros	113	**3,69**	36	**3,38**	34	**1,33**

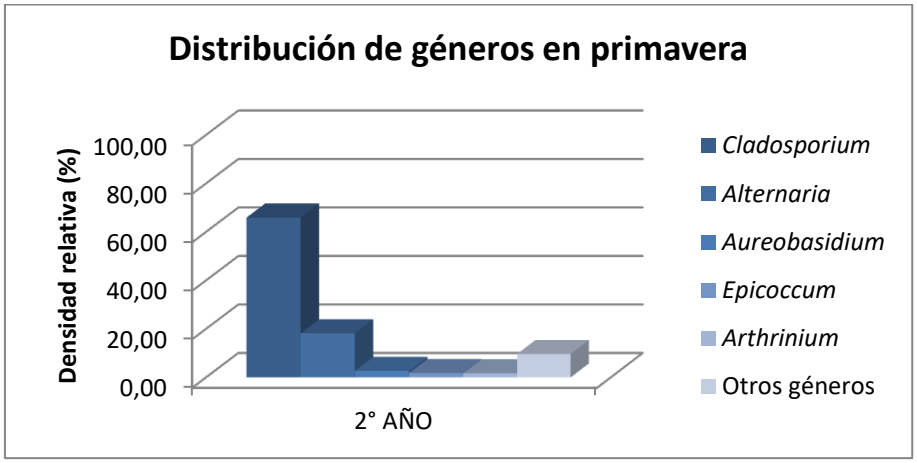
ND: No Determinado

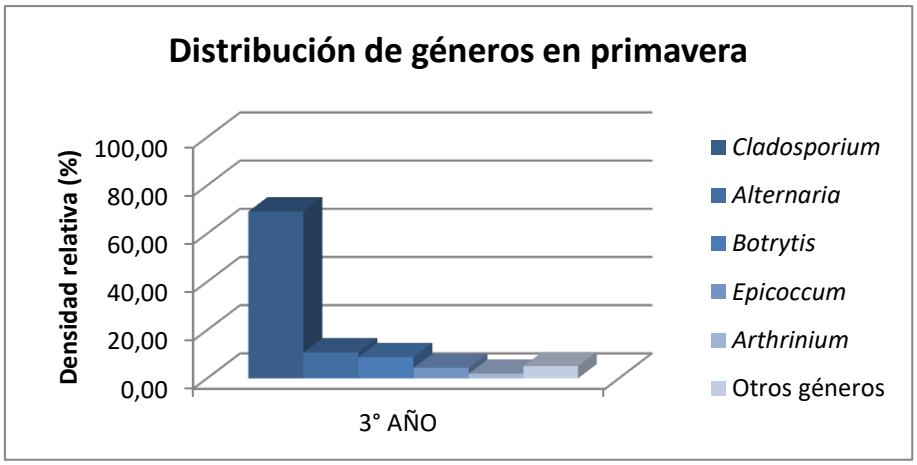
Notas: Bajo la denominación de “Otros” se agruparon a aquellos géneros que no pudieron ser identificados por las claves propuestas por Samson y col. (2001) y Pitt y Hocking (2009). Bajo la

denominación “Micelio estéril” se incluyeron a aquellos hongos que no produjeron esporas, asexuales o sexuales, en los medios de cultivo empleados y bajo las condiciones de incubación especificadas en la sección “Materiales y Métodos”.

Fig. 73: Densidades relativas (%) de los cinco géneros predominantes en la estación primaveral de cada año de muestreo.







Estación estival

Se determinaron al menos 15 géneros durante el primer año de muestreo, 15 géneros durante el segundo año y 15 géneros durante el tercero.

En los tres años de muestreo se hallaron los géneros *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Phoma* y *Ulocladium*.

Acremonium sólo fue determinado en el primer año de muestreo y los géneros *Chrysonilia* y *Nigrospora* fueron hallados sólo en el segundo año. *Penicillium* y *Pleospora* se encontraron en el primer y tercer año de muestreo mientras que *Bipolaris* se determinó en el segundo y el tercero. En la Tabla N° 29 se detallan los géneros obtenidos en los tres años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas.

Cladosporium fue el género predominante en la estación primaveral de cada año muestreado (63,99 – 85,95%) seguido, en segundo lugar, por *Alternaria* (8,47 – 18,36%) y, en tercer lugar, por *Epicoccum* (1,35 – 6,54%) Durante el primer año *Fusarium* fue el cuarto género en orden de importancia (0,66%) mientras que, en el segundo año fue determinado *Botrytis* (5,35%) y, en el tercer año, *Phoma* (0,69%). En quinto orden de predominancia se halló *Aureobasidium* en el primer y tercer año (0,51 – 0,48%) y *Fusarium* en el segundo (1,62%) (Fig. 74).

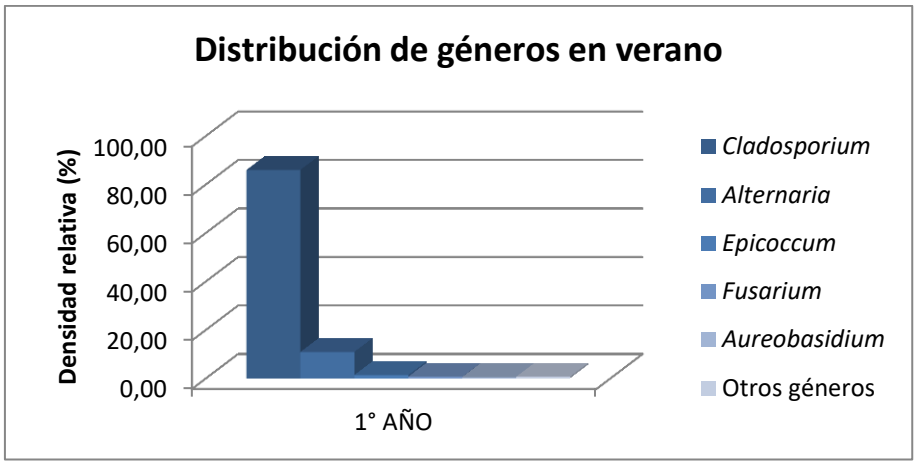
Tabla N° 29: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de los géneros hallados en la estación estival de cada año de muestreo.

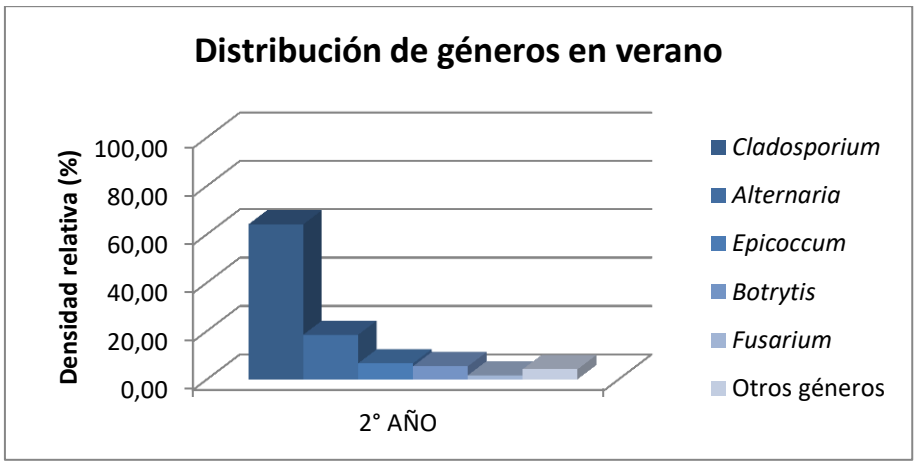
	1° AÑO		2° AÑO		3° AÑO	
Géneros	RPA	**DR**	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Acremonium	2	**0,02**	ND	**ND**	ND	**ND**
Alternaria	1379	**10,87**	1008	**18,36**	814	**8,47**
Arthrinium	4	**0,03**	1	**0,02**	8	**0,08**
Aspergillus	5	**0,04**	1	**0,02**	1	**0,01**
Aureobasidium	65	**0,51**	41	**0,75**	46	**0,48**
Bipolaris	ND	**ND**	29	**0,52**	8	**0,08**
Botrytis	11	**0,09**	294	**5,35**	3	**0,03**
Chrysonilia	ND	**ND**	3	**0,05**	ND	**ND**
Cladosporium	10904	**85,95**	3511	**63,99**	8220	**85,55**
Curvularia	5	**0,04**	1	**0,02**	3	**0,03**
Drechslera	13	**0,10**	29	**0,52**	35	**0,36**
Epicoccum	171	**1,35**	359	**6,54**	350	**3,64**
Fusarium	84	**0,66**	89	**1,62**	24	**0,25**
Nigrospora	ND	**ND**	16	**0,30**	ND	**ND**
Penicillium	5	**0,04**	ND	**ND**	6	**0,07**
Phoma	1	**0,01**	13	**0,24**	66	**0,69**
Pleospora	3	**0,02**	ND	**ND**	1	**0,01**
Ulocladium	8	**0,06**	8	**0,15**	13	**0,13**
Micelio estéril	6	**0,05**	19	**0,34**	8	**0,08**
Otros	20	**0,16**	66	**1,20**	5	**0,05**

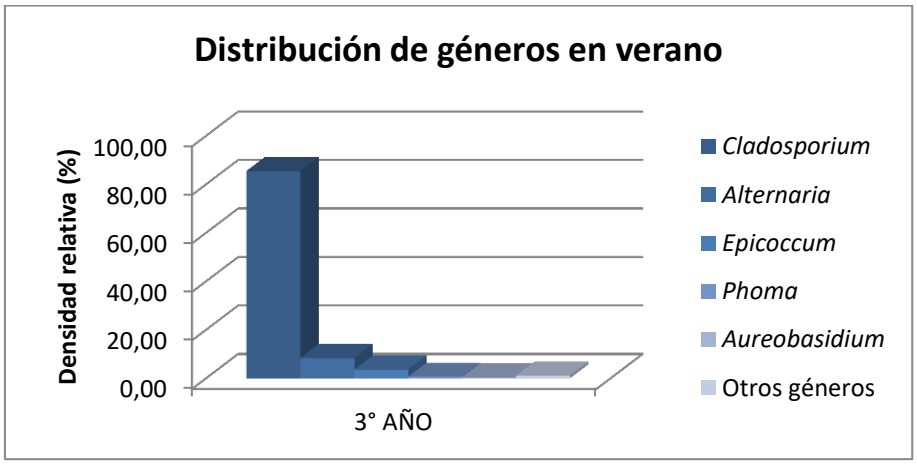
ND: No Determinado

Notas: Bajo la denominación de “Otros” se agruparon a aquellos géneros que no pudieron ser identificados por las claves propuestas por Samson y col. (2001) y Pitt y Hocking (2009). Bajo la denominación “Micelio estéril” se incluyeron a aquellos hongos que no produjeron esporas, asexuales o sexuales, en los medios de cultivo empleados y bajo las condiciones de incubación especificadas en la sección “Materiales y Métodos”.

Fig. 74: Densidades relativas (%) de los cinco géneros predominantes en la estación estival de cada año de muestreo.







Resumen estacional

Se hallaron al menos entre 14 y 20 géneros fúngicos en cada estación de los tres años de muestreo.

En todas las estaciones de cada año se hallaron los géneros *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aureobasidium*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Epicoccum* y *Fusarium.*

El género *Aspergillus* se halló en los tres años en todas las estaciones a excepción de invierno. El género *Ulocladium* se determinó en los tres años en todas las estaciones a excepción de primavera. El género *Penicillium* se determinó en los tres años en todas las estaciones a excepción de verano. El género *Bipolaris* se determinó en los tres años en las estaciones de otoño e invierno y el género *Phoma* se determinó en los tres años en las estaciones de primavera y verano .

En cuanto a predominancia de géneros *Cladosporium* fue el género de mayor importancia en todas las estaciones durante los tres años de muestreo El género *Alternaria* secundó a *Cladosporium* en todas las estaciones de los tres años de muestreo a excepción de la estación otoñal del tercer año donde *Epicoccum* fue determinado. Este género fue hallado en tercer orden de importancia aunque esporádicamente también se determinaron *Alternaria*, *Aureobasidium* y *Botrytis*. El cuarto género más abundante fue *Botrytis* en todas las estaciones excepto en primavera, aunque también fueron determinados *Epicoccum* en invierno y primavera, *Aureobasidium* en primavera y, *Fusarium* y *Phoma,* en verano. En quinto orden de predominancia se hallaron *Aureobasidium* en otoño y verano, *Penicillium* en otoño e invierno, *Fusarium* en invierno y verano y *Arhtrinium* en primavera.

Con respecto a las variaciones estacionales de los géneros predominantes, *Cladosporium* presentó concentraciones elevadas en el periodo verano/otoño en los últimos dos años de muestreo mientras que, en el primero, las máximas se dieron en primavera/verano. *Alternaria* siguió una misma tendencia en los tres años muestreados en la que las mayores concentraciones se detectaron en verano/otoño. El género *Epicoccum* presentó una variación estacional coincidente con la de *Alternaria*. *Aureobasidium* exhibió sus mayores niveles de esporas en el periodo primavera/verano durante el primer año y en verano/otoño durante los últimos dos años. *Botrytis* alcanzó su máximo número de esporas en las estaciones de otoño y

primavera en el primer y tercer año y en el periodo verano/otoño durante el segundo. *Penicillium* fue más abundante en otoño/invierno en los dos primeros años y en las estaciones de invierno y verano durante el tercero. El género *Fusarium* presentó las máximas concentraciones en verano/otoño durante los dos primeros años, mientras que en el tercero estos valores se dieron en las temporadas de invierno y verano. *Phoma* alcanzó sus mayores niveles de esporas en las estaciones de otoño y primavera en el primer año y durante el periodo primavera/verano en los últimos dos. Finalmente *Arthrinium* presentó distintos patrones de variación estacional en cada año de muestreo donde las máximas concentraciones en el primer año se dieron en otoño/invierno, en el segundo en invierno/primavera y en el tercero en las estaciones de otoño y primavera. Todos estos resultados se pueden observar en las Tablas N° 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37 y 38.

Tabla N° 30: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) del género *Cladosporium*.

Estación	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Otoño	2084	5578	2108
Invierno	1711	2658	428
Primavera	2365	703	1771
Verano	10904	3511	8220

Tabla N° 31: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) del género *Alternaria*.

Estación	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Otoño	395	965	483
Invierno	256	541	140
Primavera	368	194	275
Verano	1379	1008	814

Tabla N° 32: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) del género *Epicoccum*.

Estación	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Otoño	254	374	598
Invierno	38	74	43
Primavera	23	19	110
Verano	171	359	350

Tabla N° 33: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) del género *Aureobasidium*.

Estación	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Otoño	48	43	48
Invierno	75	15	44
Primavera	48	29	39
Verano	65	41	46

Tabla N° 34: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) del género *Botrytis*.

Estación	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Otoño	110	96	121
Invierno	5	21	29
Primavera	61	13	226
Verano	11	294	3

Tabla N° 35: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) del género *Penicillium*.

Estación	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Otoño	10	51	3
Invierno	25	18	6
Primavera	4	1	1
Verano	5	ND	6

Tabla N° 36: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) del género *Fusarium*.

Estación	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Otoño	19	48	1
Invierno	11	11	11
Primavera	3	4	9
Verano	84	89	24

Tabla N° 37: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) del género *Phoma*.

Estación	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Otoño	4	ND	4
Invierno	ND	4	8
Primavera	19	6	13
Verano	1	13	66

Tabla N° 38: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) del género *Arthrinium*.

Estación	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Otoño	10	9	10
Invierno	20	9	9
Primavera	8	18	49
Verano	4	1	8

4.1.7 Determinación de la concentración, densidad y distribución geográfica de géneros

Zona Este

Se determinaron al menos 19 géneros durante el primer año de muestreo, 21 géneros durante el segundo año y 17 géneros durante el tercero.

En los tres años de muestreo se hallaron los géneros *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Bipolaris*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Phoma*, *Pleospora* y *Ulocladium* en ambas zonas geográficas.

Scopulariopsis sólo fue determinado en el primer año de muestreo y los géneros *Chrysonilia* y *Emericella* fueron hallados sólo en el segundo año. *Acremonium* y *Mucor* se encontraron en el primer y segundo año de muestreo mientras que *Trichoderma* se determinó en el segundo y el tercero. En la Tabla N° 39 se detallan los géneros obtenidos en los tres años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas.

Cladosporium fue el género predominante de cada año muestreado (71,01 – 81,21%) seguido, en segundo lugar, por *Alternaria* (12,50 – 18,60%) y, en tercer lugar, por *Epicoccum* (1,75 – 8,43%). El cuarto género más abundante durante el primer año fue *Aureobasidium* (1,02%), en el segundo año fue *Fusarium* (1,01%) y en el tercer año fue *Phoma* (1,04%). En quinto orden de importancia fue determinado *Fusarium* en el primer año (1,78%) y *Aureobasidium* en el segundo y tercer año (0,59 – 0,89%) (Fig. 75).

Tabla N° 39: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de los géneros hallados en la zona Este de cada año de muestreo.

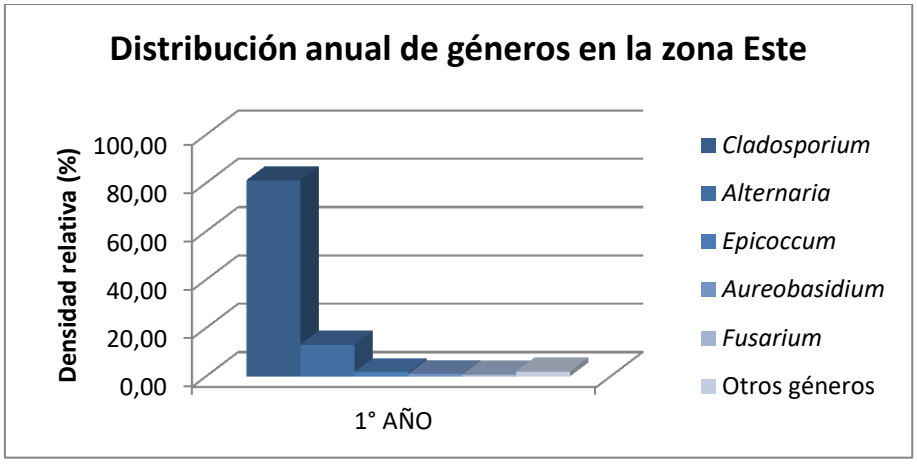
	1° AÑO		2° AÑO		3° AÑO	
Géneros	RPA	**DR**	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Acremonium	7	**0,03**	8	**0,04**	ND	**ND**
Alternaria	3180	**13,17**	3460	**18,60**	1690	**12,50**
Arthrinium	61	**0,25**	43	**0,23**	93	**0,68**
Aspergillus	5	**0,02**	5	**0,03**	3	**0,02**
Aureobasidium	247	**1,02**	110	**0,59**	120	**0,89**
Bipolaris	18	**0,07**	55	**0,30**	3	**0,02**
Botrytis	19	**0,08**	48	**0,26**	33	**0,24**
Chrysonilia	ND	**ND**	5	**0,03**	ND	**ND**
Cladosporium	19605	**81,21**	13210	**71,01**	9991	**73,89**
Curvularia	5	**0,02**	8	**0,04**	5	**0,04**
Drechslera	34	**0,14**	58	**0,31**	55	**0,41**
Emericella	ND	**ND**	3	**0,02**	ND	**ND**
Epicoccum	422	**1,75**	1085	**5,83**	1140	**8,43**
Fusarium	188	**0,78**	188	**1,01**	53	**0,39**
Mucor	5	**0,02**	5	**0,03**	ND	**ND**
Nigrospora	8	**0,03**	33	**0,18**	3	**0,02**
Penicillium	30	**0,12**	100	**0,54**	10	**0,07**
Phoma	28	**0,12**	15	**0,08**	140	**1,04**
Pleospora	13	**0,05**	15	**0,08**	3	**0,02**
Scopulariopsis	3	**0,01**	ND	**ND**	ND	**ND**
Trichoderma	ND	**ND**	3	**0,02**	3	**0,02**
Ulocladium	17	**0,07**	28	**0,15**	20	**0,15**
Micelio estéril	28	**0,12**	28	**0,15**	58	**0,43**
Otros	219	**0,91**	90	**0,48**	103	**0,76**

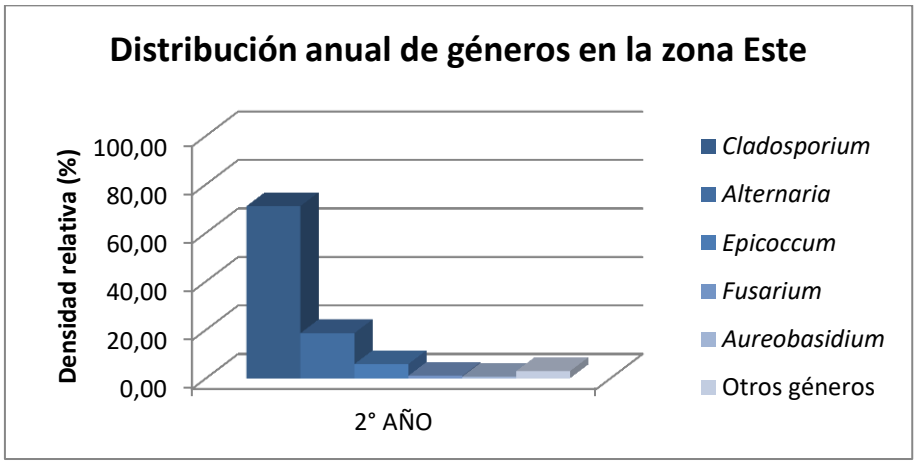
ND: No Determinado

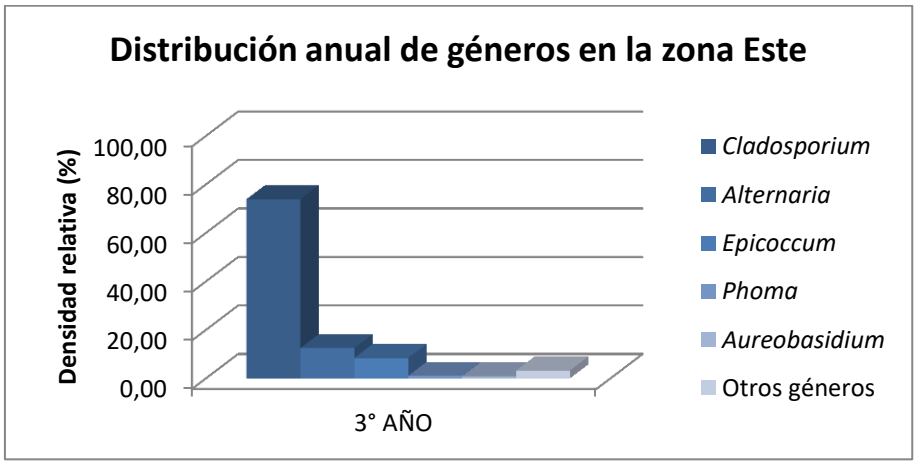
Notas: Bajo la denominación de “Otros” se agruparon a aquellos géneros que no pudieron ser identificados por las claves propuestas por Samson y col. (2001) y Pitt y Hocking (2009). Bajo la denominación “Micelio estéril” se incluyeron a aquellos hongos que no produjeron esporas,

asexuales o sexuales, en los medios de cultivo empleados y bajo las condiciones de incubación especificadas en la sección “Materiales y Métodos”.

Fig. 75: Densidades relativas (%) de los cinco géneros predominantes en la zona Este de cada año de muestreo.







Zona Centro

Se determinaron al menos 26 géneros durante el primer año de muestreo, 20 géneros durante el segundo año y 17 géneros durante el tercero.

En los tres años de muestreo se hallaron los géneros *Acremonium*, *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Bipolaris*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Phoma*, *Pleospora* y *Ulocladium* en ambas zonas geográficas.

Eurotium, *Moniliella*, *Mucor*, *Stachybotrys*, *Stemphylium*, *Trichothecium* y *Wallemia* sólo fueron determinados en el primer año de muestreo. Los géneros *Neosartorya*, *Sordaria* y *Trichoderma* fueron hallados sólo en el segundo año. *Geotrichum* y *Nigrospora* se encontraron en el primer y segundo año de muestreo mientras que *Curvularia* y *Scopulariopsis* se determinaron en el primero y el tercero. En la tabla N° 40 se detallan los géneros obtenidos en los tres años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas.

Cladosporium fue el género predominante de cada año muestreado (73,34 – 81,38%) seguido por *Alternaria* (9,02 – 12,27%). En tercer orden de importancia fue determinado *Epicoccum* (3,07 – 5,52%) y en el cuarto fue *Botrytis* (1,99 – 3,77%) en el primer y tercer año, ya que en el segundo año se invirtió el orden entre estos géneros. El quinto género más abundante fue *Aureobasidium* (0,91 – 1,25%) en los tres años de muestreo (Fig. 76).

Tabla N° 40: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de los géneros hallados en la zona Centro de cada año de muestreo.

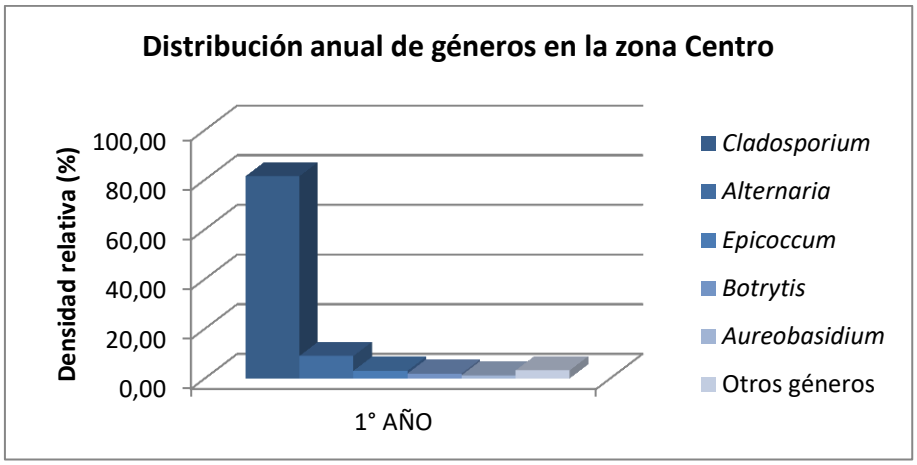
	1° AÑO		2° AÑO		3° AÑO	
Géneros	RPA	**DR**	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Acremonium	4	**0,02**	3	**0,02**	3	**0,01**
Alternaria	1615	**9,05**	1955	**12,27**	1733	**9,02**
Arthrinium	22	**0,12**	30	**0,19**	58	**0,30**
Aspergillus	12	**0,07**	8	**0,05**	5	**0,03**
Aureobasidium	223	**1,25**	145	**0,91**	233	**1,21**
Bipolaris	8	**0,04**	20	**0,13**	25	**0,13**
Botrytis	356	**1,99**	800	**5,02**	725	**3,77**
Cladosporium	14523	**81,38**	11690	**73,34**	15074	**78,48**
Curvularia	10	**0,06**	ND	**ND**	5	**0,03**
Drechslera	23	**0,13**	63	**0,40**	63	**0,33**
Epicoccum	548	**3,07**	565	**3,54**	1060	**5,52**
Eurotium	15	**0,08**	ND	**ND**	ND	**ND**
Fusarium	46	**0,26**	115	**0,72**	38	**0,20**
Geotrichum	3	**0,02**	5	**0,03**	ND	**ND**
Moniliella	3	**0,02**	ND	**ND**	ND	**ND**
Mucor	3	**0,02**	ND	**ND**	ND	**ND**
Neosartorya	ND	**ND**	3	**0,02**	ND	**ND**
Nigrospora	5	**0,03**	38	**0,24**	ND	**ND**
Penicillium	58	**0,33**	40	**0,25**	23	**0,12**
Phoma	20	**0,11**	30	**0,19**	40	**0,21**
Pleospora	8	**0,04**	3	**0,02**	8	**0,04**
Scopulariopsis	10	**0,06**	ND	**ND**	3	**0,01**
Sordaria	ND	**ND**	3	**0,02**	ND	**ND**
Stachybotrys	3	**0,02**	ND	**ND**	ND	**ND**
Stemphylium	3	**0,02**	ND	**ND**	ND	**ND**
Trichoderma	ND	**ND**	8	**0,05**	ND	**ND**
Trichothecium	5	**0,03**	ND	**ND**	ND	**ND**
Ulocladium	59	**0,33**	35	**0,22**	15	**0,08**

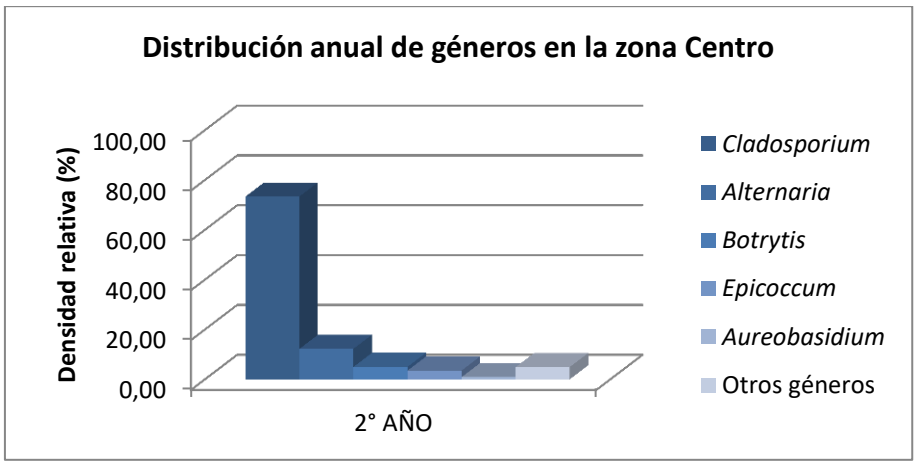
Wallemia	3	**0,02**	ND	**ND**	ND	**ND**
Micelio estéril	83	**0,47**	20	**0,13**	23	**0,12**
Otros	175	**0,98**	360	**2,26**	78	**0,40**

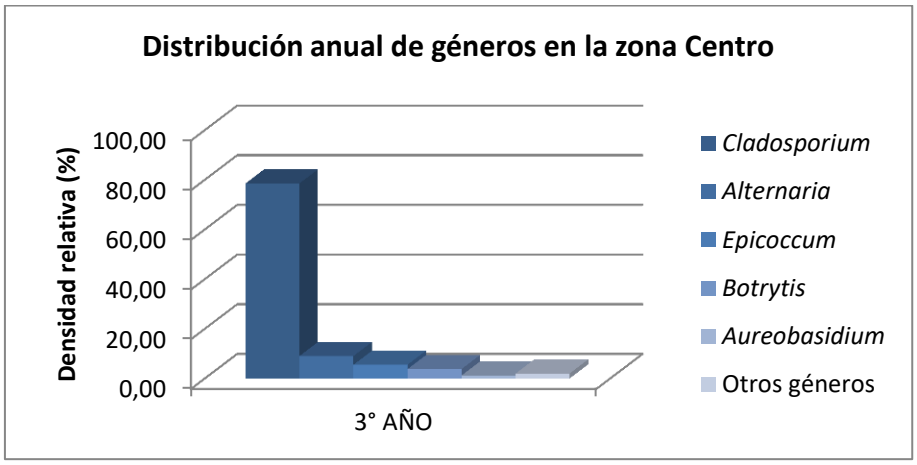
ND: No Determinado

Notas: Bajo la denominación de "Otros" se agruparon a aquellos géneros que no pudieron ser identificados por las claves propuestas por Samson y col. (2001) y Pitt y Hocking (2009). Bajo la denominación "Micelio estéril" se incluyeron a aquellos hongos que no produjeron esporas, asexuales o sexuales, en los medios de cultivo empleados y bajo las condiciones de incubación especificadas en la sección "Materiales y Métodos".

Fig. 76: Densidades relativas (%) de los cinco géneros predominantes en la zona Centro de cada año de muestreo.







Resumen por zona geográfica

Se determinaron al menos entre 17 y 26 géneros fúngicos en cada zona geográfica durante los tres años de muestreo.

En los tres años se hallaron los géneros *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Bipolaris*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Phoma*, *Pleospora* y *Ulocladium* en ambas zonas geográficas. El género *Curvularia* se halló en todos los años de muestreo únicamente en la zona Este y el género *Acremonium* únicamente en la zona Centro.

En relación a la importancia de géneros *Cladosporium* fue el género predominante de cada año muestreado en ambas zonas geográficas con densidades relativas que oscilaron entre un mínimo de 71,01% en la zona Este y un máximo de 81,38% en la zona Centro. Este género fue secundado por *Alternaria* con valores que comprenden el rango de 9,02% en la zona Centro y 18,60% en la zona Este. El tercer género más abundante fue *Epicoccum* en ambas zonas aunque en el segundo año fue determinado *Botrytis* en la zona Centro. En cuarto orden de predominancia, *Aureobasidium*, *Fusarium* y *Phoma* fueron hallados en la zona Este y *Botrytis* en la zona Centro. El quinto género predominante en ambas zonas fue *Aureobasidium* y, ocasionalmente en el primer año, fue *Fusarium* en la zona Este.

4.1.8 Determinación de la concentración, densidad y distribución por sistema productivo de géneros

Sistemas Productivos Tradicionales (SPT)

Se determinaron al menos 18 géneros durante el primer año de muestreo, 19 géneros durante el segundo año y 16 géneros durante el tercero.

En los tres años de muestreo se hallaron los géneros *Acremonium*, *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Bipolaris*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Phoma* y *Ulocladium*.

Geotrichum sólo fue determinado en el primer año de muestreo y los géneros *Chrysonilia* y *Mucor* fueron hallados sólo en el segundo año mientras que *Trichoderma* se encontró únicamente en el tercero. *Curvularia* y *Pleospora* se encontraron en el primer y segundo año de muestreo. En la Tabla N° 41 se detallan los géneros obtenidos en los tres años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas.

Cladosporium fue el género predominante de cada año muestreado (73,34 – 82,40%) seguido por *Alternaria* (9,93 – 17,17%) y luego, por *Epicoccum* (3,09– 6,30%). En cuarto orden de importancia fue determinado *Aureobasidium* durante el primer año (1,52%), *Fusarium* en el segundo (0,81%) y *Botrytis* en el tercero (1,32%). El quinto género más abundante fue *Fusarium* en el primer año (0,47%), *Aureobasidium* en el segundo (0,48%) y *Phoma* en el tercer año (1,09%) (Fig. 77).

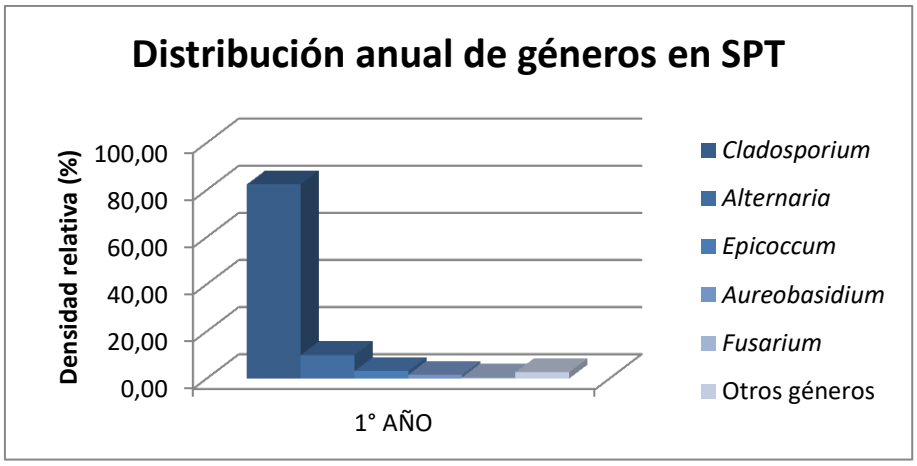
Tabla N° 41: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de los géneros hallados en sistemas productivos tradicionales de cada año de muestreo.

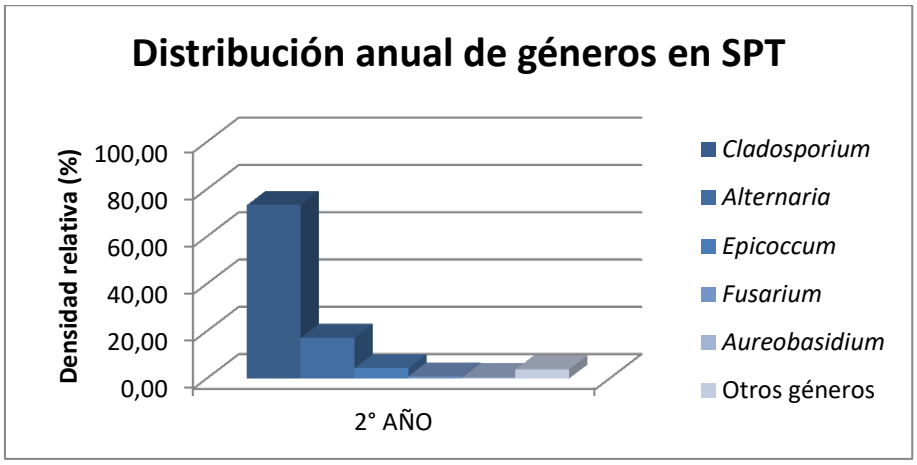
	1° AÑO		2° AÑO		3° AÑO	
Géneros	RPA	**DR**	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Acremonium	4	**0,02**	5	**0,03**	3	**0,02**
Alternaria	1853	**9,93**	3040	**17,17**	1510	**10,49**
Arthrinium	21	**0,11**	13	**0,07**	10	**0,07**
Aspergillus	10	**0,05**	8	**0,05**	3	**0,02**
Aureobasidium	284	**1,52**	85	**0,48**	155	**1,08**
Bipolaris	18	**0,10**	63	**0,36**	15	**0,10**
Botrytis	57	**0,31**	75	**0,42**	190	**1,32**
Chrysonilia	ND	**ND**	5	**0,03**	ND	**ND**
Cladosporium	15383	**82,40**	12986	**73,34**	11200	**77,80**
Curvularia	5	**0,03**	8	**0,05**	ND	**ND**
Drechslera	19	**0,10**	58	**0,33**	43	**0,30**
Epicoccum	577	**3,09**	768	**4,34**	908	**6,30**
Fusarium	73	**0,39**	143	**0,81**	30	**0,21**
Geotrichum	3	**0,02**	ND	**ND**	ND	**ND**
Mucor	ND	**ND**	5	**0,03**	ND	**ND**
Nigrospora	3	**0,02**	35	**0,20**	3	**0,02**
Penicillium	30	**0,16**	83	**0,47**	18	**0,12**
Phoma	33	**0,18**	25	**0,14**	158	**1,09**
Pleospora	15	**0,08**	18	**0,10**	ND	**ND**
Trichoderma	ND	**ND**	ND	**ND**	3	**0,02**
Ulocladium	44	**0,24**	35	**0,20**	23	**0,16**
Micelio estéril	88	**0,47**	28	**0,16**	43	**0,30**
Otros	149	**0,80**	220	**1,24**	85	**0,59**

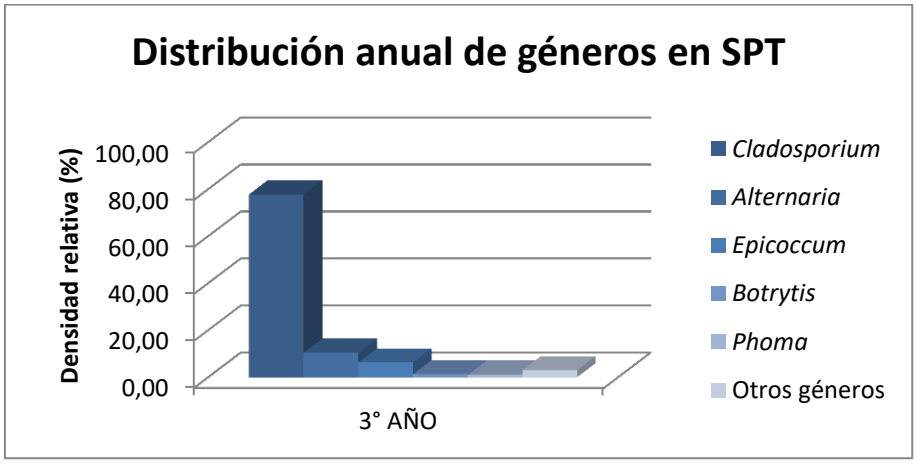
ND: No Determinado

Notas: Bajo la denominación de “Otros” se agruparon a aquellos géneros que no pudieron ser identificados por las claves propuestas por Samson y col. (2001) y Pitt y Hocking (2009). Bajo la denominación “Micelio estéril” se incluyeron a aquellos hongos que no produjeron esporas, asexuales o sexuales, en los medios de cultivo empleados y bajo las condiciones de incubación especificadas en la sección “Materiales y Métodos”.

Fig. 77: Densidades relativas (%) de los cinco géneros predominantes en sistemas productivos tradicionales de cada año de muestreo.







Sistemas Productivos Orgánicos (SPO)

Se determinaron al menos 25 géneros durante el primer año de muestreo, 20 géneros durante el segundo año y 16 géneros durante el tercero.

En los tres años de muestreo se hallaron los géneros *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Bipolaris*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma* y *Ulocladium*.

Los géneros *Eurotium*, *Moniliella*, *Mucor*, *Scopulariopsis*, *Stachybotrys*, *Stemphylium*, *Trichothecium* y *Wallemia* sólo fueron determinados en el primer año de muestreo. *Emericella*, *Geotrichum*, *Neosartorya* y *Sordaria* fueron hallados sólo en el segundo año. *Acremonium* y *Nigrospora* se encontraron en el primer y segundo año de muestreo, *Trichoderma* se halló en el segundo y tercero y *Curvularia* y *Pleospora* se determinaron en el primer y tercer año de muestreo. En la Tabla N° 42 se detallan los géneros obtenidos en los tres años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas.

Cladosporium fue el género de mayor importancia de cada año muestreado (70,76 – 80,39%) seguido, en segundo lugar, por *Alternaria* (10,43 – 14,11%) y, en tercer lugar, por *Epicoccum* (1,69 – 7,05%). En cuarto orden de predominancia fue determinado *Botrytis* (1,37 – 4,59%) y en el quinto *Aureobasidium* (0,79 – 1,08%) (Fig. 78).

Tabla N° 42: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de los géneros hallados en sistemas productivos orgánicos de cada año de muestreo.

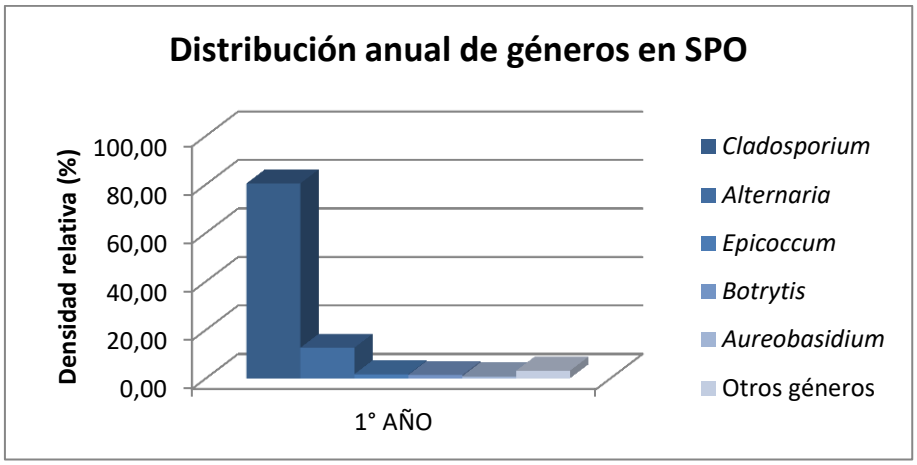
	1° AÑO		2° AÑO		3° AÑO	
Géneros	RPA	**DR**	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Acremonium	7	**0,03**	5	**0,03**	ND	**ND**
Alternaria	2942	**12,62**	2375	**14,11**	1913	**10,43**
Arthrinium	62	**0,27**	60	**0,36**	140	**0,76**
Aspergillus	7	**0,03**	5	**0,03**	5	**0,03**
Aureobasidium	185	**0,79**	170	**1,01**	198	**1,08**
Bipolaris	8	**0,03**	13	**0,08**	13	**0,07**
Botrytis	319	**1,37**	773	**4,59**	568	**3,10**
Cladosporium	18745	**80,39**	11914	**70,76**	13866	**75,63**
Curvularia	10	**0,04**	ND	**ND**	10	**0,05**
Drechslera	38	**0,16**	63	**0,37**	75	**0,41**
Emericella	ND	**ND**	3	**0,02**	ND	**ND**
Epicoccum	393	**1,69**	883	**5,24**	1293	**7,05**
Eurotium	15	**0,06**	ND	**ND**	ND	**ND**
Fusarium	161	**0,69**	160	**0,95**	60	**0,33**
Geotrichum	ND	**ND**	5	**0,03**	ND	**ND**
Moniliella	3	**0,01**	ND	**ND**	ND	**ND**
Mucor	8	**0,03**	ND	**ND**	ND	**ND**
Neosartorya	ND	**ND**	3	**0,02**	ND	**ND**
Nigrospora	10	**0,04**	35	**0,21**	ND	**ND**
Penicillium	58	**0,25**	58	**0,34**	15	**0,08**
Phoma	15	**0,06**	20	**0,12**	23	**0,12**
Pleospora	5	**0,02**	ND	**ND**	10	**0,05**
Scopulariopsis	13	**0,06**	ND	**ND**	ND	**ND**
Sordaria	ND	**ND**	5	**0,03**	ND	**ND**
Stachybotrys	3	**0,01**	ND	**ND**	ND	**ND**
Stemphylium	3	**0,01**	ND	**ND**	ND	**ND**
Trichoderma	ND	**ND**	10	**0,06**	3	**0,01**
Trichothecium	5	**0,02**	ND	**ND**	ND	**ND**

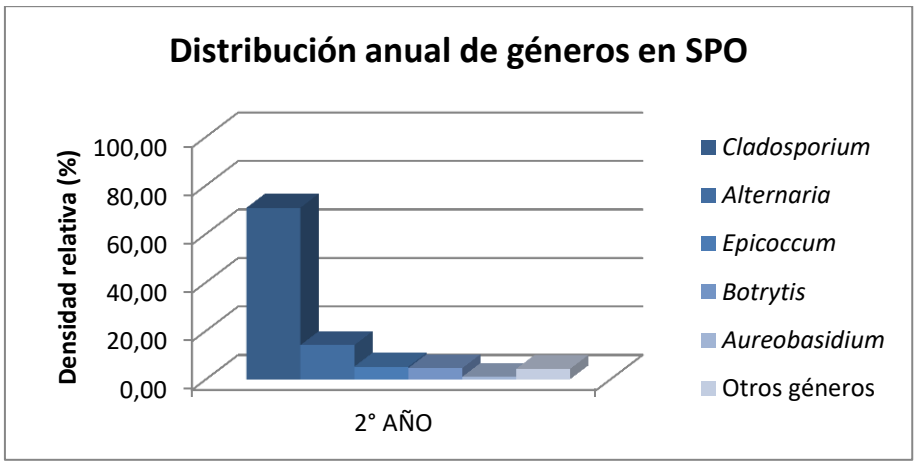
Ulocladium	32	**0,14**	28	**0,17**	13	**0,07**
Wallemia	3	**0,01**	ND	**ND**	ND	**ND**
Micelio estéril	23	**0,10**	20	**0,12**	38	**0,20**
Otros	245	**1,05**	230	**1,37**	95	**0,52**

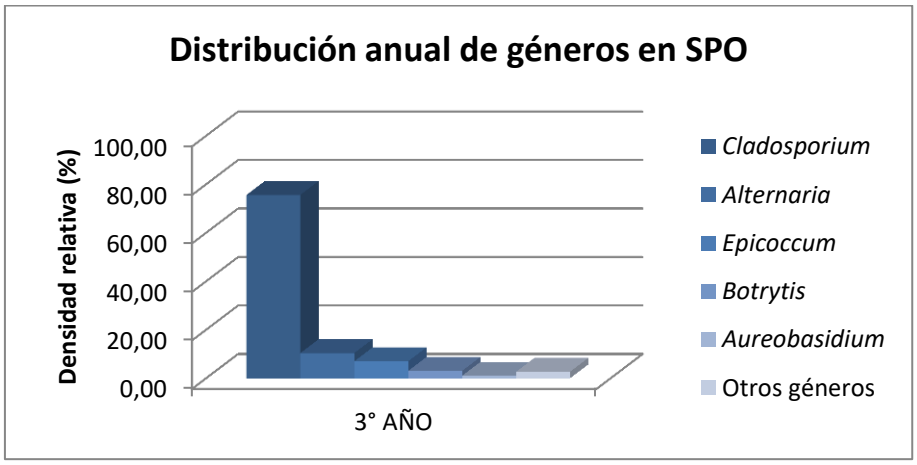
ND: No Determinado

Notas: Bajo la denominación de "Otros" se agruparon a aquellos géneros que no pudieron ser identificados por las claves propuestas por Samson y col. (2001) y Pitt y Hocking (2009). Bajo la denominación "Micelio estéril" se incluyeron a aquellos hongos que no produjeron esporas, asexuales o sexuales, en los medios de cultivo empleados y bajo las condiciones de incubación especificadas en la sección "Materiales y Métodos".

Fig. 78: Densidades relativas (%) de los cinco géneros predominantes en sistemas productivos orgánicos de cada año de muestreo.







Resumen por sistema productivo

Se determinaron al menos entre 16 y 25 géneros fúngicos en cada sistema productivo durante los tres años de muestreo.

En los tres años se hallaron los géneros *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Bipolaris*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma* y *Ulocladium* en ambos sistemas productivos. Los géneros *Acremonium* y *Nigrospora* se determinaron únicamente en sistemas tradicionales durante los tres años muestreados.

En cuanto a predominancia de géneros *Cladosporium* fue el género de mayor importancia en ambos sistemas durante cada año de muestreo con densidades relativas que comprenden el rango de 70,76% y 82,40%, ambos extremos en sistemas tradicionales. En segundo orde de predominancia fue determinado *Alternaria* en el rango de 9,93% y 17,17%, también ambos en sistemas tradicionales. El tercer género más abundante fue *Epicoccum* con valores de densidad relativa que oscilan entre 1,60% y 7,05%, los dos en sistemas orgánicos. En cuarto orden de importancia se halló *Botrytis* en ambos sistemas aunque, en los tradicionales, se determinaron además, *Aureobasidium* en el primer año y *Fusarium* en el segundo. El quinto género predominante fue *Aureobasidium* en ambos sistemas habiéndose hallado, además, *Fusarium* en el primer año y *Phoma* en el tercero en sistemas tradicionales.

4.2 Identificación, caracterización y distribución de las especies pertenecientes a los géneros *Cladosporium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Eurotium*, *Stemphylium*, *Pleospora* y *Phoma*

A partir de los resultados obtenidos se procedió a la identificación a nivel especie de los géneros *Cladosporium* y *Alternaria* debido a su predominancia en aire, ya que son los dos géneros más abundantes en los ambientes rurales estudiados y a su reportada fitopatogenicidad (Sugar y Powers 1986; Lacey, 1989; Benbow y Sugar 1999; Roberts, 2005; Horlock, 2006; Di Masi, 2014; Lutz y col., 2016). Si bien el género *Epicoccum* es el tercero en orden de importancia, Pitt y Hocking (2009) sólo describen una única especie a la actualidad, por lo tanto todos los aislamientos de este género fueron identificados como *E. nigrum*. Aunque el resto de los géneros fueron hallados en mucha menor proporción, resulta importante determinar las especies que pueden presentar capacidad fitopatógena y/o micotoxicogénica ya que pequeñas concentraciones pueden ocasionar grandes daños en los cultivos. En este aspecto, y como fuera mencionado previamente en la sección de "Materiales y Métodos", los géneros *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Eurotium* han sido reportados como importantes géneros fitopatógenos y micotoxicogénicos por lo cual se vuelve relevante determinar sus especies (Lacey, 1989; Willet y col., 1989; Sawamura, 1990; Roberts, 2005; Horlock, 2006; Anguiano y col., 2012; Sever y col., 2012; Wenneker y Köhl, 2013; Di Masi, 2014; Harteveld y col., 2014; Louw, 2014; Louw y Korsten, 2014; Yu y col., 2016; Liu y col., 2017). La identificación de especies de *Stemphylium* y *Pleospora* cobra relevancia debido a la incipiente presencia de *S. vesicarium* en la región ocasionando daños en las plantaciones de peras durante las últimas temporadas (Di Masi, 2017). El género *Phoma* contiene, en su mayoría, especies parásitas y saprófitas (Boerema y col., 2004), por lo tanto, no representan como tal un riesgo para los los cultivos de la región. Sin embargo, al igual que con *Stemphylium* y *Pleospora*, la aparición de patógenos emergentes como *Botryosphaeria obtusa* y *Cytospora spp.* (Di Masi, 2017), que morfológicamente comparten gran similitud con este género, vuelve relevante y necesaria la identificación de estas especies para determinar con exactitud su identidad y potencial riesgo.

4.2.5 Especies del género *Cladosporium*:

Este género es uno de los más grandes y heterogéneos tanto morfológicamente como filogenéticamente (Sandoval-Denis y col., 2015) y se han reportado más de 700 taxones diferentes (Dugan y col., 2004).

Varios estudios preliminares condujeron a la introducción de subgéneros debido al descubrimiento de tres complejos heterogéneos: *C. herbarum* (Schubert y col., 2007), *C. sphaerospermum* (Zalar y col., 2007; Dugan y col., 2008) y *C. cladosporioides* (Bensch y col., 2010), cada uno de ellos compuesto por especies que se distinguen morfológicamente y genéticamente.

Con el fin de identificar y distinguir especies estrechamente relacionadas con características morfológicas similares, el estudio de las secuencia de ADN parece ser un método útil. Sin embargo, el análisis de ITS a menudo no es suficiente para diferenciar taxones estrechamente relacionados y morfológicamente similares dentro de los complejos. En este aspecto, algunos autores eligen realizar un enfoque multilocus basado en ITS, actina, calmodulina, factor de elongación de la traducción 1-α e histona H3 porque proporcionan una resolución más alta y una mejor discriminación de especies estrechamente relacionadas (Schubert y col., 2007; Bensch y col., 2010).

Por lo tanto, el proceso de identificación a nivel especie de los aislamientos de este género se llevó a cabo en dos etapas empleando 141 aislamientos del primer año de muestreo y 161 aislamientos del segundo año. En una primera instancia, se realizó un análisis morfológico que consistió en un análisis macroscópico y microscópico que permitió clasificar los aislamientos en grupos morfológicos. En una segunda instancia, ejemplares de cada grupo seleccionados al azar y de manera proporcional fueron analizados molecularmente para determinar la especie.

Análisis morfológico

Se procedió a la identificación de 302 aislamientos llevando a cabo un estudio morfológico que incluyó una clasificación macroscópica de las colonias en medio MEA, cultivadas a 25 °C por 14 días según lo establecido por Bensch y col. (2012). Esta primer instancia permitió agrupar los aislamientos en 25 grupos morfológicamente diferentes nomenclados desde A-Y. Luego, 10 ejemplares de cada grupo fueron seleccionados para realizar la descripción microscópica en medio SNA a 25 °C por 14 días según lo establecido por Bensch y col. (2012).

Análisis molecular

De los 25 grupos morfológicos obtenidos luego del análisis macroscópico y microscópico de los aislamientos se escogieron de manera proporcional y al azar 59 ejemplares a fin de proceder a la identificación molecular de los mismos para así determinar la especie. En la Tabla N° 43 se detallan los aislamientos seleccionados y el grupo morfológico de procedencia.

Tabla N° 43: Detalle de los aislamientos seleccionados para el análisis molecular y el grupo morfológico de procedencia.

Grupo morfológico	N° de aislamiento	Cepa
A	1; 42; 46	T3C2BV16; T1C1AO15; O4C5AV15
B	2; 3; 4; 22; 30	O4C2AO15; T3C3AV16; T2C2BV16; O3C18AO15; T3C1BO15
C	6;	T3C3AO15
D	15; 16; 50; 58	O4C2BI14; T2C1AV16; T1C11BBP15; T3C3AI14
E	24; 40; 41	O2C6CI14; T1C12AO14; O4C5CO15
F	19; 20; 23; 26; 47; 52	O4C3AV16; T1C12CI14; T3C1AO14; O4C3CV15; T1C12AI14; O3C18CP15
G	25; 29	T1C12BO15; T3C3BO15
H	13; 28; 48; 53	T2C4AP14; T2C4BO14; T2C2BP14; T3C1UV15
I	14; 36; 37	T3C3CO15; O4C3BO15; O1C11AI15
J	38	T3C2AI15
K	45; 55	T3C3BO14; O2C7BV16
L	18; 49	T3C1CO15; T4C8BV16
M	7; 44	T1C1BO14; O3C9CP14
N	5; 51	T1C1BO15; O3C18BI15
O	39	T1C1BP14
P	17	O3C18AI14
Q	27; 59	O4C2BO15; T4C8CI14
R	11	O4C5AP15
S	33	O2C6BI15
T	31	T1C1DI14
U	43; 56	T4C8CV15; O1C5AI14
V	8; 9; 32; 57	T1C11BAI14; T1C12AP15; T4C11AP14; T2C1AI14
W	10; 34; 35; 54	T2C2AO15; T2C2AI15; T4C10BI15; T1C12AV16
X	12	T2C4AV16
Y	21	T4C10AO14

Se logró la amplificación de los fragmentos de actina de los 59 aislamientos analizados obteniéndose fragmentos de 200 pb aproximadamente. Las secuencias se incluyen en el Anexo III y a continuación se presenta una imagen del gel de agarosa donde se observan los amplicones de los primeros 21 aislamientos (Fig. 79). El resto de los amplicones se detallan en el Anexo III.

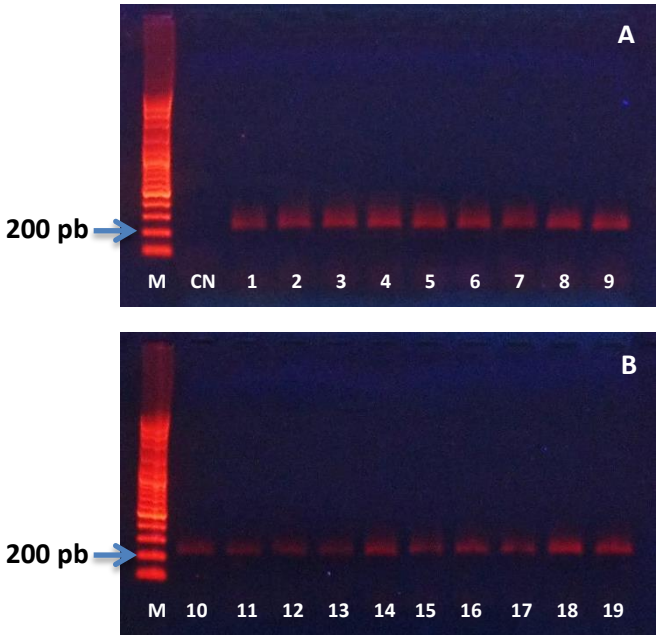


Fig. 79: Gel de agarosa exhibiendo los fragmentos amplificados del gen de actina por PCR utilizando los primers ACT-512F y ACT-783R. A: M: Marcador de PM de 100 pb; CN: Control negativo; Muestras 1-9. B: M: Marcador de PM de 100 pb; Muestras 10-19.

El análisis filogenético basado en el gen de actina resultó en una muy buena discriminación de los aislamientos incluidos en este estudio y entre los tres principales complejos de *Cladosporium* entre sí. Todos los clados terminales fueron fuertemente apoyados con valores de "bootstrap" superiores a 85. Como resultado, 27 aislamientos fueron anidados dentro del complejo *C. cladosporioides*, donde 13 fueron identificados como *C. cladosporioides*, 5 como *C. pseudocladosporioides* y 9 como *C. asperulatum*. Los 32 aislamientos restantes pertenecen al complejo *C. herbarum*, donde se identificaron 8 aislamientos como *C. limoniforme*, 5 como *C. subtilissimum*, 3 como *C. aggregatocicatricatum*, 3 como *C. macrocarpum*, 2 como *C. tenellum*, 1 como *C. allicinum* y 1 como *C. ramotenellum*. Los 9 aislamientos no identificados a nivel especie, se encuentran dentro de este complejo formando parte de tres clados

terminales diferenciados distantes filogenéticamente de cualquier especie del género actualmente conocida (Fig. 80).

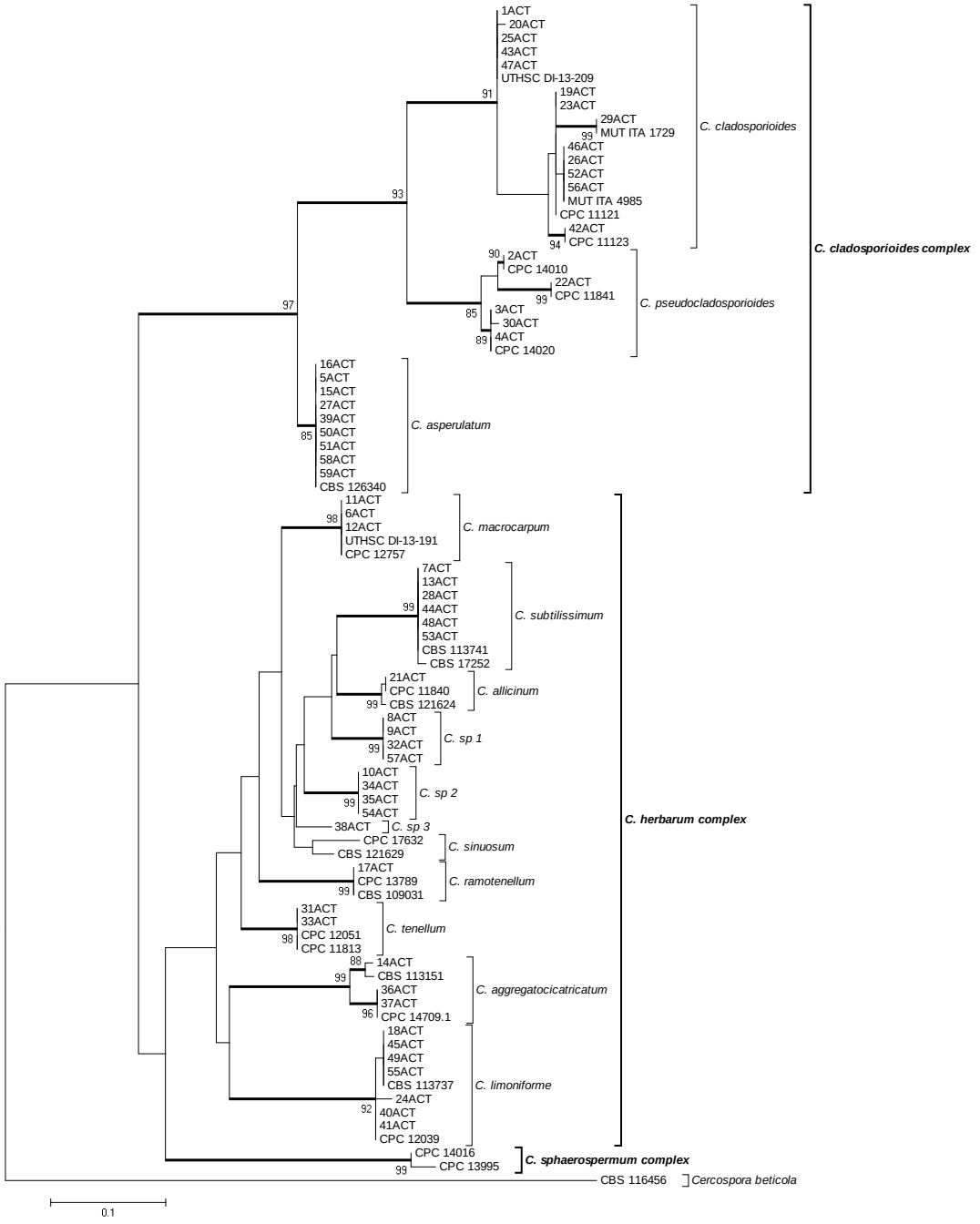


Fig. 80: Árbol filogenético basado en el gen de actina obtenido por el método "Maximum Likelihood" exhibiendo el análisis de los 59 aislamientos de *Cladosporium* bajo estudio junto a las especies de referencia respectivas. *Cercospora beticola* (CBS:116456) fue utilizada como grupo externo para enraizar el árbol. Las líneas engrosadas representan linajes con valores de "bootstrap" superiores al 85% (el análisis de "bootstrap" consistió en 1000 repeticiones).

Estas 9 especies se analizaron luego molecularmente con los genes EF1-α e ITS para lograr la identificación de los taxones obteniéndose fragmentos aproximados de 250 pb y 540-600 pb respectivamente. En las Fig. 81 y 82 y se exhiben las corridas electroforéticas de los amplicones. Sin embargo, los resultados de BLAST para cada gen arrojaron un 100% de homología con varias secuencias de especies de referencia, por lo cual los árboles filogenéticos basados en cada gen no mostraron la resolución de las especies (datos no mostrados). Se procedió, entonces, a realizar un análisis concatenado utilizando las secuencias de los tres genes mencionados y los resultados ayudaron a apoyar a los obtenidos con el análisis de filogenia de genes de actina (Fig. 83). Por lo tanto, estos aislamientos se perfilan como tres posibles nuevas especies, nombradas en este trabajo como *C.* sp. 1, *C.* sp. 2 y *C.* sp. 3.

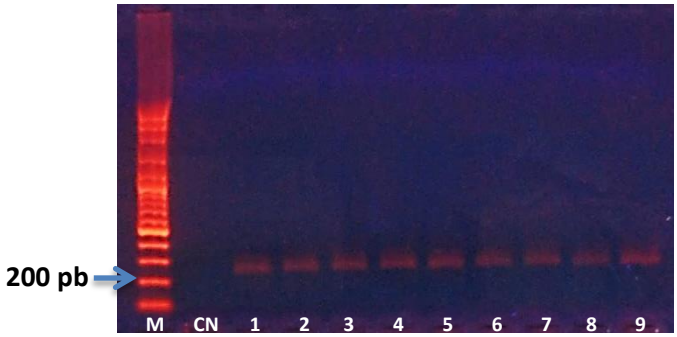


Fig. 81: Gel de agarosa exhibiendo los fragmentos amplificados del gen EF1-α amplificados por PCR utilizando los primers EF1-728F y EF1-986R. M: Marcador de PM de 100 pb, CN: Control negativo; Muestras 1-9.

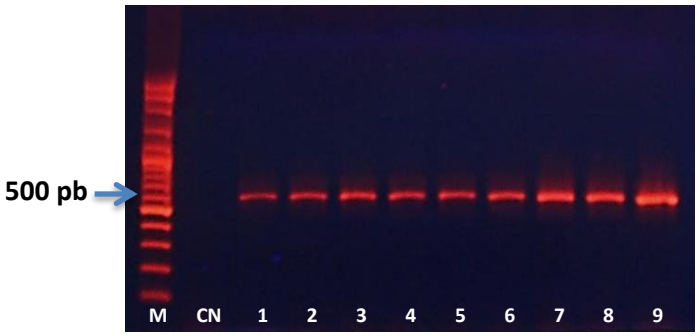


Fig. 82: Gel de agarosa exhibiendo los fragmentos amplificados de la región ribosomal ITS amplificados por PCR utilizando los primers ITS1 e ITS4. M: Marcador de PM de 100 pb; CN: Control negativo; Muestras 1-9.

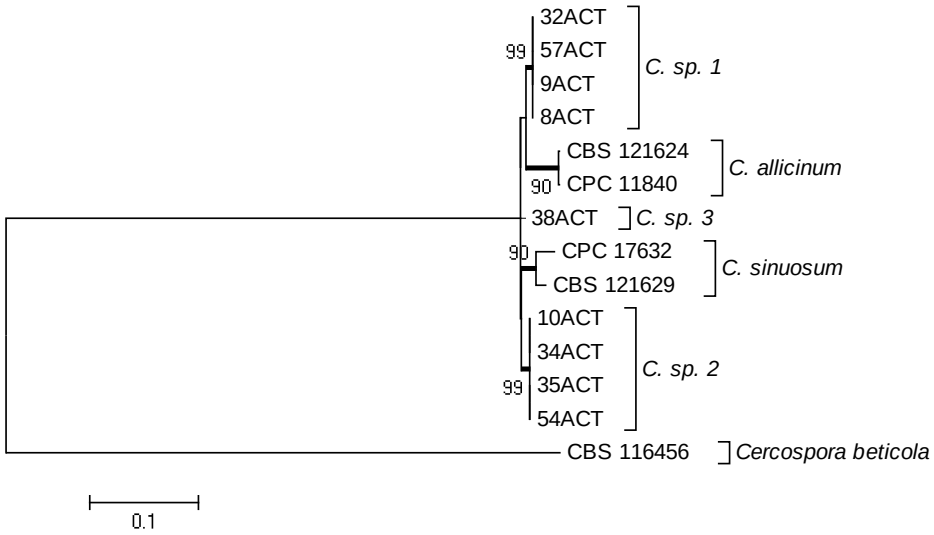


Fig. 83: Árbol filogenético concatenado de los genes de actina, EF1-α e ITS obtenido por el método "Maximum Likelihood" exhibiendo el análisis de los 59 aislamientos de *Cladosporium* bajo estudio junto a las especies de referencia respectivas. *Cercospora beticola* (CBS:116456) fue utilizada como grupo externo para enraizar el árbol. Las líneas engrosadas representan linajes con valores de "bootstrap" superiores al 85% (el análisis de "bootstrap" consistió en 1000 repeticiones).

Luego del análisis filogenético, los 25 grupos determinados a partir del análisis morfológico de los aislamientos se redujeron a un total de 10 especies identificadas y tres sin confirmar que componen clados diferentes.

Las secuencias obtenidas de las especies identificadas fueron cargadas en la base de datos de GenBank y en la Tabla N° 44 se presentan los aislamientos con sus respectivos números de acceso.

Tabla N° 44: Números de acceso a GenBank para los genes de actina, EF1-α e ITS de los aislamientos identificados a nivel especie.

		Número de acceso a GenBank		
Especies	Aislamiento	Actina	EF1-α	ITS
C. aggregatocicatricatum	14ACT	MG680498		
	36ACT	MG680499		
	37ACT	MG680500		
C. allicinum	21ACT	MG680501		
C. asperulatum	5ACT	MG680502		
	15ACT	MG680503		
	16ACT	MG680504		
	27ACT	MG680505		
	39ACT	MG680506		
	50ACT	MG680507		
	51ACT	MG680508		
	58ACT	MG680509		
	59ACT	MG680510		
C. cladosporioides	1ACT	MG680511		
	19ACT	MG680512		
	20ACT	MG680513		
	23ACT	MG680514		
	25ACT	MG680515		
	26ACT	MG680516		
	29ACT	MG680517		
	42ACT	MG680518		
	43ACT	MG680519		
	46ACT	MG680520		
	47ACT	MG680521		
	52ACT	MG680522		
	56ACT	MG680523		
C. limoniforme	18ACT	MG680524		
	24ACT	MG680525		

	40ACT	MG680526		
	41ACT	MG680527		
	45ACT	MG680528		
	49ACT	MG680529		
	55ACT	MG680530		
C. macrocarpum	6ACT	MG680531		
	11ACT	MG680532		
	12ACT	MG680533		
C. pseudocladosporioides	2ACT	MG680534		
	3ACT	MG680535		
	4ACT	MG680536		
	22ACT	MG680537		
	30ACT	MG680538		
C. ramotenellum	17ACT	MG680539		
C. subtilissimum	7ACT	MG680540		
	13ACT	MG680541		
	28ACT	MG680542		
	44ACT	MG680543		
	48ACT	MG680544		
	53ACT	MG680545		
C. tenellum	31ACT	MG680546		
	33ACT	MG680547		
Cladosporium sp.	8ACT	MG680548	MG686620	MG702494
	9ACT	MG680549	MG686621	MG702495
	32ACT	MG680550	MG686622	MG702496
	57ACT	MG680551	MG686623	MG702497
	34ACT	MG680552	MG686624	MG702498
	35ACT	MG680553	MG686625	MG702499
	10ACT	MG680554	MG686626	MG702500
	54ACT	MG680555	MG686627	MG702501
	38ACT	MG680556	MG686628	MG702502

Caracterización morfológica de los aislamientos:

A continuación se describen las características macroscópicas y microscópicas de los aislamientos representativos pertenecientes a cada uno de los 25 grupos determinados luego del análisis morfológico ordenados en su correspondiente especie establecida molecularmente.

***Cladosporium cladosporioides* (Grupos morfológicos A, F, G y U)**

Características macroscópicas:

La mayoría de los aislamientos presenta micelio de poca altura, de textura aterciopelada y su color es verde oliváceo con bordes más oscuros o negruzcos. Suelen presentar poco micelio aéreo pero cuando éste se encuentra presente le da un aspecto flocoso a la colonia, y el color puede variar entre gris y blanco. Alcanza un diámetro aproximado de 4,2 cm en 14 días y en algunos casos se pueden observar colonias de aspecto radiado. La umbilicación puede ser nula o puede surcarse de forma radial en el centro hasta llegar a romper el agar en escasas ocasiones (Fig. 84 A-D).

Características microscópicas:

Conidióforos no ramificados y septados sosteniendo ramoconidios de forma cilíndrica y pared de textura lisa. Abundante producción de conidios dispuestos en largas cadenas ramificadas (de hasta 10 conidios). Su forma es ovoide o globosa en los conidios terminales (3-6 µm x 2-3 µm) y cilíndrica o elipsoide en los conidios intercalares (5-12 µm x 2-3 µm). Suelen ser aseptados y presentar pared celular lisa (Fig. 84 E-F).

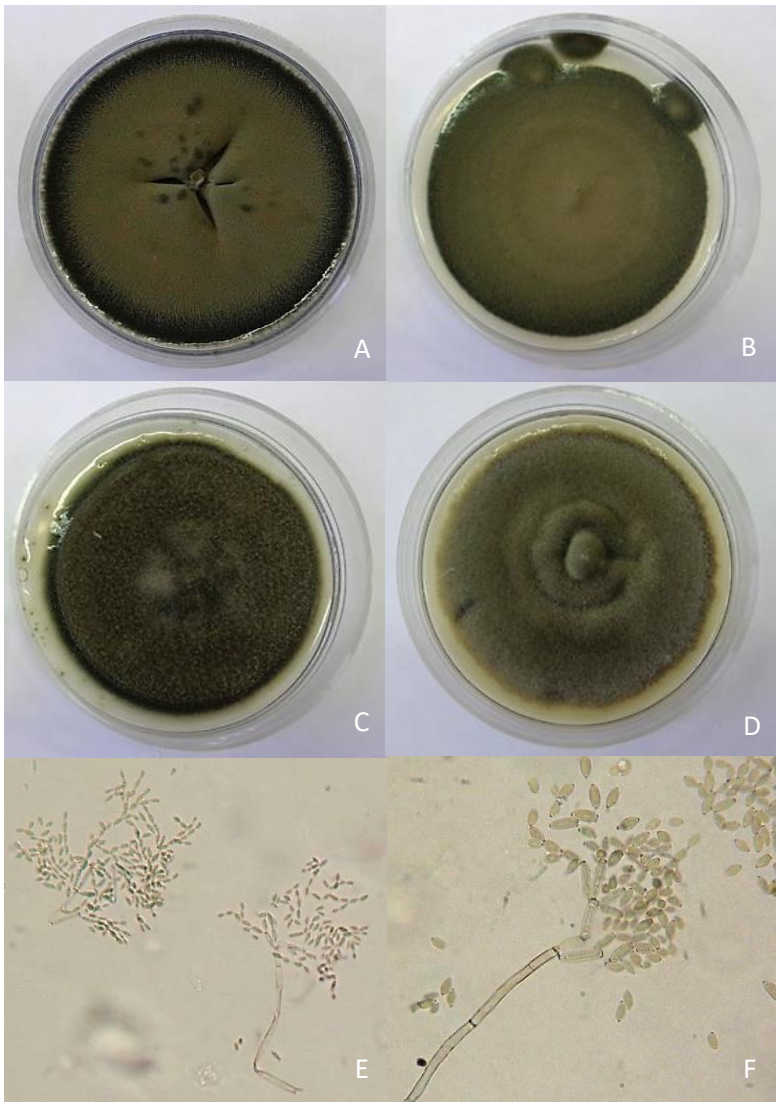


Fig. 84: Colonias de *Cladosporium cladosporioides* luego de 14 días de incubación en medio MEA: cepa T3C2BV16 perteneciente al grupo morfológico A (A), cepa T1C12CI14 perteneciente al grupo morfológico F (B), cepa T3C3BO15 perteneciente al grupo morfológico G (C) y cepa O1C5AI14 perteneciente al grupo morfológico U (D). Conidióforos de la cepa T1C12CI14 luego de 14 días de incubación en medio SNA (E: 400X; F: 1000X).

***Cladosporium pseudocladosporioides* (Grupo morfológico B):**

Características macroscópicas:

Presenta un micelio de color verde oliváceo-grisáceo con bordes definidos y de textura flocosa por la presencia de un micelio aéreo del mismo color. Alcanza un diámetro aproximado de 4,6 cm en 14 días y en algunos casos se pueden observar colonias de aspecto radiado al igual que *C. cladosporioides*. La umbilicación suele ser nula o puede surcarse de forma radial sólo en el centro en escasas ocasiones (Fig. 85 A).

Características microscópicas:

Conidióforos no ramificados y septados sosteniendo ramoconidios de forma cilíndrica y pared de textura lisa. Abundante producción de conidios dispuestos en largas cadenas ramificadas (de hasta 9 conidios). Su forma es ovoide o globosa en los conidios terminales (3-5 µm x 1-2 µm) y cilíndrica o elipsoide en los conidios intercalares (5-13 µm x 2-3 µm). Suelen ser aseptados y presentar pared celular lisa (Fig. 85 B-C).

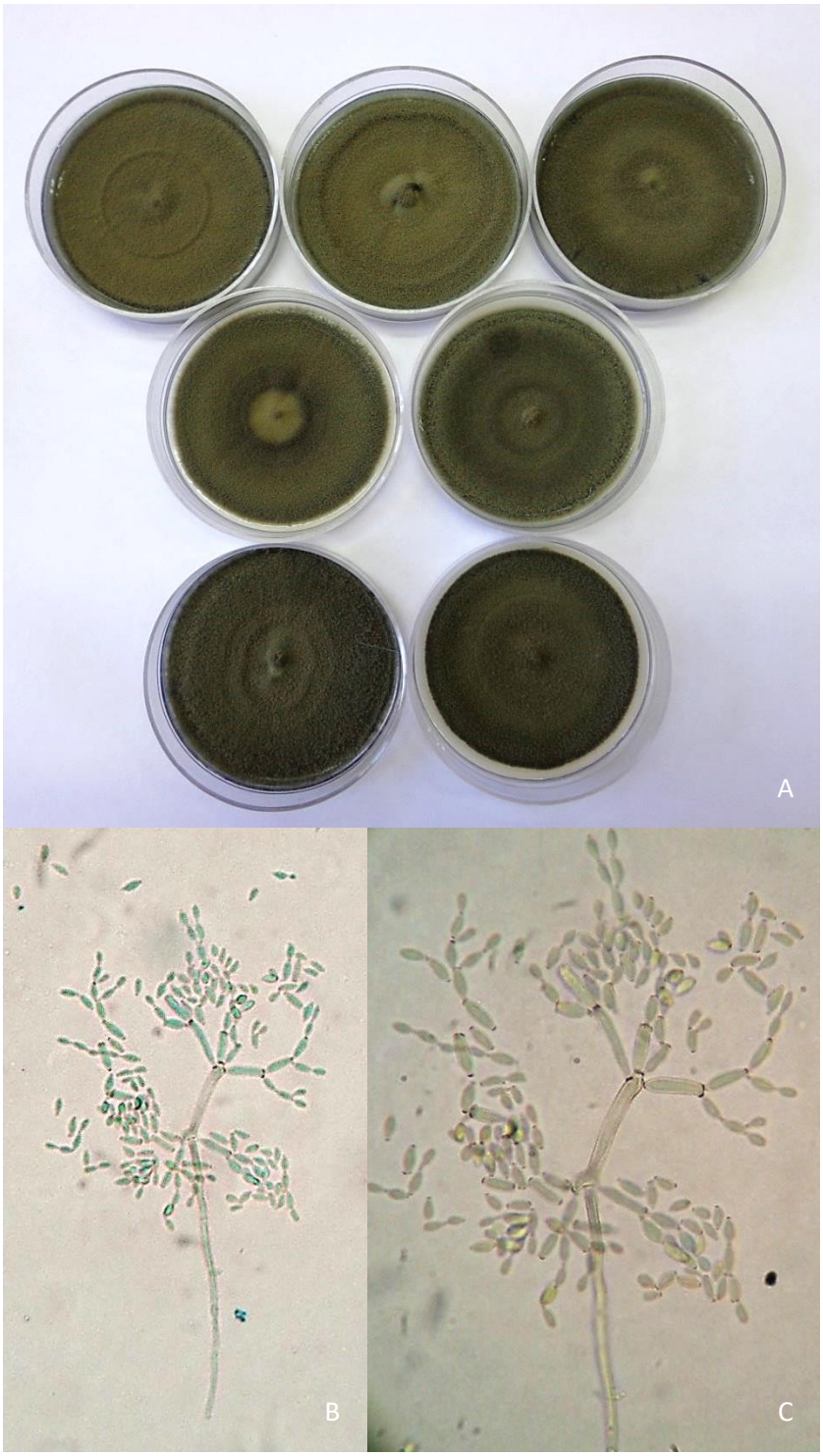


Fig. 85: Colonias de *Cladosporium pseudocladosporioides* luego de 14 días de incubación en medio MEA: cepa T2C2BV16 perteneciente al grupo morfológico B (A). Conidióforo de la cepa T2C2BV16 luego de 14 días de incubación en medio SNA (B: 400X; C: 1000X).

***Cladosporium asperulatum* (Grupos morfológicos D, N, O y Q):**

Características macroscópicas:

Exhibe un micelio de color verde oliváceo con bordes definidos que pueden variar a colores blanco-grisáceo o negro. Presentan abundante micelio aéreo lo que les da un aspecto flocoso de color banco grisáceo y alcanza un diámetro aproximado entre 2,1-3,5 cm en 14 días. Siempre presentan gran umbilicación que en la mayoría de los casos es radial (Fig. 86 A-D).

Características microscópicas:

Conidióforos no ramificados y septados sosteniendo ramoconidios de forma cilíndrica-oblonga y pared de textura lisa. Abundante producción de conidios dispuestos en largas cadenas ramificadas (8-10 conidios). Su forma es ovoide en los conidios terminales (5-7 µm x 2-3 µm) y elipsoide en los conidios intercalares (5-11 µm x 2-4 µm). Suelen ser aseptados y presentar pared celular lisa (Fig. 86 E-F).

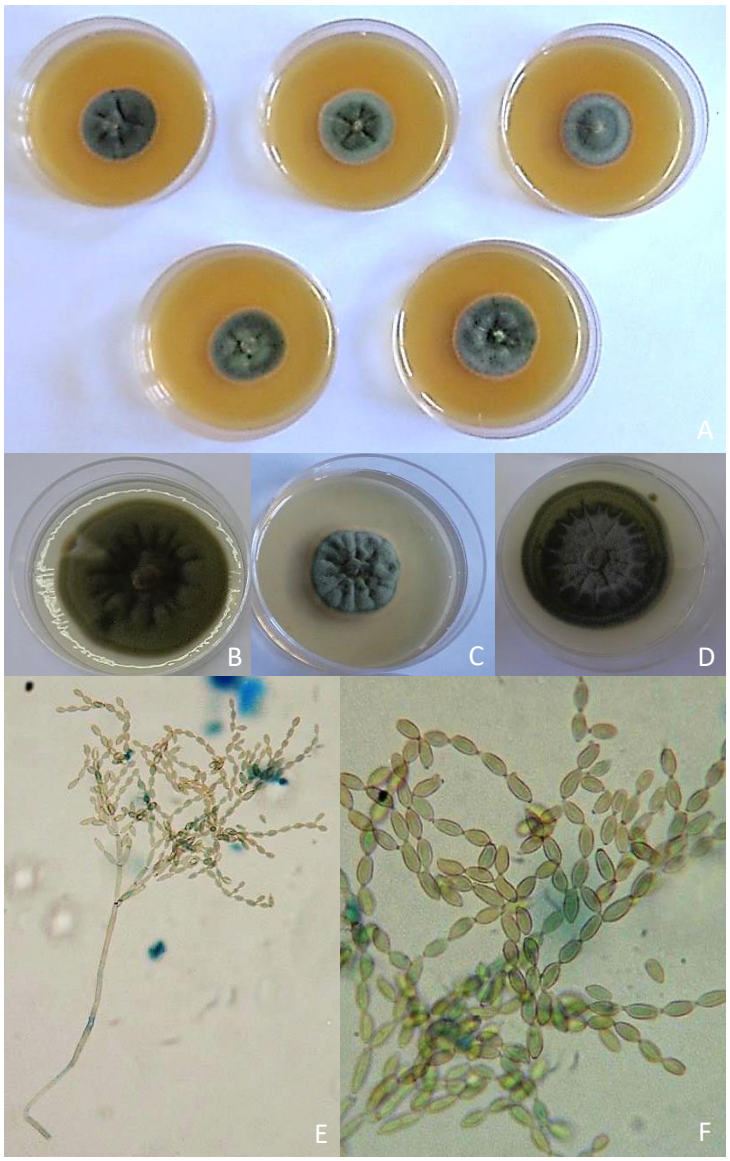


Fig. 86: Colonias de *Cladosporium asperulatum* luego de 14 días de incubación en medio MEA: cepa T2C1AV16 perteneciente al grupo morfológico D (A), cepa T1C1BO15 perteneciente al grupo morfológico N (B), cepa T1C1BP14 perteneciente al grupo morfológico O (C) y cepa O4C2BO15 perteneciente al grupo morfológico Q (D). Conidióforo de la cepa T2C1AV16 luego de 14 días de incubación en medio SNA (E: 400X; F: 1000X).

***Cladosporium macrocarpum* (Grupos morfológicos C, R y X):**

Características macroscópicas:

Exhibe un micelio verde oliváceo con bordes definidos y un abundante micelio aéreo que comienza siendo blanquecino, luego se torna más verdoso y con el tiempo se vuelve rosado. En algunas ocasiones este micelio rosado se concentra en el centro de la colonia y en y/o en los bordes. El micelio aéreo le otorga un aspecto felpudo o flocoso y alcanza un diámetro aproximado de 2,5-4,2 cm en 14 días. Generalmente se observa umbilicación de las colonias y en algunos casos hay producción de exudado negruzco (Fig. 87 A-C).

Características microscópicas:

Conidióforos solitarios y septados de pared lisa. Los conidios se disponen en cadenas cortas (4-5 conidios). Su forma es ovoide-subglobosa o limoniforme en los conidios terminales (4-9 µm x 3-6 µm) y elipsoide o cilíndrica en los conidios intercalares (10-15 µm x 5-8 µm). Suelen ser aseptados pero algunos conidios intercalares pueden presentar hasta dos septos y poseen pared celular ornamentada (verrucosa) y engrosada (Fig. 87 D-F).

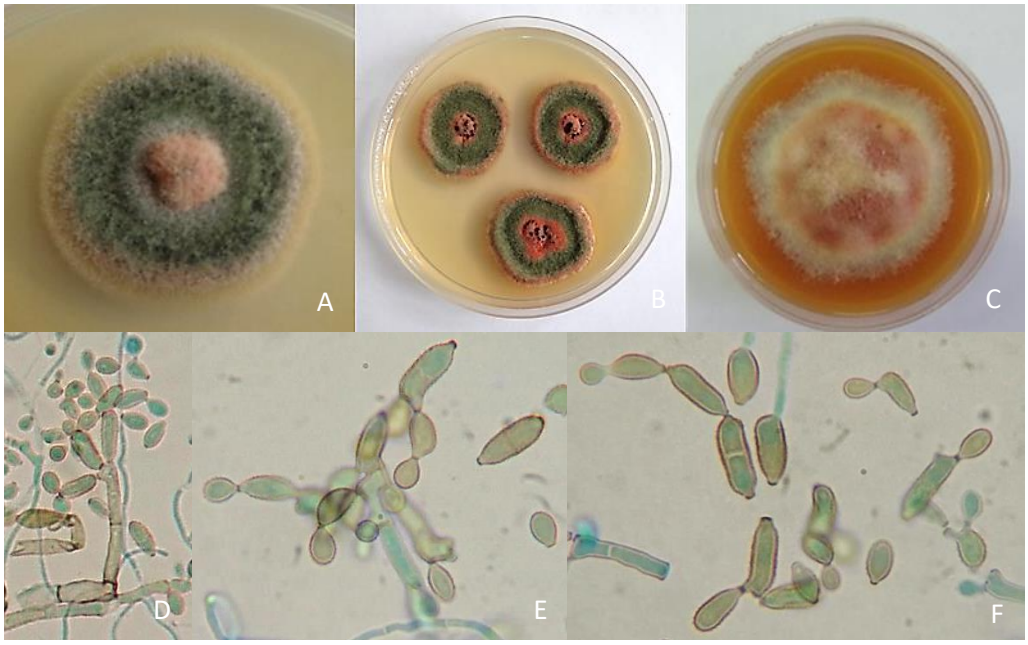


Fig. 87: Colonias de *Cladosporium macrocarpum* luego de 14 días de incubación en medio MEA: cepa T3C3AO15 perteneciente al grupo morfológico C (A), cepa O4C5AP15 perteneciente al grupo morfológico R (B) y cepa T2C4AV16 perteneciente al grupo morfológico X (C). Conidióforo y conidios de la cepa O4C5AP15 luego de 14 días de incubación en medio SNA (D: 400X; E, F: 1000X).

***Cladosporium subtilissimum* (Grupos morfológicos H y M):**

Características macroscópicas:

Presentan micelio de color verde oliváceo más claro en el centro con bordes más oscuros de márgenes blancos ondulados. Poseen micelio aéreo blanco, principalmente en el centro de la colonia y exhiben una textura flocosa. Alcanza un diámetro aproximado de 1,8 cm en 14 días y en ocasiones se observan colonias umbilicadas radialmente (Fig. 88 A-B).

Características microscópicas:

Conidióforos solitarios y septados de pared lisa o finamente verrucosa. Los conidios se disponen en cadenas largas ramificadas (hasta 10 conidios). Su forma es subglobosa-ovoide en los conidios terminales (4-5 µm x 2-3 µm) y elipsoide o cilíndrica en los conidios intercalares (9-16 µm x 4-5 µm). Suelen ser aseptados pero pueden presentar hasta dos septos y poseen pared verrucosa y engrosada (Fig. 88 C-E).

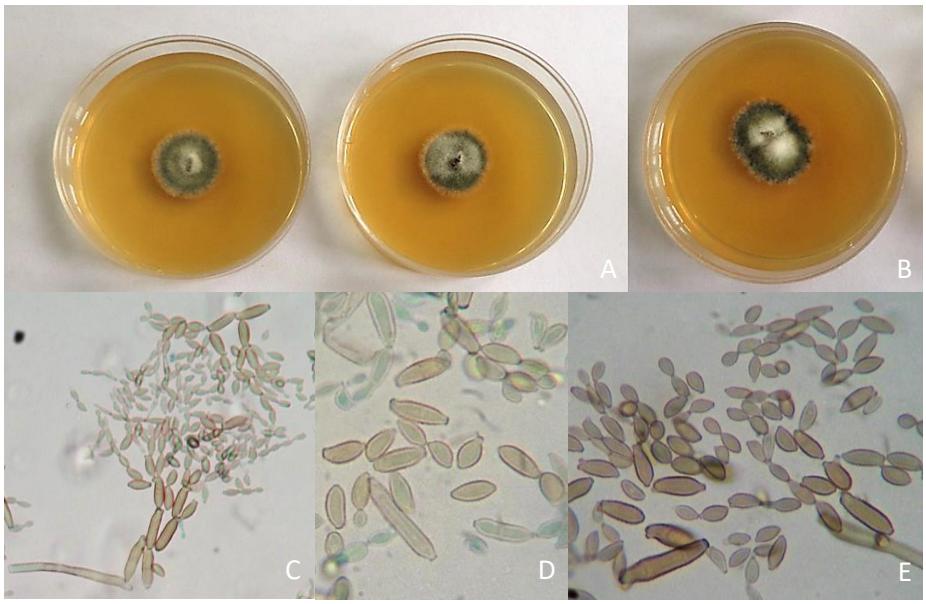


Fig. 88: Colonias de *Cladosporium subtilissimum* luego de 14 días de incubación en medio MEA: cepa T3C1UV15 perteneciente al grupo morfológico H (A) y cepa O3C9CP14 perteneciente al grupo morfológico M (B). Conidióforo y conidios de la cepa T3C1UV15 luego de 14 días de incubación en medio SNA (C: 400X; D, E: 1000X).

***Cladosporium allicinum* (Grupo morfológico Y):**

Características macroscópicas:

Presentan micelio de color verde oliváceo cubierto con abundante micelio aéreo de color blanco grisáceo exhibiendo una textura flocosa. Los márgenes son blancos y levemente ondulados. Alcanza un diámetro aproximado de 2,9 cm en 14 días y suelen presentar una marcada umbilicación radial (Fig. 89 A).

Características microscópicas:

Conidióforos solitarios y multiseptados de pared lisa. Presentan ramoconidios secundarios largos (hasta 40 µm) de forma elipsoidal. Los conidios se disponen en cadenas ramificadas de longitud moderada (4-5 conidios) y su forma es subglobosa u ovoide (4-8 µm x 2-3 µm). Suelen ser aseptados y poseen pared verrucosa (Fig. 89 B-C).

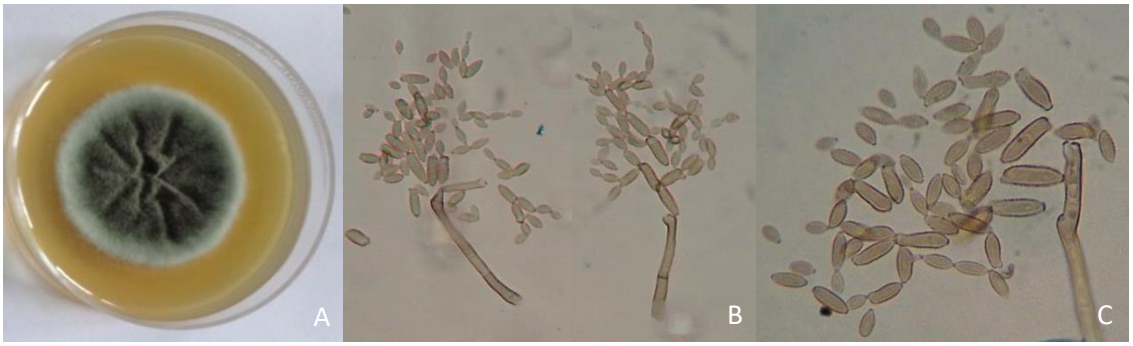


Fig. 89: Colonia de *Cladosporium allicinum* luego de 14 días de incubación en medio MEA: cepa T4C10AO14 perteneciente al grupo morfológico Y (A). Conidióforos de la cepa T4C10AO14 luego de 14 días de incubación en medio SNA (B: 400X; C: 1000X).

***Cladosporium ramotenellum* (Grupo morfológico P):**

Características macroscópicas:

Micelio de color verde oliváceo con centro de color más claro y bordes definidos blancos. Presenta poca altura, su textura es velutinosa y tiene escaso micelio aéreo. Alcanza un diámetro aproximado de 3,1 cm en 14 días y exhibe abundante esporulación soliendo formar colonias satélites alrededor (Fig. 90 A).

Características microscópicas:

Conidióforos solitarios, septados sosteniendo ramoconidios septados de forma cilíndrica. Los conidios se disponen en cadenas ramificadas de longitud media (4-7 conidios). Su forma es ovoide-subglobosa en los conidios terminales (5-7 µm x 2-4 µm) y ovoide o elipsoide en los conidios intercalares (8-15 µm x 3-4 µm). Suelen ser aseptados y presentar pared verrucosa (Fig. 90 B-C).

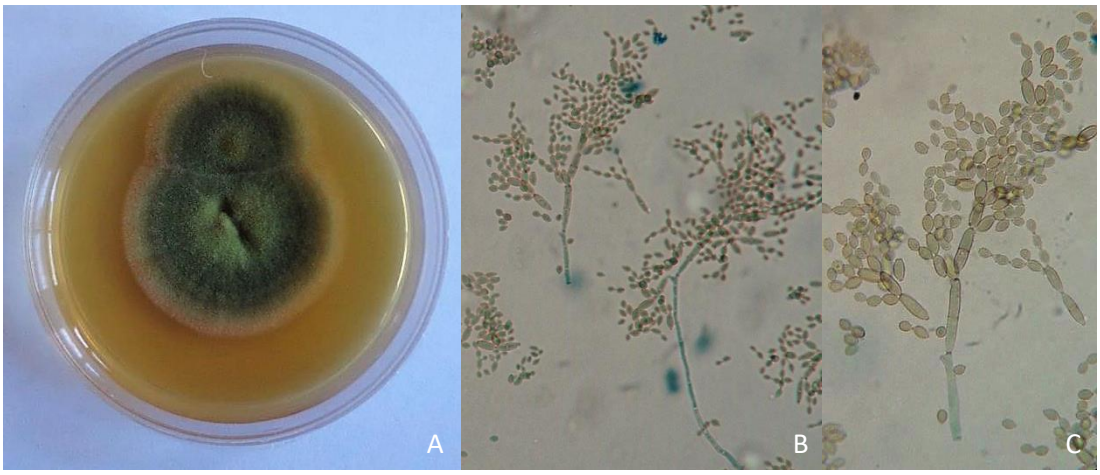


Fig. 90: Colonia de *Cladosporium ramotenellum* luego de 14 días de incubación en medio MEA: cepa O3C18AI14 perteneciente al grupo morfológico P (A). Conidióforos de la cepa O3C18AI14 luego de 14 días de incubación en medio SNA (B: 400X; C: 1000X).

***Cladosporium tenellum* (Grupos morfológicos S y T):**

Características macroscópicas:

Presentan micelio de color verde oliváceo oscuro con bordes amarronados, muy rasado sobre la superficie del agar de aspecto velutinoso. En ocasiones presenta un micelio aéreo blanquecino-grisáceo otorgándole una textura flocosa. Alcanza un diámetro aproximado de 3,2 cm en 14 días y pueden exhibir umbilicación en ocasiones. Presentan abundante esporulación en el centro de la colonia y suelen tener un aspecto radiado (Fig. 91 A-B).

Características microscópicas:

Conidióforos solitarios, septados sosteniendo en ocasiones ramoconidios de forma cilíndrica. Los conidios se disponen en cadenas ramificadas de longitud media (4-8 conidios). Su forma es ovoide-subglobosa en los conidios terminales (3-6 µm x 2-3 µm) y ovoide o elipsoide en los conidios intercalares (5-10 µm x 3-5 µm). Suelen ser aseptados y presentar pared verrucosa (Fig. 91 C-D).

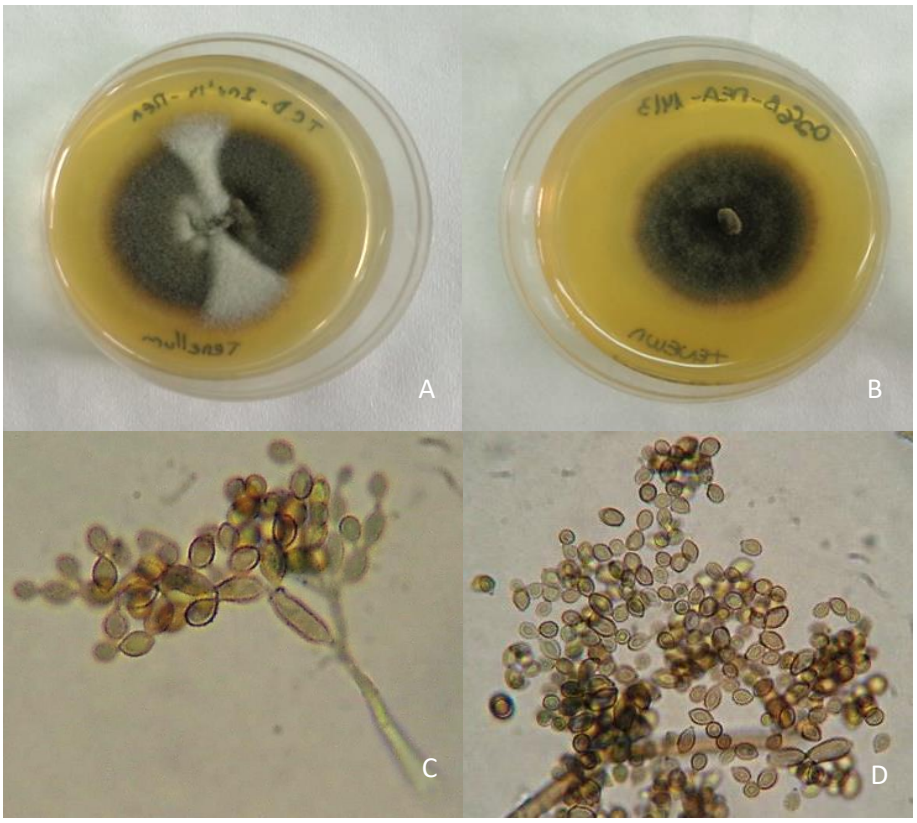


Fig. 91: Colonias de *Cladosporium tenellum* luego de 14 días de incubación en medio MEA: cepa O2C6BI15 perteneciente al grupo morfológico S (A) y cepa T1C1DI14 perteneciente al grupo morfológico T (B). Conidióforos de la cepa T1C1DI14 luego de 14 días de incubación en medio SNA (C: 400X; D: 1000X).

***Cladosporium aggregatocicatricatum* (Grupo morfológico I):**

Características macroscópicas:

Presentan micelio de color verde oliváceo intenso de textura velutinosa. Los márgenes son blancos y levemente ondulados y presentan escaso micelio aéreo blanco flocoso principalmente en el centro de la colonia. Alcanza un diámetro aproximado de 2,7 cm en 14 días y suelen presentar umbilicación radial (Fig. 92 A).

Características microscópicas:

Conidióforos solitarios y multiseptados de pared lisa que sostienen ramoconidios secundarios de forma cillíndrica. Los conidios se disponen en cadenas cortas ramificadas (3-4 conidios). Su forma es ovoide-subglobosa en los conidios terminales (4-8 µm x 3-4 µm) y ovoide o elipsoide en los conidios intercalares (7-14 µm x 3-4 µm). Suelen ser aseptados y presentar pared verrucosa (Fig. 92 B-C).

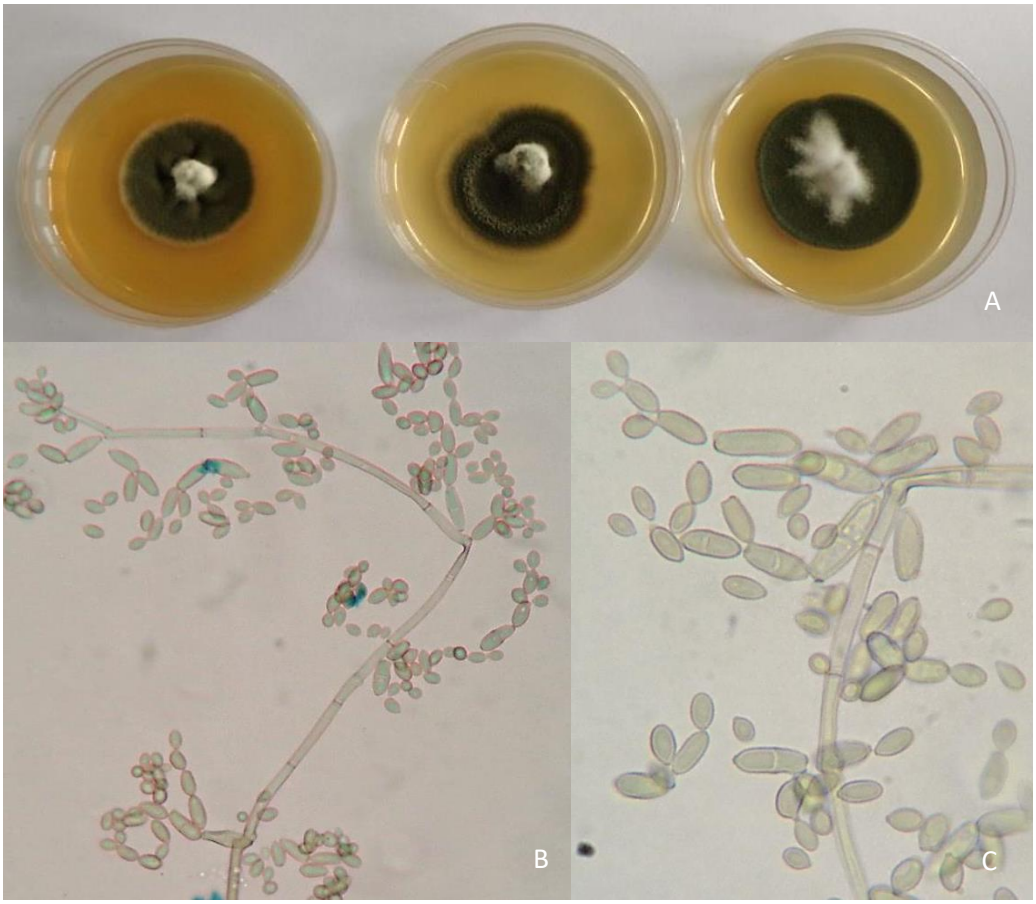


Fig. 92: Colonias de *Cladosporium aggregatocicatricatum* luego de 14 días de incubación en medio MEA: cepa O1C11AI15 perteneciente al grupo morfológico I (A). Conidióforos de la cepa O1C11AI15 luego de 14 días de incubación en medio SNA (B: 400X; C: 1000X).

***Cladosporium limoniforme* (Grupos morfológicos E, K y L):**

Características macroscópicas:

Presentan micelio de baja altura de color verde oliváceo más claro en el centro con bordes más oscuros verde-grisáceo. Exhiben textura aterciopelada y poseen escaso micelio aéreo. Alcanza un diámetro aproximado de 4,6 cm en 14 días y una marcada umbilicación radial y circular. Dado que presentan abundante esporulación usualmente pueden formar microcolonias (Fig. 93 A-C).

Características microscópicas:

Conidióforos no ramificados, cortos y septados sosteniendo ramoconidios septados de forma cilíndrica y pared lisa. Abundante producción de conidios dispuestos en cadenas ramificadas de longitud media (4-7 conidios). Su forma es ovoide-subglobosa en los conidios terminales (3-4 µm x 2-3 µm) y ovoide (limoniforme) en los conidios intercalares (4-10 µm x 2-4 µm). Suelen ser aseptados y presentar pared verrucosa (Fig. 93 D).

Fig. 93: Colonias de *Cladosporium limoniforme* luego de 14 días de incubación en medio MEA: cepa O2C6CI14 perteneciente al grupo morfológico E (A), cepa T3C3BO14 perteneciente al grupo morfológico K (B) y cepa T4C8BV16 perteneciente al grupo morfológico L (C). Conidióforo de la cepa O2C6CI14 luego de 14 días de incubación en medio SNA (D: 1000X).

Los aislamientos que fueron identificados como "*C.* sp." fueron caracterizados morfológicamente complementando sus aspectos macroscópicos en medio PDA al 2% y OA, bajo las condiciones de incubación descriptas, según Bensch y col. (2012) para brindar una descripción más detallada y precisa de estos aislamientos a los que no se les pudo asignar una especie de *Cladosporium* actualmente descripta.

***Cladosporium.* sp. 1 (Grupo morfológico V):**

Características macroscópicas:

PDA: Presenta un micelio verde oliváceo que se cubre por un abundante micelio aéreo blanco flocoso que se extiende hasta los márgenes. Alcanza un diámetro de 2,0 cm a los 14 días y exhibe una marcada umbilicación radial (Fig. 94 A).

OA: El micelio es escaso y posee un color verde amarronado de textura granulosa, sin micelio aéreo. Alcanza un diámetro de 1,8 cm a los 14 días y no presenta umbilicación (Fig. 94 B).

MEA: El micelio es verde oliváceo y sólo se observa en el centro de la colonia ya que se cubre hasta los márgenes por un micelio aéreo blanco de aspecto felpudo. Alcanza un diámetro de 2,7 cm a los 14 días y no presenta umbilicación (Fig. 94 C).

Características microscópicas:

Conidióforos solitarios y septados con pared de textura lisa. La esporulación es escasa y los conidios suelen disponerse de forma solitaria. Su forma es ovoide (5-6 µm x 2-4 µm) y son aseptados. Poseen una pared celular muy engrosada y verrucosa (Fig. 94 D-G).

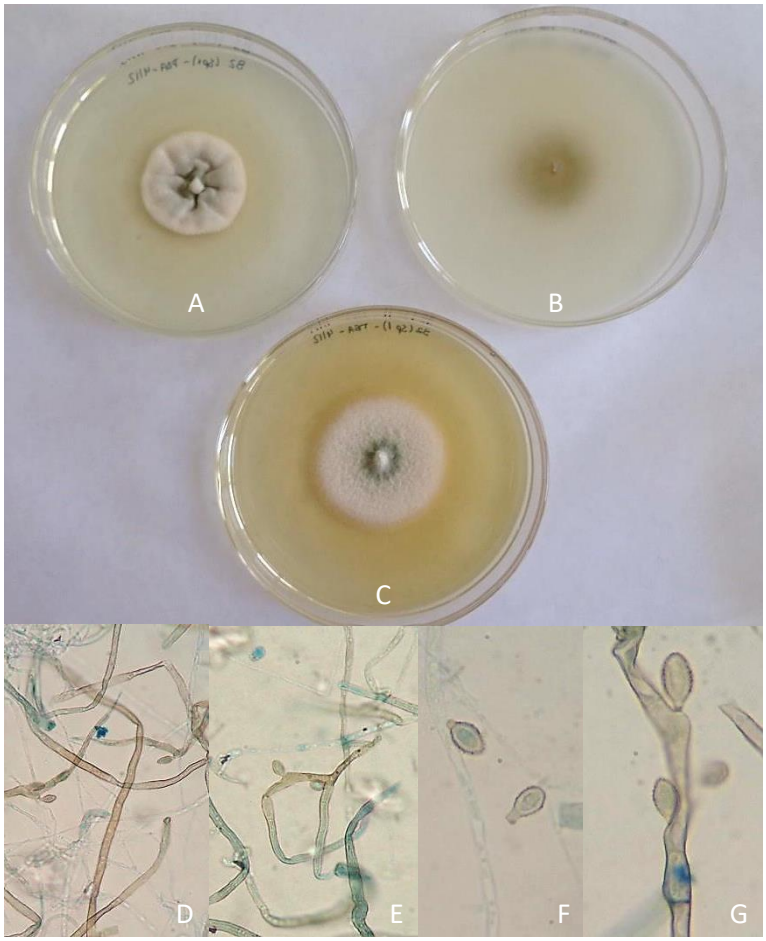


Fig. 94: Características morfológicas de *Cladosporium* sp. 1. Colonias de la cepa T4C11AP14 luego de 14 días de incubación en medio PDA (A), OA (B) y MEA (C). Conidióforos y conidios de la cepa T4C11AP14 luego de 14 días de incubación en medio SNA (D, E: 400X; F, G: 1000X).

***Cladosporium* sp. 2 (Grupo morfológico W):**

Características macroscópicas:

PDA: El micelio posee un color verde oliváceo y está cubierto en casi su totalidad por un micelio blanco de textura flocosa. Alcanza un diámetro de 1,9 cm en 14 días y presenta una marcada umbilicación radial (Fig. 95 A).

OA: El micelio es verde oliváceo con mayor intensidad en los bordes y de textura flocosa. Suele presentar escaso micelio aéreo de color blanquecino en el centro de la colonia. Alcanza un diámetro de 2,0 cm en 14 días y no presenta umbilicación (Fig. 95 B).

MEA: Exhibe un micelio verde oliváceo pálido cubierto en su totalidad hasta los márgenes por un micelio aéreo blanco-grisáceo de textura flocosa. Alcanza un diámetro de 2,3 cm en 14 días y presenta umbilicación de forma radial (Fig. 95 C).

Características microscópicas:

Conidióforos solitarios y septados con pared de textura lisa. La esporulación es moderada y los conidios suelen disponerse en cadenas de longitud media (4-5 conidios). Su forma es ovoide-subglobosa en los conidios terminales (4-5 µm x 2-4 µm) y elipsoide en los conidios intercalares (12-15 µm x 3-4 µm). Algunos suelen presentar 1 septo ocasionando constricción en su porción media y poseen una pared celular engrosada y verrucosa (Fig. 95 D-F).

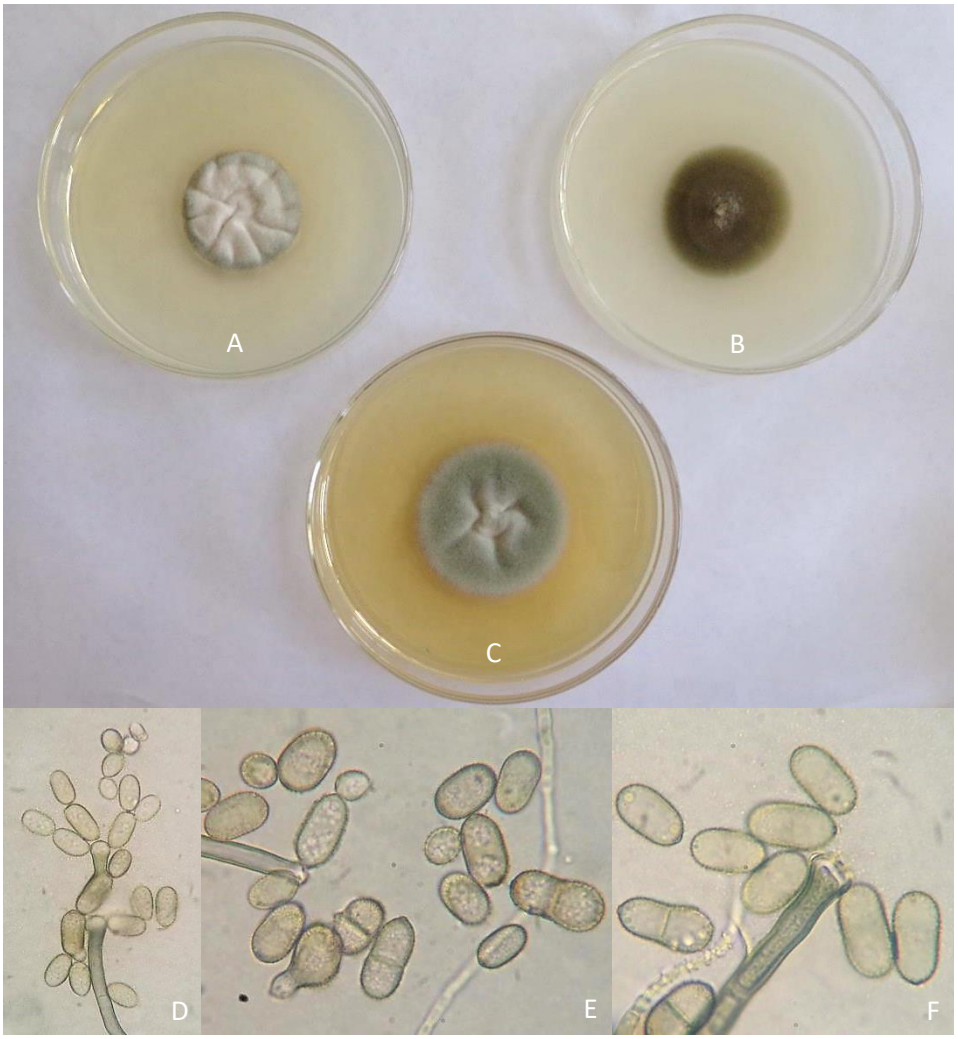


Fig. 95: Características morfológicas de *Cladosporium* sp. 2. Colonias de la cepa T1C12AV16 luego de 14 días de incubación en medio PDA (A), OA (B) y MEA (C). Conidióforos y conidios de la cepa T1C12AV16 luego de 14 días de incubación en medio SNA (D: 400X; E, F: 1000X).

***Cladosporium* sp. 3 (Grupo morfológico J):**

Características macroscópicas:

PDA: El micelio posee un color verde oliváceo pálido cubierto por un micelio aéreo blanco-grisáceo que le otorga una textura velutinosa. Los márgenes son regulares de color blanquecino. Alcanza un diámetro de 1,9 cm en 14 días y posee una marcada umbilicación (Fig. 96 A).

OA: El micelio es verde oliváceo con menor intensidad en los bordes. Suele presentar un micelio aéreo de color blanquecino principalmente en el centro de la colonia otorgándole un aspecto flocoso. Alcanza un diámetro de 1,5 cm en 14 días y no presenta umbilicación (Fig. 96 B).

MEA: El micelio presenta un color verde oliváceo oscuro cubierto por un micelio aéreo flocoso que se extiende hasta los márgenes. Alcanza un diámetro de 1,7 cm en 14 días y presenta una marcada umbilicación (Fig. 96 C).

Características microscópicas:

Conidióforos septados presentando marcadas curvaturas, en ocasiones en forma de zig-zag. Los conidios suelen disponerse de manera solitaria o en cadenas muy cortas (2-3 conidios). Su forma es ovoide-subglobosa o elipsoide (9-17 µm x 5-6 µm). Suelen ser aseptados pero algunos son monoseptados y poseen una pared engrosada y verrucosa (Fig. 96 D-E).

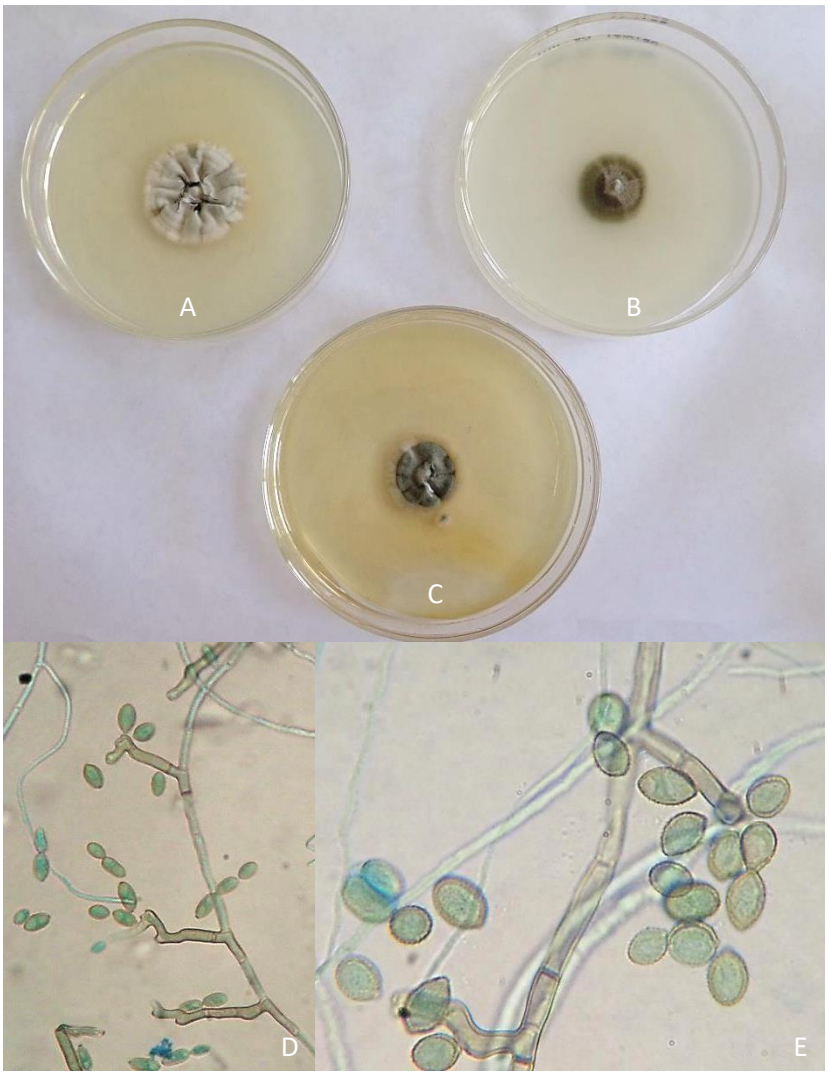


Fig. 96: Características morfológicas de *Cladosporium* sp. 3. Colonias de la cepa T3C2AI15 luego de 14 días de incubación en medio PDA (A), OA (B) y MEA (C). Conidióforos y conidios de la cepa T3C2AI15 luego de 14 días de incubación en medio SNA (D: 400X; E: 1000X).

Finalmente y como resultado de la caracterización morfológica y molecular se presenta en la Tabla N° 45 un resumen de los aislamientos, grupos morfológicos y especie a los cuales proceden.

Tabla N° 45: Detalle de los aislamientos, grupos morfológicos y especie de procedencia.

Especies	Aislamiento	Grupo morfológico
C. aggregatocicatricatum	14; 36; 37	I
C. allicinum	21	Y
C. asperulatum	5; 15; 16; 27; 39; 50; 51; 58; 59	D, N, O, Q
C. cladosporioides	1; 19; 20; 23; 25; 26; 29; 42; 43; 46; 47; 52;56	A, F, G, U
C. limoniforme	18; 24; 40; 41; 45; 49; 55	E, K, L
C. macrocarpum	6; 11; 12	C, R X
C. pseudocladosporioides	2; 3; 4; 22; 30	B
C. ramotenellum	17	P
C. subtilissimum	7; 13; 28; 44; 48; 53	H, M
C. tenellum	31; 33	S, T
C. sp. 1	8; 9; 32; 57	V
C. sp. 2	10; 34; 35; 54	W
C. sp. 3	38	J

Luego se determinaron las frecuencias de aislamiento de las especies de *Cladosporium* en los dos primeros años de muestreo realizado.

En ambos años se hallaron las especies *C. agregatocicatricatum*, *C. asperulatum*, *C. cladosporioides*, *C. limoniforme*, *C. macrocarpum*, *C. pseudocladosporioides*, *C. ramotenellum*, *C. subtilissimum*, *C. tenellum* y *C.* sp..

La especie *C. allicinum* fue hallada únicamente durante el primer año de muestreo.

La especie predominante fue *C. cladosporioides* seguida por *C. limoniforme* en segundo lugar y *C. asperulatum* en tercer lugar en ambos años de muestreo. El cuarto lugar lo ocupó *C. subtilissimum* durante el primer año y *C. pseudocladosporioides* en el segundo año.

En ambos años de muestreo las especies pertenecientes al complejo *C. cladosporioides* (*C. asperulatum*, *C. cladosporioides* y *C. pseudocladosporioides*) predominan sobre las especies del complejo *C. herbarum* (*C. agregatocicatricatum*, *C. allicinum*, *C. limoniforme*, *C. macrocarpum*, *C. ramotenellum*, *C. subtilissimum*, *C. tenellum* y *C.* sp.). Ninguno de los aislamientos bajo estudio pertenece al complejo *C. sphaerospermum*.

En las Tablas N° 46 y 47 se presentan los recuentos promedio anuales (RPA) y las densidades relativas (DR) de las especies y complejos de especies obtenidos por cada año de muestreo y los resultados se observan en las Fig. 97 y 98.

Tabla N° 46: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de las especies de *Cladosporium* halladas en los dos primeros años de muestreo.

	1° AÑO		2° AÑO	
Especies	RPA	**DR**	RPA	**DR**
C. aggregatocicatricatum	136	**0,80**	563	**4,53**
C. allicinum	373	**2,19**	ND	**ND**
C. asperulatum	1925	**11,28**	1979	**15,89**
C. cladosporioides	7600	**44,54**	5664	**45,50**
C. limoniforme	5728	**33,57**	2107	**16,92**
C. macrocarpum	26	**0,15**	26	**0,21**
C. pseudocladosporioides	51	**0,30**	1420	**11,40**
C. ramotenellum	34	**0,20**	93	**0,75**
C. subtilissimum	638	**3,74**	96	**0,77**
C. tenellum	342	**2,00**	360	**2,89**
C. sp.	211	**1,24**	142	**1,14**

ND: No Determinado

Fig. 97: Densidades relativas de las especies de *Cladosporium* halladas en los dos primeros años de muestreo.

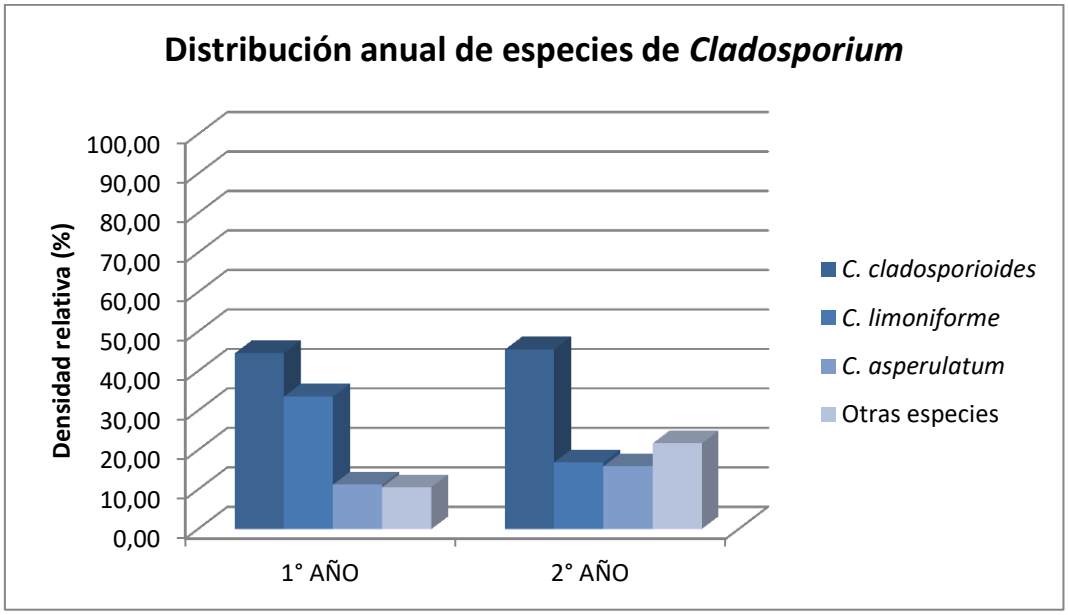
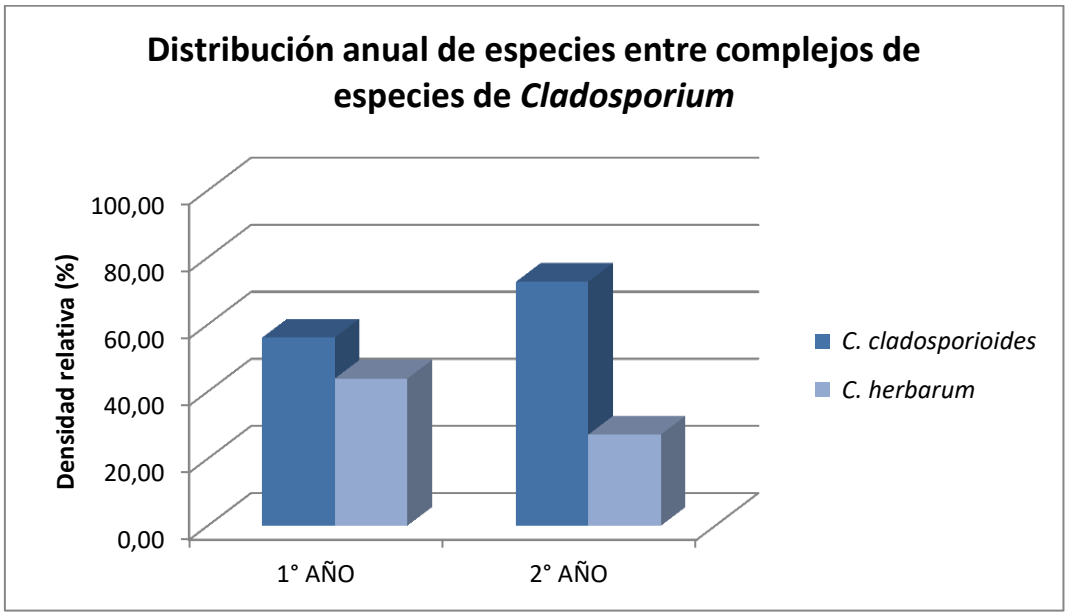


Tabla N° 47: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de complejos de especies de *Cladosporium* hallados en los dos primeros años de muestreo.

	1° AÑO		2° AÑO	
Complejos de especies	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Complejo *C. cladosporioides*	9,58E+03	**56,12**	9,06E+03	**72,79**
Complejo *C. herbarum*	7,49E+03	**43,88**	3,39E+03	**27,21**

Fig. 98: Densidades relativas de los complejos de especies de *Cladosporium* hallados en los dos primeros años de muestreo.



4.2.1 Especies del género *Alternaria*

Se procedió a la determinación del grupo especie al cual pertenecía cada aislamiento bajo estudio de acuerdo al patrón de esporulación que presentaron según lo establecido por Simmons y Roberts (1993) y Simmons (2007). Para ello se llevó a cabo la observación bajo lupa binocular de un total de 218 aislamientos pertenecientes al primer año de muestreo y 197 aislamientos pertenecientes al segundo.

Tanto en el primer como en el segundo año de muestreo se hallaron las especies *A. tenuissima* (Fig. 99), *A. alternata* y *A. arborescens*. El porcentaje de distribución anual de los aislamientos de *Alternaria* dentro de cada grupo especie reveló a la especie *A. tenuissima* como predominante (83,59-80,56%) seguida por la especie *A. alternata* (9,70-15,47%) y por último *A. arborescens* (0,13-1,80%). Tanto *A. alternata* como *A. arborescens* presentaron densidades relativas superiores el segundo año respecto al primero (Fig. 100).

Los recuentos promedio anuales (RPA) y las densidades relativas (DR) obtenidos luego de la identificación a nivel grupo especie de los aislamientos del primer y segundo año de muestreo se presentan en la Tabla N° 48.

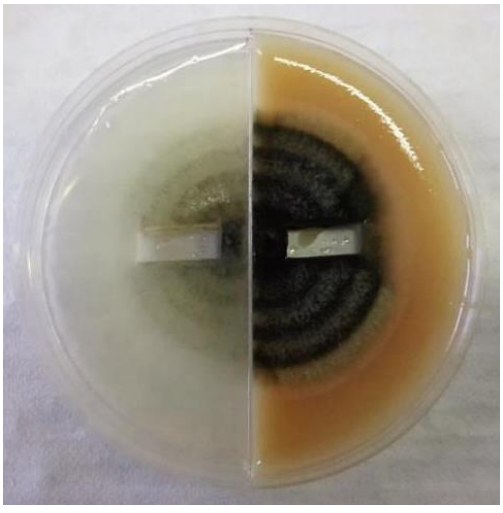
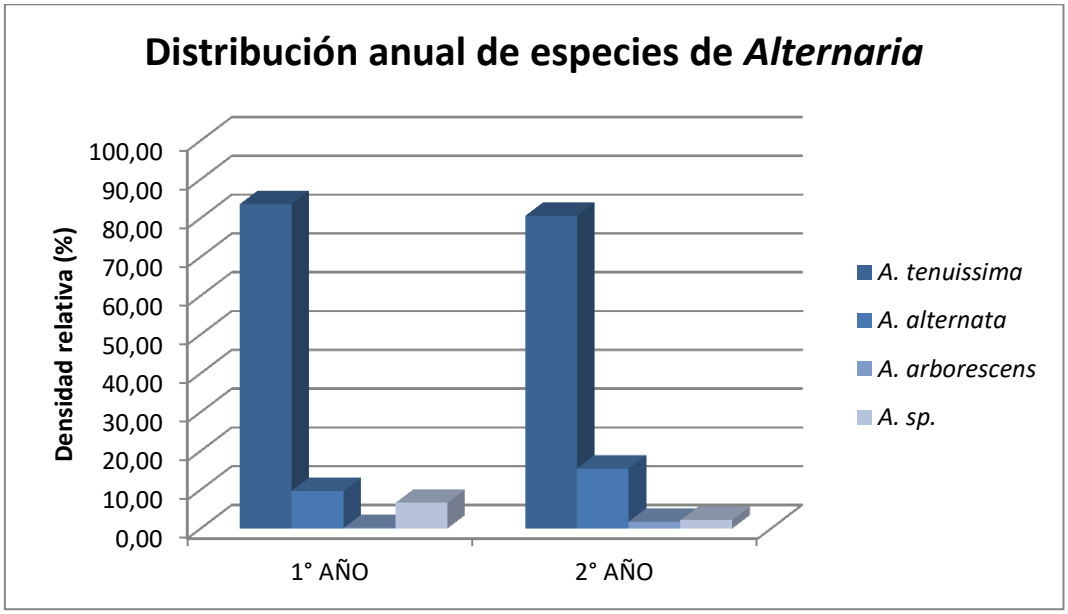


Fig. 99: Características morfológicas de *A. tenuissima*. Colonia de la cepa T4C10OV15 luego de 7 días de incubación en medio V8 y PZA.

Tabla N° 48: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de las especies de *Alternaria* halladas en los dos primeros años de muestreo.

	1° AÑO		2° AÑO	
Especies	RPA	**DR**	RPA	**DR**
A. alternata	233	**9,72**	419	**15,47**
A. arborescens	3	**0,13**	49	**1,80**
A. tenuissima	2004	**83,57**	2181	**80,56**
A. sp.	158	**6,59**	59	**2,17**

Fig. 100: Densidades relativas de las especies de *Alternaria* halladas en en los dos primeros años de muestreo.



4.2.2 Especies del género *Fusarium*

Se llevó a cabo la identificación de 45 aislamientos de *Fusarium* pertenecientes al primer año de muestreo y 38 aislamientos pertenecientes al segundo año de muestreo de acuerdo a los protocolos y las claves propuestas por Nelson y col. (1983) y Leslie y Summerell (2006).

En ambos años de muestreo se hallaron las especies *F. acuminatum*, *F. proliferatum*, *F. semitectum*, *F. sporotrichioides* y *F.* sp.

Las especies *F. compactum*, *F. crookwellense*, *F. dlamini*, *F. poae* y *F. solani* sólo fueron determinadas en el primer año y las especies *F. chlamydosporum*, *F. oxysporum*, *F. polyphialidicum*, *F. reticulatum*, *F. sambucinum* y *F. verticillioides* sólo en el segundo año.

Tanto en el primer como el segundo año la especie predominante fue *F. sporotrichioides* seguida de *F. semitectum*. El tercer lugar corresponde a *F. crookwellense* en el primer año y *F. acuminatum* en el segundo.

En las Fig. 101, 102 y 103 se exhiben las características morfológicas de las colonias de algunas de las especies mencionadas.

Los recuentos promedio anuales (RPA) y las densidades relativas (DR) obtenidos luego de la identificación a nivel especie de los aislamientos del primer y segundo año de muestreo se presentan en la Tabla N° 49 y los resultados se observan en la Fig. 104.

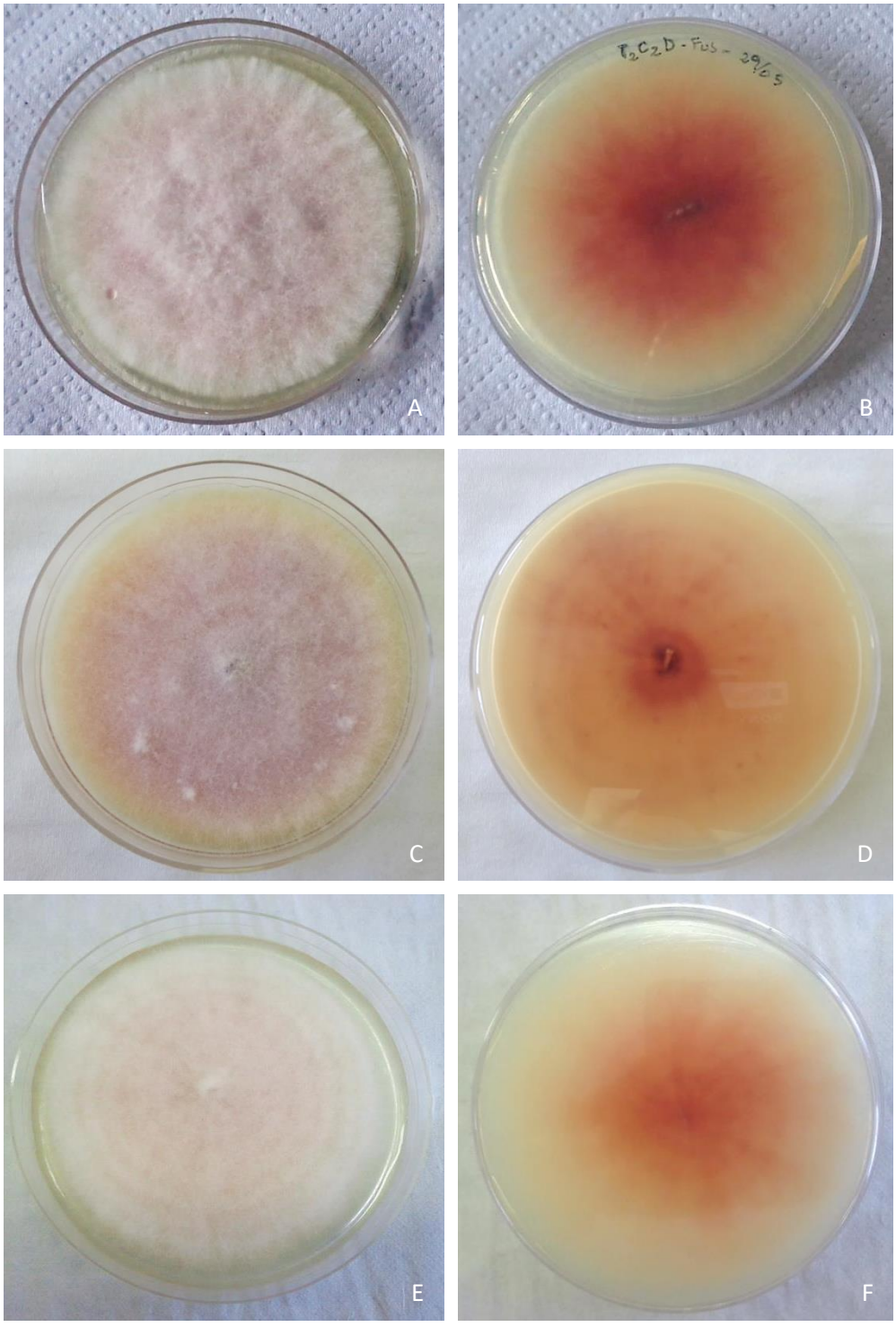


Fig. 101: Características morfológicas de especies de *Fusarium* luego de 10 días de incubación en medio PDA. Colonia de *F. dlamini* (cepa T2C2DV15), frente y reverso (A, B); *F. oxysporum* (cepa T2C2GO15) (C, D) y *F. verticillioides* (cepa O4C5HO15) (E, F).

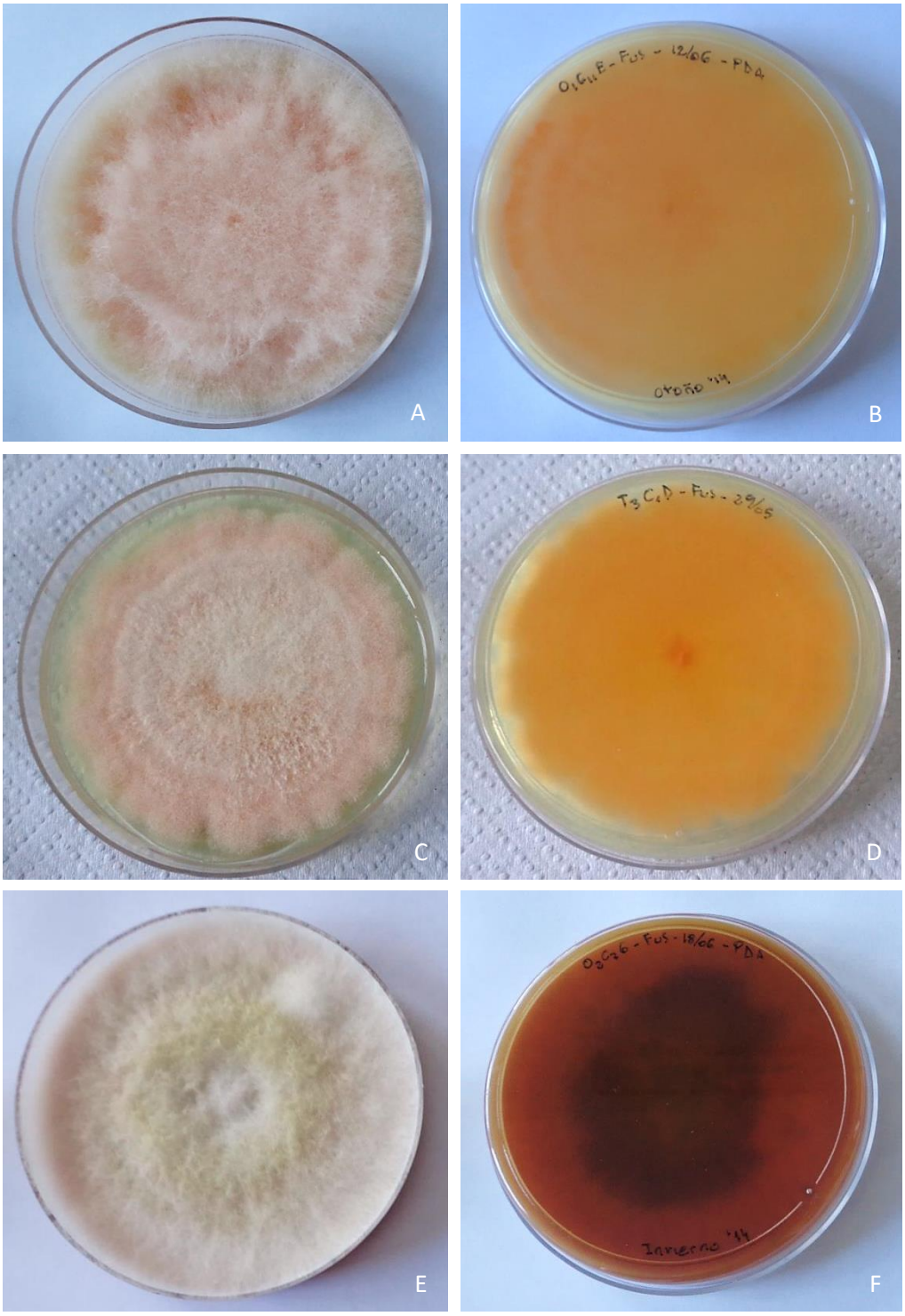


Fig. 102: Características morfológicas de especies de *Fusarium* luego de 10 días de incubación en medio PDA. Colonia de *F. sporotrichioides* (cepa O1C11EO14), frente y reverso (A, B); *F. semitectum* (cepa T3C1DV15) (C, D) y *F. poae* (cepa O2C7GI14) (E, F).

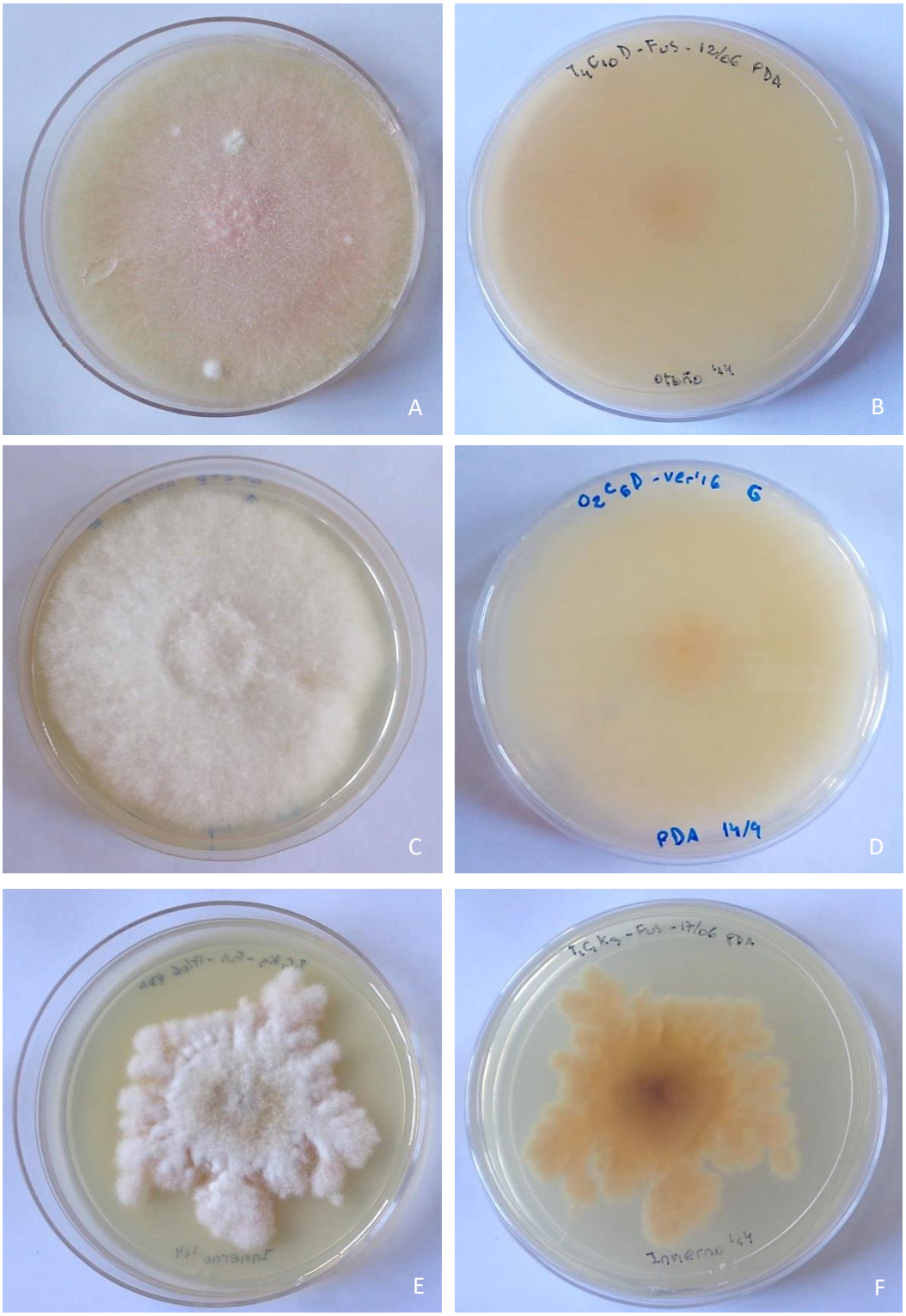


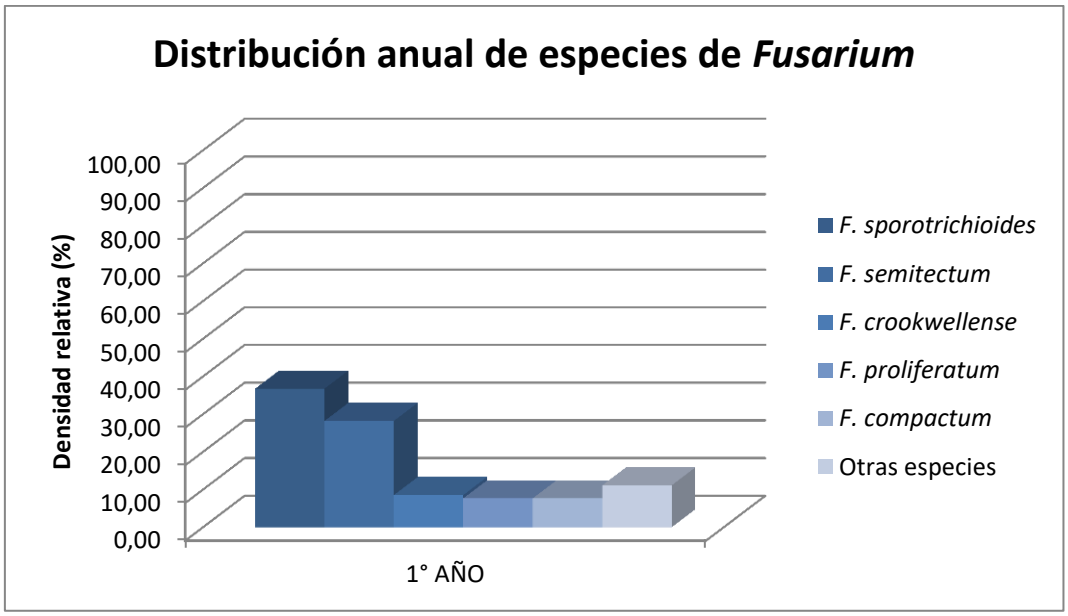
Fig. 103: Características morfológicas de especies de *Fusarium* luego de 10 días de incubación en medio PDA. Colonia de *F. solani* (cepa T4C10DO14), frente y reverso (A, B); *F. acuminatum* (cepa O2C6DV16) (C, D) y *F. compactum* (cepa T1C1K3I14) (E, F).

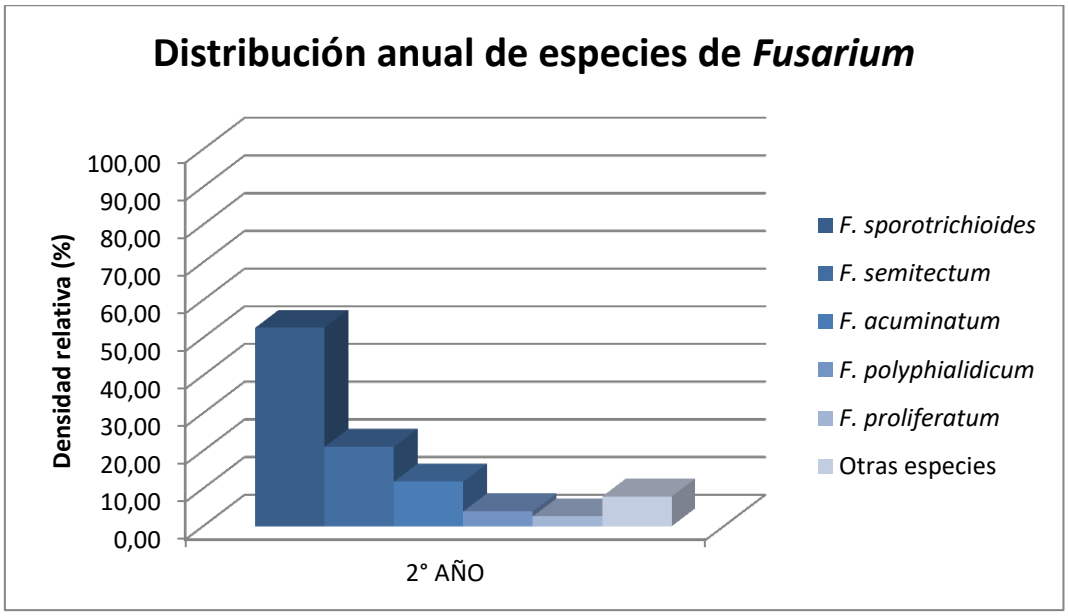
Tabla N° 49: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de las especies de *Fusarium* halladas en los dos primeros años de muestreo.

	1° AÑO		2° AÑO	
Especies	RPA	**DR**	RPA	**DR**
F. acuminatum	1	**0,64**	18	**11,84**
F. chlamydosporum	ND	**ND**	1	**0,66**
F. compactum	9	**7,48**	ND	**ND**
F. crookwellense	10	**8,55**	ND	**ND**
F. dlamini	2	**1,92**	ND	**ND**
F. oxysporum	ND	**ND**	3	**1,97**
F. poae	3	**2,14**	ND	**ND**
F. polyphialidicum	ND	**ND**	6	**3,95**
F. proliferatum	9	**7,69**	4	**2,63**
F. reticulatum	ND	**ND**	3	**1,97**
F. sambucinum	ND	**ND**	3	**1,97**
F. semitectum	31	**26,71**	32	**21,05**
F. solani	3	**2,14**	ND	**ND**
F. sporotrichioides	41	**35,26**	80	**52,63**
F. verticillioides	ND	**ND**	1	**0,66**
F. sp.	9	**7,48**	1	**0,66**

ND: No Determinado

Fig. 104: Densidades relativas de las especies de *Fusarium* halladas en en los dos primeros años de muestreo.





4.2.3 Especies del género *Penicillium*

Los aislamientos pertenecientes a este género fueron identificados según la metodología y clave propuesta por Pitt y Hocking (2009). De esta manera se analizaron macroscópicamente y microscópicamente 27 aislamientos pertenecientes al primer año de muestreo y 33 aislamientos pertenecientes al segundo año.

En ambos años de muestreo se hallaron las especies *P. brevicompactum*, *P. canescens*, *P. expansum* y *P. raistrickii*.

Las especies *P. chrysogenum*, *P. janczewski* y *P. restrictum* sólo fueron determinadas en el primer año y las especies *P. funiculosum*, *P. paneum*, *P. solitum*, *P. verrucosum* y *P.* sp. sólo en el segundo año.

La especie predominante durante el primer año fue *P. expansum* seguida por *P. brevicompactum* en segundo lugar y *P. canescens* en tercer lugar. En el segundo año *P. brevicompactum* fue la más hallada seguida por *P. canescens* y el tercer lugar fue compartido por *P. funiculosum* y *P. paneum*.

En las Fig. 105, 106, 107 y 108 se exhiben las características macroscópicas de los cultivos de las especies mencionadas.

Los recuentos promedio anuales (RPA) y las densidades relativas (DR) obtenidos luego de la identificación a nivel especie de los aislamientos del primer y segundo año de muestreo se presentan en la Tabla N° 50 y los resultados se observan en la Fig. 109.

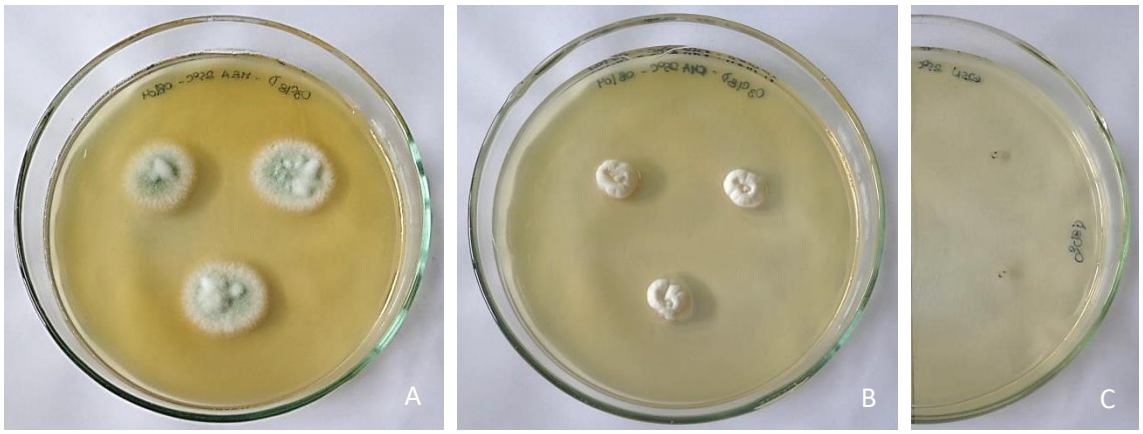


Fig. 105: Características morfológicas de especies de *Penicillium* subgénero *Aspergilloides*. Colonias de *P. restrictum* (cepa O3C18DI14) luego de 7 días de incubación en medio MEA 25°C (A), CYA 25°C (B) y G25N 25°C (C).

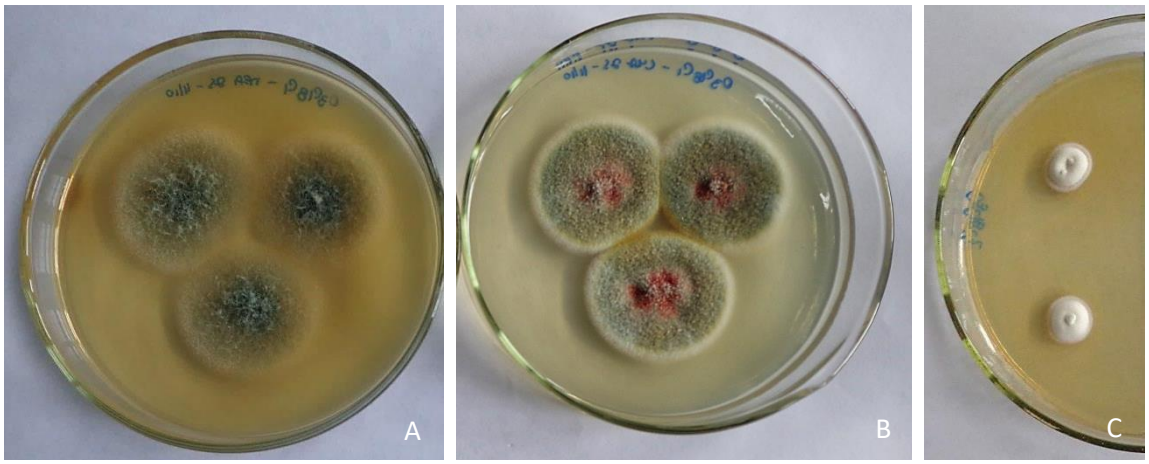


Fig. 106: Características morfológicas de especies de *Penicillium* subgénero *Biverticillium.* Colonias de *P. funiculosum* (cepa O3C18C1I15) luego de 7 días de incubación en medio MEA 25°C (A), CYA 25°C (B) y MEA 37°C (C).

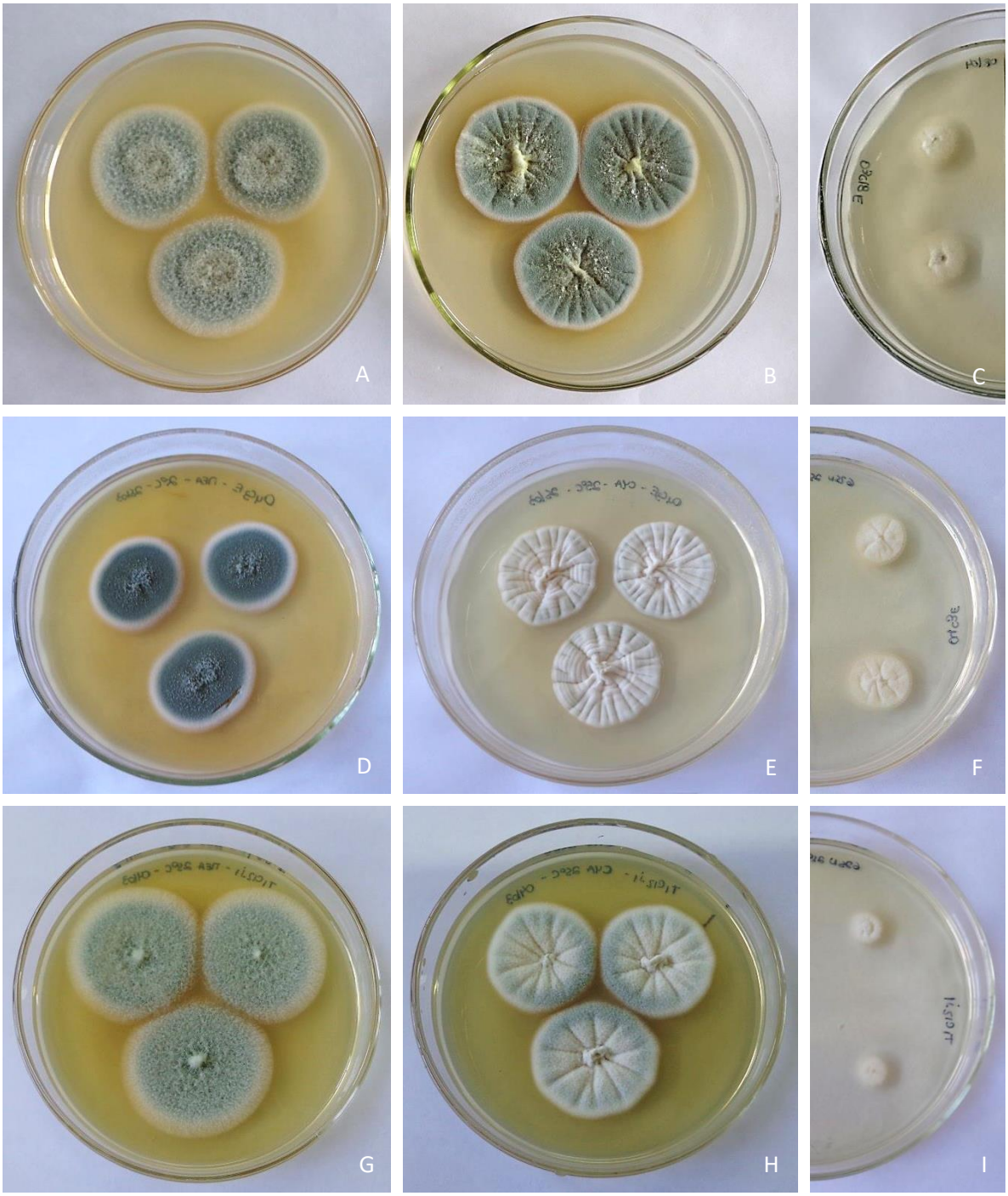


Fig. 107: Características morfológicas de especies de *Penicillium* subgénero *Furcatum* luego de 7 días de incubación en medio MEA 25°C (primer columna), CYA 25°C (segunda columna) y G25N 25°C (tercer columna). Colonias de *P. canescens* (cepa O3C18EO14) (A, B, C), *P. janczewski* (cepa O4C3EV15) (D, E, F) y *P. raistrickii* (cepa T1C12J1O14) (G, H, I).

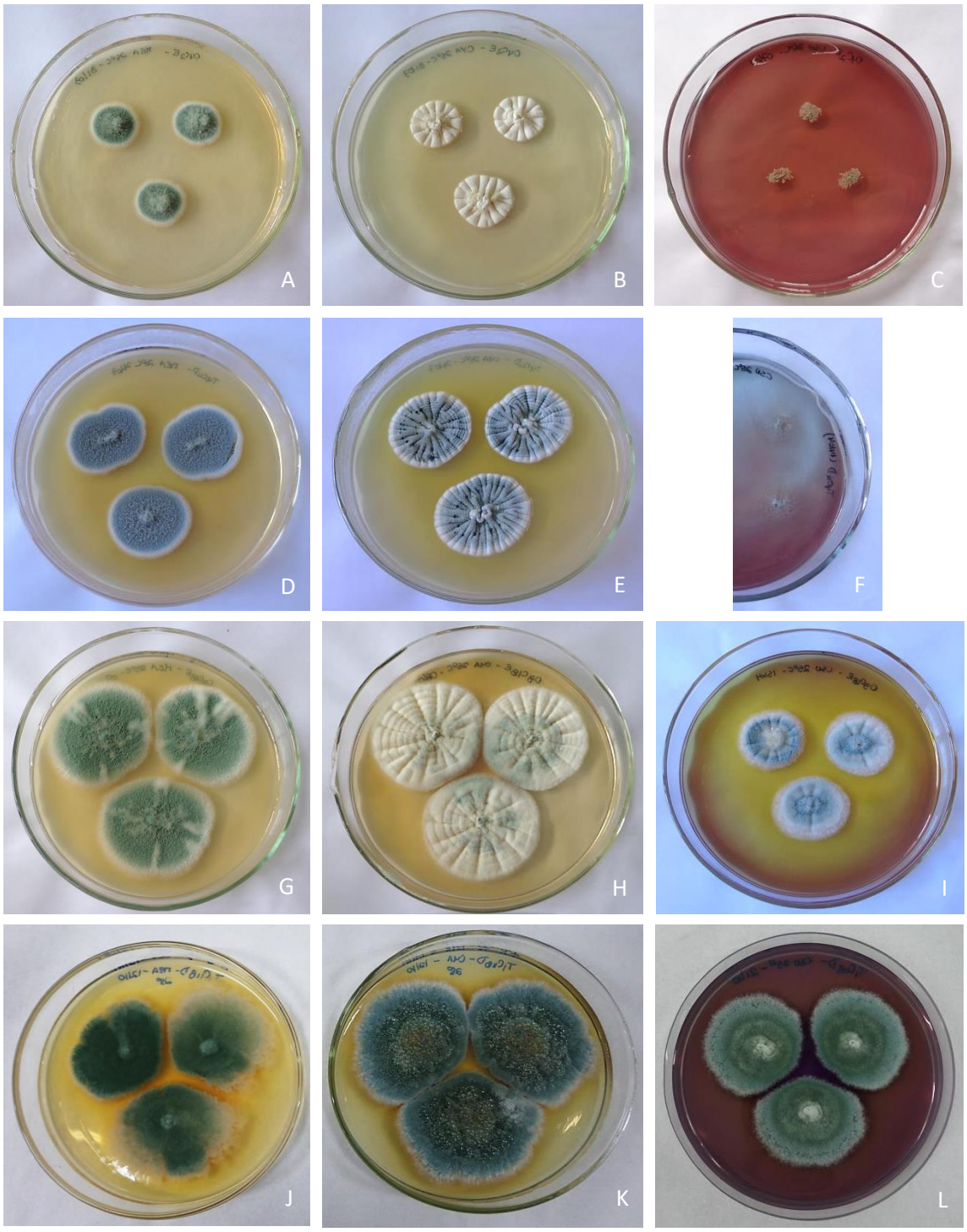


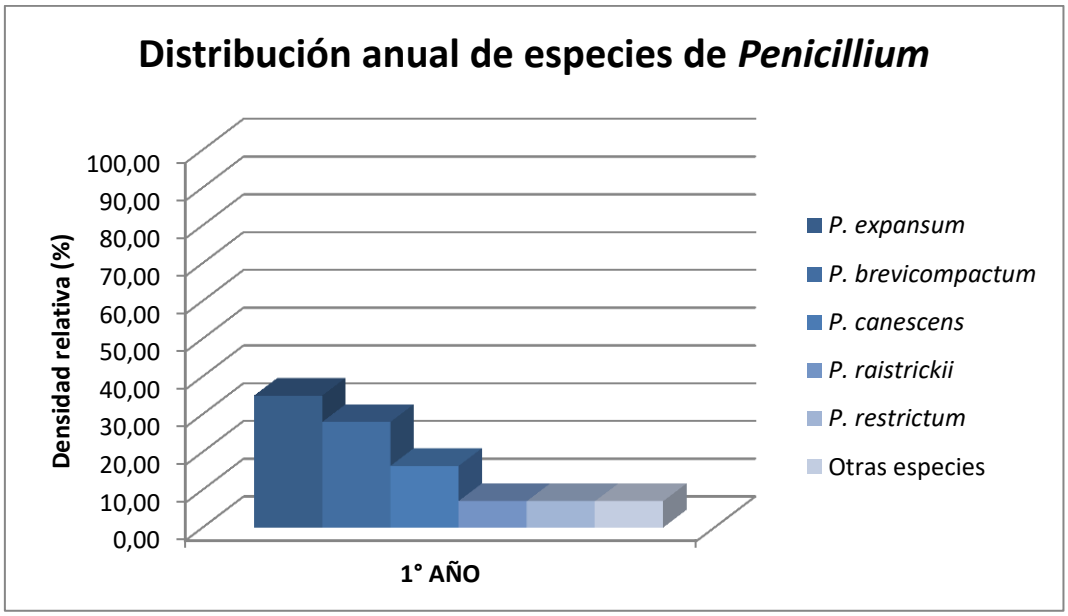
Fig. 108: Características morfológicas de especies de *Penicillium* subgénero *Penicillium* luego de 7 días de incubación en medio MEA 25°C (primer columna), CYA 25°C (segunda columna) y CSN 25°C (tercer columna). Colonias de *P. brevicompactum* (cepa O4C2EO14) (A, B, C), *P. chrysogenum* (cepa T4C11DV15) (D, E, F), *P. expansum* (cepa O3C18EI14) (G, H, I) y *P. paneum* (cepa T1C11BDO15) (J, K, L).

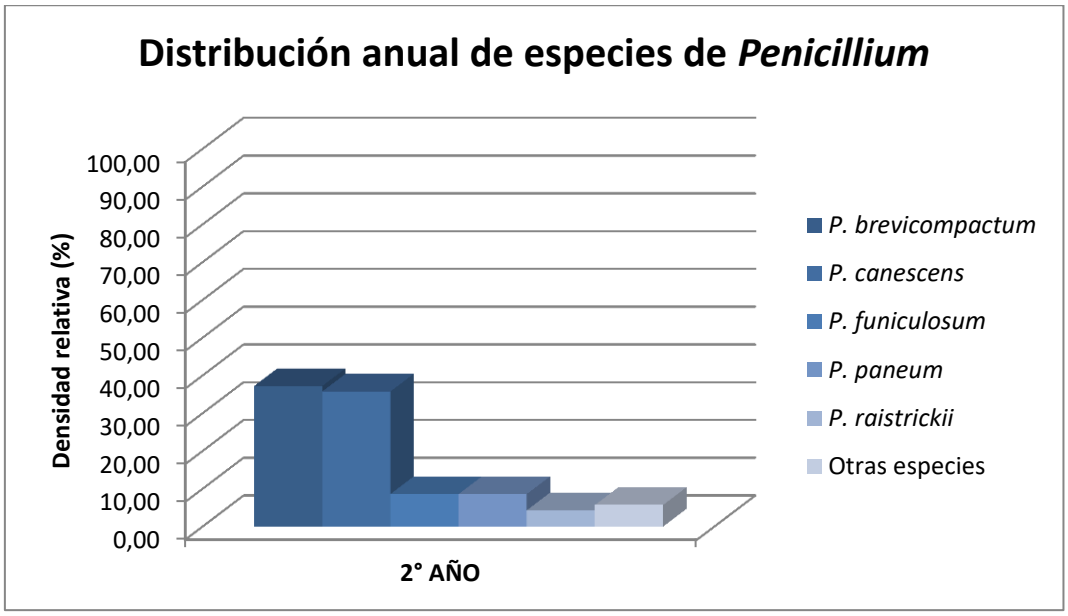
Tabla N° 50: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de las especies de *Penicillium* halladas en los dos primeros años de muestreo.

	1° AÑO		2° AÑO	
Especies	RPA	**DR**	RPA	**DR**
P. brevicompactum	13	**28,57**	26	**37,50**
P. canescens	8	**17,14**	25	**35,71**
P. chrysogenum	1	**2,86**	ND	**ND**
P. expansum	15	**34,28**	1	**1,79**
P. funiculosum	ND	**ND**	5	**7,14**
P. janczewski	1	**2,86**	ND	**ND**
P. paneum	ND	**ND**	6	**8,93**
P. raistrickii	3	**5,71**	3	**3,57**
P. restrictum	3	**5,71**	ND	**ND**
P. solitum	1	**2,86**	1	**1,79**
P. verrucosum	ND	**ND**	1	**1,79**
P. sp.	ND	**ND**	1	**1,79**

ND: No determinado

Fig. 109: Densidades relativas de las especies de *Penicillium* halladas en los dos primeros años de muestreo.





4.2.4 Especies de los géneros *Aspergillus* y *Eurotium*

Las especies de ambos géneros fueron identificadas según la metodología y clave propuesta por Pitt y Hocking (2009). De esta manera se analizaron morfológicamente 6 aislamientos de *Aspergillus* y 5 de *Eurotium* pertenecientes al primer año de muestreo y 5 aislamientos de *Aspergillus* pertenecientes al segundo año.

Con respecto a *Aspergillus*, en ambos años de muestreo se hallaron las especies *A. niger*, *A. versicolor* y *A.* sp.. Las especies *A. sydowii* y *A. wentii* sólo fueron determinadas en el primer año.

Las especies predominantes durante el primer año fueron *A. versicolor* y *A. wentii* y en el segundo año *A. niger* fue la más hallada.

Con respecto a *Eurotium*, todos los aislamientos se identificaron como *E. chevalieri* y sólo fueron determinados en el primer año de muestreo.

En las Fig. 110 y 111 se exhiben las características macroscópicas de los cultivos de las especies de ambos géneros mencionadas.

Los recuentos promedio anuales (RPA) y las densidades relativas (DR) obtenidas luego de la identificación a nivel especie de los aislamientos del primer y segundo año de muestreo se presentan en la Tabla N° 51 y los resultados se observan en las Fig. 112.

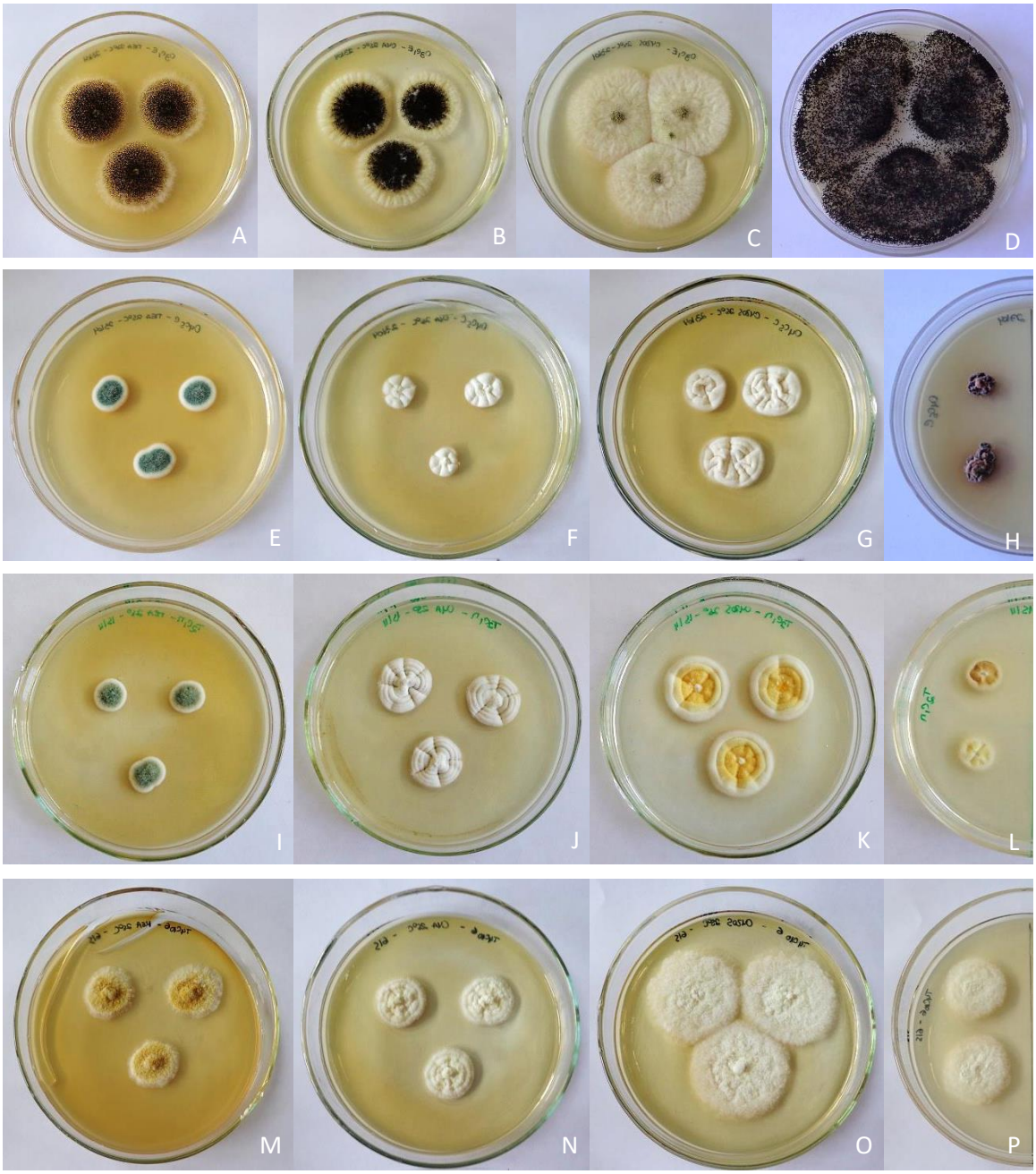


Fig. 110: Características morfológicas de especies de *Aspergillus* luego de 7 días de incubación en medio MEA 25°C (primer columna), CYA 25°C (segunda columna), CY20S 25°C (tercer columna) y CYA 37°C (cuarta columna). Colonias de *A. niger* (cepa O3C1EV15) (A, B, C, D), *A. sydowii* (cepa O4C5CI14) (E, F, G, H), *A. versicolor* (cepa T2C1MP15) (I, J, K, L) y *A. wentii* (cepa T4C10GV15) (M, N, O, P).

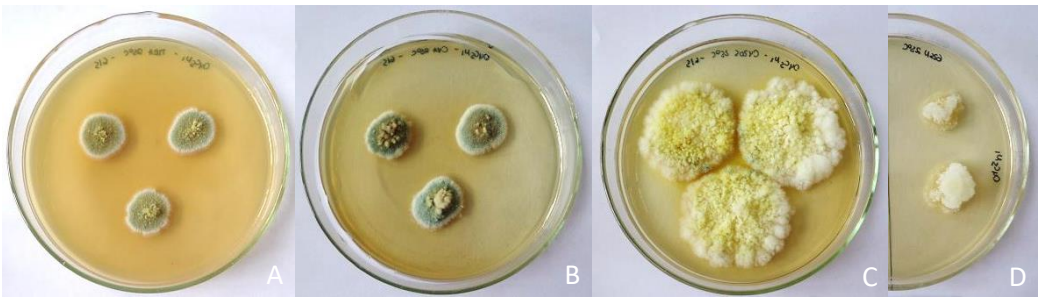


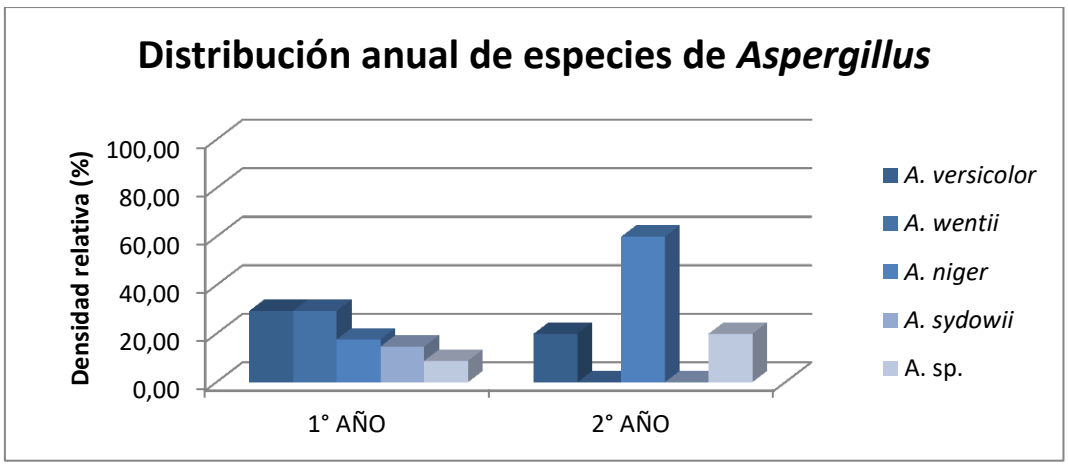
Fig. 111: Características morfológicas de especies de *Eurotium*. Colonias de *E. chevalieri* de la cepa O4C5N1I14 luego de 7 días de incubación en medio MEA 25°C (A), CYA 25°C (B), CY20S 25°C (C) y G25N 25°C (D).

Tabla N° 51: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de las especies de *Aspergillus* halladas en los dos primeros años de muestreo.

	1° AÑO		2° AÑO	
Especies	RPA	**DR**	RPA	**DR**
A. niger	2	**17,65**	4	**60,00**
A. sydowii	1	**14,71**	ND	**ND**
A. versicolor	3	**29,41**	1	**20,00**
A. wentii	3	**29,41**	ND	**ND**
A. sp.	1	**8,82**	1	**20,00**

ND: No Determinado

Fig. 112: Densidades relativas de las especies de *Aspergillus* halladas en los dos primeros años de muestreo.



4.2.6 Especies de los géneros *Stemphylium* y *Pleospora*

Se llevó a cabo la identificación a nivel especie de 8 aislamientos pertenecientes al primer año de muestreo y 3 aislamientos pertenecientes al segundo año de muestreo. Para ello se realizó un análisis y caracterización morfológica a nivel macroscópico y microscópico y luego se llevó a cabo un estudio molecular y filogenético empleando el gen EF1-α.

Análisis y caracterización morfológica de los aislamientos:

Se realizó la identificación morfológica en base a observaciones macroscópicas y microscópicas de las colonias de los 11 aislamientos en medio PDA, V8 y PZA.

Características macroscópicas:

PDA: presentan un micelio de color amarronado con abundante micelio aéreo blanco con tintes amarillentos y amarronados que le da un aspecto flocoso o algodonoso. La colonia es elevada y alcanza un diámetro aproximado de 4,6 cm luego de 14 días de incubación en las condiciones establecidas con márgenes blancos y regulares. Algunos aislamientos pueden producir pigmentos solubles que tiñen de un color anaranjado-rojizo el medio de cultivo (Fig. 113 A-C).

De los 11 aislamientos bajo estudio, 9 desarrollaron al cabo de 3 semanas pseudotecios que maduraron aproximadamente 9 meses después de la inoculación en el medio liberando ascosporas maduras cuyas características microscópicas se describirán posteriormente.

V8: presentan un micelio marrón oscuro con abundante micelio aéreo blanco que le otorga un aspecto flocoso o algodonoso. La colonia alcanza un diámetro de aproximado de 6,3 cm luego de 14 días de incubación en las condiciones establecidas y al cabo de tres semanas ocupa todo el diámetro de una placa de Petri de 90 mm. En ocasiones pueden presentar un aspecto radiado y sus márgenes son incoloros y

regulares. Al igual que en las placas de PDA 9 de 11 aislamientos desarrollaron al cabo de 3 semanas pseudotecios en abundancia (Fig. 113 D).

PZA: presentan un micelio marrón pálido con abundante micelio aéreo blanco sólo en el centro de la colonia brindándole un aspecto flocoso o algodonoso. Luego el micelio que se extiende por fuera del centro es blanquecino o incoloro sin micelio aéreo. La colonia alcanza un diámetro de aproximado de 5,8 cm luego de 14 días de incubación en las condiciones establecidas y al igual que en V8, al cabo de tres semanas ocupa todo el diámetro de una placa de Petri de 90 mm. Como sucede en los otros medios de cultivo 9 de 11 aislamientos desarrollaron al cabo de 3 semanas pseudotecios en abundancia (Fig. 113 E).

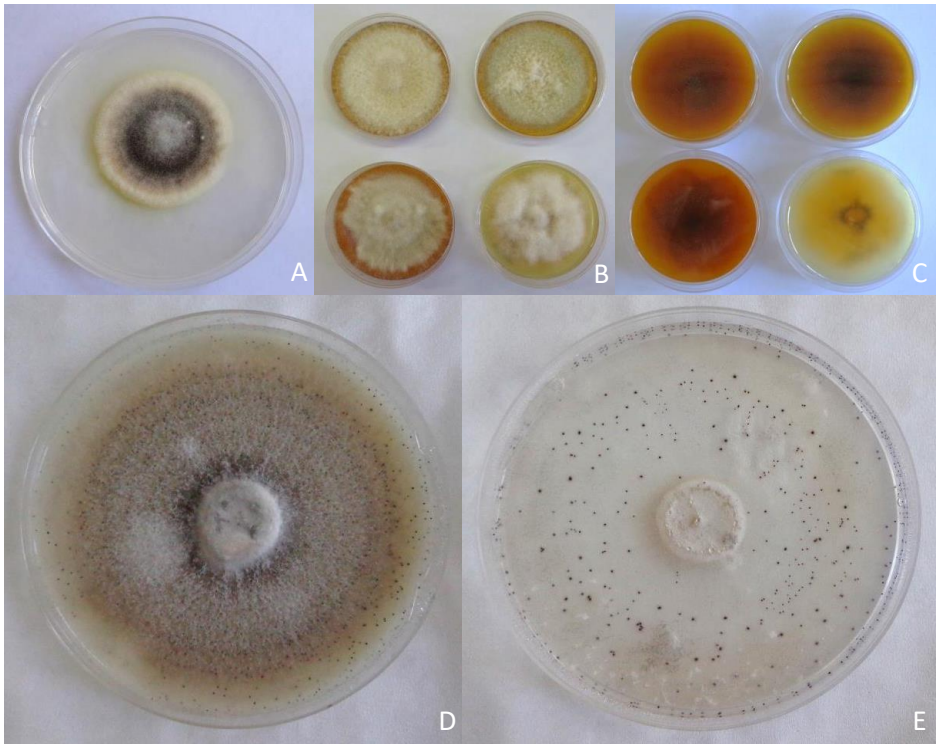


Fig. 113: Características morfológicas de *S. vesicarium* y *P. alli*. Colonias de *S. vesicarium* (cepa O3C18D1P14) luego de 14 días de incubación en medio PDA (A). Colonias de *P. alli* (cepas T1C12GO14; T2C2EO14; O3C5JP14; T2C4EI15) luego de 14 días de incubación en medio PDA, frente y reverso (B-C). Colonias de *P. alli* (cepa T2C2EO14) luego de 21 días de incubación en medio V8 (D) y en medio PZA (E) presentando pseudotecios.

Características microscópicas:

La observación microscópica de los conidios se realizó en medio PZA luego de 14-21 días de incubación debido a la lenta esporulación de los aislamientos. Los mismos se presentan de forma solitaria sostenidos sobre conidióforos septados y no ramificados. Su forma es oblonga o elipsoide con medidas de 15-32 µm de largo por 8-15 µm de ancho. El ápice suele ser redondeado y presentan 1-3 septos transversales que suelen ocasionar una constricción central y múltiples septos longitudinales. El color es marrón oscuro y su pared es densamente verrucosa (Fig. 114 A-B).

En cuanto a las ascosporas, la descripción se llevó a cabo en medio PDA y las mismas tardaron un período aproximado de 8-9 meses en madurar y liberarse de los pseudotecios. Los pseudotecios suelen presentar una forma redondeada u ovalada y tienen 1-2 mm de diámetro). Son fácilmente observables a simple vista y su color es marrón oscuro o negruzco (Fig. 114 C). Los ascos son hialinos y contienen 8 ascosporas oblongas o elipsoidales de un color marrón oscuro que miden 32-35 µm de largo por 10-12 µm de ancho. Pueden presentar hasta 6 septos transversales y múltiples septos longitudinales (Fig. 114 D).

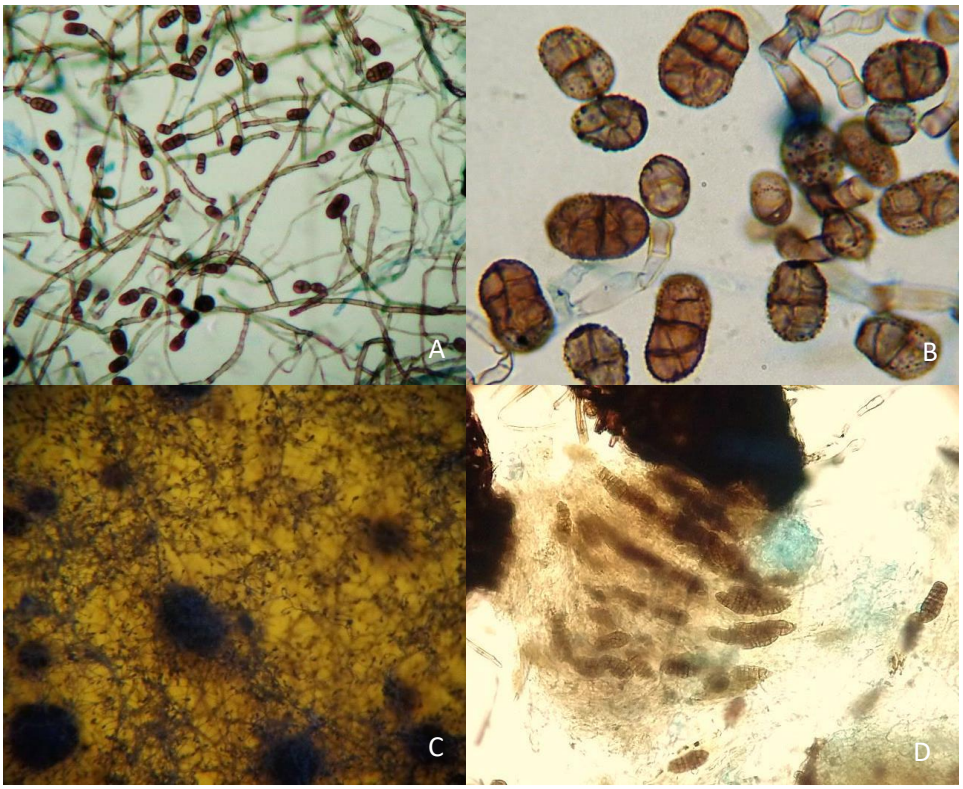


Fig. 114: Características microscópicas de *S. vesicarium* y *P. alli*. Conidios de *S. vesicarium* (cepa O3C18D1P14) luego de 14 días en medio PZA (A: 100X, B: 1000X); pseudotecios de *P. alli* (cepa T2C2EO14) luego de 14 días en medio V8 (C: 40X) y ascosporas de *P. alli* (cepa T2C2EO14) liberándose de un pseudotecio maduro luego de 9 meses de incubación en medio PDA (D: 400X).

Análisis molecular

Se logró la amplificación de los fragmentos de EF1-α de los 11 aislamientos analizados, obteniéndose un fragmento de aproximadamente 250 pb. Las secuencias se incluyen en el Anexo III y a continuación se presenta una imagen de la corrida electroforética de los amplicones (Fig. 115).

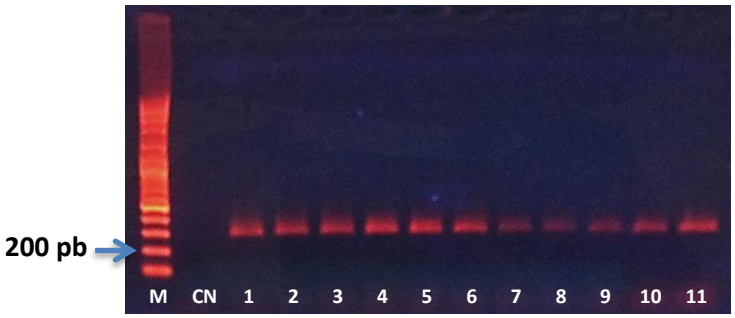


Fig. 115: Gel de agarosa exhibiendo los fragmentos amplificados del gen EF1-α por PCR utilizando los primers EF1-728F y EF1-986R. M: Marcador de PM de 100 pb; CN: Control negativo; Muestras 1-11. B.

Debido al hallazgo de pseudotecios durante el análisis morfológico de las colonias, se incluyeron en el análisis filogenético todas las secuencias del gen EF1-α que existieran en GenBank para las especies de referencia del teleomorfo *Pleospora*.

El análisis filogenético basado en el gen resultó en una muy buena discriminación de los aislamientos incluidos en este estudio y de las cepas de referencia entre sí. Así se pudo confirmar con fuerte apoyo la identidad de los 11 aislamientos bajo estudio que resultaron pertenecer a la especie *S. vesicarium* (Fig. 116).

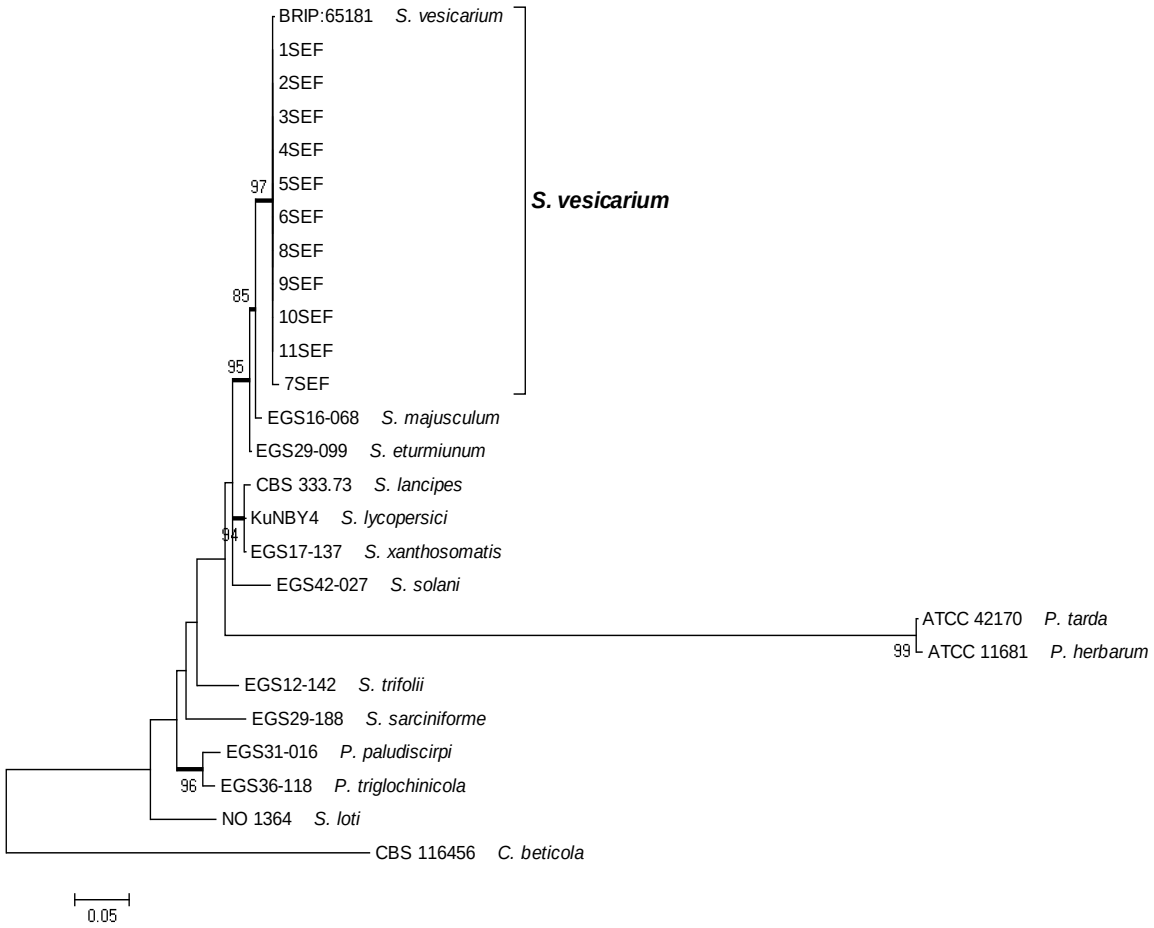
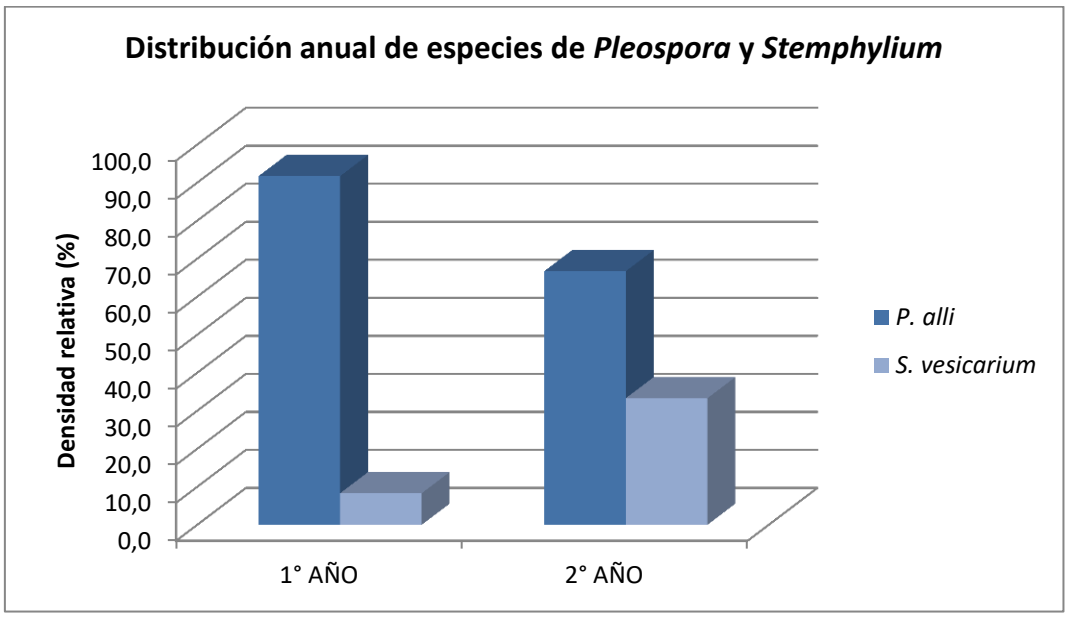


Fig. 116: Árbol filogenético basado en el gen EF1-α obtenido por el método "Maximum Likelihood" exhibiendo el análisis de los 11 aislamientos de *Stemphylium* y *Pleospora* junto a las especies de referencia respectivas. *Cercospora beticola* (CBS:116456) fue utilizada como grupo externo para enraizar el árbol. Las líneas engrosadas representan linajes con valores de "bootstrap" superiores al 85% (el análisis de "bootstrap" consistió en 1000 repeticiones).

Dado que 9 de los 11 aislamientos presentaron desarrollo de pseudotecios con ascosporas maduras en los medios de cultivo descriptos podemos afirmar que los mismos pertenecen al teleomorfo *Pleospora alli*, del cual no existen en GenBank secuencias correspondientes al gen EF1-α, razón por la cual no se lo pudo incluir como cepa de referencia en el estudio filogenético. Estos resultados apoyan la caracterización morfológica llevada a cabo.

De esta forma 1 de los 8 aislamientos obtenidos en el primer año de muestreo pertenecen al anamorfo *S. vesicarium* y los 7 restantes al teleomorfo *Pleospora alli* mientras que, de los 3 aislamientos recolectados durante el segundo año, 2 correponden a *S. vesicarium* y uno a *Pleospora alli* como se observa en la Fig. 117.

Fig. 117: Densidades relativas de las especies de *Stemphylium* y *Pleospora* halladas en los dos primeros años de muestreo.



4.2.7 Especies del género *Phoma*:

Se llevó a cabo la identificación morfológica de 13 aislamientos de *Phoma* pertenecientes al primer año de muestreo y 12 aislamientos pertenecientes al segundo año según la metodología y clave propuestas por Boerema y col. (2004). Luego se seleccionaron 20 aislamientos y se realizó un análisis molecular basado en los genes de la región ribosomal ITS y actina.

Se logró amplificar la región ITS de los 20 aislamientos obteniéndose un fragmento de aproximadamente 530-600 pares de bases como se aprecia en la Fig. 118, cuyas secuencias se encuentran en el Anexo III.

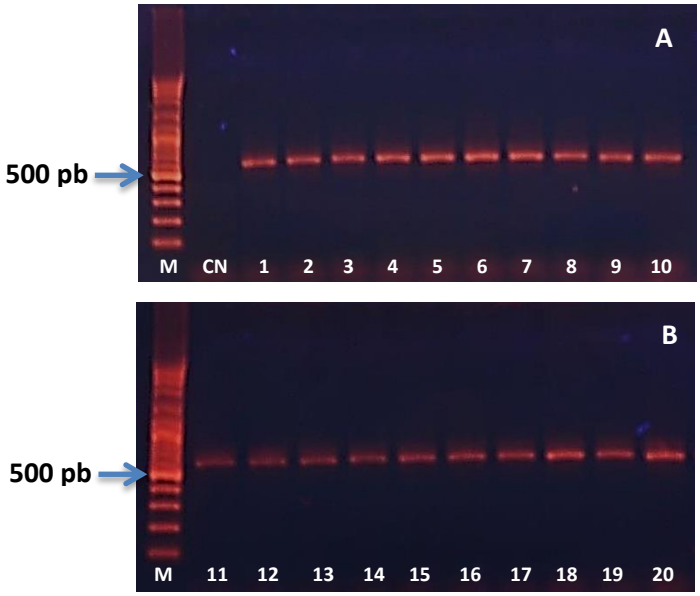


Fig. 118: Gel de agarosa exhibiendo los fragmentos amplificados de la región ribosomal ITS por PCR utilizando los primers ITS1 e ITS4. A: M: Marcador de PM de 100 pb; CN: Control negativo; Muestras 1-10. B: M: Marcador de PM de 100 pb; Muestras 11-20.

El análisis basado en los genes ribosomales resulta en una buena discriminación de las especies de *Phoma* pertenecientes a las 9 secciones descriptas morfológicamente por Boerema y col. (2004) entre sí. Se logró confirmar con fuerte apoyo la identidad de las especies de *P. aliena*, *P. betae* y *P. medicaginis*. Los aislamientos alojados en el clado de *P. glomerata* no arrojaron valores de "bootstrap" que permitieran confirmar su identidad. Los aislamientos 5P y 12P componen un clado definido que no abarca ninguna de las secciones de *Phoma* compuestas por las especies de referencia utilizadas y los aislamientos 9P y 15P parecen estar cercanos evolutivamente entre sí pero al igual que en el caso anterior no se alojaron dentro de los clados de las especies de referencia como se puede observar en la Fig. 119.

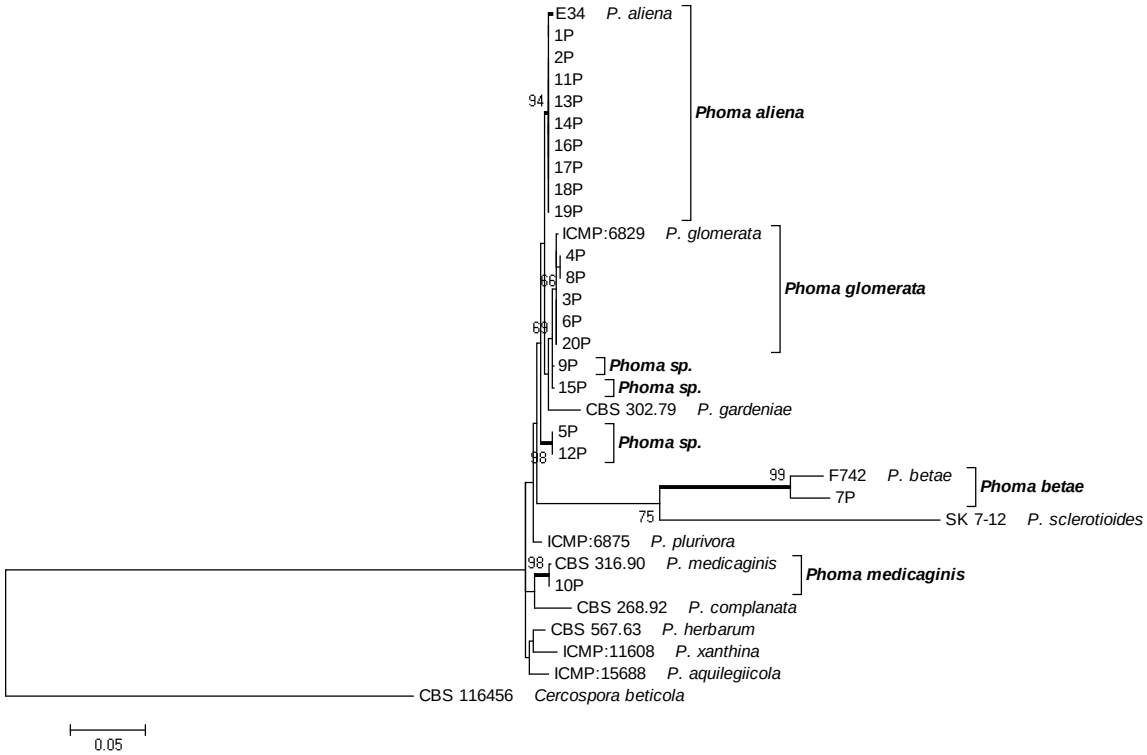


Fig. 119: Árbol filogenético basado en la región ITS obtenido por el método "Maximum Likelihood" exhibiendo el análisis de los 20 aislamientos de *Phoma* junto a las especies de referencia respectivas. *Cercospora beticola* (CBS:116456) fue utilizada como grupo externo para enraizar el árbol. Las líneas engrosadas representan linajes con valores de "bootstrap" superiores al 85% (el análisis de "bootstrap" consistió en 1000 repeticiones).

Posteriormente se llevó a cabo un análisis molecular basado en el gen de actina de los aislamientos 4P y 6P del clado de *P. glomerata* junto con los aislamientos 5P, 9P, 12P y 15P para poder confirmar la identidad de los mismos. Se logró amplificar la región de este gen en los 6 aislamientos obteniéndose un fragmento de 240-270 pb aproximadamente como se observa en la Fig. 120.

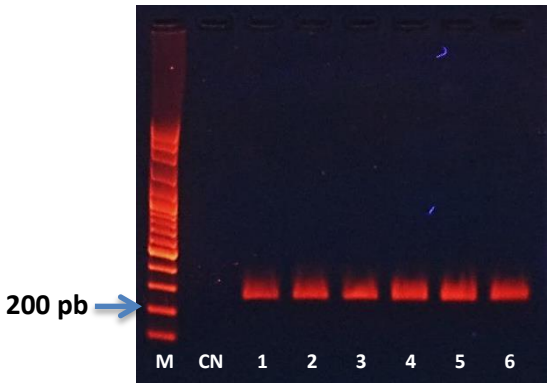


Fig. 120: Gel de agarosa exhibiendo los fragmentos amplificados del gen de actina por PCR utilizando los primers ACT-512F y ACT-783R. M: Marcador de PM de 100 pb; CN: Control negativo; Muestras 1-6.

El árbol filogenético arroja valores de "bootstrap" altos que permiten confirmar la identidad molecular de los aislamientos 4P y 6P como *P. glomerata* reforzando así el resultado registrado en el árbol basado en la región ITS. También aloja dentro de un mismo clado y separado de las especies de referencia a los aislamientos 9P y 15P confirmando su cercanía evolutiva. Sin embargo, a diferencia de ITS aquí los aislamientos 5P y 12P parecen alejarse entre sí (Fig. 121).

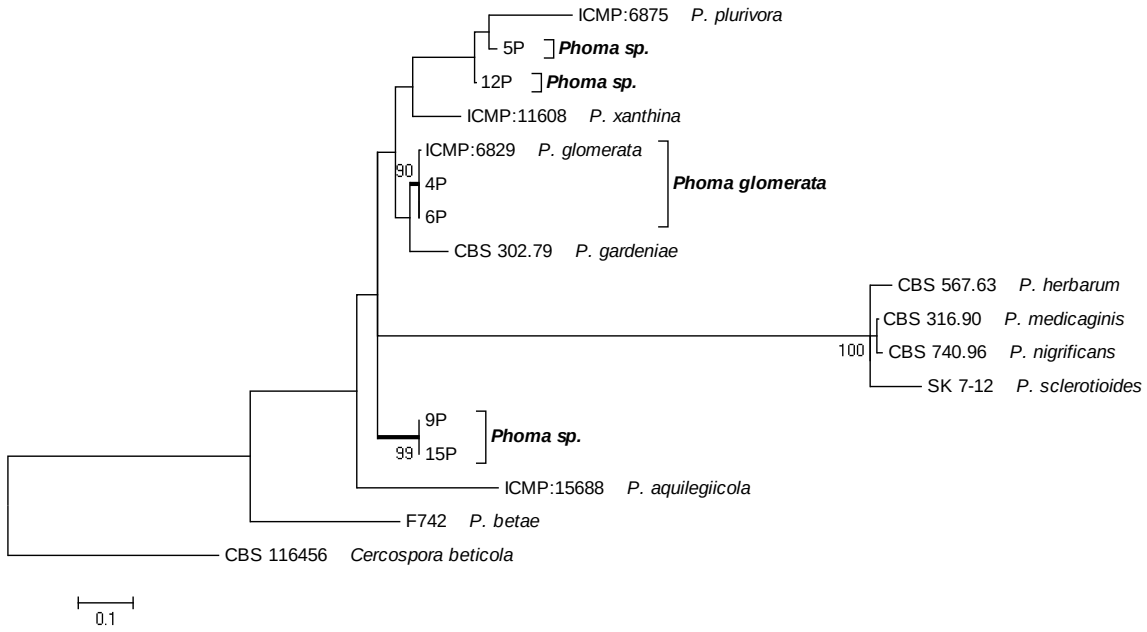


Fig. 121: Árbol filogenético basado en el gen de actina obtenido por el método "Maximum Likelihood" exhibiendo el análisis de los 6 aislamientos de *Phoma* junto a las especies de referencia respectivas. *Cercospora beticola* (CBS:116456) fue utilizada como grupo externo para enraizar el árbol. Las líneas engrosadas representan linajes con valores de "bootstrap" superiores al 85% (el análisis de "bootstrap" consistió en 1000 repeticiones).

Finalmente se procedió a realizar un análisis concatenado de ambas regiones génicas empleando los 6 aislamientos. En cuanto a las especies de referencia empleadas no se hallaron aislamientos en GenBank pertenecientes a la sección *Sclerophomella* que tuvieran ampificadas ambas regiones génicas por lo cual esta sección no se encuentra representada en el árbol. Se pudo confirmar la identidad de los aislamientos de la especie *P. glomerata* pero no así de los aislamientos 5P, 9P, 12P y 15P que fueron nombrados como *P.* sp.. Cabe destacar que 9P y 15P componen un clado definido y 5P y 12P componen otro distinto con fuertes valores de boostrap superiores al 85%. Los resultados se pueden observar en la Fig. 122.

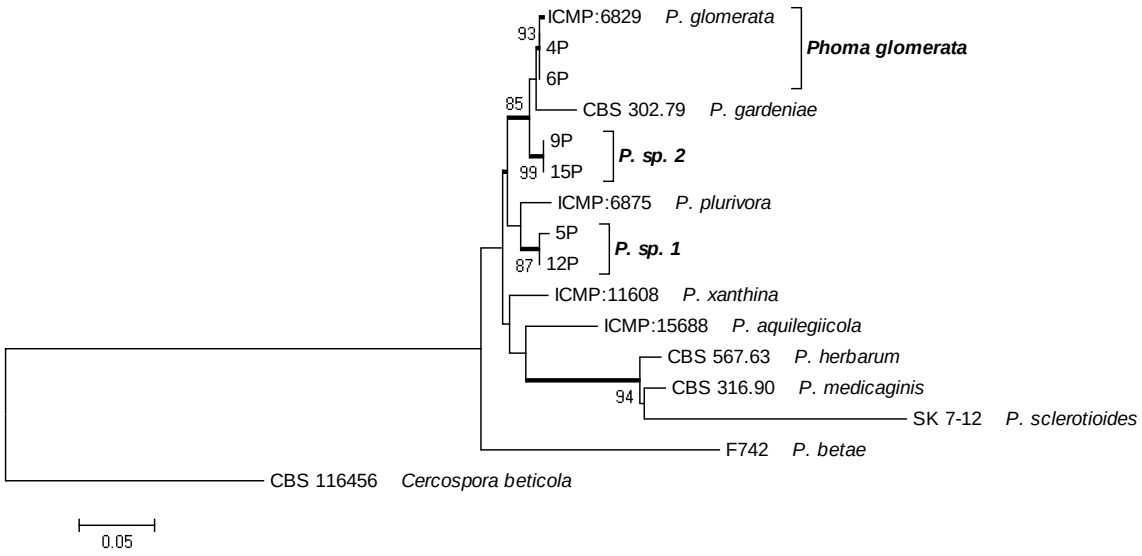


Fig. 122: Árbol filogenético concatenado de los genes ITS y actina obtenido por el método "Maximum Likelihood" exhibiendo el análisis de los 6 aislamientos de *Phoma* bajo estudio junto a las especies de referencia respectivas. *Cercospora beticola* (CBS:116456) fue utilizada como grupo externo para enraizar el árbol. Las líneas engrosadas representan linajes con valores de "bootstrap" superiores al 85% (el análisis de "bootstrap" consistió en 1000 repeticiones).

Los resultados obtenidos del análisis molecular apoyan la identificación morfológica llevada a cabo lo cual permitió determinar las frecuencias de aislamiento de las especies de *Phoma* en los dos primeros años de muestreo realizado.

En ambos años se hallaron las especies *P. aliena* y *P. glomerata* (Fig. 123). Las especies *P. betae* y *P. medicaginis* fueron halladas únicamente durante el segundo año de muestreo. La especie predominante fue *P. aliena* durante el primer año mientras que en el segundo año lo fue *P. glomerata*.

Se presentan en la Tabla N° 52 los recuentos promedio anuales (RPA) y las densidades relativas (DR) de las especies obtenidas por cada año de muestreo y los resultados se observan en la Fig. 124.

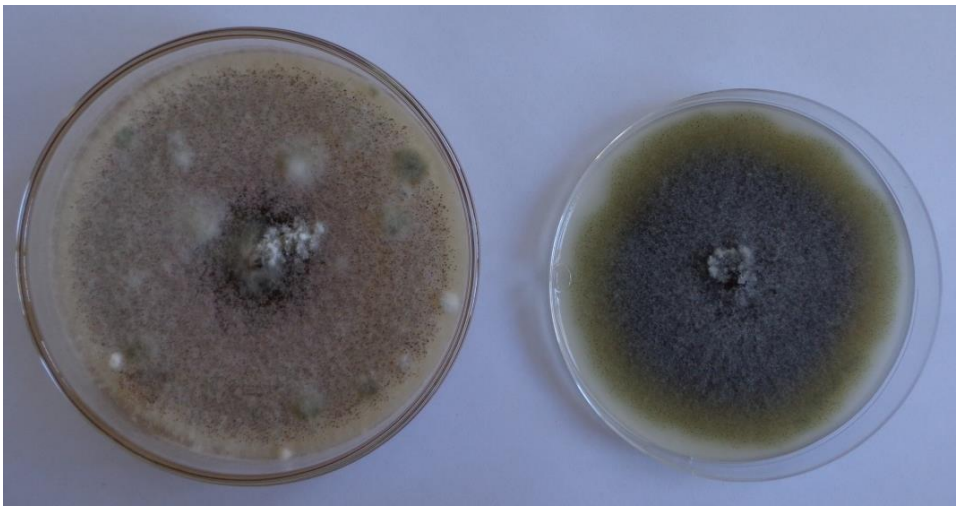


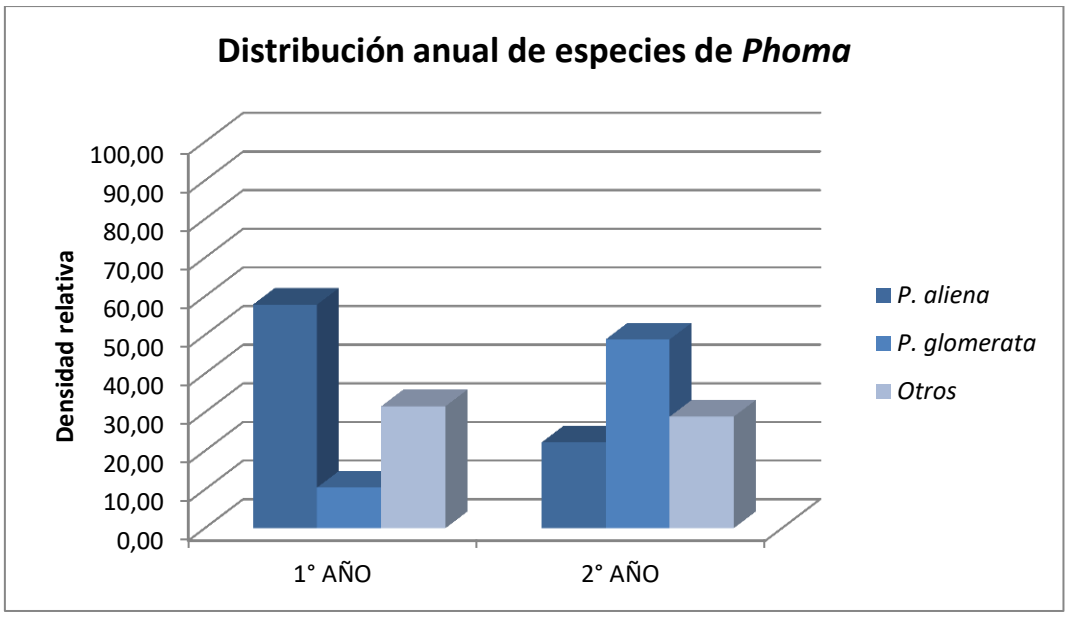
Fig. 123: Características morfológicas de *P. glomerata*. Colonias de la cepa O4C5HP14 luego de 14 días de incubación en medio MEA (izq.) y en medio OA (der.).

Tabla N° 52: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de las especies de *Phoma* halladas en los dos primeros años de muestreo.

	1° AÑO		2° AÑO	
Especies	RPA	**DR**	RPA	**DR**
P. aliena	14	**57,89**	5	**22,22**
P. betae	ND	**ND**	1	**5,56**
P. glomerata	3	**10,53**	11	**48,89**
P. medicaginis	ND	**ND**	1	**5,56**
P. sp.	8	**31,58**	4	**17,78**

ND: No Determinado

Fig. 124: Densidades relativas de las especies de *Phoma* halladas en los dos primeros años de muestreo.



4.3 Determinación de la concentración, densidad y distribución geográfica, estacional y por sistema productivo de las especies halladas

4.3.1 Determinación de la concentración, densidad y distribución anual de especies

Se halló una gran diversidad de especies fúngicas en cada año de muestreo realizado determinándose al menos 40 especies en el primero y al menos 38 en el segundo.

En los dos años se determinaron las especies *Alternaria alternata*, *A. arborescens*, *A. tenuissima*, *Aspergillus niger*, *A. versicolor*, *Cladosporium aggregatocicatricatum*, *C. asperulatum*, *C. cladosporioides*, *C. limoniforme*, *C. macrocarpum*, *C. pseudocladosporioides*, *C. ramotenellum*, *C. subtilissimum*, *C. tenellum*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium acuminatum*, *F. proliferatum*, *F. semitectum*, *F. sporotrichioides*, *Penicillium brevicompactum*, *P. canescens*, *P. expansum*, *P. raistrickii*, *P. solitum*, *Phoma aliena*, *P. glomerata* y *Pleospora alli*.

Sólo en el primer año se hallaron las especies *Aspergillus sydowii*, *A. wentii*, *Cladosporium allicinum*, *Eurotium chevalieri*, *Fusarium compactum*, *F. crookwellense*, *F. dlamini*, *F. poae*, *F. solani*, *Penicillium chrysogenum*, *P. janczewsky*, *P. restrictum* y *Stemphylium vesicarium*. Sólo en el segundo año se determinaron las especies *Fusarium chlamydosporum*, *F. oxysporum*, *F. polyphialidicum*, *F. reticulatum*, *F. sambucinum*, *F. verticillioides*, *P. funiculosum*, *P. paneum*, *P. verrucosum*, *Phoma betae* y *P. medicaginis*.

La especie de mayor importancia en cada año fue *C. cladosporioides* (37,68 – 34,87%) seguida, en segundo y tercer lugar, por *A. tenuissima* (9,94 – 13,43%) y *C. limoniforme* (28,40 – 12,97%) en el primer año, mientras que en el segundo el orden se invirtió. La cuarta especie más abundante fue *C. asperulatum* en ambos años (9,55 – 12,18%). En quinto lugar de predominancia fue determinada *C. subtilissimum* (3,16%) en el primer año y *C. pseudocladosporioides* (8,74%) en el segundo.

En la Tabla N° 53 se detallan las especies determinadas en los dos años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas y en la Fig. N° 125 se observan los resultados.

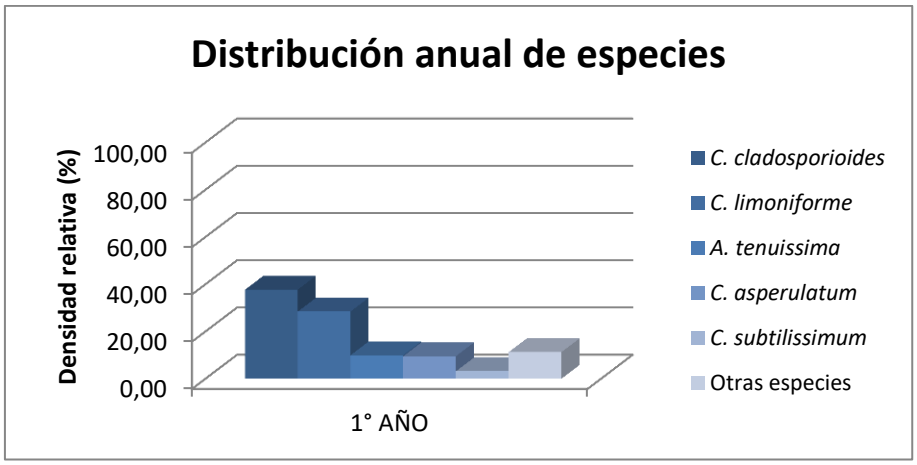
Tabla N° 53: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de las especies halladas en cada año de muestreo.

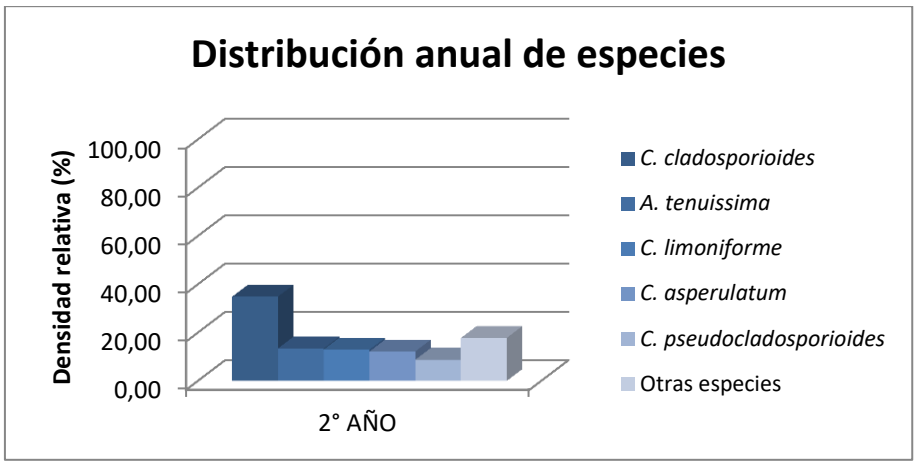
	1° AÑO		2° AÑO	
Especies	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Alternaria alternata	233	**1,16**	419	**2,58**
A. arborescens	158	**0,78**	49	**0,30**
A. tenuissima	2004	**9,94**	2181	**13,43**
A. sp.	3	**0,01**	59	**0,36**
Aspergillus niger	2	**0,01**	4	**0,02**
A. sydowii	1	**0,01**	ND	**ND**
A. versicolor	3	**0,01**	1	**0,01**
A. wentii	3	**0,01**	ND	**ND**
A. sp.	1	**0,01**	1	**0,01**
Cladosporium aggregatocicatricatum	136	**0,67**	563	**3,47**
C. allicinum	373	**1,85**	ND	**ND**
C. asperulatum	1925	**9,55**	1979	**12,18**
C. cladosporioides	7600	**37,68**	5664	**34,87**
C. limoniforme	5728	**28,40**	2107	**12,97**
C. macrocarpum	26	**0,13**	26	**0,16**
C. pseudocladosporioides	51	**0,25**	1420	**8,74**
C. ramotenellum	34	**0,17**	93	**0,57**
C. subtilissimum	638	**3,16**	96	**0,59**
C. tenellum	342	**1,69**	360	**2,22**
C. sp.	211	**1,05**	142	**0,88**
Epicoccum nigrum	486	**2,41**	826	**5,08**
Eurotium chevalieri	8	**0,04**	ND	**ND**
Fusarium acuminatum	1	**0,006**	18	**0,11**
F. chlamydosporum	ND	**ND**	1	**0,01**

F. compactum	9	**0,04**	ND	**ND**
F. crookwellense	10	**0,05**	ND	**ND**
F. dlamini	2	**0,01**	ND	**ND**
F. oxysporum	ND	**ND**	3	**0,02**
F. poae	3	**0,01**	ND	**ND**
F. polyphialidicum	ND	**ND**	6	**0,04**
F. proliferatum	9	**0,04**	4	**0,02**
F. reticulatum	ND	**ND**	3	**0,02**
F. sambucinum	ND	**ND**	3	**0,02**
F. semitectum	31	**0,15**	32	**0,20**
F. solani	3	**0,01**	ND	**ND**
F. sporotrichioides	41	**0,20**	80	**0,49**
F. verticillioides	ND	**ND**	1	**0,01**
F. sp.	9	**0,04**	1	**0,01**
Penicillium brevicompactum	13	**0,06**	26	**0,16**
P. canescens	8	**0,04**	25	**0,15**
P. chrysogenum	1	**0,01**	ND	**ND**
P. expansum	15	**0,07**	1	**0,01**
P. funiculosum	ND	**ND**	5	**0,03**
P. janckzewsky	1	**0,01**	ND	**ND**
P. paneum	ND	**ND**	6	**0,04**
P. raistrickii	3	**0,01**	3	**0,02**
P. restrictum	3	**0,01**	ND	**ND**
P. solitum	1	**0,01**	1	**0,01**
P. verrucosum	ND	**ND**	1	**0,01**
P. sp.	ND	**ND**	1	**0,01**
Phoma aliena	14	**0,07**	5	**0,03**
P. betae	ND	**ND**	1	**0,01**
P. glomerata	3	**0,01**	11	**0,07**
P. medicaginis	ND	**ND**	1	**0,01**
P. sp.	8	**0,04**	4	**0,02**
Pleospora alli	11	**0,05**	9	**0,06**
Stemphylium vesicarium	1	**0,01**	ND	**ND**

ND: No Determinado

Fig. 125: Densidades relativas (%) de las cinco especies predominantes en cada año de muestreo.





4.3.2 Determinación de la concentración, densidad y distribución estacional de especies

Estación otoñal

Se hallaron al menos 20 especies fúngicas en el primer año de muestreo y al menos 21 especies en el segundo.

En los dos años se determinaron las especies *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *Cladosporium asperulatum*, *C. cladosporioides*, *C. limoniforme*, *C. subtilissimum*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium proliferatum*, *F. sporotrichioides*, *Penicillium brevicompactum*, *P. canescens* y *P. expansum.*

Sólo en el primer año se hallaron las especies *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium allicinum*, *Fusarium poae*, *F. semitectum*, *F. solani*, *P. raistrickii* y *Pleospora alli*. Sólo en el segundo año se determinaron las especies *Alternaria arborescens*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium aggregatocicatricatum*, *C. macrocarpum*, *C. pseudocladosporioides*, *C. tenellum*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides* y *P. paneum.*

La especie de mayor importancia en cada año fue *C. cladosporioides* (32,67 – 42,22%) seguida por *C. asperulatum* en el primer año (13,85%) y por *C. limoniforme* en el segundo (14,39%). En tercer orden de predominancia fue determinada *A. tenuissima* en el primer año (11,83%) y *C. pseudocladosporioides* (11,90%) en el segundo. La cuarta especie más abundante fue *E. nigrum* en el primer año (9,16%) y *A. tenuissima* en el segundo (10,53%). En quinto orden de importancia fue determinada *C. subtilissimum* (8,90%) en el primer año y *C. asperulatum* (10,21%) en el segundo.

En la Tabla N° 54 se detallan las especies determinadas en los dos años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas y en la Fig. 126 se observan los resultados.

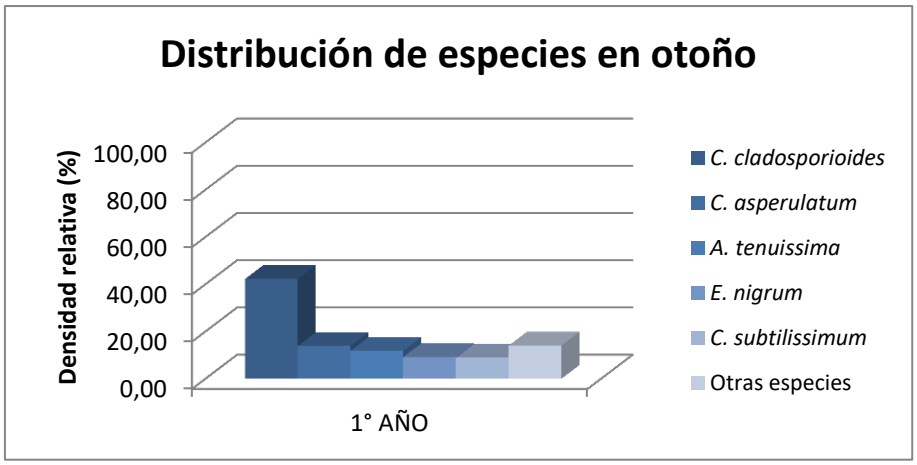
Tabla N° 54: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de las especies halladas en la estación otoñal de cada año de muestreo.

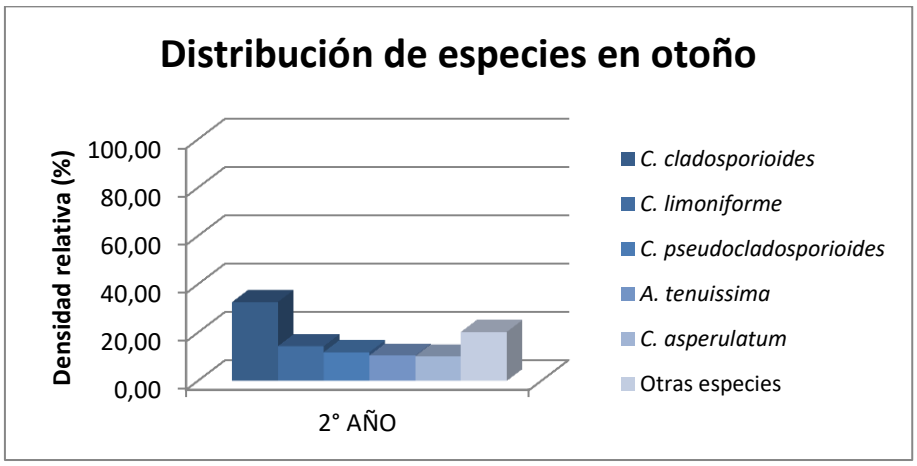
	1° AÑO		2° AÑO	
Especies	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Alternaria alternata	29	**1,05**	153	**2,17**
A. arborescens	ND	**ND**	49	**0,69**
A. tenuissima	328	**11,83**	739	**10,53**
A. sp.	39	**1,41**	25	**0,36**
Aspergillus niger	ND	**ND**	1	**0,01**
A. versicolor	3	**0,11**	ND	**ND**
Cladosporium aggregatocicatricatum	ND	**ND**	573	**8,16**
C. allicinum	68	**2,47**	ND	**ND**
C. asperulatum	384	**13,85**	716	**10,21**
C. cladosporioides	1171	**42,22**	2293	**32,67**
C. limoniforme	214	**7,71**	1009	**14,39**
C. macrocarpum	ND	**ND**	3	**0,05**
C. pseudocladosporioides	ND	**ND**	835	**11,90**
C. subtilissimum	247	**8,90**	59	**0,84**
C. tenellum	ND	**ND**	52	**0,74**
C. sp.	ND	**ND**	38	**0,54**
Epicoccum nigrum	254	**9,16**	374	**5,33**
Fusarium oxysporum	ND	**ND**	3	**0,04**
F. poae	1	**0,05**	ND	**ND**
F. proliferatum	6	**0,23**	4	**0,05**
F. semitectum	5	**0,18**	ND	**ND**
F. solani	3	**0,09**	ND	**ND**
F. sporotrichioides	3	**0,09**	40	**0,57**
F. verticillioides	ND	**ND**	1	**0,02**
F. sp.	1	**0,05**	ND	**ND**
Penicillium brevicompactum	3	**0,09**	25	**0,36**
P. canescens	3	**0,09**	21	**0,30**
P. expansum	3	**0,09**	1	**0,02**

P. paneum	ND	**ND**	3	**0,04**
P. raistrickii	3	**0,11**	ND	**ND**
P. sp.	4	**0,14**	1	**0,02**
Pleospora alli	3	**0,11**	ND	**ND**

ND: No Determinado

Fig. 126: Densidades relativas (%) de las cinco especies predominantes en la estación otoñal de cada año de muestreo.





Estación invernal

Se hallaron al menos 22 especies fúngicas en el primer año de muestreo y al menos 23 especies en el segundo.

En los dos años se determinaron las especies *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *Cladosporium aggregatocicatricatum*, *C. asperulatum*, *C. cladosporioides*, *C. limoniforme*, *C. tenellum*, *Epicoccum nigrum*, *Penicillium brevicompactum*, *P. canescens* y *Pleospora alli*.

Sólo en el primer año se hallaron las especies *Aspergillus sydowii*, *Cladosporium macrocarpum*, *C. pseudocladosporioides*, *C. ramotenellum*, *C. subtilissimum*, *Eurotium chevalieri*, *Fusarium compactum*, *F. poae*, *F. solani*, *F. sporotrichioides*, *Penicillium expansum* y *P. restrictum.* Sólo en el segundo año se determinaron las especies *Aspergillus niger*, *Fusarium acuminatum*, *F. chlamydosporum*, *F. reticulatum*, *F. semitectum*, *Penicillium funiculosum*, *P. paneum*, *P. raistrickii*, *P. solitum*, *P. verrucosum*, *Phoma aliena* y *P. betae*.

La especie de mayor importancia en cada año fue *C. cladosporioides* (28,83 – 45,17%) seguida por *C. asperulatum* en segundo lugar (21,09 – 24,41%). *C. limoniforme* fue la tercer especie predominante en el primer año de muestreo (15,26%) y *A. tenuissima* en el segundo (15,16%). En cuarto orden de importancia fue determinada *A. tenuissima* en el primer año (19,09%) y *C. tenellum* en el segundo (8,61%). *C. tenellum* fue la quinta especie más abundante en el primer año (5,44%) y *E. nigrum* en el segundo (2,23%).

En la Tabla N° 55 se detallan las especies determinadas en los dos años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas y en la Fig. 127 se observan los resultados.

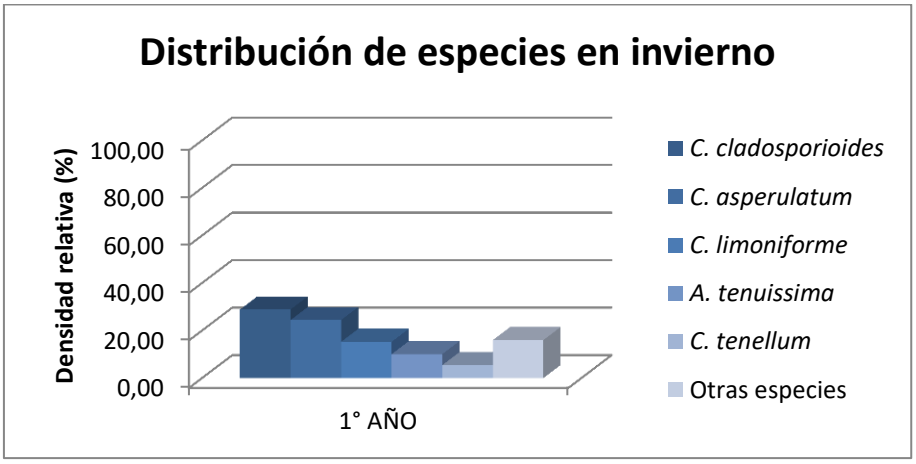
Tabla N° 55: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de las especies halladas en la estación invernal de cada año de muestreo.

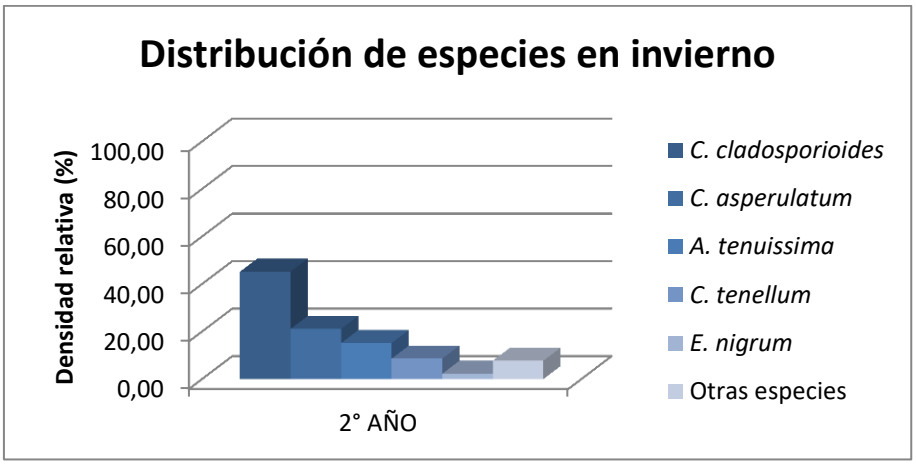
	1° AÑO		2° AÑO	
Especies	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Alternaria alternata	44	**2,14**	26	**0,79**
A. tenuissima	207	**10,09**	503	**15,16**
A. sp.	6	**0,29**	13	**0,38**
Aspergillus niger	ND	**ND**	1	**0,03**
A. sydowii	1	**0,05**	ND	**ND**
Cladosporium aggregatocicatricatum	45	**2,19**	32	**0,97**
C. asperulatum	501	**24,41**	699	**21,09**
C. cladosporioides	592	**28,83**	1497	**45,17**
C. limoniforme	313	**15,26**	63	**1,89**
C. macrocarpum	7	**0,35**	ND	**ND**
C. pseudocladosporioides	22	**1,05**	ND	**ND**
C. ramotenellum	16	**0,79**	ND	**ND**
C. subtilissimum	56	**2,71**	ND	**ND**
C. tenellum	112	**5,44**	285	**8,61**
C. sp.	48	**2,35**	82	**2,47**
Epicoccum nigrum	38	**1,85**	74	**2,23**
Eurotium chevalieri	8	**0,39**	ND	**ND**
Fusarium acuminatum	ND	**ND**	5	**0,15**
F. chlamydosporum	ND	**ND**	1	**0,04**
F. compactum	6	**0,30**	ND	**ND**
F. poae	1	**0,06**	ND	**ND**
F. reticulatum	ND	**ND**	3	**0,08**
F. semitectum	ND	**ND**	1	**0,04**
F. sporotrichioides	4	**0,18**	ND	**ND**
F. sp.	ND	**ND**	1	**0,04**
Penicillium brevicompactum	8	**0,37**	1	**0,04**
P. canescens	3	**0,12**	4	**0,11**
P. expansum	13	**0,61**	ND	**ND**

P. funiculosum	ND	**ND**	5	**0,15**
P. paneum	ND	**ND**	3	**0,08**
P. raistrickii	ND	**ND**	3	**0,08**
P. restrictum	3	**0,12**	ND	**ND**
P. solitum	ND	**ND**	1	**0,04**
P. verrucosum	ND	**ND**	1	**0,04**
Phoma aliena	ND	**ND**	3	**0,08**
P. betae	ND	**ND**	1	**0,04**
Pleospora alli	1	**0,05**	8	**0,24**

ND: No Determinado

Fig. 127: Densidades relativas (%) de las cinco especies predominantes en la estación invernal de cada año de muestreo.





Estación primaveral

Se hallaron al menos 20 especies fúngicas en el primer año de muestreo y al menos 16 especies en el segundo.

En los dos años se determinaron las especies *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *Cladosporium asperulatum*, *C. cladosporioides*, *C. limoniforme*, *C. macrocarpum*, *C. subtilissimum*, *C. tenellum*, *Epicoccum nigrum*, *Phoma aliena* y *Pleospora alli*.

Sólo en el primer año se hallaron las especies *Cladosporium aggregatocicatricatum*, *C. allicinum*, *C. pseudocladosporioides*, *C. ramotenellum*, *Fusarium compactum*, *Penicillium canescens*, *P. solitum*, *Phoma glomerata* y *Stemphylium vesicarium*. Sólo en el segundo año se determinaron las especies *Aspergillus versicolor*, *Fusarium sambucinum*, *F. semitectum*, *Penicillium paneum* y *Phoma medicaginis*.

La especie más abundante en cada año fue *C. limoniforme* (26,87 – 27,31%) seguida por *C. cladosporioides* (15,72 – 22,03%) y *C. asperulatum* (17,84 – 22,12%) en el primer año. En el segundo año *C. asperulatum* predominó sobre *C. cladosporioides*. En cuarto orden de importancia fue determinada *A. tenuissima* en ambos años (10,08 – 17,33%). La quinta especie predominante fue *C. subtilissimum* (7,72%) en el primer año y *C. tenellum* (3,74%) en el segundo.

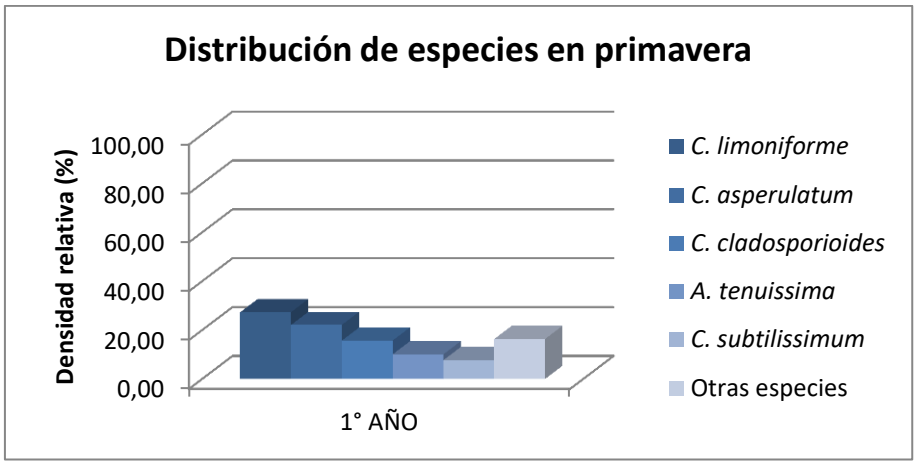
En la Tabla N° 56 se detallan las especies determinadas en los dos años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas y en la Fig. 128 se observan los resultados.

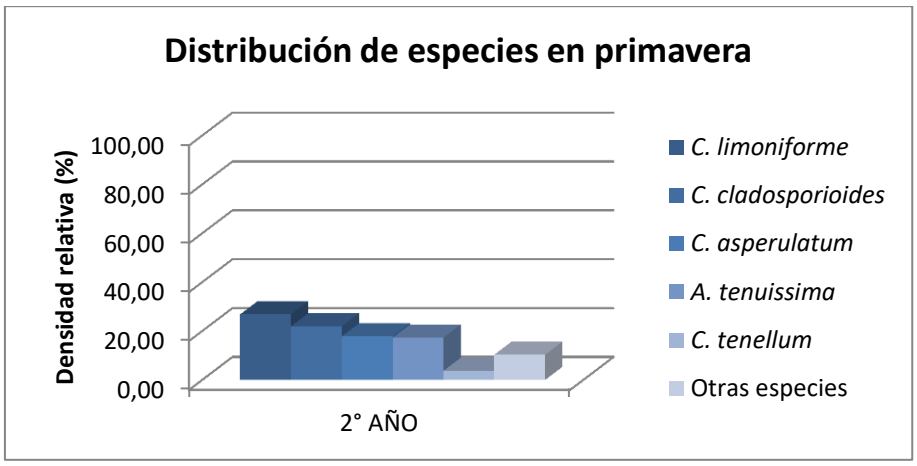
Tabla N° 56: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de las especies halladas en la estación primaveral de cada año de muestreo.

	1° AÑO		2° AÑO	
Especies	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Alternaria alternata	55	**1,97**	30	**3,22**
A. tenuissima	281	**10,08**	161	**17,33**
A. sp.	31	**1,11**	3	**0,27**
Aspergillus versicolor	ND	**ND**	1	**0,11**
A. sp.	ND	**ND**	1	**0,11**
Cladosporium aggregatocicatricatum	53	**1,90**	ND	**ND**
C. allicinum	20	**0,71**	ND	**ND**
C. asperulatum	616	**22,12**	166	**17,84**
C. cladosporioides	438	**15,72**	205	**22,03**
C. limoniforme	761	**27,31**	250	**26,87**
C. macrocarpum	13	**0,47**	23	**2,47**
C. pseudocladosporioides	10	**0,36**	ND	**ND**
C. ramotenellum	3	**0,12**	ND	**ND**
C. subtilissimum	215	**7,72**	2	**0,22**
C. tenellum	136	**4,87**	35	**3,74**
C. sp.	99	**3,56**	23	**2,42**
Epicoccum nigrum	23	**0,83**	19	**2,04**
Fusarium compactum	3	**0,11**	ND	**ND**
F. sambucinum	ND	**ND**	3	**0,27**
F. semitectum	ND	**ND**	1	**0,13**
Penicillium canescens	3	**0,11**	ND	**ND**
P. paneum	ND	**ND**	1	**0,13**
P. solitum	1	**0,04**	ND	**ND**
Phoma aliena	13	**0,47**	3	**0,27**
P. glomerata	3	**0,11**	ND	**ND**
P. medicaginis	ND	**ND**	1	**0,13**
P. sp.	4	**0,14**	3	**0,27**
Pleospora alli	4	**0,14**	1	**0,11**
Stemphylium vesicarium	1	**0,04**	ND	**ND**

ND: No Determinado

Fig. 128: Densidades relativas (%) de las cinco especies predominantes en la estación primaveral de cada año de muestreo.





Estación estival

Se hallaron al menos 21 especies fúngicas en el primer año de muestreo y al menos 16 especies en el segundo.

En los dos años se determinaron las especies *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *Aspergillus niger*, *A*. *versicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. limoniforme*, *C. subtilissimum*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium acuminatum*, *F. semitectum* y *F. sporotrichioides*.

Sólo en el primer año se hallaron las especies *Alternaria arborescens*, *Aspergillus wentii*, *Cladosporium allicinum*, *Fusarium crookwellense*, *F. dlamini*, *F. proliferatum*, *Penicillium brevicompactum*, *P. chrysogenum*, *P. janczewsky*, *Phoma aliena* y *Pleospora alli*. Sólo en el segundo año se determinaron las especies *Cladosporium asperulatum*, *Fusarium polyphialidicum* y *Phoma glomerata*.

La especie predominante en cada año fue *C. cladosporioides* (32,59 – 44,76%) seguida por *C. limoniforme* (15,80 – 38,49%) y *A. tenuissima* (9,47 – 15,64%) en ambos años de muestreo. En cuarto orden de importancia fue determinada *C. allicinum* en el primer año (2,62%) y *C. pseudocladosporioides* en el segundo (11,17%). La quinta especie más abundante fue *E. nigrum* (1,36%) en el primer año y *C. asperulatum* (8,43%) en el segundo.

En la Tabla N° 57 se detallan las especies determinadas en los dos años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas y en la Fig. 129 se observan los resultados.

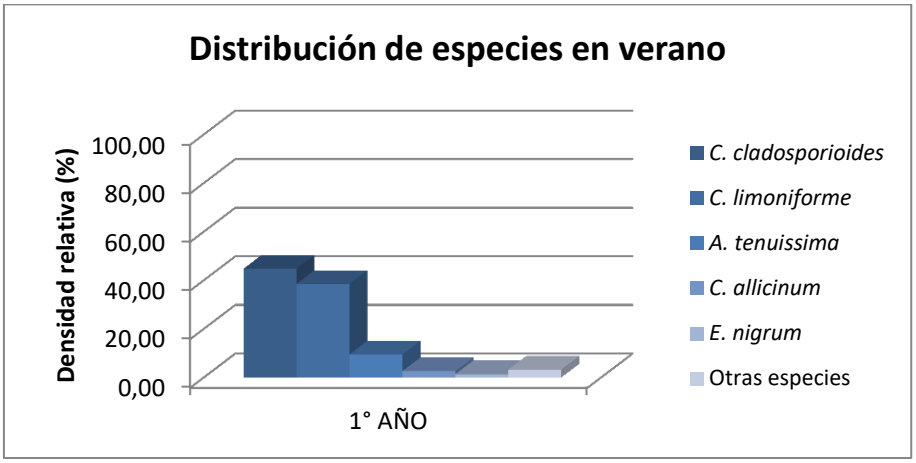
Tabla N° 57: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de las especies halladas en la estación estival de cada año de muestreo.

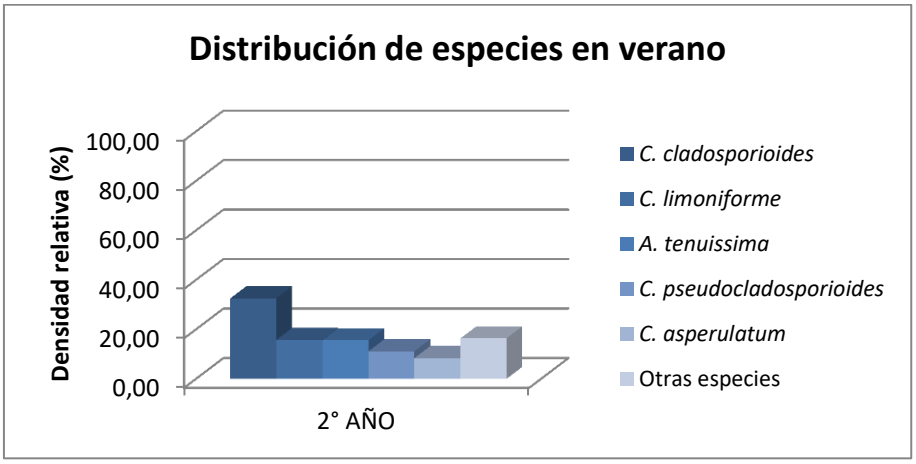
	1° AÑO		2° AÑO	
Especies	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Alternaria alternata	105	**0,84**	210	**4,22**
A. arborescens	3	**0,02**	ND	**ND**
A. tenuissima	1189	**9,47**	779	**15,64**
A. sp.	82	**0,65**	19	**0,38**
Aspergillus niger	2	**0,02**	1	**0,02**
A. wentii	3	**0,02**	ND	**ND**
A. sp.	1	**0,01**	ND	**ND**
Cladosporium allicinum	329	**2,62**	ND	**ND**
C. asperulatum	ND	**ND**	420	**8,43**
C. cladosporioides	5619	**44,76**	1623	**32,59**
C. limoniforme	4832	**38,49**	787	**15,80**
C. macrocarpum	ND	**ND**	4	**0,08**
C. pseudocladosporioides	ND	**ND**	556	**11,17**
C. ramotenellum	ND	**ND**	80	**1,61**
C. subtilissimum	94	**0,75**	35	**0,69**
C. sp.	29	**0,23**	7	**0,14**
Epicoccum nigrum	171	**1,36**	359	**7,20**
Fusarium acuminatum	1	**0,01**	13	**0,25**
F. crookwellense	10	**0,08**	ND	**ND**
F. dlamini	2	**0,02**	ND	**ND**
F. polyphialidicum	ND	**ND**	6	**0,13**
F. proliferatum	3	**0,02**	ND	**ND**
F. semitectum	26	**0,21**	30	**0,60**
F. sporotrichioides	35	**0,28**	40	**0,80**
F. sp.	8	**0,06**	ND	**ND**
Penicillium brevicompactum	3	**0,02**	ND	**ND**
P. chrysogenum	1	**0,01**	ND	**ND**
P. janckzewsky	1	**0,01**	ND	**ND**

Phoma aliena	1	**0,01**	ND	**ND**
P. glomerata	ND	**ND**	11	**0,23**
P. sp.	ND	**ND**	1	**0,03**
Pleospora alli	3	**0,02**	ND	**ND**

ND: No Determinado

Fig. 129: Densidades relativas (%) de las cinco especies predominantes en la estación estival de cada año de muestreo.





Resumen estacional

En cada estación de ambos años muestreados se determinaron al menos entre 16 y 23 especies fúngicas y, en todas las estaciones, se determinaron las especies *A. alternata*, *A. tenuissima*, *C. cladosporioides*, *C. limoniforme* y *E. nigrum.*

La especie *C. asperulatum* fue hallada en ambos años en todas las estaciones a excepción de la estival. De manera similar *C. subtilissimum* se encontró en todas las estaciones excepto en la invernal en los dos años de muestreo.

Las especies *P. brevicompactum* y *P. canescens* se determinaron en ambos años en otoño e invierno. Por otra parte *C. tenellum* y *P. alli* fueron halladas en invierno y primavera y finalmente *F. sporotrichioides* fue detectado en las estaciones de otoño y verano de ambos años de muestreo.

Sólo en la estación otoñal de ambos años se determinaron las especies *F. proliferatum* y *P. expansum. C. aggregatocicatricatum* fue hallada únicamente en el invierno de ambos años. Las especies *C. macrocarpum* y *P. aliena* se encontraron solamente en primavera mientras que sólo en verano se determinaron las especies *A. niger*, *A*. *versicolor*, *F. acuminatum* y *F. semitectum*.

En cuanto al orden de importancia de las especies halladas, *C. cladosporioides* fue la más abundante en todas las estaciones de ambos años de muestreo excepto en invierno donde predominó *C. limoniforme.* Esta especie junto a *C. asperulatum* se determinaron como la segunda especie más abundante durante los dos años. En tercer orden de predominancia se detectaron las tres especies previamente mencionadas junto con *A. tenuissima* y *C. pseudocladosporioides* por única vez en otoño del segundo año. En cuarto orden de importancia fue determinada principalmente *A. tenuissima*, como así también las especies *E. nigrum*, *C. allicinum*, *C. tenellum* y *C. pseudocladosporioides*. Finalmente en el quinto orden de predominancia se hallaron a las especies *C. asperulatum*, *C. subtilissimum*, *C. tenellum* y *E. nigrum*.

Con respecto a las variaciones estacionales de las especies predominantes, *C. cladosporioides*, *A. tenuissima* y *E. nigrum* presentaron concentraciones elevadas en el periodo verano/otoño en ambos años de muestreo. *C. limoniforme* exhibió sus mayores niveles de esporas en el periodo primavera/verano durante el primer año y en verano/otoño durante el segundo. *C. asperulatum* y *C. tenellum* alcanzaron su máximo número de esporas en las estaciones de invierno/primavera en el primer año y en el periodo otoño/invierno durante el segundo. *C. pseudocladosporioides* tambié fue más abundante en invierno/primavera durante el primer año pero en el segundo su máxima se halló en verano/otoño. *C. allicinum* presentó las máximas concentraciones en verano/otoño durante el primer año únicamente ya que en el segundo año no fue determinado. *C. subtilissimum* alcanzó sus mayores niveles de esporas en las estaciones de otoño y primavera en el primer año y durante el periodo otoño/invierno en segundo.Todos estos resultados se pueden observar en las Tablas N° 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66.

Tabla N° 58: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) de la especie *C. cladosporioides*.

Estación	1° AÑO	2° AÑO
Otoño	1171	2293
Invierno	592	1497
Primavera	438	205
Verano	5619	1623

Tabla N° 59: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) de la especie *C. limoniforme.*

Estación	1° AÑO	2° AÑO
Otoño	214	1009
Invierno	313	63
Primavera	761	250
Verano	4832	787

Tabla N° 60: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) de la especie *C. asperulatum.*

Estación	1° AÑO	2° AÑO
Otoño	384	716
Invierno	501	699
Primavera	616	166
Verano	ND	420

Tabla N° 61: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) de la especie *A. tenuissima.*

Estación	1° AÑO	2° AÑO
Otoño	328	739
Invierno	207	503
Primavera	281	161
Verano	1189	779

Tabla N° 62: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) de la especie *C. pseudocladosporioides.*

Estación	1° AÑO	2° AÑO
Otoño	ND	835
Invierno	22	ND
Primavera	10	ND
Verano	ND	556

Tabla N° 63: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) de la especie *E. nigrum.*

Estación	1° AÑO	2° AÑO
Otoño	254	374
Invierno	38	74
Primavera	23	19
Verano	171	359

Tabla N° 64: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) de la especie *C. allicinum.*

Estación	1° AÑO	2° AÑO
Otoño	68	ND
Invierno	ND	ND
Primavera	20	ND
Verano	329	ND

Tabla N° 65: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) de la especie *C. tenellum.*

Estación	1° AÑO	2° AÑO
Otoño	ND	52
Invierno	112	285
Primavera	136	35
Verano	ND	ND

Tabla N° 66: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) de la especie *C. subtilissimum.*

Estación	1° AÑO	2° AÑO
Otoño	247	59
Invierno	56	ND
Primavera	215	2
Verano	94	35

4.3.3 Determinación de la concentración, densidad y distribución geográfica de especies

Zona Este

Se determinaron al menos 24 especies durante el primer año de muestreo y al menos 29 especies durante el segundo.

En los dos años de muestreo se determinaron las especies *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium aggregatocicatricatum*, *C. asperulatum*, *C. cladosporioides*, *C. limoniforme*, *C. pseudocladosporioides*, *C. subtilissimum*, *C. tenellum*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium proliferatum*, *F. semitectum*, *F. sporotrichioides*, *Penicillium canescens*, *P. raistrickii*, *Phoma aliena* y *Pleospora alli*.

Sólo en el primer año se hallaron las especies *Fusarium compactum*, *F. crookwellense*, *F. dlamini*, *F. poae*, *Penicillium expansum* y *P. solitum*. Sólo en el segundo año se determinaron las especies *Alternaria arborescens*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium macrocarpum*, *C. ramotenellum*, *Fusarium acuminatum*, *F. oxysporum*, *F. polyphialidicum*, *F. sambucinum*, *Penicillium brevicompactum*, *P. paneum* y *Phoma glomerata.*

La especie de mayor importancia en cada año fue *C. cladosporioides* (33,76 – 36,45%) seguida por *C. limoniforme* (12,24 – 31,45%) y *A. tenuissima* (11,06 – 14,52%) en el primer año, mientras que en el segundo *A. tenuissima* predominó sobre *C. limoniforme*. En cuarto orden de predominancia fue determinada *C. asperulatum* en ambos años (9,81 – 10,28%). La quinta especie más abundante fue *C. subtilissimum* (3,28%) en el primer año y *C. pseudocladosporioides* (6,24%) en el segundo.

En la Tabla N° 67 se detallan las especies determinadas en los dos años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas y en la Fig. 130 se observan los resultados.

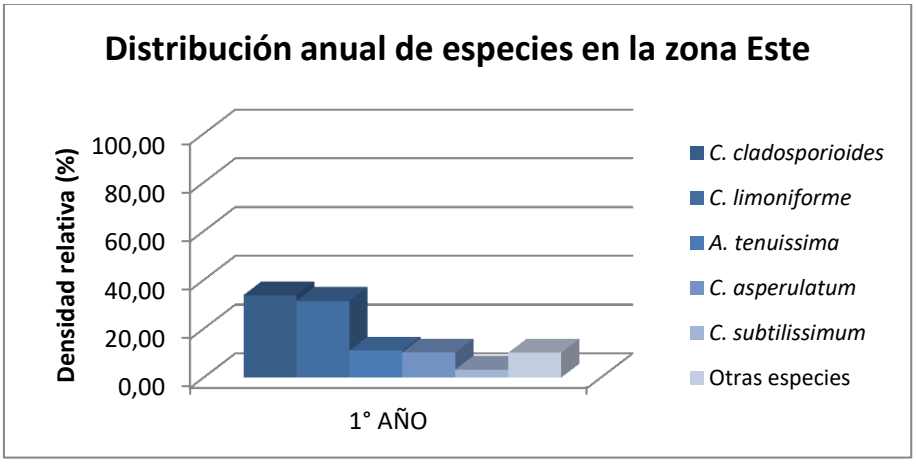
Tabla N° 67: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de las especies halladas en la zona Este de cada año de muestreo.

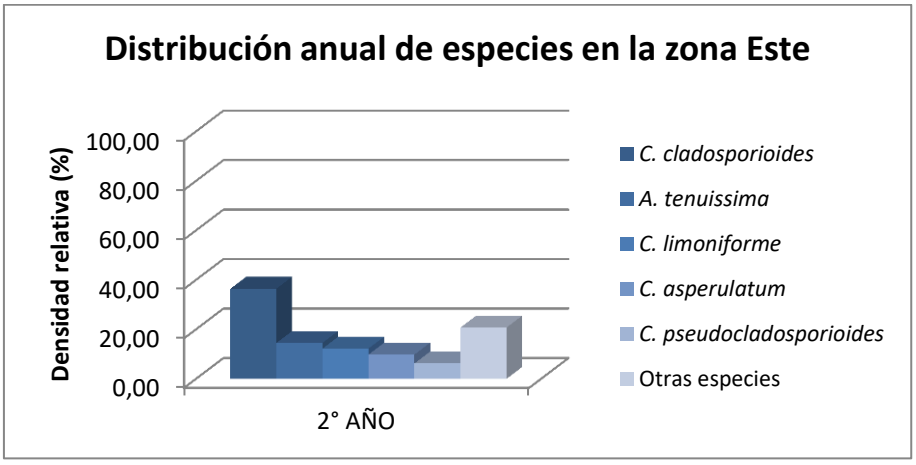
	1° AÑO		2° AÑO	
Especies	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Alternaria alternata	370	**1,58**	690	**3,82**
A. arborescens	ND	**ND**	98	**0,54**
A. tenuissima	2596	**11,06**	2625	**14,52**
A. sp.	215	**0,92**	48	**0,26**
Aspergillus niger	ND	**ND**	3	**0,01**
A. versicolor	5	**0,02**	3	**0,01**
Cladosporium aggregatocicatricatum	171	**0,73**	443	**2,45**
C. asperulatum	2414	**10,28**	1774	**9,81**
C. cladosporioides	7926	**33,76**	6590	**36,45**
C. limoniforme	7383	**31,45**	2213	**12,24**
C. macrocarpum	ND	**ND**	11	**0,06**
C. pseudocladosporioides	82	**0,35**	1129	**6,24**
C. ramotenellum	ND	**ND**	37	**0,20**
C. subtilissimum	769	**3,28**	148	**0,82**
C. tenellum	678	**2,89**	741	**4,10**
C. sp.	182	**0,78**	125	**0,69**
Epicoccum nigrum	422	**1,80**	1085	**6,00**
Fusarium acuminatum	ND	**ND**	30	**0,17**
F. compactum	18	**0,08**	ND	**ND**
F. crookwellense	20	**0,09**	ND	**ND**
F. dlamini	2	**0,01**	ND	**ND**
F. oxysporum	ND	**ND**	3	**0,01**
F. poae	5	**0,02**	ND	**ND**
F. polyphialidicum	ND	**ND**	13	**0,07**
F. proliferatum	14	**0,06**	8	**0,04**
F. sambucinum	ND	**ND**	5	**0,03**
F. semitectum	38	**0,16**	8	**0,04**
F. sporotrichioides	83	**0,35**	123	**0,68**

F. sp.	10	**0,04**	ND	**ND**
Penicillium brevicompactum	ND	**ND**	40	**0,22**
P. canescens	13	**0,06**	50	**0,28**
P. expansum	10	**0,04**	ND	**ND**
P. paneum	ND	**ND**	8	**0,04**
P. raistrickii	5	**0,02**	3	**0,01**
P. solitum	3	**0,01**	ND	**ND**
Phoma aliena	15	**0,06**	8	**0,04**
P. glomerata	ND	**ND**	3	**0,01**
P. sp.	13	**0,06**	5	**0,03**
Pleospora alli	13	**0,06**	15	**0,08**

ND: No Determinado

Fig. 130: Densidades relativas (%) de las cinco especies predominantes en la zona Este de cada año de muestreo.





Zona Centro

Se determinaron al menos 32 especies en cada año de muestreo realizado.

En los dos años se determinaron las especies *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium aggregatocicatricatum*, *C. asperulatum*, *C. cladosporioides*, *C. limoniforme*, *C. macrocarpum*, *C. pseudocladosporioides*, *C. ramotenellum*, *C. subtilissimum*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium acuminatum*, *F. semitectum*, *Penicillium brevicompactum*, *P. expansum*, *Phoma aliena*, *P. glomerata* y *Pleospora alli*.

Sólo en el primer año se hallaron las especies *Alternaria arborescens*, *Aspergillus sydowii*, *A. wentii*, *Cladosporium allicinum*, *Eurotium chevalieri*, *Fusarium dlamini*, *F. proliferatum*, *F. solani*, *Penicillium canescens*, *P. chrysogenum*, *P. janczewsky*, *P. restrictum* y *Stemphylium vesicarium*. Sólo en el segundo año se determinaron las especies *Cladosporium tenellum*, *Fusarium chlamydosporum*, *F. oxysporum*, *F. reticulatum*, *F. sporotrichioides*, *F. verticillioides*, *Penicillium funiculosum*, *P. paneum*, *P. raistrickii*, *P. solitum*, *P. verrucosum*, *Phoma betae* y *P. medicaginis*.

La especie de mayor abundancia en cada año fue *C. cladosporioides* (33,88 – 43,26%) seguida por *C. limoniforme* (13,85 – 24,07%) y *C. asperulatum* (8,50 – 14,60%) en el primer año. En el segundo año, *C. asperulatum* predominó sobre *C. limoniforme*. La cuarta especie más importante fue *A. tenuissima* en ambos años (8,38 – 12,06%). En quinto orden de predominancia fueron determinadas *C. allicinum* (4,48%) en el primer año y *C. pseudocladosporioides* (11,24%) en el segundo.

En la Tabla N° 68 se detallan las especies determinadas en los dos años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas y en la Fig. 131 se observan los resultados.

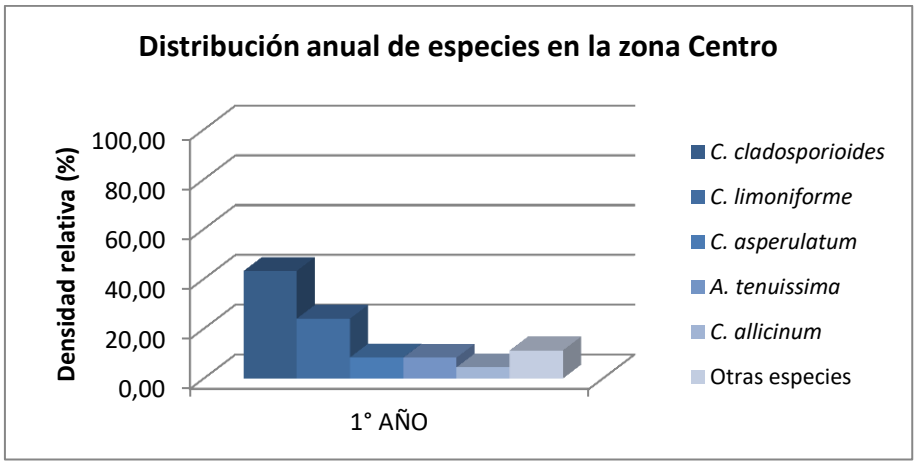
Tabla N° 68: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de las especies halladas en la zona Centro de cada año de muestreo.

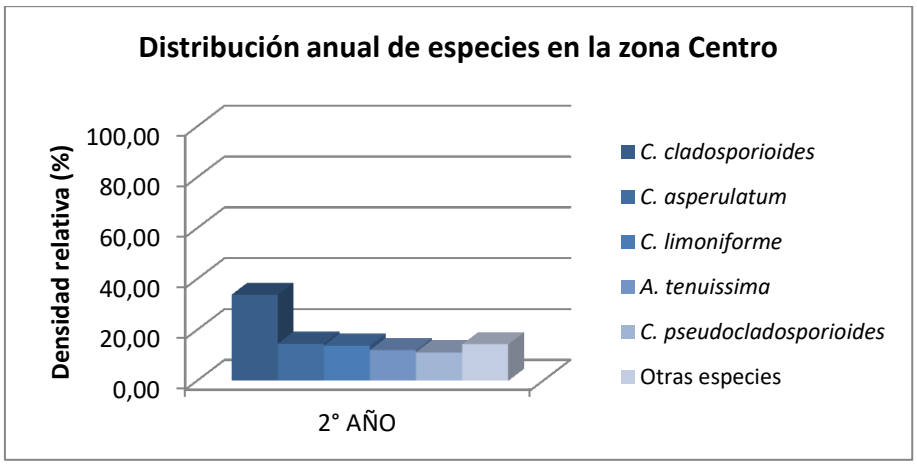
	1° AÑO		2° AÑO	
Especies	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Alternaria alternata	95	**0,56**	148	**1,02**
A. arborescens	6	**0,04**	ND	**ND**
A. tenuissima	1413	**8,38**	1738	**12,06**
A. sp.	101	**0,60**	70	**0,49**
Aspergillus niger	3	**0,02**	5	**0,03**
A. sydowii	3	**0,02**	ND	**ND**
A. wentii	5	**0,03**	ND	**ND**
A. sp.	2	**0,01**	3	**0,02**
Cladosporium aggregatocicatricatum	101	**0,60**	646	**4,49**
C. allicinum	755	**4,48**	ND	**ND**
C. asperulatum	1433	**8,50**	2103	**14,60**
C. cladosporioides	7291	**43,26**	4881	**33,88**
C. limoniforme	4057	**24,07**	1995	**13,85**
C. macrocarpum	53	**0,31**	36	**0,25**
C. pseudocladosporioides	19	**0,11**	1619	**11,24**
C. ramotenellum	69	**0,41**	134	**0,93**
C. subtilissimum	505	**3,00**	56	**0,39**
C. tenellum	ND	**ND**	67	**0,46**
C. sp.	241	**1,43**	153	**1,06**
Epicoccum nigrum	548	**3,25**	565	**3,92**
Eurotium chevalieri	15	**0,09**	ND	**ND**
Fusarium acuminatum	2	**0,01**	5	**0,03**
F. chlamydosporum	ND	**ND**	3	**0,02**
F. dlamini	3	**0,02**	ND	**ND**
F. oxysporum	ND	**ND**	3	**0,02**
F. proliferatum	4	**0,02**	ND	**ND**
F. reticulatum	ND	**ND**	5	**0,03**
F. semitectum	25	**0,15**	58	**0,40**

F. solani	5	**0,03**	ND	**ND**
F. sporotrichioides	ND	**ND**	38	**0,26**
F. verticillioides	ND	**ND**	3	**0,02**
F. sp.	8	**0,05**	3	**0,02**
Penicillium brevicompactum	25	**0,15**	13	**0,09**
P. canescens	3	**0,02**	ND	**ND**
P. chrysogenum	3	**0,02**	ND	**ND**
P. expansum	20	**0,12**	3	**0,02**
P. funiculosum	ND	**ND**	10	**0,07**
P. janckzewsky	3	**0,02**	ND	**ND**
P. paneum	ND	**ND**	5	**0,03**
P. raistrickii	ND	**ND**	3	**0,02**
P. restrictum	5	**0,03**	ND	**ND**
P. solitum	ND	**ND**	3	**0,02**
P. verrucosum	ND	**ND**	3	**0,02**
P. sp.	ND	**ND**	3	**0,02**
Phoma aliena	13	**0,08**	3	**0,02**
P. betae	ND	**ND**	3	**0,02**
P. glomerata	5	**0,03**	20	**0,14**
P. medicaginis	ND	**ND**	3	**0,02**
P. sp.	3	**0,02**	3	**0,02**
Pleospora alli	9	**0,05**	3	**0,02**
Stemphylium vesicarium	3	**0,02**	ND	**ND**

ND: No Determinado

Fig. 131: Densidades relativas (%) de las cinco especies predominantes en la zona Centro de cada año de muestreo.





Resumen por zona geográfica

Se hallaron al menos entre al menos 24 y 32 especies fúngicas en cada zona geográfica durante los dos años de muestreo.

Durante los dos años, en ambas zonas geográficas, se determinaron las especies *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *Cladosporium aggregatocicatricatum*, *C. asperulatum*, *C. cladosporioides*, *C. limoniforme*, *C. pseudocladosporioides*, *C. subtilissimum*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium semitectum*, *Phoma aliena* y *Pleospora alli*.

Las especies *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium tenellum*, *Fusarium proliferatum*, *F. sporotrichioides*, *Penicillium canescens* y *P. raistrickii* fueron halladas sólo en la zona Este en ambos años mientras que *Aspergillus niger*, *Cladosporium macrocarpum*, *C. ramotenellum*, *Fusarium acuminatum*, *Penicillium brevicompactum*, *P. expansum* y *Phoma glomerata* sólo se detectaron en la zona Centro.

En relación a la predominancia de especies *C. cladosporioides* fue la de mayor importancia en las dos zonas durante ambos años de muestreo. En segundo y tercer orden de abundancia fueron determinadas *C. limoniforme*, *C. asperulatum* y *A. tenuissima*. La cuarta especie predominante fue *C. asperulatum* en la zona Este y *A. tenuissima* en la zona Centro durante ambos años. En quinto orden de importancia fueron halladas *C. allicinum*, *C. pseudocladosporioides* y *C. subtilissimum*.

4.3.4 Determinación de la concentración, densidad y distribución por sistema productivo de especies

Sistemas Productivos Tradicionales (SPT)

Se determinaron al menos 24 especies durante el primer año de muestreo y al menos 29 especies durante el segundo.

En los dos años se determinaron las especies *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium aggregatocicatricatum*, *C. asperulatum*, *C. cladosporioides*, *C. limoniforme*, *C. pseudocladosporioides*, *C. subtilissimum*, *C. tenellum*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium proliferatum*, *F. semitectum*, *F. sporotrichioides*, *Penicillium canescens*, *P. raistrickii*, *Phoma aliena* y *Pleospora alli*.

Sólo en el primer año se hallaron las especies *Aspergillus sydowii*, *Fusarium compactum*, *F. crookwellense*, *F. dlamini*, *F. poae*, *Penicillium expansum* y *P. solitum*. Sólo en el segundo año se determinaron las especies *Alternaria arborescens*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium macrocarpum*, *C. ramotenellum*, *Fusarium acuminatum*, *F. oxysporum*, *F. polyphialidicum*, *F. sambucinum*, *Penicillium brevicompactum*, *P. paneum* y *Phoma glomerata*.

La especie de mayor importancia en cada año fue *C. cladosporioides* (38,20 – 42,42%) seguida por *C. limoniforme* (17,44%) en el primer año y *A. tenuissima* (14,05%) en el segundo. En tercer orden de predominancia fueron determinadas *C. asperulatum* (13,72%) en el primer año y *C. limoniforme* (10,39%) en el segundo. La cuarta especie más abundante fue *A. tenuissima* en el primer año (9,27%) y *C. pseudocladosporioides* en el segundo (10,22%). En quinto orden de importancia fueron halladas *C. subtilissimum* (7,18%) en el primer año y *C. asperulatum* (7,40%) en el segundo.

En la Tabla N° 69 se detallan las especies determinadas en los dos años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas y en la Fig. 132 se observan los resultados.

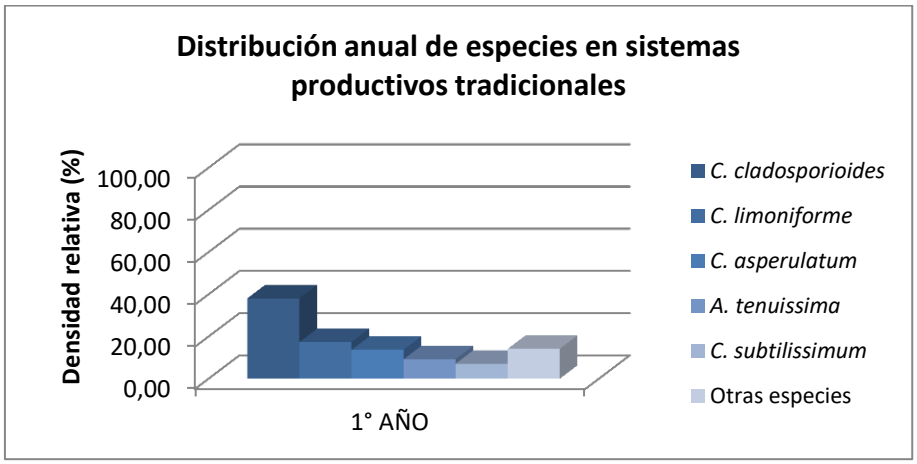
Tabla N° 69: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de las especies halladas en sistemas productivos tradicionales de cada año de muestreo.

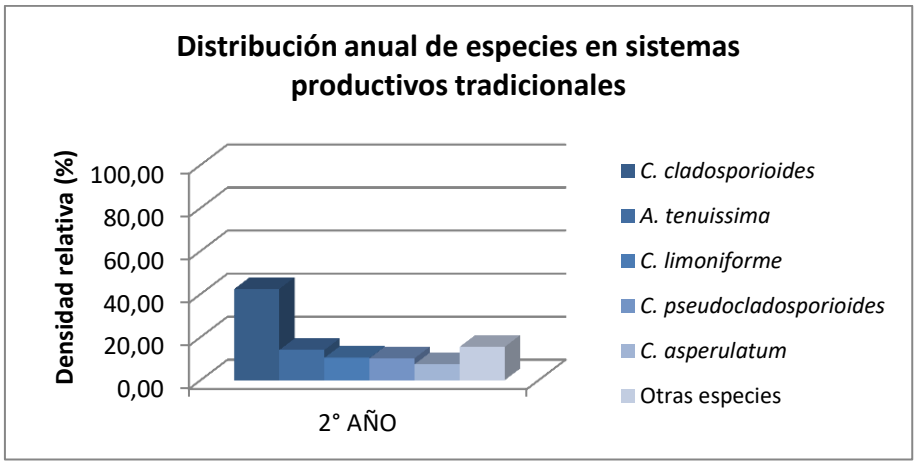
	1° AÑO		2° AÑO	
Especies	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Alternaria alternata	128	**0,71**	458	**2,68**
A. arborescens	ND	**ND**	98	**0,57**
A. tenuissima	1666	**9,27**	2398	**14,05**
A. sp.	60	**0,33**	88	**0,51**
Aspergillus niger	ND	**ND**	5	**0,03**
A. versicolor	5	**0,03**	3	**0,01**
A. wentii	5	**0,03**	ND	**ND**
Cladosporium aggregatocicatricatum	142	**0,79**	387	**2,27**
C. allicinum	763	**4,24**	ND	**ND**
C. asperulatum	2466	**13,72**	1264	**7,40**
C. cladosporioides	6868	**38,20**	7241	**42,42**
C. limoniforme	3136	**17,44**	1774	**10,39**
C. macrocarpum	ND	**ND**	17	**0,10**
C. pseudocladosporioides	ND	**ND**	1744	**10,22**
C. ramotenellum	7	**0,04**	67	**0,39**
C. subtilissimum	1291	**7,18**	20	**0,12**
C. tenellum	310	**1,72**	343	**2,01**
C. sp.	400	**2,22**	130	**0,76**
Epicoccum nigrum	577	**3,21**	768	**4,50**
Fusarium acuminatum	ND	**ND**	10	**0,06**
F. compactum	18	**0,10**	ND	**ND**
F. dlamini	2	**0,01**	ND	**ND**
F. oxysporum	ND	**ND**	3	**0,01**
F. poae	3	**0,02**	ND	**ND**
F. proliferatum	4	**0,02**	5	**0,03**
F. sambucinum	ND	**ND**	5	**0,03**
F. semitectum	28	**0,16**	45	**0,26**
F. solani	5	**0,03**	ND	**ND**

F. sporotrichioides	8	**0,04**	75	**0,44**
F. sp.	8	**0,04**	ND	**ND**
Penicillium brevicompactum	5	**0,03**	43	**0,25**
P. canescens	ND	**ND**	18	**0,10**
P. chrysogenum	3	**0,02**	ND	**ND**
P. expansum	15	**0,08**	3	**0,01**
P. funiculosum	ND	**ND**	5	**0,03**
P. paneum	ND	**ND**	8	**0,04**
P. raistrickii	5	**0,03**	3	**0,01**
P. solitum	3	**0,02**	3	**0,01**
P. verrucosum	ND	**ND**	3	**0,01**
Phoma aliena	18	**0,10**	8	**0,04**
P. glomerata	ND	**ND**	8	**0,04**
P. medicaginis	ND	**ND**	3	**0,01**
P. sp.	15	**0,08**	8	**0,04**
Pleospora alli	15	**0,08**	18	**0,11**

ND: No Determinado

Fig. 132: Densidades relativas (%) de las cinco especies predominantes en sistemas productivos tradicionales de cada año de muestreo.





Sistemas Productivos Orgánicos (SPO)

Se determinaron al menos 33 especies durante el primer año de muestreo y al menos 30 especies durante el segundo.

En los dos años se determinaron las especies *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium aggregatocicatricatum*, *C. asperulatum*, *C. cladosporioides*, *C. limoniforme*, *C. macrocarpum*, *C. pseudocladosporioides*, *C. ramotenellum*, *C. subtilissimum*, *C. tenellum*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium acuminatum*, *F. proliferatum*, *F. semitectum*, *F. sporotrichioides*, *Penicillium brevicompactum*, *P. canescens*, *Phoma aliena* y *P. glomerata*.

Sólo en el primer año se hallaron las especies *Alternaria arborescens*, *Aspergillus sydowii*, *Cladosporium allicinum*, *Eurotium chevalieri*, *Fusarium crookwellense*, *F. dlamini*, *F. poae*, *Penicillium expansum*, *P. janczewsky*, *P. restrictum*, *Pleospora alli* y *Stemphylium vesicarium*. Sólo en el segundo año se determinaron las especies *Fusarium chlamydosporum*, *F. oxysporum*, *F. polyphialidicum*, *F. reticulatum*, *F. verticillioides*, *Penicillium funiculosum*, *P. paneum*, *P. raistrickii* y *Phoma betae*.

La especie de mayor importancia en cada año fue *C. cladosporioides* (27,21 – 37,29%) seguida por *C. limoniforme* (36,13%) en el primer año y por *C. asperulatum* (17,06%) en el segundo. En tercer orden de predominancia fueron determinadas *A. tenuissima* (10,48%) en el primer año y *C. limoniforme* (15,61%) en el segundo. La cuarta especie más abundante fue *C. asperulatum* en el primer año (6,59%) y *A. tenuissima* en el segundo (12,75%). En quinto orden de importancia fueron determinadas *E. nigrum* (1,76%) en el primer año y *C. pseudocladosporioides* (7,25%) en el segundo.

En la Tabla N° 70 se detallan las especies determinadas en los dos años de muestreo, junto a sus recuentos promedio anuales (RPA) y sus densidades relativas (DR) respectivas y en la Fig. 133 se observan los resultados.

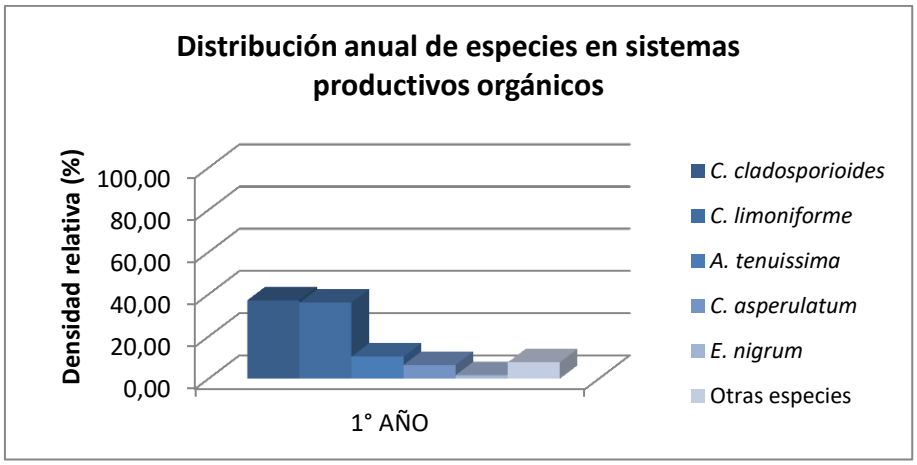
Tabla N° 70: Recuentos promedio anuales (UFC/m^3) y densidades relativas (%) de las especies halladas en sistemas productivos orgánicos de cada año de muestreo.

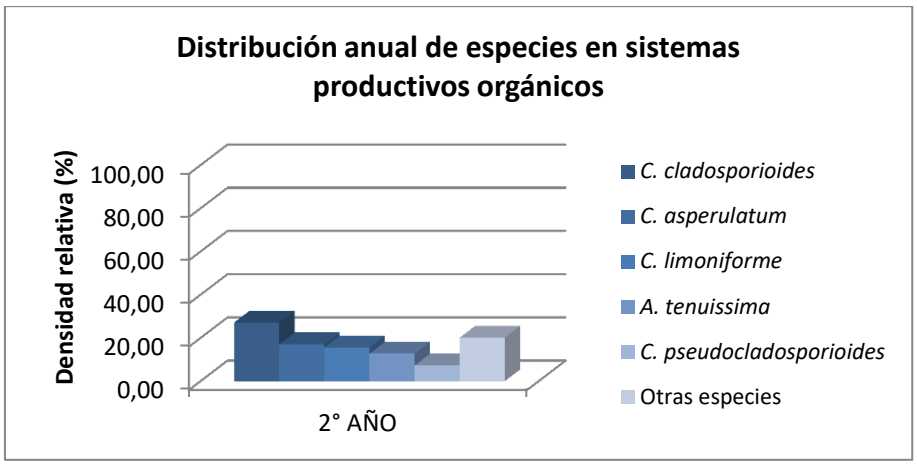
	1° AÑO		2° AÑO	
Especies	RPA	**DR**	RPA	**DR**
Alternaria alternata	338	**1,51**	380	**2,47**
A. arborescens	6	**0,03**	ND	**ND**
A. tenuissima	2343	**10,48**	1965	**12,75**
A. sp.	256	**1,15**	30	**0,19**
Aspergillus niger	3	**0,01**	3	**0,02**
A. sydowii	3	**0,01**	ND	**ND**
A. sp.	2	**0,01**	3	**0,02**
Cladosporium aggregatocicatricatum	132	**0,59**	724	**4,70**
C. allicinum	35	**0,16**	ND	**ND**
C. asperulatum	1473	**6,59**	2629	**17,06**
C. cladosporioides	8334	**37,29**	4194	**27,21**
C. limoniforme	8075	**36,13**	2406	**15,61**
C. macrocarpum	50	**0,22**	34	**0,22**
C. pseudocladosporioides	96	**0,43**	1117	**7,25**
C. ramotenellum	59	**0,26**	117	**0,76**
C. subtilissimum	71	**0,32**	166	**1,07**
C. tenellum	374	**1,67**	374	**2,43**
C. sp.	47	**0,21**	153	**1,00**
Epicoccum nigrum	393	**1,76**	883	**5,73**
Eurotium chevalieri	15	**0,07**	ND	**ND**
Fusarium acuminatum	2	**0,01**	25	**0,16**
F. chlamydosporum	ND	**ND**	3	**0,02**
F. crookwellense	20	**0,09**	ND	**ND**
F. dlamini	3	**0,01**	ND	**ND**
F. oxysporum	ND	**ND**	3	**0,02**
F. poae	3	**0,01**	ND	**ND**
F. polyphialidicum	ND	**ND**	13	**0,08**
F. proliferatum	14	**0,06**	3	**0,02**

F. reticulatum	ND	**ND**	5	**0,03**
F. semitectum	35	**0,16**	20	**0,13**
F. sporotrichioides	75	**0,34**	85	**0,55**
F. verticillioides	ND	**ND**	3	**0,02**
F. sp.	10	**0,04**	3	**0,02**
Penicillium brevicompactum	20	**0,09**	10	**0,06**
P. canescens	15	**0,07**	33	**0,21**
P. expansum	15	**0,07**	ND	**ND**
P. funiculosum	ND	**ND**	5	**0,03**
P. janckzewsky	3	**0,01**	ND	**ND**
P. paneum	ND	**ND**	5	**0,03**
P. raistrickii	ND	**ND**	3	**0,02**
P. restrictum	5	**0,02**	ND	**ND**
P. sp.	ND	**ND**	3	**0,02**
Phoma aliena	10	**0,04**	3	**0,02**
P. betae	ND	**ND**	3	**0,02**

ND: No Determinado

Fig. 133: Densidades relativas (%) de las cinco especies predominantes en sistemas productivos orgánicos de cada año de muestreo.





Resumen por sistema productivo

Se hallaron al menos entre 27 y 33 especies en ambos sistemas productivos durante los dos años muestreados.

Durante los dos años se hallaron las especies *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *Cladosporium aggregatocicatricatum*, *C. asperulatum*, *C. cladosporioides*, *C. limoniforme*, *C. pseudocladosporioides*, *C. subtilissimum*, *C. tenellum*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium proliferatum*, *F. semitectum*, *F. sporotrichioides*, *Penicillium canescens* y *Phoma aliena* en ambos tipos de sistemas productivos.

Las especies *Aspergillus versicolor*, *Penicillium raistrickii* y *Pleospora alli* sólo fueron determinados en sistemas tradicionales en ambos años mientras que las especies *Aspergillus niger*, *Cladosporium macrocarpum*, *C. ramotenellum*, *Fusarium acuminatum*, *Penicillium brevicompactum* y *Phoma glomerata* sólo se hallaron en sistemas orgánicos.

Con respecto a las especies de mayor importancia *C. cladosporioides* fue la predominante en ambos sistemas durante los dos años de muestreo seguida por *C. limoniforme* en ambos sistemas durante el primer año y por *A. tenuissima* en sistemas tradicionales y *C. asperulatum* en sistemas orgánicos durante el segundo año. En tercer orden de importancia fueron determinadas *C. asperulatum* en sistemas tradicionales y *A. tenuissima* en sistemas orgánicos durante el primer año y *C. limoniforme* en ambos sistemas durante el segundo. En el cuarto orden fueron halladas *A. tenuissima* en sistemas tradicionales y *C. asperulatum* en sistemas orgánicos durante el primer año, mientras que *C. pseudocladosporioides* y *A. tenuissima* fueron la cuarta especie más abundante en sistemas tradicionales y en sistemas orgánicos durante el segundo año respectivamente. Finalmente en quinto orden de predominancia fueron determinadas *C. subtilissimum* en sistemas tradicionales y *E. nigrum* en orgánicos durante el primer año y *C. asperulatum* en sistemas tradicionales y *C. pseudocladosporioides* en orgánicos durante el segundo.

4.4 Relación de las variables climatológicas con la biodiversidad fúngica aérea de la región

4.4.1 Recopilación e interpretación de los datos meteorológicos

Los datos obtenidos de los informes agrometeorológicos emitidos por la Estación Experimental INTA Alto Valle para las zonas Centro y Este de la región fueron procesados y analizados con el programa Microsoft Excel®. De esta manera se analizó cada uno de los parámetros bajo estudio con el objetivo de obtener su valor promedio anual para así compararlo con los valores históricos recopilados en la región en virtud de determinar las similitudes y diferencias climatológicas de cada año muestreado.

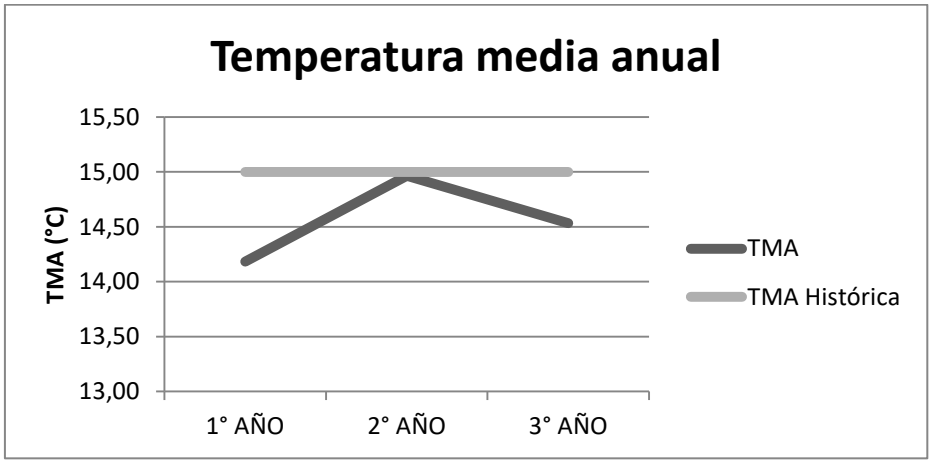
Temperatura media anual:

Históricamente la región del Alto Valle del río Negro se caracteriza por tener un clima continental con una temperatura media anual de 15,0 °C siendo el mes de enero el más caluroso y el mes de julio el más frío (Rodríguez y Muñoz, 2006). El segundo año es el que más se acerca en similitud al valor de temperatura media anual histórica, seguido por el tercer año y luego por el primero. Los tres años coinciden en que el mes más caluroso es enero pero no sucede lo mismo con el mes más frío, ya que para el segundo año es julio tal como sucede con los datos históricos mientras que para el primero y el tercero es el mes de junio. Los datos mensuales se muestran en la Tabla N° 71 y en la Fig. 134.

Tabla N° 71: Datos mensuales de la temperatura media (TM) para cada año de muestreo.

MESES	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Marzo	17,25	19,28	18,60
Abril	12,33	15,55	11,75
Mayo	9,10	9,60	9,00
Junio	5,83	7,85	5,05
Julio	6,28	7,20	5,90
Agosto	8,70	10,80	10,15
Septiembre	12,43	10,50	11,25
Octubre	15,08	12,75	14,60
Noviembre	17,53	19,10	19,25
Diciembre	21,08	21,80	22,60
Enero	23,38	23,00	23,40
Febrero	21,25	22,15	22,85
PROMEDIO ANUAL	**14,18**	**14,96**	**14,53**

Fig. 134: Temperatura media anual (TMA) por cada año de muestreo.



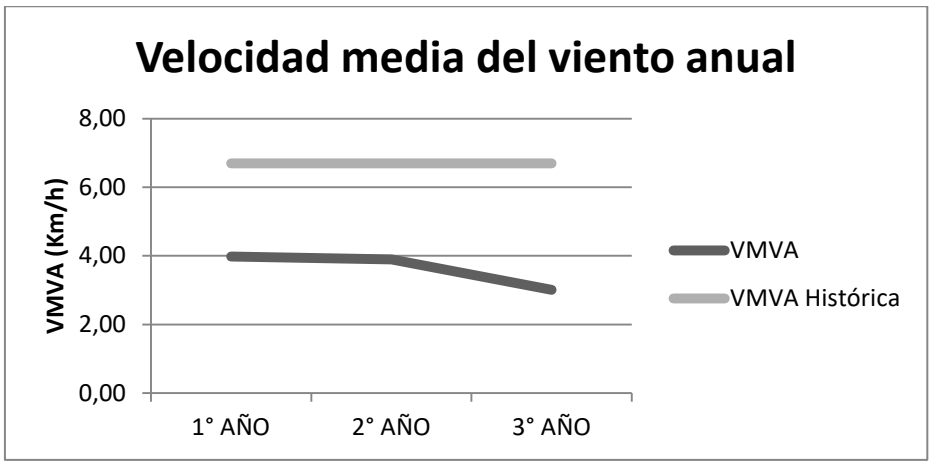
Velocidad media del viento anual

Los vientos en la región varían entre suaves y fuertes y el período con mayor frecuencia de días de calma se registra entre los meses de abril y julio. Durante el período 1990-2004 la velocidad media del viento tiene un valor promedio 6,7 km/h (Rodríguez y Muñoz, 2006). Los tres años presentan velocidades medias del viento anuales inferiores a la media histórica, siendo el primer y segundo año similares entre sí y más cercanos a este valor que el tercer año. Los datos mensuales se muestran en la Tabla N° 72 y en la Fig. 135.

Tabla N° 72: Datos mensuales de la velocidad media del viento (VMV) para cada año de muestreo.

MESES	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Marzo	4,20	1,90	2,55
Abril	4,00	2,55	2,30
Mayo	2,25	2,45	2,15
Junio	2,90	5,50	2,25
Julio	3,15	3,40	2,80
Agosto	5,85	4,95	4,95
Septiembre	5,25	5,25	2,90
Octubre	3,85	4,70	2,70
Noviembre	5,10	4,50	4,00
Diciembre	4,25	4,65	4,20
Enero	3,20	3,50	3,00
Febrero	3,75	3,45	2,35
PROMEDIO ANUAL	**3,98**	**3,90**	**3,01**

Fig. 135: Velocidad media del viento anual (VMVA) por cada año de muestreo.



Humedad relativa media anual

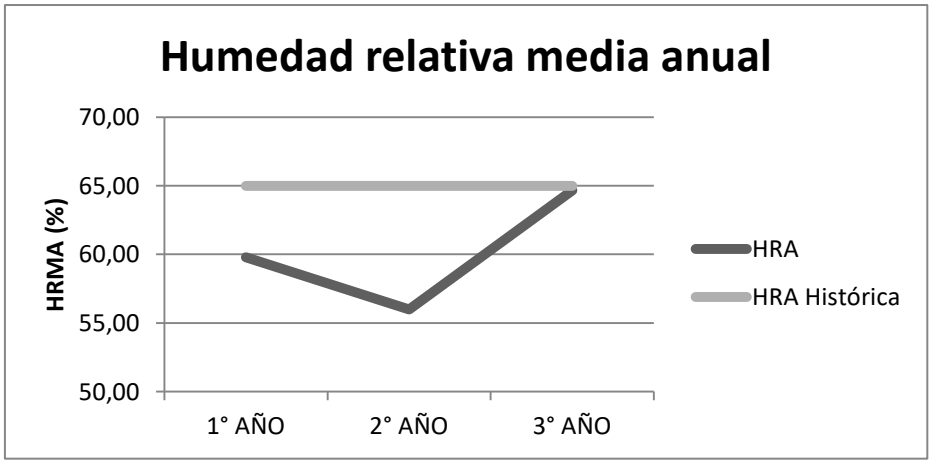
La humedad relativa media anual es de 65%, y valores medios por encima del 70% ocurren entre mayo y julio pudiendo alcanzar valores máximos de hasta un 90%. Los valores más bajos pueden llegar al 43% y suelen darse en el período primavero-estival entre los meses de noviembre a febrero (Rodríguez y Muñoz, 2006). Sólo el tercer año se asemeja a la media histórica reportada para este parámetro, seguida por el primer año y, en último lugar por el segundo. Valores superiores al 70% se registran entre los meses de abril y mayo para el primer año y entre abril y julio para el tercero, que sólo en el mes de mayo alcanzó una máxima de 88% similar a lo acontecido con los valores históricos. Las mínimas para cada año fueron registradas en el mes de diciembre (límite primavero-estival) con valores entre 42 y 43,5 °C. Los datos mensuales se muestran en la Tabla N° 73 y en la Fig. 136.

Tabla N° 73: Datos mensuales de la humedad relativa media (HRM) para cada año de muestreo.

MESES	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Marzo	53,50	58,50	64,00
Abril	70,50	65,00	72,50
Mayo	78,00	66,50	88,00
Junio	69,50	53,50	81,00
Julio	69,50	52,00	79,50
Agosto	52,50	49,00	63,00
Septiembre	57,50	49,00	56,00
Octubre	58,50	54,50	65,50
Noviembre	48,00	ND	47,50
Diciembre	43,50	42,50	42,00
Enero	61,50	69,50	61,50
Febrero	55,00	56,00	55,50
PROMEDIO ANUAL	**59,79**	**56,00**	**64,67**

ND: No Determinado

Fig. 136: Humedad relativa media anual (HRMA) por cada año de muestreo.



Radiación global media anual

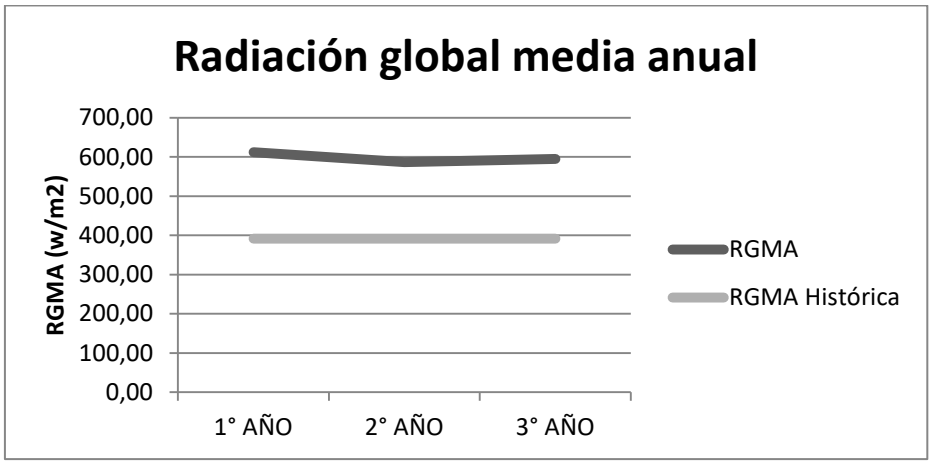
Debido a su ubicación geográfica la región posee altos valores de radiación global con un valor anual medio histórico de 391,4 cal.gr/cm^2.día y los máximos valores se alcanzan durante las estaciones de primavera y verano (Rodríguez y Muñoz, 2006). A diferencia de lo que sucede con la velocidad media del viento anual, los datos actuales para los tres años de muestreo son superiores a los históricos no presentando grandes diferencias entre sí. Los datos mensuales se muestran en la Tabla N° 74 y en la Fig. 137.

Tabla N° 74: Datos mensuales de la humedad relativa media (HRM) para cada año de muestreo.

MESES	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Marzo	660,50	676,15	671,00
Abril	482,15	485,70	485,60
Mayo	365,65	300,95	252,35
Junio	349,70	320,40	301,20
Julio	342,30	341,15	296,20
Agosto	459,05	474,80	477,45
Septiembre	604,80	565,75	607,90
Octubre	723,25	734,60	693,75
Noviembre	833,10	ND	849,20
Diciembre	877,70	873,50	870,20
Enero	865,20	912,60	867,50
Febrero	784,30	765,25	765,05
PROMEDIO ANUAL	**612,31**	**586,44**	**594,78**

ND: No Determinado

Fig. 137: Humedad relativa media anual (HRMA) por cada año de muestreo.



Por otro lado, se promediaron los valores de cada parámetro climatológico para determinar los resultados anuales. Los mismos se detallan en las Tablas N° 75, 76 y 77. Luego estos datos se organizaron y promediaron en función de las estaciones de cada año de muestreo para determinar la tendencia de cada parámetro climatológico en el tiempo y así presentar las variaciones interanuales.

Tabla N° 75: Detalle de los parámetros climatológicos de las zonas Este y Centro del Alto Valle durante el período comprendido entre otoño 2014 y verano 2015.

1° AÑO	Temperatura media (°C)	Velocidad media del viento (Km/h)	Humedad relativa media (%)	Radiación Global media (w/m2)
MAR-14	17,25	4,20	53,50	660,50
ABR-14	12,25	4,00	70,50	482,15
MAY-14	9,00	2,25	78,00	365,65
JUN-14	5,65	2,90	69,50	349,70
JUL-14	6,25	3,15	69,50	342,30
AGO-14	8,90	5,85	52,50	459,05
SEP-14	12,35	5,25	57,50	604,80
OCT-14	14,95	3,85	58,50	723,25
NOV-14	17,45	5,10	48,00	833,10
DIC-14	20,95	4,25	43,50	877,70
ENE-15	23,15	3,20	61,50	865,20
FEB-15	21,10	3,75	55,00	784,30

Tabla N° 76: Detalle de los parámetros climatológicos de las zonas Este y Centro del Alto Valle durante el período comprendido entre otoño 2015 y verano 2016.

2° AÑO	Temperatura media (°C)	Velocidad media del viento (Km/h)	Humedad relativa media (%)	Radiación Global media (w/m2)
MAR-15	19,05	1,90	58,50	676,15
ABR-15	15,55	2,55	65,00	485,70
MAY-15	9,60	2,45	66,50	300,95
JUN-15	7,85	5,50	53,50	320,40
JUL-15	7,20	3,40	52,00	341,15
AGO-15	10,80	4,95	49,00	474,80
SEP-15	10,50	5,25	49,00	565,75
OCT-15	12,75	4,70	54,50	734,60
NOV-15	19,10	4,50	ND	ND
DIC-15	21,80	4,65	42,50	873,50
ENE-16	23,00	3,50	69,50	912,60
FEB-16	22,15	3,45	56,00	765,25

ND: No Determinado

Tabla N° 77: Detalle de los parámetros climatológicos de las zonas Este y Centro del Alto Valle durante el período comprendido entre otoño 2016 y verano 2017.

3° AÑO	Temperatura media (°C)	Velocidad media del viento (Km/h)	Humedad relativa media (%)	Radiación Global media (w/m2)
MAR-16	18,60	2,55	64,00	671,00
ABR-16	11,750	2,300	72,500	485,600
MAY-16	9,000	2,150	88,000	252,350
JUN-16	5,050	2,250	81,000	301,200
JUL-16	5,900	2,800	79,500	296,200
AGO-16	10,150	4,950	63,000	477,450
SEP-16	11,250	2,900	56,000	607,900
OCT-16	14,600	2,700	65,500	693,750
NOV-16	19,250	4,000	47,500	849,200
DIC-16	22,600	4,200	42,000	870,200
ENE-17	23,400	3,000	61,500	867,500
FEB-17	22,850	2,350	55,500	765,050

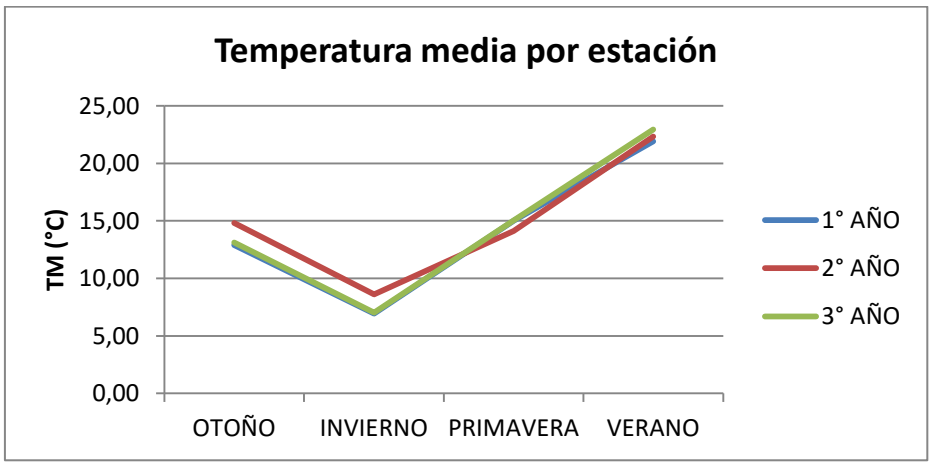
Temperatura media:

No se observan diferencias entre las temperaturas medias por estación de cada año de muestreo a excepción de la estación otoñal e invernal del segundo año donde se detecta un leve aumento con respecto a las demás. La tendencia parece indicar que la temperatura alcanza su máximo durante la estación estival y va disminuyendo hasta alcanzar su mínimo en la estación invernal para luego volver a ascender. Los datos se detallan en la Tabla N° 78 y se observan en la Fig. 138.

Tabla N° 78: Datos estacionales de la temperatura media (TM) en los tres años de muestreo.

TM (°C)	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
OTOÑO	12,89	14,81	13,12
INVIERNO	6,93	8,62	7,03
PRIMAVERA	15,01	14,12	15,03
VERANO	21,90	22,32	22,95

Fig. 138: Seguimiento de la temperatura media por estación en cada año muestreado.



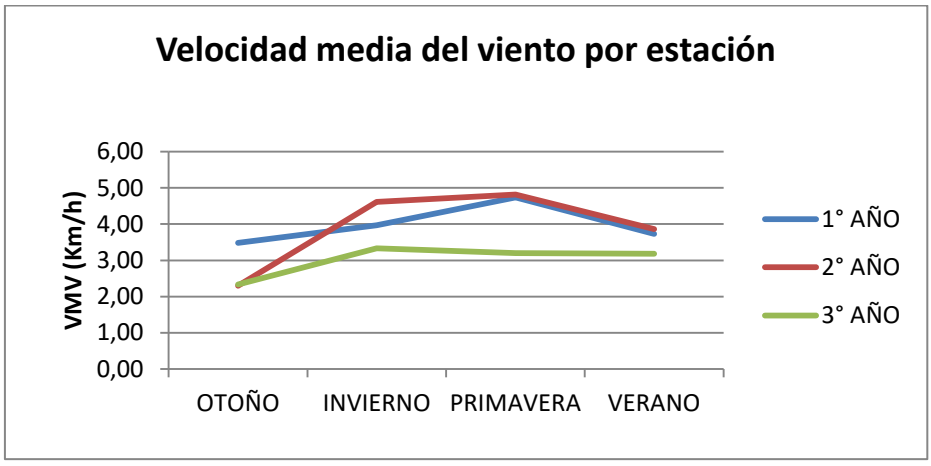
Velocidad media del viento

La tendencia de este parámetro es similar en el primer y segundo año donde el máximo valor se registra en primavera, luego en invierno, seguido por verano y el mínimo se da en otoño. La diferencia entre ambos años es que los valores en la estación otoñal son mayores en el primer año respecto del segundo, mientras que en la estación invernal sucede lo contrario. En cambio en el tercer año la máxima se detecta en invierno, luego en primavera, seguido por verano y la mínima se registra en otoño. De hecho en estas últimas tres estaciones los valores son muy similares entre sí. Los datos se detallan en la Tabla N° 79 y se observan en la Fig. 139.

Tabla N° 79: Datos estacionales de la velocidad media del viento (VMV) en los tres años de muestreo.

VMV (Km/h)	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
OTOÑO	3,48	2,30	2,33
INVIERNO	3,97	4,62	3,33
PRIMAVERA	4,73	4,82	3,20
VERANO	3,73	3,87	3,18

Fig. 139: Seguimiento de la velocidad media del viento por estación en los tres años de muestreo.



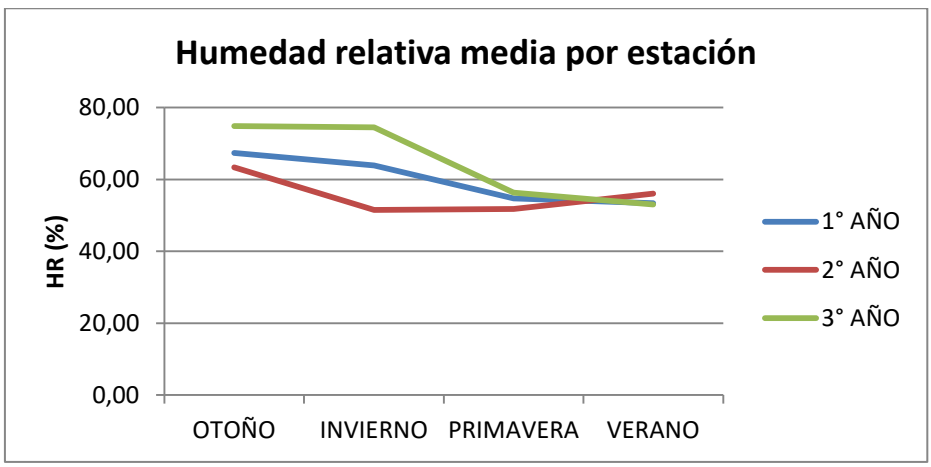
Humedad relativa media

Se observan discrepancias entre los tres años de muestreo correpondientes a las estaciones de otoño e invierno. Así, en la primera mitad de cada año puede observarse que para ambas estaciones el tercer año de muestreo fue más húmedo que el primero y éste a su vez fue más húmedo que el segundo. Este parámetro exhibe su máximo durante la estación otoñal, a partir de la cual comienza a disminuir para llegar a su mínimo en la estación de verano. En el segundo año la tendencia se modifica ya que el mínimo se registra en la estación invernal y a partir de allí comienza a ascender nuevamente para llegar al máximo valor en otoño. Los datos se detallan en la Tabla N° 80 y se observan en la Fig. 140.

Tabla N° 80: Datos estacionales de la humedad relativa media (HRM) en los tres años de muestreo.

HRM (%)	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
OTOÑO	67,33	63,33	74,83
INVIERNO	63,83	51,50	74,50
PRIMAVERA	54,67	51,75	56,33
VERANO	53,33	56,00	53,00

Fig. 140: Seguimiento de la humedad relativa media por estación en cada año muestreado.



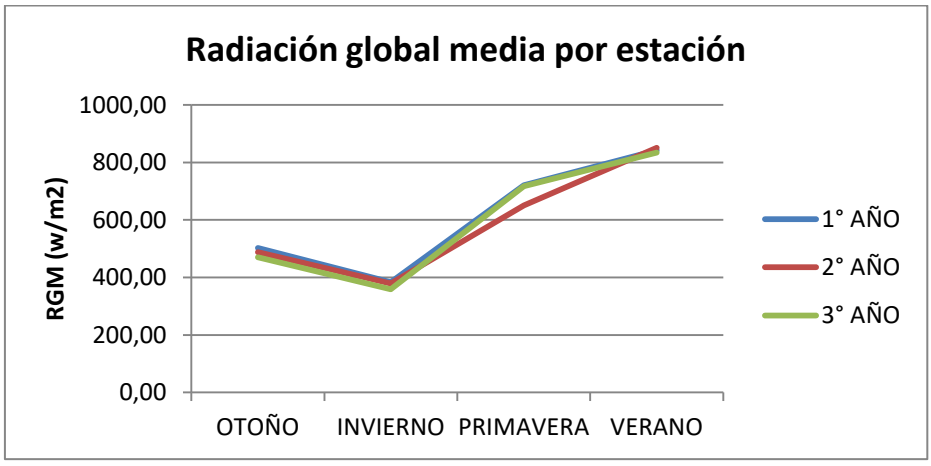
Radiación global media

Al igual que como sucede con la temperatura media prácticamente no se registran diferencias entre la radiación global media media de cada año de muestreo a lo largo del tiempo a excepción de la estación primaveral del segundo año donde los valores son menores en comparación con los otros dos años. La tendencia parece indicar que este parámetro alcanza su máximo durante la estación estival y va disminuyendo hasta alcanzar su mínimo en la estación invernal para luego volver a ascender al igual que la temperatura media. Los datos se detallan en la Tabla N° 81 y se observan en la Fig. 141.

Tabla N° 81: Datos estacionales de la radiación global media (RGM) en los tres años de muestreo.

RGM (w/m^2)	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
OTOÑO	502,77	487,60	469,65
INVIERNO	383,68	378,78	358,28
PRIMAVERA	720,38	650,18	716,95
VERANO	842,40	850,45	834,25

Fig. 141: Seguimiento de la radiación global media por estación en cada año muestreado.



4.4.2 Relación de los parámetros meteorológicos con los recuentos fúngicos estacionales

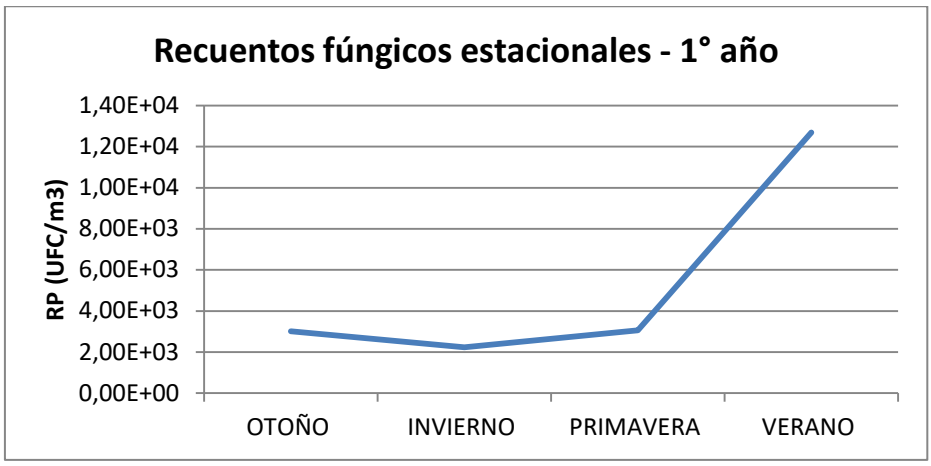
Con el objetivo de relacionar los parámetros climáticos con los recuentos fúngicos promedio estacionales de los tres años de muestreo se llevó a cabo una comparación de los resultados obtenidos y recopilados.

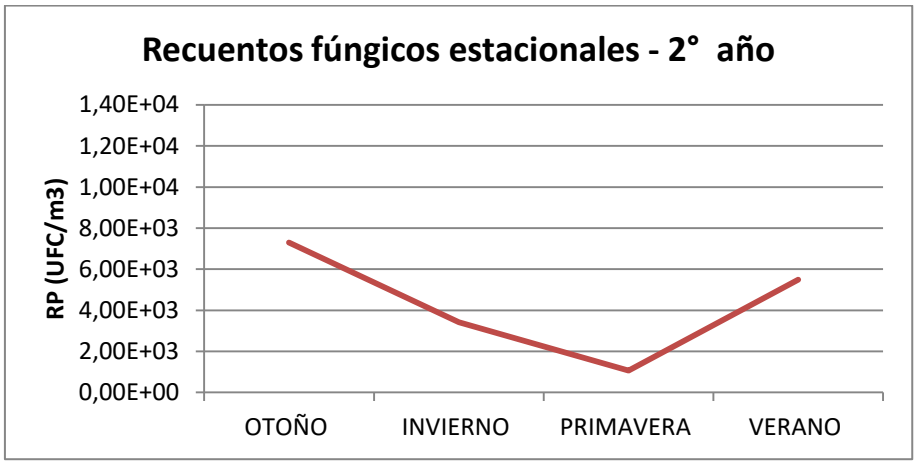
En la Tabla N° 82 se presentan los recuentos promedio (RP) estacionales de cada año muestreado y en la Fig. 142 se observan los resultados.

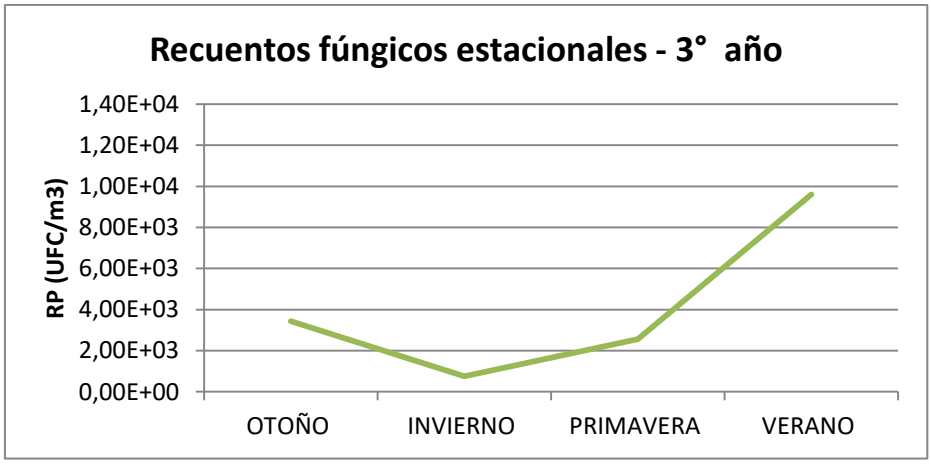
Tabla N° 82: Detalle de los recuentos promedio (UFC/m^3) obtenidos las estacionaes de los tres años muestreados.

Estaciones	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Otoño	3,02E+03	7,30E+03	3,44E+03
Invierno	2,24E+03	3,42E+03	7,48E+02
Primavera	3,06E+03	1,07E+03	2,56E+03
Verano	1,27E+04	5,49E+03	9,61E+03

Fig. 142: Recuentos fúngicos promedio estacionales en los tres años de muestreo.







Como puede observarse el primer año y el tercer año se comportan de una manera similar donde el máximo recuento fúngico se registra en la estación estival y el mínimo en la estación invernal, el segundo recuento en orden de magnitud puede registrarse en otoño como sucede en el tercer año o en primavera como sucede en el primero. Esta tendencia suele correlacionarse con parámetros como la temperatura y la radiación global que se asemejan a la misma a lo largo de cada año. Si bien la diferencia en el recuento de estas dos estaciones podría ser no significativa, esta discrepancia que se presenta entre ambos años podría asociarse a la mayor humedad relativa que se registra para la estación otoñal del tercer año y a una menor velocidad media del viento en la estación primaveral en comparación con el primero.

El segundo año tiene un comportamiento completamente diferente al primero y al tercero y no parece seguir la tendencia de ningún parámetro meteorológico en particular. Por lo tanto la misma posiblemente se deba a una asociación de los diferentes parámetros. El mayor recuento registrado en la estación otoñal en comparación con la estival podría deberse a que en otoño se registraron mayores valores de humedad relativa y menores valores de velocidad media del viento con respecto al verano. El mayor recuento observado en la estación invernal respecto a la primaveral podría asociarse con una menor velocidad media del viento en comparación con la estación primaveral.

4.5 Determinación de la patogenicidad y especificidad del hospedante

Considerando, como fuera mencionado en el item 3.5 de la seccción de Materiales y Métodos del presente trabajo, que los géneros *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Aspergillus* están reconocidos dentro de los más importantes géneros fitopatógenos y que la patogenicidad de las especies de *Cladosporium*, *Stemphylium* y *Pleospora* ha sido menos frecuentemente estudiada, sumado a la abundancia de *Cladosporium* en aire y a la emergente ocurrencia en la región de *Stemphylium* y *Pleospora* durante las últimas temporadas de cosecha, se evaluó la capacidad fitopatógena y la especificidad del hospedante de especies del género *Cladosporium* y de los géneros *Stemphylium* y *Pleospora* sobre frutos representativos de la región. Debido a que estos géneros han sido reportados como fitopatógenos de ciertas variedades de pera principalmente según la bibliografía consultada, se seleccionaron peras de las variedades Packham's Triumph, Williams, Abate Fetel y D' Anjou para realizar los ensayos y manzanas de la variedad Red Delicious como planta control no hospedadora de este hongo.

En ambos casos se registraron las lesiones externas e internas observadas sobre los frutos analizados y se realizó una caracterización de las mismas. La patogenicidad de cada aislamiento fue determinada según el diámetro de la lesión y la especificidad del hospedador según la capacidad de producirla o no sobre cada variedad de pera y manzana ensayadas.

4.5.1 Especies de *Cladosporium*:

La patogenicidad y especificidad de hospedador de 26 aislamientos representativos de las especies *C. agregatocicatricatum*, *C. allicinum*, *C. asperulatum*, *C. cladosporioides, C. pseudocladosporioides*, *C. limoniforme*, *C. macrocarpum*, *C. ramotenellum*, *C. subtilissimum*, *C. tenellum* y *C.* sp. identificados molecularmente, fue llevada a cabo sobre frutos de pera de las variedades Packham's Triumph y Abate Fetel, siendo esta última reportada como una variedad susceptible a la infección por especies de *Cladosporium* en los últimos tiempos (INTA, comunicación personal).

Asimismo, se evaluó la patogenicidad sobre frutos de manzano de la variedad Red Delicious y se observó que ninguno de los aislamientos resultó ser patógeno.

Caracterización de las lesiones externas:

Se registraron distintas características en las lesiones producidas sobre la superficie de los frutos de pera. Así se pudo observar necrosis negra o marrón en el punto de inoculación o extendida fuera de él, con o sin desarrollo de micelio. También se pudo observar resecamiento y/o endurecimiento del tejido circundante al punto de inoculación. Las lesiones descriptas en el tejido externo de peras de ambas variedades ensayadas se muestran en la Fig. 143.

Caracterización de las lesiones internas

En este caso también se registraron sólo las características de las lesiones producidas en el tejido interno de los frutos de pera. Al igual que con el exterior se pudo observar necrosis negra o marrón, con o sin desarrollo de micelio. Aquí, se detectó de ahuecamiento del tejido interno con o sin endurecimiento del mismo. Las lesiones descriptas en el tejido interno de peras de ambas variedades ensayadas se muestran en la Fig. 144.

Fig. 143: Lesiones externas observadas en peras. Packham´s Triumph: área de resecamiento (R) (A) y lesión presentando necrosis, endurecimiento y desarrollo de micelio (E-N-CDM) (B). Abate Fetel: área de resecamiento sin desarrollo de micelio (R-SDM) (C), área de resecamiento con desarrollo de micelio (R-CDM) (D), lesión presentando resecamiento y necrosis en el punto de inoculación sin desarrollo de micelio (R-PIN-SDM) (E) y lesión con resecamiento y necrosis marrón por fuera del punto de inoculación con escaso desarrollo de micelio (N-R-CDM) (F).

Fig. 144: Lesiones internas observadas en peras. Pacham's Triumph: lesión presentando ahuecado, endurecimiento, necrosis y desarrollo de micelio (E-N-CDM) (A) y lesión con endurecimiento y necrosis sin desarrollo de micelio (E-N-SDM) en el tejido interno (B). Abate Fetel: área con ahuecamiento y endurecimiento del tejido sin desarrollo de micelio (A-E-SDM) (C), lesión presentando ahuecamiento, endurecimiento y necrosis con desarrollo de micelio (A-E-N-CDM) (D) y lesión con endurecimiento y necrosis sin desarrollo de micelio (E-N-SDM) (E).

En las Tablas N° 83 y 84 se describen los datos registrados sobre peras Packham's Triumph y Abate Fetel. A modo de simplificar sólo se muestran los resultados de los 4 aislamientos que produjeron lesión en peras Packham's, dado que los 22 aislamientos restantes no ocasionaron daños visibles en los frutos.

Tabla N° 83: Lesiones externas e internas de especies de *Cladosporium* sobre frutos de pera Packham's Triumph.

		LESIÓN EXTERNA			LESIÓN INTERNA		
Especie	N° de aislamiento	Diámetro (cm)	Color	Tipo	Diámetro (cm)	Color	Tipo
C. pseudocladosporioides	2	0,5	Incolora	R-SDM	0,5	Marrón claro	E-SDM
	22	0,5	Negro	N-R-SDM	0,5	Negro	A-E-N-SDM
C. asperulatum	27	1,5	Negro	N-E-CDM	1,8	Negro	A-E-N-CDM
	50	0,5	Negro	N-E-SDM	0,5	Marrón claro	E-N-SDM

REFERENCIAS: A: ahuecado; E: endurecimiento; N: necrosis; R: resecamiento; CDM: con desarrollo de micelio; NPL: no produce lesión; PIN: punto de inoculación con necrosis; SDM: sin desarrollo de micelio.

Tabla N° 84: Lesiones externas e internas de especies de *Cladosporium* sobre frutos de pera Abate Fetel.

		LESIÓN INTERNA			LESIÓN EXTERNA		
Especie	N° de aislamiento	Diámetro (cm)	Color	Tipo	Diámetro (cm)	Color	Tipo
C. cladosporioides	1	NPL					
	20	1,2	Negro	R-PIN-SDM	1,0	Negro	A-E-N-CDM
	52	1,0	Incolora	R-CDM	1,2	Negro	E-N-SDM
C. pseudocladosporioides	2	0,9	Negro	R-PIN-CDM	1,3	Negro	E-N-SDM
	22	1,5	Negro	R-PIN-CDM	1,4	Negro	A-E-N-CDM
	30	NPL					
C. asperulatum	27	0,8	Marrón	N-R-CDM	2,3	Negro	E-N-SDM
	50	0,6	Negro	R-PIN- SDM	1,0	Negro	E-N-SDM
	59	0,6	Incolora	R-SDM	0,9	Incolora	A-E-SDM
C. macrocarpum	6	0,9	Incolora	R-SDM	1,2	Negro	E-N-SDM
	11	0,8	Incolora	R-SDM	1,1	Negro	E-N-SDM
	12	1,3	Incolora	R-SDM	1,0	Negro	E-N-SDM
C. limo-niforme	18	0,6	Incolora	R-SDM	0,9	Negro	E-N-SDM

	24	0,9	Incolora	R-SDM	1,1	Negro	E-N-SDM
	40	NPL					
C. subtilissimum	7	0,8	Incolora	R-SDM	0,9	Negro	E-N-SDM
	44	0,4	Incolora	R-SDM	0,6	Incolora	A-E-CDM
C. allici-num	21	NPL					
C. aggregatocica-tricatum	14	1,0	Incolora	R-SDM	3,0	Negro	E-N-SDM
	37	1,1	Incolora	R-CDM	1,9	Negro	E-N-SDM
C. tenellum	31	1,0	Incolora	R-SDM	0,9	Negro	E-N-SDM
	33	NPL					
C. ramo-tenellum	17	1,1	Incolora	R-CDM	0,8	Negro	E-N-SDM
C. sp. 1	32	1,2	Incolora	R-SDM	0,9	Marrón	E-N-SDM
C. sp. 2	35	NPL					
C. sp. 3	38	NPL					

REFERENCIAS: A: ahuecado; E: endurecimiento; N: necrosis; R: resecamiento; CDM: con desarrollo de micelio; NPL: no produce lesión; PIN: punto de inoculación con necrosis; SDM: sin desarrollo de micelio.

Con el objetivo de determinar el grado de patogenicidad de los aislamientos se llevó a cabo una ponderación del mismo utilizando como medida el diámetro de la lesión interna de los frutos como se describe en la Tabla N° 85. De esta manera el grado de patogenicidad de los aislamientos que causaron lesión sobre frutos de las variedades de pera Packham´s Triumph y Abate Fetel se presenta en la Tabla N° 86.

Tabla N° 85: Ponderación del grado de patogenicidad sobre frutos de pera de los aislamientos de *Cladosporium*.

Grado de patogenicidad	Diámetro de la lesión interna (cm)
Patógeno leve (+)	Entre 0,5 y 1,3
Patógeno moderado (++)	Entre 1,4 y 2,2
Patógeno severo (+++)	Entre 2,3 y 3,0

Tabla N° 86: Grado de patogenicidad sobre frutos de pera de los aislamientos de *Cladosporium*.

		PACKHAM'S TRIUMPH		ABATE FETEL	
Especie	N° de aislamiento	Diámetro de la lesión (cm)	Grado de patogenicidad	Diámetro de la lesión (cm)	Grado de patogenicidad
C. cladosporioides	20	NP		1,0	+
	52	NP		1,2	+
C. pseudocladosporioides	2	0,5	+	1,3	+
	22	0,5	+	1,4	++
C. asperulatum	27	1,8	++	2,3	+++

	50	0,5	+	1,0	+
	59	NP		0,9	+
C. macrocarpum	6	NP		1,2	+
	11	NP		1,1	+
	12	NP		1,0	+
C. limoniforme	18	NP		0,9	+
	24	NP		1,1	+
C. subtilissimum	7	NP		0,9	+
	44	NP		0,6	+
C. aggregaticatricatum	14	NP		3,0	++
	37	NP		1,9	+++
C. tenellum	31	NP		0,9	+
C. ramotenellum	17	NP		0,8	+
C. sp. 1	32	NP		0,9	+

NP: No Patógeno

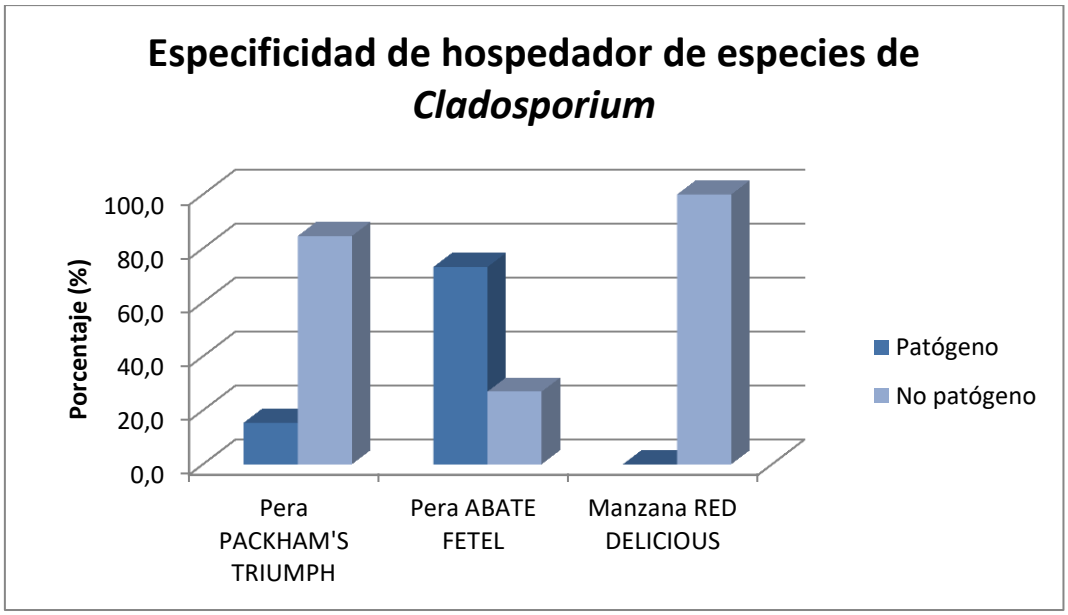
En peras de la variedad Packham's Triumph, sólo 4 aislamientos causaron lesión tanto en el tejido externo como interno de los frutos (15,4%). Los 22 aislamientos restantes no produjeron ningún tipo de daño en los tejidos externos y/o internos de los frutos (84,6%). *C. pseudocladosporioides* y *C. asperulatum* fueron las especies que ocasionaron lesión en esta variedad.

En peras de la variedad Abate Fetel, 19 aislamientos produjeron lesión tanto en el tejido externo como interno de los frutos (73,1%). Los 7 aislamientos restantes no produjeron ningún tipo de daño en los tejidos externos y/o internos de los frutos (26,9%). Prácticamente aislamientos de todas las especies de *Cladosporium* causaron lesión en esta variedad a excepción de *C. allicinum*, *C.* sp. 2 y *C.* sp. 3

Como fuera mencionado previamente en manzanas de la variedad Red Delicious, ninguno de los 26 aislamientos probados causó ningún tipo de lesión en los tejidos de los frutos.

Los resultados descriptos se presentan en la Fig. 145.

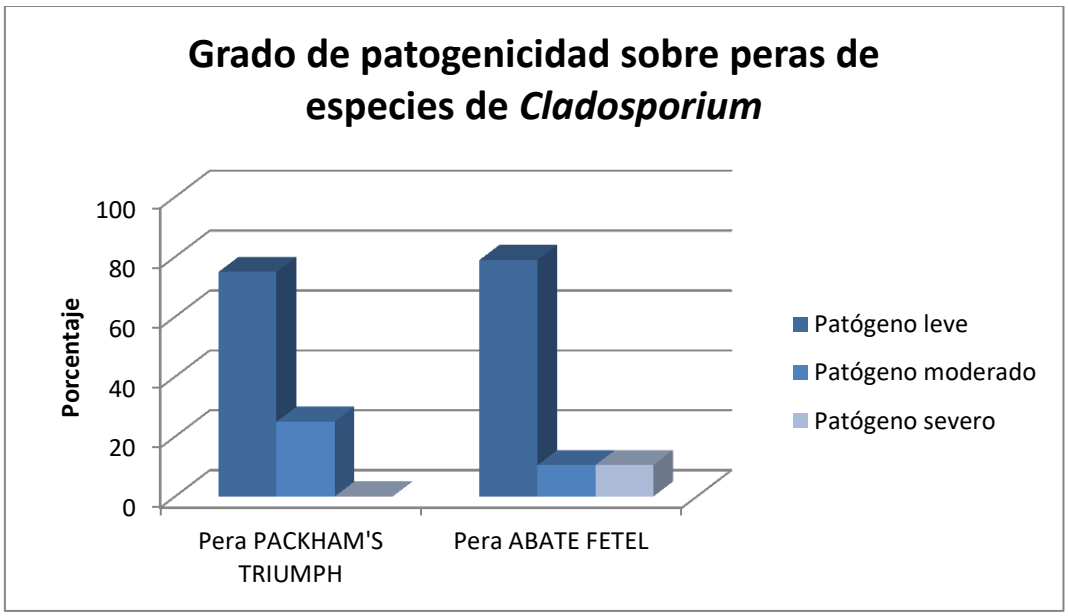
Fig. 145: Resultados que describen la especificidad de hospedador de especies de Cladosporium sobre frutos de pera y manzana.



Con respecto al grado de patogenicidad en peras Packham´s Triumph, 3 de los 4 aislamientos que causaron lesión interna en frutos sanos resultaron ser patógenos leves (75%) y el aislamiento restante resultó ser un patógeno moderado (25%) correspondiente a *C. asperulatum* (Fig. 146).

En peras Abate Fetel, 15 de los 19 aislamientos que causaron lesión interna en frutos sanos resultaron ser patógenos leves (79,0%), 2 de 22 resultaron ser patógenos moderados (10,5%) y 2 de 22 patógenos severos (10,5%) (Fig. 146). Los aislamientos que resultaron ser patógenos moderados y severos corresponden a las especies *C. pseudocladosporioides*, *C. asperulatum* y *C. aggregatocicatricatum*.

Fig. 146: Resultados que describen el grado de patogenicidad de especies de *Cladosporium* sobre frutos de pera.



4.5.2 Especies de *Stemphylium* y *Pleospora:*

Stemphylium vesicarium (teleomorfo: *Pleospora alli*) ha sido ampliamente reportado en otras partes del mundo como especie causante de la "mancha marrón del peral" ocasionando daño tanto en frutos como en hojas debido a la presencia de sus conidios o ascosporas como así también a la producción de toxinas hospedador específicas (toxinas SV) (Singh y col. , 2000).

Por lo tanto la patogenicidad y especificidad de hospedador de 9 aislamientos de *Pleospora* y 2 de *Stemphylium* fue llevada a cabo sobre frutos de pera de las variedades Packham's Triumph y Abate Fetel y sobre hojas de las variedades Packham's Triumph, Abate Fetel, Williams y D'Anjou. Asimismo, frutos y hojas de manzana de la variedad Red Delicious y hojas de rosa fueron empleadas como control por ser plantas no hospedadoras de este género (Singh y col. , 1999). Sin embargo, se ha podido determinar la patogenicidad de los aislamientos de ambos géneros en frutos de manzana. En la tabla N° 87 se detallan las cepas empleadas en los ensayos.

Se registraron las lesiones externas e internas observadas sobre los frutos y hojas utilizadas y se realizó una caracterización de las mismas. La patogenicidad de cada aislamiento fue determinada según el diámetro y/o extensión de las lesiones y la especificidad del hospedador según la capacidad de producir daño o no sobre cada variedad ensayada.

Tabla N° 87: Aislamientos y cepas de *S. vesicarium* y *P. alli* empleadas en los ensayos de fitopatogenicidad sobre frutos y hojas.

Género y especie	N° de aislamiento	Cepa
P. alli	1	T2C2EO14
P. alli	2	T2C2FI14
P. alli	3	T2C1F1I15
P. alli	4	O3C5JP14
S. vesicarium	5	O3C18D1P14
P. alli	6	O4C5EP14
P. alli	7	T2C4EI15
P. alli	8	T3C1FP15
S. vesicarium	9	O4C3CO16
P. alli	10	O3C9CI16
P. alli	11	T1C12HV15

Ensayos en frutos

Caracterización de las lesiones externas:

Se registraron distintas características en las lesiones producidas sobre la superficie de los frutos observándose necrosis de color marrón oscuro que en ocasiones puede presentar bordes más claros con o sin desarrollo de micelio. Las lesiones suelen ser circulares aunque a veces pueden exhibir bordes más irregulares y, en ocasiones, se pudo observar la presencia de anillos concéntricos. En cuanto a la textura produjo reblandecimiento del tejido circundante al punto de inoculación y en ocasiones hundimiento del mismo. Las lesiones descriptas en el tejido externo de los frutos se muestran en la Fig. 147.

Caracterización de las lesiones internas:

Se registraron las características de las lesiones producidas en el tejido interno de los frutos. En este caso, las lesiones pueden clasificarse en dos tipos: las que producen una necrosis amarronada con resecado en el sitio de inoculación y reblandecimiento del área que lo circunda y en aquellas lesiones que tienen un color amarronado pálido y ocasionan un ahuecamiento del tejido con resecamiento de la zona y desarrollo de micelio blanquecino. Las lesiones descriptas en el tejido interno de los frutos se muestran en la Fig. 148.

Fig. 147: Lesiones externas observadas en frutos. Abate Fetel: lesión marrón oscuro con anillos concéntricos, reblandecimiento y desarrollo de micelio (RE-CDM) (A) y lesión marrón oscuro con anillos concéntricos, reblandecimiento sin desarrollo de micelio (RE-SDM) (B). Packham´s Triumph: lesión marrón oscuro con bordes claros, reblandecimiento y desarrollo de micelio (RE-CDM) (C). Red Delicious: lesión marrón oscuro con anillos concéntricos y reblandecimiento con desarrollo de micelio (RE-CDM) (D).

Fig. 148: Lesiones internas observadas en frutos. Abate Fetel: lesión marrón claro presentando reblandecimiento sin desarrollo de micelio (RE-SDM) (A), lesión marrón claro presentando ahuecamiento y resecamiento con desarrollo de micelio (A-RE-SDM) (B) y lesión negra presentando ahuecamiento y resecamiento con desarrollo de micelio (A-RE-CDM) (C). Packham´s Triumph: lesión marrón claro presentando reblandecimiento sin desarrollo de micelio (RE-SDM) (D) y lesión marrón claro presentando ahuecamiento y resecamiento con desarrollo de micelio (A-RE-CDM) (E). Red Delicious: el fruto exhibe en su margen izquierda una lesión marrón claro presentando ahuecamiento y resecamiento con desarrollo de micelio (A-RE-CDM) y en su margen derecha una lesíon maarón claro con centro negro y reblandecimiento sin desarrollo de micelio (RE-SDM) (F).

En las Tablas N° 88, 89 y 90 se detallan los datos registrados sobre peras Packham's Triumph y Abate Fetel y manzanas Red Delicious.

Tabla N° 88: Resultados de los ensayos de patogenicidad con aislamientos de *P. alli* y *S. vesicarium* sobre peras Packham's Triumph.

		LESIÓN EXTERNA			LESIÓN INTERNA		
Especie	**N° de aislamiento**	**Diámetro (cm)**	**Color**	**Tipo**	**Diámetro (cm)**	**Color**	**Tipo**
P. alli	1	3,0	Marrón oscuro con bordes claros	RE-CDM	2,3	Marrón claro	RE-SDM
	2	1,0	Marrón oscuro con bordes claros	RE-CDM	2,0	Marrón claro	RE-SDM
	3	0,5	Marrón oscuro con bordes claros	RE-CDM	1,0	Marrón claro	A-R-CDM
	4	NPL					
S. vesi-carium	5	0,7	Marrón oscuro con bordes claros	RE-CDM	1,0	Marrón claro	CDM-A-R-
P. alli	6	1,0	Marrón oscuro con bordes claros	RE-CDM	2,0	Marrón claro	A-R-CDM
	7	2,0	Marrón oscuro con bordes claros	RE-CDM	1,5	Marrón claro	A-R-CDM
	8	1,2	Marrón claro con bordes claros	RE-CDM	1,5	Marrón claro	RE-SDM
S. vesi-carium	9	0,5	Marrón oscuro con bordes claros	RE-CDM	0,8	Marrón claro	A-R-CDM
P. alli	10	0,5	Marrón oscuro con bordes claros	RE-CDM	1,0	Marrón claro	A-R-CDM
	11	1,0	Marrón oscuro con bordes claros	RE-CDM	1,2	Marrón claro	A-R-CDM

REFERENCIAS: A: ahuecado; R: resecamiento; RE: reblandecimiento; CDM: con desarrollo de micelio; NPL: no produce lesión; SDM: sin desarrollo de micelio.

Tabla N° 89: Resultados de los ensayos de patogenicidad con aislamientos de *P. alli* y *S. vesicarium* sobre peras Abate Fetel.

		LESIÓN EXTERNA			LESIÓN INTERNA		
Especie	N° de aislamiento	Diámetro (cm)	Color	Tipo	Diámetro (cm)	Color	Tipo
P. alli	1	2,0	Marrón oscuro con anillos concéntricos	RE-CDM	3,0	Marrón claro	RE-SDM
	2	1,2	Marrón oscuro con anillos concéntricos	RE-CDM	1,0	Marrón claro	A-R-CDM
	3	4,0	Marrón oscuro con anillos concéntricos	RE-CDM	3,2	Marrón claro	RE-SDM
	4	NPL					
S. vesi-carium	5	1,5	Marrón oscuro con anillos concéntricos	RE-SDM	1,2	Marrón claro	A-R-CDM
P. alli	6	1,2	Marrón oscuro	RE-CDM	1,0	Marrón claro	RE-SDM
	7	1,5	Marrón oscuro con anillos concéntricos	RE-CDM	1,2	Marrón claro	A-R-CDM
	8	2,0	Marrón oscuro con anillos concéntricos	RE-CDM	1,5	Negro	A-R-CDM
S. vesi-carium	9	3,0	Marrón oscuro con anillos concéntricos	RE-CDM	1,5	Marrón claro	A-R-CDM
P. alli	10	2,0	Marrón oscuro con anillos concéntricos	RE-SDM	1,5	Marrón claro	SDM
	11	1,0	Marrón oscuro con anillos concéntricos	RE-CDM	1,0	Marrón claro	A-R-CDM

REFERENCIAS: A: ahuecado; R: resecamiento; RE: reblandecimiento; CDM: con desarrollo de micelio; NPL: no produce lesión; SDM: sin desarrollo de micelio.

Tabla N° 90: Resultados de los ensayos de patogenicidad con aislamientos de *P. alli* y *S. vesicarium* sobre manzanas Red Delicious.

		LESIÓN EXTERNA			LESIÓN INTERNA		
Especie	N° de aislamiento	Diámetro (cm)	Color	Tipo	Diámetro (cm)	Color	Tipo
P. alli	1	2,5	Marrón oscuro con anillos concéntricos	RE-CDM	3,0	Marrón claro con centro negro	RE-SDM
	2	3,0	Marrón oscuro con anillos concéntricos	RE-CDM	2,5	Marrón claro	RE-SDM
	3	2,0	Marrón oscuro	RE-CDM	1,4	Marrón claro	RE-SDM
	4	NPL					
S. vesi-carium	5	1,5	Marrón oscuro con anillos concéntricos	RE-CDM	1,5	Marrón claro con centro negro	RE-SDM
P. alli	6	2,0	Marrón oscuro con anillos concéntricos	RE-CDM	2,0	Marrón claro con centro negro	RE-SDM
	7	0,5	Marrón oscuro	RE-CDM	0,8	Marrón claro	RE-SDM
	8	1,0	Marrón oscuro	RE-CDM	0,8	Marrón claro	A-R-CDM
S. vesi-carium	9	0,8	Marrón oscuro con anillos concéntricos	RE-CDM	1,0	Marrón claro	RE-SDM
P. alli	10	2,0	Marrón oscuro	RE-CDM	1,5	Marrón claro	RE-SDM
	11	2,1	Marrón oscuro con anillos concéntricos	RE-CDM	2,2	Marrón claro con centro negro	RE-SDM

REFERENCIAS: A: ahuecado; R: resecamiento; RE: reblandecimiento; CDM: con desarrollo de micelio; NPL: no produce lesión; SDM: sin desarrollo de micelio.

Nuevamente con el objetivo de determinar el grado de patogenicidad de los aislamientos se llevó a cabo una ponderación del mismo utilizando como medida el diámetro de la lesión interna de los frutos como se describe en la Tabla N° 91. A continuación se presenta en la Tabla N° 92 el grado de patogenicidad de los aislamientos que causaron lesión interna sobre frutos de las variedades de pera Packham´s Triumph y Abate Fetel y de manzana Red Delicious.

Tabla N° 91: Ponderación del grado de patogenicidad sobre frutos de los aislamientos de *P. alli* y *S. vesicarium*.

Grado de patogenicidad	Diámetro de la lesión interna (cm)
Patógeno leve (+)	Entre 0,8 y 1,5
Patógeno moderado (++)	Entre 1,6 y 2,3
Patógeno severo (+++)	Entre 2,4 y 3,2

Tabla N° 92: Grado de patogenicidad de los aislamientos de *P. alli* y *S. vesicarium* sobre frutos de pera y manzana.

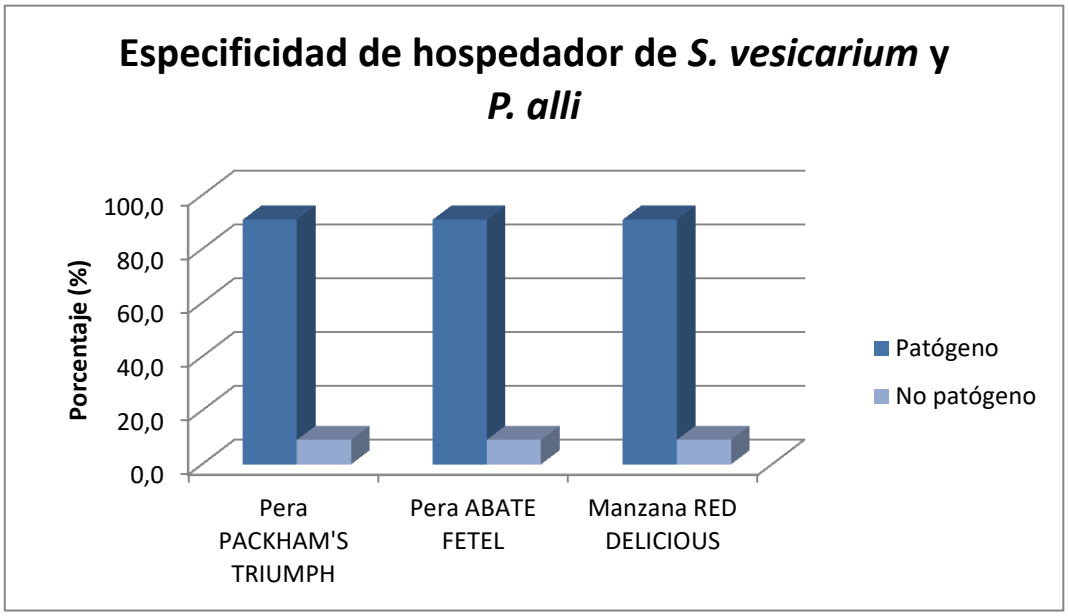
		PACKHAM'S TRIUMPH		ABATE FETEL		RED DELICIOUS	
Especie	N° de aislamiento	Diám. de la lesión (cm)	Grado de patogenicidad	Diám. de la lesión (cm)	Grado de patogenicidad	Diám. de la lesión (cm)	Grado de patogenicidad
P. alli	1	2,3	++	3,0	+++	3,0	+++
	2	2,0	++	1,0	+	2,5	+++
	3	1,0	+	3,2	+++	1,4	+
S. vesi-carium	5	1,0	+	1,2	+	1,5	+
P. alli	6	2,0	++	1,0	+	2,0	++
	7	1,5	+	1,2	+	0,8	+

	8	1,5	+	1,5	+	0,8	+
S. vesi-carium	9	0,8	+	1,5	+	1,0	+
P. alli	10	1,0	+	1,5	+	1,5	+
	11	1,2	+	1,0	+	2,2	++

Los resultados arrojan que 10 de 11 aislamientos (90,9%) de *Stemphylium vesicarium* y *Pleospora alli* produjeron lesiones externas e internas en frutos de pera de ambas variedades como así también en manzanas Red Delicious.

Los resultados descriptos se presentan en la Fig. 149.

Fig. 149: Resultados que describen la especificidad de hospedador de especies de *S. vesicarium* y *P. alli*.



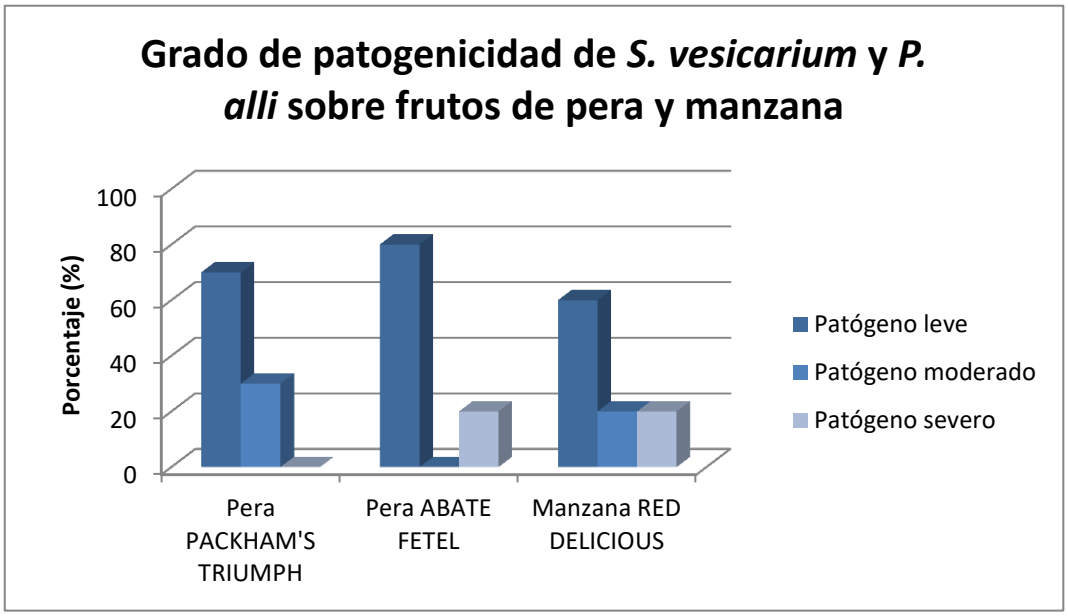
Con respecto al grado de patogenicidad en peras Packham´s Triumph, 7 de los 10 aislamientos que causaron lesión interna en frutos sanos resultaron ser patógenos leves (70%) y los 3 aislamientos restantes resultaron ser patógenos moderados (30%) (Fig. 150).

En peras Abate Fetel, 8 de los 10 aislamientos que causaron lesión interna en frutos sanos resultaron ser patógenos leves (80%) y los 2 aislamientos restantes resultaron ser patógenos severos (20%) (Fig. 150).

En manzanas Red Delicious, 6 de los 10 aislamientos que causaron lesión interna en frutos sanos resultaron ser patógenos leves (60%), 2 de 10 resultaron ser patógenos moderados (20%) y los 2 restantes patógenos severos (20%) (Fig. 150).

Los aislamientos que resultaron ser patógenos moderados y severos corresponden a *Pleospora alli* mientras que los aislamientos de *Stemphylium vesicarium* resultaron ser patógenes leves.

Fig. 150: Resultados que describen el grado de patogenicidad de especies de *P. alli* y *S. vesicarium* sobre frutos de pera y manzana.



Ensayos en hojas

Caracterización de las lesiones:

En términos generales las lesiones consisten en una necrosis de color marrón oscuro de bordes circulares que con el tiempo se vuelven irregulares y se extienden hasta ocupar la totalidad de la superficie foliar adquiriendo un color más oscuro, casi negruzco. Las lesiones causadas por las toxinas hospedador específicas presentes en los filtrados de cultivo suelen causar una necrosis que se extiende desde el sitio de inoculación por el sistema vascular de la hoja coincidente con la "necrosis venosa" descripta por Singh (1999). Las lesiones descriptas en hojas ocasionadas por suspensiones conidiales y filtrados de cultivo se muestran en las Fig. 151, 152, 153 y 154.

Fig. 151: Lesiones ocasionadas por suspensión conidial en hojas de pera D' Anjou (A), Abate Fetel (B), Williams (C) y Packham's (D).

Fig. 152: Lesiones ocasionadas por filtrados de cultivo en hojas de pera D' Anjou (A), Abate Fetel (B), Williams (C) y Packham's (D).

Fig. 153: lesiones producidas por suspensiones conidiales en hojas de pera, manzana y rosa: aislamiento 4 (A), 7 (B) y 11 (C).

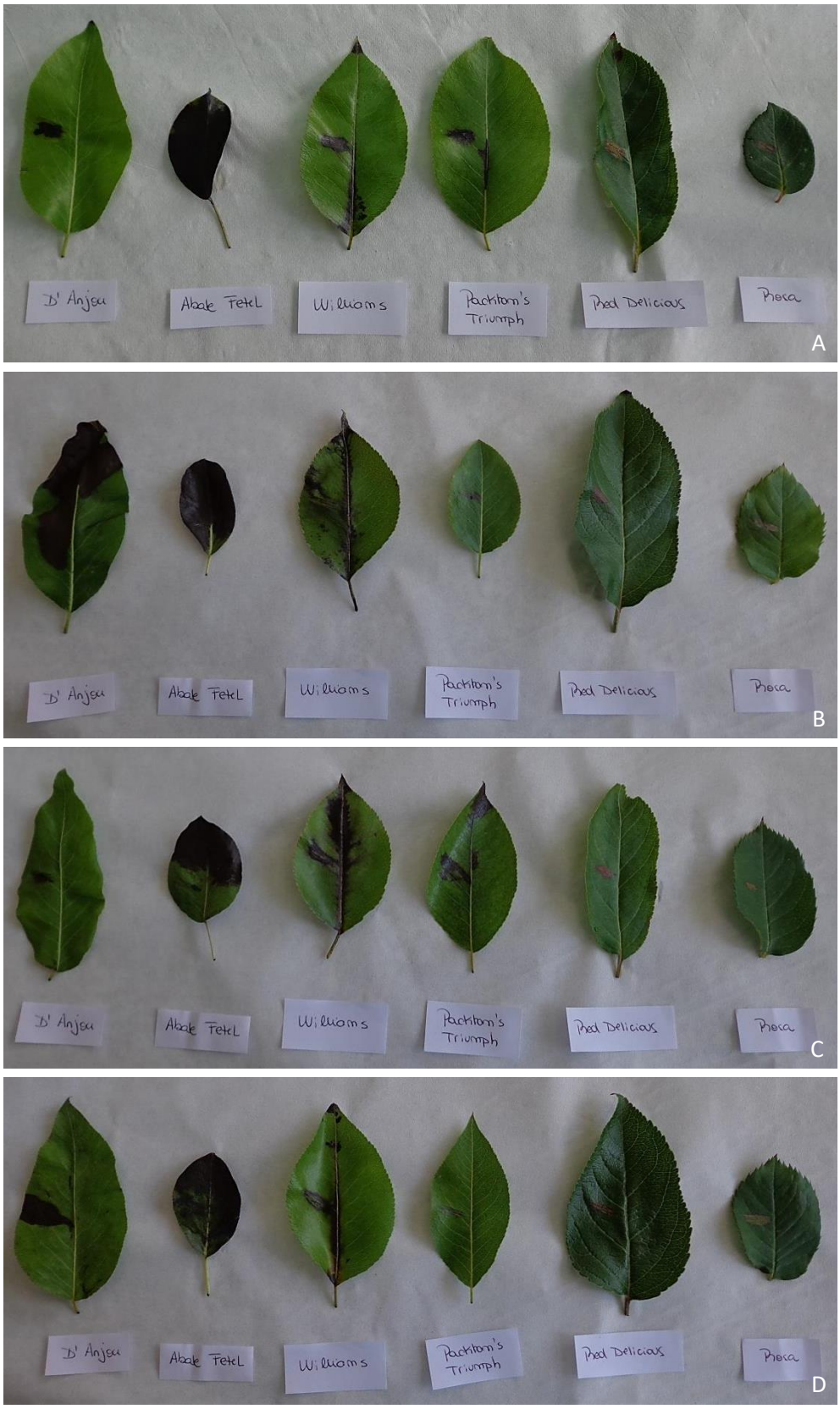


Fig. 154: lesiones producidas por filtrados de cultivo en hojas de pera, manzana y rosa: aislamiento 2 (A), 7 (B), 9 (C) y 12 (D). En las hojas de pera Williams de los 4 aislamientos probados, se puede observar necrosis venosa.

Los resultados se expresaron en porcentaje promedio de superficie foliar afectada utilizando las referencias propuestas por Tanahashi y col. (2017). Asimismo, las mismas se utilizaron para realizar una ponderación del grado de patogenicidad de los aislamientos como se detalla en la Tabla N° 93.

Tabla N° 93: Ponderación del grado de patogenicidad sobre hojas de los aislamientos de *P. alli* y *S. vesicarium*.

Porcentaje promedio de superficie foliar afectada (%)	Referencia	Grado de patogenicidad
0	-	No patógeno
~25	+	Patógeno leve
25-50	++	Patógeno moderado
50-100	+++	Patógeno severo

Resultados de ensayos con suspensiones conidiales:

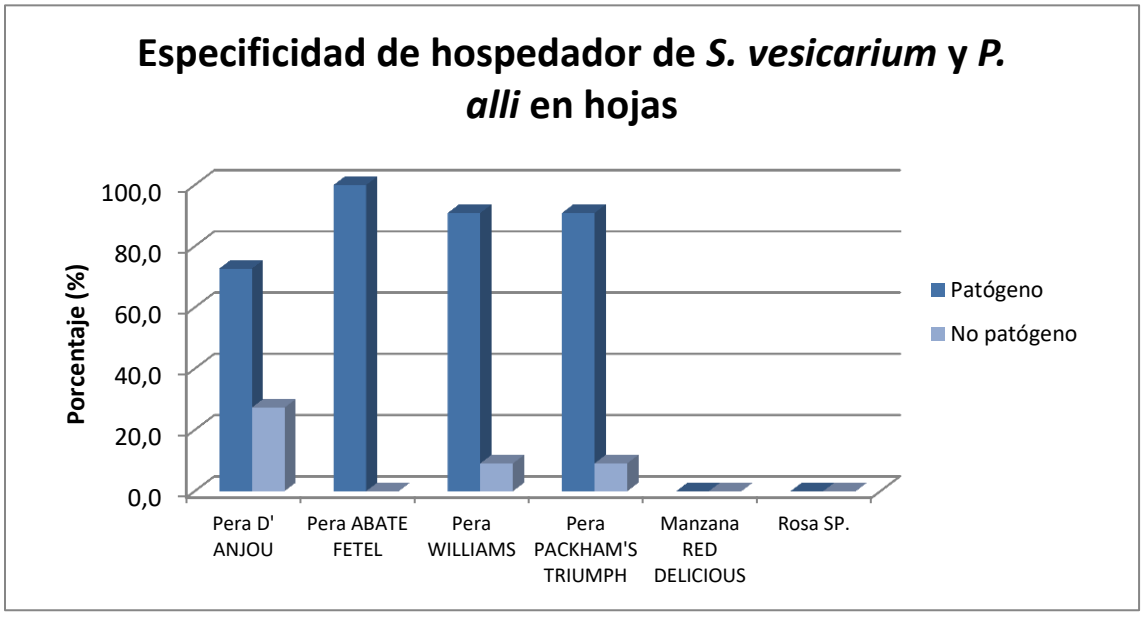
En la Tabla N° 94 se detallan los datos obtenidos de los ensayos realizados con suspensiones conidiales sobre las diferentes variedades de peras, manzanas Red Delicious y rosa.

Tabla N° 94: Grado de patogenicidad de las suspensiones conidiales de aislamientos de *P. alli* y *S. vesicarium* sobre hojas de diferentes variedades de pera, manzana Red Delicious y rosa.

		PERA				MANZANA	ROSA
Especie	**Aislamiento N°**	**D' ANJOU**	**ABATE FETEL**	**WILLIAMS**	**PACKHAM´S TRIUMPH**	**RED DELICIOUS**	**SP.**
P. alli	1	++	+++	+++	+++	-	-
	2	+	++	+	+++	-	-
	3	+	++	-	+	-	-
	4	-	+++	+	++	-	-
S. vesi-carium	5	+	+	+	+	-	-
P. alli	6	++	+	+	+++	-	-
	7	-	+++	+	-	-	-
	8	+	++	+	+	-	-
S. vesi-carium	9	+	++	+	+	-	-
P. alli	10	+	+++	+++	+++	-	-
	11	-	+++	+	++	-	-

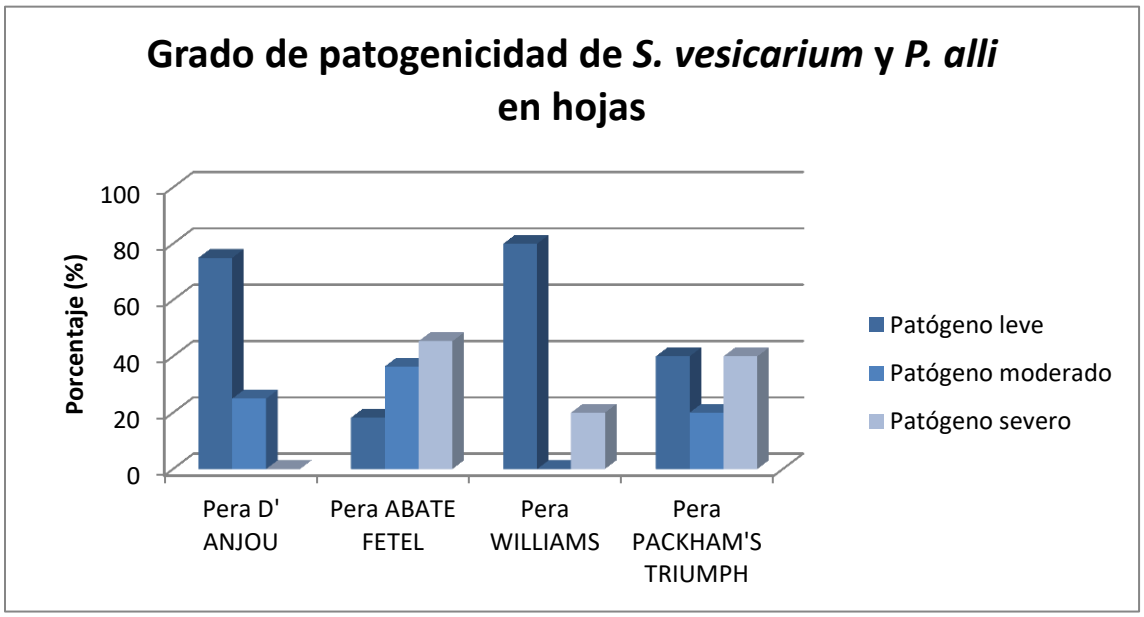
En peras D' Anjou, 8 de 11 aislamientos (72,7%) produjeron lesión en hojas, en la variedad Abate Fetel todos los aislamientos resultaron ser patógenos (100%), en Williams 10 de 11 aislamientos causaron lesión (90,9%) y en peras Packham's Triumph 10 de 11 aislamientos lesionaron las hojas (90,9%). En todas las variedades aquellos aislamientos que no resultaron ser patógenos corresponden a *Pleospora alli*. En ambas plantas no hospedadoras (manzana y rosa) ninguno de los aislamientos resultó ser patógeno revelando así una especificidad de hospedador. Los resultados descriptos se presentan en la Fig. 155.

Fig. 155: Resultados que describen la especificidad de hospedador de aislamientos de *S. vesicarium* y *P. alli* sobre hojas.



Con respecto al grado de patogenicidad en peras D' Anjou, 6 de los 8 aislamientos que causaron lesión en las hojas resultaron ser patógenos leves (75%) y los 2 aislamientos restantes resultaron ser patógenos moderados (25%). En Abate Fetel, 2 de los 11 aislamientos que causaron lesión resultaron ser patógenos leves (18,2%), 4 aislamientos resultaron ser patógenos moderados (36,4%) y los 5 aislamientos restantes resultaron ser patógenos severos (45,4%). En peras Williams, 8 de 10 aislamientos resultaron ser patógenos leves (80%) y los dos restantes resultaron ser patógenos severos (20%). En Packham's Triumph, 4 de los 10 aislamientos que causaron lesión resultaron ser patógenos leves (40%), 2 aislamientos resultaron ser patógenos moderados (20%) y los 4 aislamientos restantes resultaron ser patógenos severos (40%). Los aislamientos que resultaron ser patógenos severos corresponden a *Pleospora alli*. Los resultados descriptos se presentan en la Fig. 156.

Fig. 156: Resultados que describen el grado de patogenicidad de aislamientos de *S. vesicarium* y *P. alli* sobre hojas.



Resultados de ensayos con filtrados de cultivo:

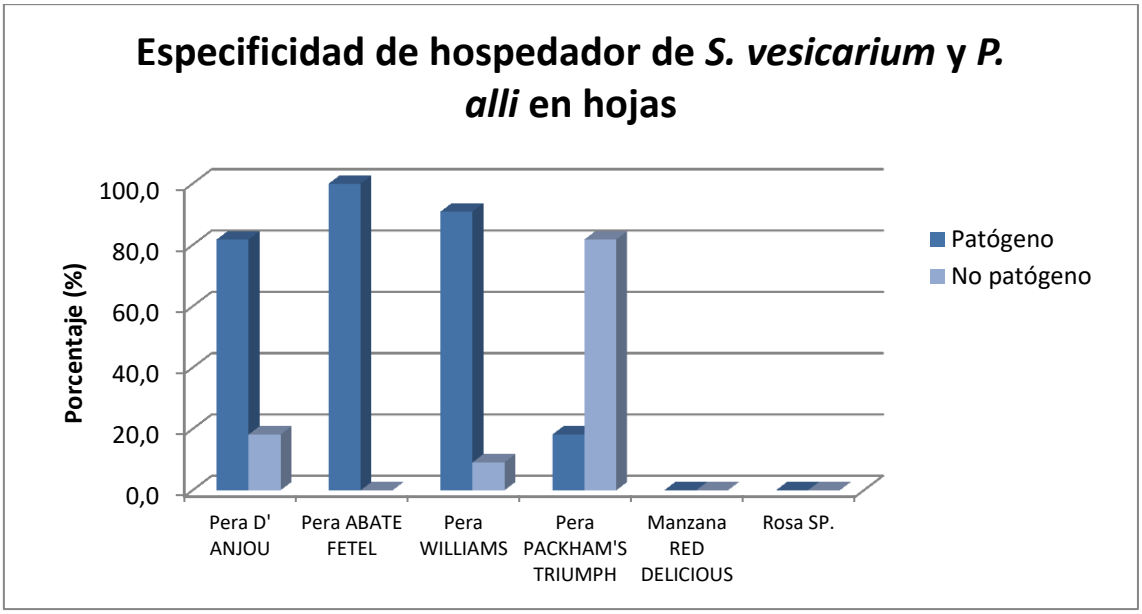
En la Tabla N° 95 se describen los datos obtenidos de los ensayos realizados con filtrados de cultivo sobre las diferentes variedades de peras, manzanas Red Delicious y rosa.

Tabla N° 95: Grado de patogenicidad de los filtrados de cultivo de aislamientos de *P. alli* y *S. vesicarium* sobre hojas de diferentes variedades de pera, manzana Red Delicious y rosa.

		PERA				MANZANA	ROSA
Especie	**Aislamiento N°**	**D' ANJOU**	**ABATE FETEL**	**WILLIAMS**	**PACKHAM´S TRIUMPH**	**RED DELICIOUS**	**SP.**
P. alli	1	+	+++	+	-	-	-
	2	+	+++	+	+	-	-
	3	+	+++	+	-	-	-
	4	-	+++	-	-	-	-
S. vesi-carium	5	+	+	+	-	-	-
P. alli	6	+	+++	+	-	-	-
	7	++	+++	+	-	-	-
	8	-	+++	+	-	-	-
S. vesi-carium	9	+	++	+	+	-	-
P. alli	10	+	+++	+	-	-	-
	11	+	+	+	-	-	-

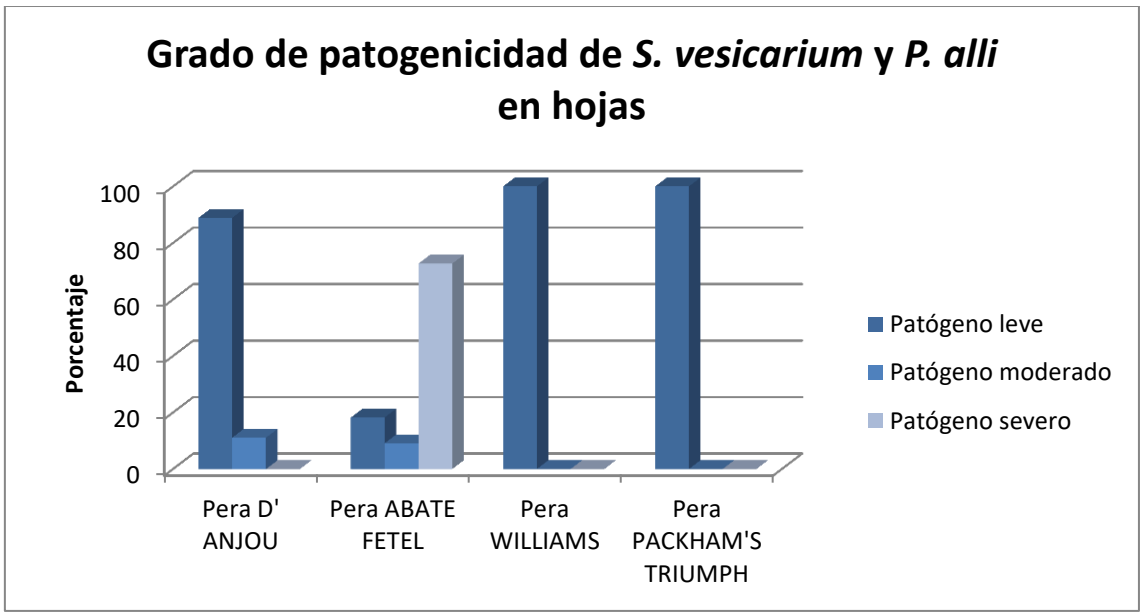
En peras D' Anjou, 9 de 11 aislamientos (81,8%) produjeron lesión en hojas, en la variedad Abate Fetel todos los aislamientos resultaron ser patógenos (100%), en Williams 10 de 11 aislamientos causaron lesión (90,9%) y en peras Packham's Triumph 2 de 11 aislamientos lesionaron las hojas (18,2%). En ambas plantas no hospedadoras (manzana y rosa) ninguno de los aislamientos resultó ser patógeno revelando así una especificidad de hospedador. Los resultados descriptos se presentan en la Fig. 157.

Fig. 157: Resultados que describen la especificidad de hospedador de toxinas producidas por aislamientos de *P. alli* y *S. vesicarium* sobre hojas.



Con respecto al grado de patogenicidad en peras D' Anjou, 8 de los 9 aislamientos que causaron lesión en las hojas resultaron ser patógenos leves (88,9%) y el aislamiento restante resultó ser un patógeno moderado (11,1%). En Abate Fetel, 2 de los 11 aislamientos que causaron lesión resultaron ser patógenos leves (18,2%), 1 aislamiento resultó ser un patógeno moderado (9,1%) y los 8 aislamientos restantes resultaron ser patógenos severos (72,7%). En peras Williams y Packham's Triumph, los aislamientos resultaron ser patógenos leves (100%). Los aislamientos que resultaron ser patógenos severos corresponden a *Pleospora alli*. Los resultados descriptos se presentan en la Fig. 158.

Fig. 158: Resultados que describen el grado de patogenicidad de toxinas producidas por aislamientos de *P. alli* y *S. vesicarium* sobre hojas.



DISCUSIÓN

5.1 Determinación de la concentración, densidad y distribución anual, estacional, geográfica y por sistema productivo de la micoflora total y de los géneros hallados

La atmósfera no contiene una microbiota autóctona, pero es un medio para la dispersión de muchos tipos de microorganismos (De la Rosa y col., 2002). Las investigaciones realizadas en el campo de la micología ambiental sugieren que la composición fúngica del aire, en términos de concentración y composición de géneros y especies varía respecto de las áreas geográficas y son influenciadas por la estacionalidad y otros factores ambientales (Halwagy, 1989; Burge, 1986; Cosentino y col., 1990; De Lara y col., 1990; Pei-Chih y col., 2000; Haas y col., 2007; Fröhlich-Nowoisky y col., 2012). Estudios aermicológicos han sido llevados a cabo en numerosos sitios del planeta y, si bien no existen estándares que permitan determinar si las concentraciones fúngicas de un ambiente son seguras o no, el conocimiento que estos estudios aportan resulta de suma importancia debido a los efectos que las esporas fúngicas pueden ocasionar sobre la salud humana, animal y de las plantas. La gran mayoría de estas investigaciones se realizaron en ambientes urbanos y suburbanos, siendo inferiores aquellos destinados al relevo de zonas agrícolas, aunque en los últimos años han cobrado mayor interés y desarrollo.

Numerosos estudios sobre la micoflora de ambientes externos en áreas urbanas y suburbanas fueron realizados. En países orientales como China, Lim y col. (1998) analizaron la carga mensual de esporas fúngicas del aire exterior de diferentes puntos de la ciudad de Singapur durante 5 años de muestreo. Las esporas fúngicas se encontraron en la atmósfera a una media geométrica de 19075 esporas/m^3 por mes. A pesar de la ausencia en los trópicos de las cuatro estaciones climáticas que caracterizan a los países templados, se observaron variaciones mensuales en el recuento de esporas que coinciden con una serie de estudios realizados en los trópicos. En general, el recuento de esporas de hongos generalmente alcanzó su punto máximo en febrero-marzo y octubre-noviembre y los mínimos se observaron ocasionalmente en abril y julio-agosto. Las esporas más abundantes corresponden al

género *Cladosporium*, seguido por ascosporas de *Dydimosphaeria* y conidios de *Curvularia*, *Drechslera* y *Pithomyces*.

En la ciudad de Beijing se llevó a cabo un estudio de un año de duración que presentó un recuento fúngico con una media de 1165 UFC/m^3 y una mediana de 710 UFC/m^3 (Fang y col., 2005). Las concentraciones fueron superiores en los meses de verano y otoño y más bajas en invierno y primavera. Sin embargo no hubo diferencias significativas entre los recuentos de invierno y primavera. Se determinaron 14 géneros distintos y *Cladosporium* fue nuevamente predominante contribuyendo a más de 1/3 del conteo total, seguido por *Alternaria*, *Penicillium* y *Aspergillus*.

Wang y col. (2010; 2011) condujeron un trabajo de investigación anual sobre la micoflora aérea presente en las cuevas de Mogao en la ciudad de Dunhuang (China) obteniendo un recuento fúngico medio total de 187 UFC/m^3. En el mismo hallaron 11 géneros diferentes entre los que *Cladosporium* resultó prevalecer, seguido por *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria* y *Aspergillus*. La mayoría de los géneros fúngicos presentaron significativas variaciones estacionales, observándose niveles mayores en verano y otoño que en las estaciones de primavera e invierno.

Otro estudio se realizó en una típica ciudad metropolitana del sur de Taiwán (Tainán), en el cual Pei-Chih y col. (2000) compararon las concentraciones y composiciones fúngicas de ambientes externos e internos durante las estaciones de invierno y verano. Los recuentos fúngicos totales presentaron una mediana geométrica de 8946 UFC/m^3 en invierno y 4381 UFC/m^3 en verano para ambientes internos y de 11464 UFC/m^3 en invierno y 4689 UFC/m^3 en verano para ambientes externos. Con respecto a la composición de géneros, *Cladosporium* resultó ser el predominante en ambos tipos de ambientes, seguido por *Penicillium*, *Aspergillus* y *Alternaria*.

En la India, se llevó a cabo un estudio mensual durante 5 años para determinar el perfil aeromicológico y de salud de áreas suburbanas cercanas a la ciudad de Calcuta (Chakrabarti y col., 2012). La concentración total anual más alta de esporas se observó en 2005-2006 (1816 esporas/m^3 de aire) y la más baja en 2004-2005 (1310 esporas/m^3 de aire). Del mismo estudio se desprende la presencia de más de 50 taxones, de los cuales 32 fueron identificados hasta el nivel de género. El resto se agruparon como ascosporas, grupo *Aspergillus*/*Penicillium*, basidiosporas, uredosporas y otros. La concentración atmosférica media mensual más alta se observó en *Cladosporium* sp.

(32,95%) seguido por ascosporas (17,72%), basidiosporas (7,44%), esporas del grupo *Aspergillus*/*Penicillium* (6,51%) y *Nigrospora* sp. (5,46%). En promedio, el resto de los tipos de esporas contribuyeron sólo con 29,92% a la carga total. De todos los géneros hallados, 15 resultaron ser aeroalergénicos y de hecho correlaciones positivas se hallaron entre el recuento fúngico y los casos de enfermedades respiratorias. Además se detectó una posible influencia de factores climáticos sobre los conteos de esporas en aire. Con respecto a la variación estacional, se encontró que una mayor concentración ocurrió durante el comienzo del invierno (diciembre) seguido por el monzón temprano y tardío (junio y agosto), mientras que la concentración disminuyó durante el final del invierno (enero a febrero), a mediados de abril y mediados del monzón (julio). Esta diferencia de variación estacional puede deberse a la ubicación geográfica.

En Irak, Muhsin y Adlan (2012) realizaron una examinación de la micoflora presente en el aire de la ciudad de Basrah por un período de un año en 2009. El recuento fúngico no pudo ser determinado dado que el método de aislamiento utilizado fue el gravitacional. Como resultado hallaron 9 géneros y 16 especies entre los que *Cladosporium* fue el de mayor importancia seguido por *Penicillium*, *Alternaria* y *Aspergillus*. También se determinó una variación estacional de los géneros hallados con diferencias significativas entre las cuatro estaciones. Así, invierno y verano exhibieron recuentos fúngicos superiores que otoño y primavera.

Un estudio llevado a cabo en la ciudad de Tehran, capital iraní, tuvo como objetivo principal determinar la diversidad y los patrones de distribución de la micoflora aérea en diversos puntos de la ciudad empleando como método el muestreo gravitacional. *Aspergillus* fue el género predominante y le siguieron en orden de importancia *Cladosporium*, *Penicillium* y *Alternaria* (Shams-Ghahfarokhi y col., 2014).

En el continente europeo, varias investigaciones aeromicológicas se desarrollaron en la Península Ibérica. En ciudades como Madrid y Almería (Granada) se determinó la micoflora aérea a lo largo de un año y su variación estacional. En la capital española se registró una concentración fúngica total de 222374 esporas/m^3 de aire y se identificaron setenta tipos de esporas, de los cuales los más numerosos fueron las de *Cladosporium*, *Aspergillaceae* (conidios), *Coprinus*, *Agaricales* (basidiosporas), *Ustilago* (teliosporas) y *Pleospora* (ascosporas). Entre ellas,

Cladosporium representó el 41% de las esporas de hongos totales. Los recuentos alcanzaron sus mayores concentraciones en los meses de primavera y otoño (Herrero y col., 2006). En la ciudad de Almería, el recuento fúngico total alcanzó 306525 esporas/m^3 de aire. Las esporas halladas corresponden a los géneros *Cladosporium*, que fue el de mayor importancia, seguido por *Alternaria* y *Ustilago*, luego predomina *Stemphylium* y finalmente y en mucha menor cantidad *Fusarium*. La variación estacional indica que las concentraciones máximas de *Alternaria*, *Cladosporium* y *Stemphylium* se registraron en primavera y otoño con niveles muy acusados, mientras que los valores mínimos se detectaron en los meses estivales e invernales; las esporas de *Fusarium* y *Ustilago* son más abundantes principalmente en otoño e invierno (Sabariego y col., 1999).

En Italia, más precisamente en la ciudad de Milán, Picco y Rodolfi (2000) estudiaron la aeromicoflora presente en los ambientes internos y externos de cuatro estaciones de subte durante un año mediante el método gravitacional. Como resultado se hallaron cuatro géneros dominantes en los ambientes externos cuya presencia varió durante todo el año: *Cladosporium*, *Penicillium*, *Epicoccum* y *Alternaria*. Asimismo, *Aspergillus* y *Aureobasidium* merecen ser mencionados debido a su considerable presencia. *Cladosporium* fue el de mayor importancia (55%) presentando sus concentraciones más altas en verano seguido por *Penicillium* y *Epicoccum*.

Por su parte, en 2002, Shelton y col. examinaron 12.026 muestras de aire a fin de determinar los perfiles de esporas fúngicas en el aire en edificios y sus ambientes externos en Estados Unidos. Ellos determinaron que la concentración de mohos cultivables en ambientes internos es menor a aquella encontrada en ambientes externos y que los niveles fúngicos fueron más altos en otoño y verano que en invierno y primavera. *Cladosporium* fue el género más comúnmente hallado tanto en ambientes internos como externos en todas las estaciones, seguido por *Penicillium* y *Aspergillus*.

Rocha Estrada y col. (2013) analizaron la variación temporal de esporas de *Alternaria, Cladosporium, Coprinus, Curvularia* y *Venturia* en el aire del área metropolitana de Monterrey, México, durante un año (2007-2008). El recuento total fúngico fue de 33576 esporas/m^3 de aire. El mes que presentó el índice de esporas máximo corresponde a noviembre con 5598 esporas/m^3 de aire. Con respecto a los

géneros hallados, del total de esporas registradas en el aire, el 83% pertenecen a *Cladosporium* (69%), *Alternaria* (6%), *Coprinus* (3%), *Venturia* (3%) y *Curvularia* (2%). Otro estudio anual realizado en México, en el estado de Tabasco, revela la presencia de los géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Helminthosporium*, *Monilia* y *Penicillium* siendo *Aspergillus* el de mayor predominancia (Gil y col., 2014).

En países del Hemisferio Sur y más precisamente del continente sudamericano se han realizado investigaciones aeromicológicas tendientes a establecer la aeromicobiota y sus variaciones estacionales y geográficas. En Brasil, Menezes y col. (2004) estudiaron la prevalencia y variación estacional de los hongos anemófilos en el aire atmosférico de Fortaleza - Ceará, con el fin de contribuir al conocimiento de la diversidad de hongos aerotransportados y la distribución en la región. Si bien las concentraciones no pudieron ser determinadas debido al método gravitacional de muestreo los resultados aportaron información sobre la composición de géneros. Los 10 hongos aéreos más frecuentes fueron: *Aspergillus* (44,7%), *Penicillium* (13,3%), *Curvularia* (9,8%), *Cladosporium* (6,8%), *Mycelia sterilia* (6,0%), *Fusarium* (3,5%), *Rhizophus* (3,1%), *Drechslera* (2,6%), *Alternaria* (2,4%) y *Absidia* (2,2%). Con respecto a la variación estacional, el primer semestre del año (verano-otoño) mostraron una mayor incidencia de esporas de hongos y una menor incidencia durante los meses de julio y septiembre (invierno y principios de primavera) (Menezes y col., 2004).

En Chile, Ibañez y col. (1998) monitorearon la concentración fúngica ambiental durante un año en la ciudad de Santiago, donde reportaron un recuento medio de 1945 UFC/m^3 que aumenta en forma significativa en verano. Se identificaron 39 taxa: 86,7% correspondiente a hongos filamentosos y el resto a levaduras. Los géneros hallados en orden de predominancia fueron los siguientes: *Cladosporium*, *Ulocladium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Botrytis* y *Epicoccum*. Con respecto a las variaciones estacionales, *Cladosporium*, *Ulocladium* y *Epicoccum* aumentan su concentración en verano; *Botrytis* y *Penicillium* aumentan en otoño e invierno y *Aspergillus* aumenta solamente en el otoño. Otro estudio llevado a cabo en la misma ciudad por Henriquez y Villegas (1999) reporta la aeromicoflora presente en el área oriente de Santiago arrojando una concentración media total anual de 2706 aerosporas/día/m^3. El género *Cladosporium* fue predominante con un 73% de

abundancia entre el total de esporas, seguido por basidiosporas, carbones, ascosporas, el género *Alternaria* y demás géneros determinados con frecuencias relativas inferiores al 1% (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Epicoccum*, *Stemphylium*, *Helminthosporum*, *Ganoderma*, etc.) *Cladosporium*, *Epicoccum* y *Stemphylium* presentan los recuentos más altos en otoño; basidiosporas, ascosporas y conidios de *Aspergillus*/*Penicillium* aumentan en invierno; *Ganoderma* y *Helminthosporium* aumentan en verano y *Alternaria* se mantiene con igual frecuencia durante primavera y otoño.

En Argentina, los estudios aeromicológicos comenzaron a desarrollarse en la década del 80 en zonas del centro del país y desde entonces han comenzado a tomar auge y mayor interés. La mayoría de ellos se relacionan al estudio de ambientes internos de bibliotecas, hogares y museos (Rodríguez de Kopp y col., 1998; Bueno y col., 2003, Basílico y col., 2007; Aríngoli y col., 2008; Borrego y col., 2011; Mallo y col., 2017). En la provincia de Santa Fe, se reporta la presencia de géneros como *Cladosporium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Epicoccum*, *Acremonium* y *Aspergillus* en porcentajes superiores al 5% de la micoflora aislada en cada ambiente. La mayor cantidad de esporas fúngicas fue observada en octubre y la mínima en julio. Estos estudios proponen una variación estacional de los géneros, según Basílico y col. (2007) la prueba ANOVA mostró los niveles más altos de hongos (media geométrica) en el verano para *Alternaria*, *Fusarium*, *Curvularia*, *Acremonium*, *Mucor*, *Nigrospora*, *Chrysosporium*. En invierno, los niveles más altos fueron para *Penicillium* y levaduras. Aríngoli y col. (2008) proporcionan datos similares ya que reportan que los géneros *Alternaria*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Curvularia* y *Acremonium* presentan un incremento de su concentración durante el verano mientras que *Cladosporium* permanece invariable.

Otros estudios han sido llevados a cabo en ambientes externos principalmente en la provincia de Buenos Aires. Nitiu y Mallo (2011) reportaron un recuento fúngico total anual de 171670.21 esporas/m^3 de aire y determinaron que los conidios de ascomicetes dominaron la nube superando el 44% del total de esporas halladas y el máximo aporte se registró en febrero dado por las esporas de *Cladosporium* (43,27%) y *Alternaria* (3,96%) principalmente. Ambos se registran prácticamente todo el año pero tienen períodos de esporulación que se extienden, principalmente, desde agosto hasta

abril mientras que las esporas del grupo *Aspergillus*/*Penicillium* tienen su pico de desarrollo en la temporada primaveral.

En las provincias de Corrientes y Chaco se estudiaron los microhongos anemófilos de la atmósfera de las ciudades de Corrientes y Resistencia mediante el método gravitacional durante los meses de primavera del año 2000 y de otoño del año 2001. Como resultado de este trabajo, los géneros más frecuentes en orden decreciente en ambas ciudades fueron: *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Phoma*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Curvularia* y *Trichoderma*. Sólo se halló diferencia estacional en la ciudad de Corrientes donde la frecuencia total de aislamientos fue menor en otoño (Esquivel y col., 2003).

Finalmente cabe mencionar un trabajo desarrollado por Frisón y col. (2012) quienes evaluaron la diversidad fúngica en ambientes externos e internos de industrias alimentarias en localidades de la provincia de Santa Fe, Argentina. La concentración fúngica externa fue de 1696 UFC/m^3 en la industria quesera, de 1192 UFC/m^3 en la panadera y de 2601 UFC/m^3 en la elaboradora de dulce de leche, estando representada por 13 géneros de hongos: *Cladosporium*, *Alternaria*, *Epicoccum*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Chrysosporium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Curvularia*, *Rhizopus*, *Eurotium*, *Ulocladium* y *Paecilomyces*, y por levaduras y mohos que no esporularon y no se pudieron identificar. Los resultados mostraron la existencia de 3 géneros predominantes: *Cladosporium*, *Alternaria* y *Epicoccum* con porcentajes de abundancia superiores a otros géneros.

Con respecto a investigaciones aeromicológicas desarrolladas en ambientes externos agrícolas, se han reportado numerosos trabajos a nivel global. En las primeras décadas de estudio, Eversmeyer y Kramer (1975) encontraron concentraciones de $3x10^4$ UFC/m^3 en campos de trigo de E.E.U.U determinando esporas de *Puccinia*, *Erysiphe*, *Cladosporium* y *Alternaria*. Larsen (1981) describió los resultados detectando recuentos de del orden 10^3 UFC/m^3 en Copenhaguen (Dinamarca) presentando como géneros más frecuentes a *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium* y *Aspergillus*, que representaron el 87% de los resultados. *Cladosporium* y *Alternaria* dominaron en verano, mientras que *Penicillium* y *Aspergillus* ocurrieron con la misma frecuencia durante todo el año.

Lázaro y col. (2000) llevaron a cabo un trabajo cuyo objetivo fue determinar la concentración y la composición de la microflora bacteriana y fúngica del aire de diferentes aldeas destinadas a la ganadería porcina. Se realizó un muestreo en 24 núcleos urbanos rurales de Aragón (España) compuestos de tres puntos de muestreo: uno en el centro de la ciudad, otro en las afueras de la misma ciudad y el último en las granjas circundantes. Los niveles en el aire de hongos totales fueron un poco más altos en las granjas circundantes donde alcanzaron recuentos promedio de 296 UFC/m^3 y más bajo dentro de los edificios. Los géneros más frecuentemente aislados fueron *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* y *Cladosporium*, que son aeroalergenos muy importantes. También se hallaron, en menor proporción, *Mycelia sterilia*, *Ulocladium*, *Acremonium*, *Mucor*, *Fusarium* y *Rhizopus*, entre otros.

Adhikari y col. (2004) condujeron una investigación destinada a establecer los hongos viables, no viables y alergénicos en el aire en una zona agrícola rural de la India durante 2 años. Los rangos de concentración total fueron de 82-2365 esporas/m^3 en el primer año de muestreo y 156-2022 esporas/m^3 en el segundo año de muestreo para esporas fúngicas totales y de 72-1796 UFC/m^3 en el primer año de muestreo y 155-1256 UFC/m^3 en el segundo año de muestreo para hongos cultivables. Se detectaron géneros alergénicos pertenecientes al género *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium* y *Rhizopus*. El estudio concluyó que existía una atmósfera fúngica variada en el área de estudio rural y que el porcentaje de viabilidad fúngica en el aire es mayor en las áreas agrícolas rurales y que aproximadamente el 52% de los hongos hallados fueron alergénicos.

En Polonia, las concentraciones de esporas fúngicas en el aire se midieron durante 2001-2002 en dos sitios que difieren en las características del hábitat, como el nivel de urbanización, la vegetación y el microclima, uno en la ciudad y el otro en el campo con el objetivo de determinar si, y de qué manera, el uso de la tierra afectaría la aparición de esporas. Las esporas más comunes fueron las de *Cladosporium*, con un rango de frecuencias del 83,1-90,5%. En ambos años, la proporción de esporas de *Cladosporium* fue significativamente más alta en la ciudad. También se determinaron otros géneros fúngicos como *Alternaria*, *Botrytis*, *Epiccocum*, *Ganoderma*, *Pithomyces*, *Polythrincium*, *Stemphylium*, *Torula* y *Drechslera*. Las concentraciones medias de esporas de la mayoría de los taxones fueron significativamente más altas en el medio

rural. El estudio confirma que el tipo de uso del suelo puede muy probablemente tener un impacto en el curso de la aparición de esporas y las concentraciones medias diarias de estas (Kasprzyk y Worek, 2006).

Yee (2006) llevó a cabo un trabajo de investigación bianual (2003-2005) de la ecofisiología de hongos externos en la ciudad de Hong Kong tomando muestras de dos áreas urbanas y de un área rural de la ciudad. Los recuentos fueron relacionados con las variables meteorológicas y los requerimientos fisiológicos para el desarrollo fúngico. Los mayores recuentos de hongos se registraron en el otoño, mientras que el más bajo se registró en el invierno. Los valores medios y rangos registrados en el área rural en primavera, verano, otoño e invierno fueron 228 (28-320) UFC/m^3, 265 (40-360) UFC/m^3, 270 (48-320) UFC/m^3, y 145 (34-360) UFC/m^3 respectivamente. Los géneros fúngicos dominantes fueron *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Penicillium*. *Alternaria* fue el hongo dominante durante todo el año en el área rural, mientras que *Penicillium* lo fue en las dos áreas urbanas. En general, aunque *Cladosporium* fue uno de los géneros más preponderantes, nunca fue el grupo más abundante. En general, el porcentaje de abundancia de *Penicillium* siempre fue más alto que el de *Aspergillus*.

Un estudio desarrollado por Lee y col. (2006) determinó la exposición de los agricultores al polvo y microorganismos transportados por el aire en campos de maíz y soja de E.E.U.U.. Las mediciones de campo se llevaron a cabo en establecimientos de animales (porcinos, aves de corral y productos lácteos) y durante la cosecha de granos (maíz y soja). Los resultados muestran las siguientes concentraciones fúngicas promedio en la zona de respiración de los trabajadores: $0,3\times10^3$ a $3,6\times10^4$ UFC/m^3 para hongos cultivables en confinamientos de animales y $8,2\times10^4$ a $7,4\times10^6$ UFC/m^3 durante la cosecha de granos. En general, la exposición combinada al polvo y los microorganismos transportados por el aire resultó ser más severa durante la cosecha que en los confinamientos de animales.

En Finlandia, Kaarakainen y col. (2008) sostienen en su trabajo que la caracterización general de la flora bacteriana y fúngica del aire exterior es incompleta por lo que desarrollaron un estudio en el que compararon las variaciones estacionales en las concentraciones microbianas de aire exterior y las diferencias entre un vertedero, sitios urbanos y rurales. Las muestras se recolectaron mensualmente por un

período de un año. Las concentraciones de las especies de *Penicillium* y *Aspergillus* fueron significativamente más altas en el centro de desechos en comparación con los otros sitios, mientras que la concentración de *Cladosporium* spp. fue más alta en el área rural y se observó en períodos de clima más cálido. La variación estacional de grupos y especies fue menos distintiva para *Penicillium* y *Aspergillus.*

En las zonas agrícolas de la región de Normandía, Francia, Lanier y col. (2010) reportan que la contaminación de alimentos con mohos y micotoxinas presenta importantes problemas ambientales y de salud. En este estudio, durante la alimentación del ganado, se determinaron los hongos y las micotoxinas en ensilaje de maíz, tortas de semillas oleaginosas y bioaerosoles recolectados durante dos estaciones: octubre-diciembre y febrero-abril. Los recuentos fúngicos ambientales variaron entre $4{,}3\times10^2$ a $6{,}2\times10^5$ UFC/m^3. Se detectaron en orden decreciente de predominancia especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Absidia*, *Trichothecium*, *Emericella*, *Byssochlamis*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Harzia*, *Mucor*, *Phialophora*, *Scopulariopsi*s y *Trichoderma*. Se observaron variaciones estacionales con algunas especies como *Aspergillus fumigatus*, que disminuyó significativamente en la segunda estación mientras que el grupo de *Penicillium roqueforti* aumentó significativamente durante la segunda temporada.

En Argentina los estudios aeromicológicos en la región Patagónica son nulos de acuerdo a la bibliografía existente. Por lo tanto, los resultados obtenidos a partir del desarrollo de esta tesis componen el primer reporte de los géneros y especies fúngicas presentes en el aire de ambientes rurales de la zona del Alto Valle del río Negro y de la región Norpatagónica. Asimismo, cabe destacar que es el primer estudio longitudinal de tres años consecutivos llevado a cabo en el país, además de ser el único hasta el presente con el objetivo de relevar la micobiota aérea de ambientes agrícolas y de relacionarla principalmente con posibles enfermedades de cultivos.

5.1.1 Determinación de la micoflora total anual, estacional, geográfica y por sistema productivo

Los recuentos promedio totales obtenidos en cada año de muestreo se encuentran en el mismo orden de 10^4 UFC por m^3 de aire y no resultaron ser significativamente diferentes entre sí. Estos valores son superiores casi en uno o dos órdenes de magnitud a las medias reportadas en estudios previamente mencionados que utilizaron UFC/m^3 de aire como unidad de expresión de las concentraciones en ambientes externos urbanos, suburbanos y agrícolas (Larsen, 1981; Ibañez y col., 1998; Lázaro y col., 2000; Adhikari y col., 2004; Fang y col., 2005; Yee, 2006; Lanier y col., 2010; Wang y col., 2010; 2011). Sólo coinciden en el orden de magnitud con los resultados obtenidos por Pei-Chih y col. (2000) en una ciudad de Taiwán y, en ambientes agrícolas, con los datos reportados por Eversmeyer y Kramer (1975) y por Lee y col. (2006) en campos de trigo y en establecimientos animales de campos de maíz y soja de E.E.U.U respectivamente.

Con respecto a las variaciones estacionales, en los tres años de muestreo se puede observar que los mayores recuentos fúngicos se presentan en las estaciones de verano-otoño arrojando diferencias significativas con los recuentos de las estaciones de invierno-primavera. Los factores climatológicos y la poca disponibilidad de sustrato para el desarrollo de los hongos podrían explicar que las mínimas se registren durante los meses más fríos en climas templados (Ríos, 2011). Estos resultados coinciden con los datos reportados en otros lugares del mundo principlamente de clima templado como E.E.U.U, países europeos y países sudamericanos como Brasil, Chile y la propia Argentina, lo cual pueda deberse, en estos últimos sitios, a la similitud de las características geográficas y climatológicas (Ibañez y col., 1998; Shelton y col. 2002; Menezes y col., 2004; Oliveira y col., 2010; Nitiu y Mallo, 2011). Sin embargo, resultados similares fueron obtenidos en trabajos aeromicológicos realizados en países lejanos a los trópicos como China (Fang y col., 2005; Yee, 2006; Wang y col., 2010;2011).

En relación a las variaciones geográficas, los resultados obtenidos tanto en la zona este como centro del Alto Valle arrojan recuentos del mismo orden 10^4 UFC/m^3

no presentando diferencias significativas entre los mismos en cada año muestreado lo cual podría estar relacionado con el hecho de que ambas zonas geográficas se encuentran muy cercanas entre sí y comparten similares características geográficas y climatológicas. No obstante, dada la ausencia de datos aeromicológicos en la región los resultados del nuestro estudio no pueden ser comparados y se presentan como el primer relevo de la zona.

Al igual que con la variación geográfica, no se registran diferencias significativas en los recuentos fúngicos obtenidos en los dos tipos de sistemas productivos: tradicional y orgánico. Esto podría explicarse, en principio, tomando en cuenta que, si bien se utilizan menos fitosanitarios de síntesis en sistemas orgánicos, el menor uso se refiere principalmente a insecticidas y no a fungicidas. Además, en la región valletana se utilizan pocos fungicidas a campo y dentro de ellos, el más común es el polisulfuro de calcio, el cual está permitido tanto en sistemas tradicionales como orgánicos (Ing. Adrián Colodner -INTA-, comunicación personal).

5.1.2 Distribución anual de géneros fúngicos

Se halló una amplia diversidad de géneros fúngicos determinándose más de 19 en cada año de muestreo. Los géneros *Acremonium*, *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Bipolaris*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Phoma*, *Pleospora* y *Ulocladium* se determinaron en los tres años. Entre ellos, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Epicoccum*, *Aureobasidium* y *Botrytis* ocuparon los primeros puestos de abundancia, determinándose al resto de los géneros hallados en porcentajes inferiores al 1%.

Cladosporium se destacó en primer lugar presentando densidades relativas superiores al 70%, seguido de *Alternaria*, en mucha menor proporción, con densidades relativas entre 11 y 16% y *Epicoccum* en tercer orden con porcentajes de abundancia inferiores al 7% pero manteniéndose en crifras porcentuales de un dígito. Estos resultados son similares a los reportados en la provincia de Santa Fe por numerosos autores en los que se determinó una composición fúngica similar y el mismo orden de importancia de aparición de los tres géneros predominantes: en ambientes exteriores en zonas de acopio de granos de trigo durante el proceso de descarga (Bonetto y col., 2006), en ambientes interiores y exteriores de casas de familia (Basílico y col., 2007) y en ambientes de industrias alimentarias (Frisón y col., 2012). Probablemente estas similitudes se deban a que estos diferentes puntos geográficos de Argentina presentan coincidencias geográficas y climatológicas propias de una región del mundo de clima templado situada en los trópicos.

A nivel global, numerosos autores coinciden en que las esporas más numerosas halladas en el aire atmosférico de áreas urbanizadas y/o rurales pertenecen al género *Cladosporium* (Larsen, 1981; Lim y col., 1998; Ibañez y col., 1998; Henriquez y Villegas, 1999; Sabariego y col., 1999; Pei-Chih y col., 2000; Picco y Rodolfi, 2000; Mullins, 2001; Shelton y col., 2002; Fang y col., 2005; Herrero y col., 2006; Kasprzyk y Worek, 2006; Erkara y col., 2008; Kaarakainen y col., 2008; Wang y col., 2010; 2011; Aira y col., 2012; Chakrabarti y col., 2012; Muhsin y Adlan, 2012; Fröhlich-Nowoisky y col., 2012; Rocha Estrada y col., 2012; Artaç y col., 2014; Alhussaini y col, 2015; Sindt y col, 2016).

Alternaria parece posicionarse como otro género de gran importancia en los ambientes externos ocupando el segundo (Larsen, 1981; Sabariego y col., 1999; Fang y

col., 2005; Rocha-Estrada y col., 2013) o tercer puesto de predominancia (Ibañez y col., 1998; Lázaro y col., 2006; Muhsin y Adlan, 2012; Shams-Ghahfarokhi y col., 2014). Sólo un estudio lo reportó como el hongo de mayor abundancia en la micoflora aérea por encima de los niveles de *Cladosporium* (Yee, 2006).

Epicoccum nigrum es un hongo ubicuo ampliamente distribuido en Estados Unidos, donde ha sido reportada su preponderancia en varias ciudades de este país (Lewis y col., 1991; Dixit y col., 1991, 1992) y de países europeos en los que se posiciona en el tercer o cuarto puesto de importancia (Picco y Rodolfi, 2000; Kasprzyk y Worek, 2006; Oliveira y col., 2010).

Finalmente, si bien *Aureobasidium* y *Botrytis* no fueron reportados en estudios aeromicológicos realizados en nuestro país, han sido hallados en otros sitios del planeta en concentraciones considerables. El primero ha sido detectado en el país vecino de Chile (Ibañez y col, 1998), en el continente europeo (Caretta y col., 1983; Ebner y col., 1992; Picco y Rodolfi, 2000) y en Egipto (Haamed y col., 2009). *Botrytis* ha sido determinado en también en Chile (Ibañez y col, 1998), en países europeos (Ebner y col., 1992; Kasprzyk y Worek, 2006; Oliveira y col., 2010) y en Irán (Shams-Ghahfarokhi y col., 2014).

Otros géneros han sido reportados por su predominancia en ambientes externos de muchas partes del mundo como *Penicillium*, *Aspergillus* (Pei Chih y col., 2000; Shelton y col., 2002; Haas y col., 2007; Haamed y col., 2009; Sautour y col., 2009; Wang y col., 2010) y *Fusarium* (Fang y col, 2005; Bastian y col., 2009a,b; Wang y col., 2011). Sin embargo en Argentina y, más específicamente, en nuestra región han sido hallados en porcentajes muy bajos, inferiores al 1%.

5.1.3 Distribución estacional de géneros fúngicos

Las esporas de los géneros *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aureobasidium*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Epicoccum* y *Fusarium* estuvieron presentes en todas las estaciones de cada año de muestreo. Como fuera previamente mencionado, muchos de estos géneros han sido hallados en la aermicoflora de diversos sitios muestreados a nivel mundial y nacional. Si bien *Arthrinium* y *Drechslera* no son aislados en densidades relativas altas cabe mencionarlos debido a su continuidad en el tiempo en la micobiota aérea de la región. *Drechslera* ha sido reportado por varios estudios aeromicológicos en diversos sitios del planeta (Lim y col., 1998; Picco y Rodolfi, 2000; Herrero y col., 2006; Kasprzyk y Worek, 2006; Chakrabarti y col., 2014; Shams-Ghahfarokhi y col., 2014; Nanda, 2015). Menezes y col. (2004) también lo determinan en Sudamérica y varios trabajos locales hacen mención a la presencia de sus esporas en el país (Aríngoli y col., 2008; Nitiu y Mallo, 2011). Según los trabajos mencionados, es un género hallado principalmente de forma esporádica y con bajos recuentos tal como lo informan nuestros resultados. *Arthrinium* es un género aún más infrecuente que el anterior pero existen investigaciones que lo presentan como componente de la micoflora aérea de ciertos lugares del mundo (Picco y Rodolfi, 2000; Herrero y col., 2006; Wang y col., 2011). En Argentina, aún no se ha reportado su presencia en aire luego de consultar la bibliografía actual.

Con respecto a la preponderancia de géneros, la secuencia de géneros predominantes en cada estación es similar a la distribución anual. *Cladosporium*, seguido por *Alternaria* son los dos géneros más frecuentemente hallados en cada estación de cada año de muestreo. Sin embargo en tercer, cuarto y quinto orden de predominancia se determinaron diferentes géneros según la estación del año, lo que demuestra una probable influencia climatológica sobre las concentraciones y distribuciones fúngicas. En estas posiciones se suelen encontrar a *Epicoccum*, *Aureobasidium*, *Botrytis*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Arthrinium* que fueron hallados en todas las estaciones de los tres años muestreados y también a *Phoma* que en estaciones de algunos años no fue determinado.

En este aspecto se puede decir que existe una variación estacional para cada uno de los géneros mencionados a lo largo de los tres años de muestreo. Sin embargo,

en estudios longitudinales que involucran más de un año de trabajo, podrían darse discrepancias entre cada año de muestreo como sucedió en nuestro trabajo para la mayoría de los géneros determinados. Una situación similar se presentó en la investigación desarrollada por Leyronas y Nicot (2013) durante un estudio trianual llevado a cabo en viñedos de la región Sudeste de Francia cuando analizaron los datos por separado para cada año individual y observaron diferencias significativas entre las temporadas durante dos de los tres años de estudio. En nuestro trabajo, de forma excepcional, sólo los géneros *Alternaria* y *Epicoccum* siguieron una variación definida y repetida en los tres años (Tabla N° 96).

El género *Cladosporium* presenta sus máximas en los meses más cálidos del año principalmente del periodo verano/otoño y su mínimo nivel de esporas se registra en el invierno. Estos resultados coinciden con los obtenidos en la gran mayoría de los trabajos aeromicológicos realizados en otras regiones templadas del mundo incluidos algunos propios de nuestras latitudes como Chile (Aisnworth, 1952; Lim y col., 1998; Henriquez y Villegas, 1999; Infante y col., 1999; Picco y Rodolfi, 2000; Rodríguez Rajo y col., 2005; Herrero y col., 2006; Oliverira y col; 2010; Rocha Estrada y col., 2013; Sindt y col., 2016). En algunos países europeos se han reportados las máximas para *Cladosporium* durante la temporada primavera/verano, tal como se observó en nuestro trabajo en el primer año de muestreo (Picco, 1992; Hjelmroos, 1993; Emberlin y col., 1995; Infante y col., 1999; Kasprzyk y col., 2004; Erkara y col., 2008; Ianovici y col., 2008; Aira y col., 2012). En Argentina, Nitiu y Mallo (2011) reportan que el período de esporulación principal para este género se extiende desde agosto hasta abril abarcando principlamente las estaciones de primavera y verano y con lo cual nuestros resultados se encuentran en un contexto similar.

Con respecto a *Alternaria* y *Epicoccum*, ambos géneros presentan la misma variación estacional en los tres años registrando sus mayores niveles esporales en el periodo verano/otoño y los mínimos en invierno/primavera. La distribución estacional de *Alternaria* fue investigada por muchos autores dado a su potencial alergénico y fitopatogénico y los resultados reportados son similares a los obtenidos en nuestro estudio (Larsen, 1981; Martínez y García, 2001; Bergamini y col., 2004; Rodríguez Rajo y col., 2005; Erkara y col., 2008; Reyes y col., 2009). Sin embargo, existen otros trabajos principalmente en la Península Ibérica que informan máximas de este género en las

estaciones de otoño y primavera (Angulo-Romero y col., 1999; Díaz-Pérez y col., 2001; Maya-Manzano y col., 2012; Maya-Manzano y col., 2016). Incluso en países cercanos como Chile también se reporta este patrón de distribución bimodal de las estaciones otoño y primavera (Henriquez y Villegas, 1999). Sin ambargo, en nuestro país, Nitiu y Mallo (2011) describen que, al igual que sucede con *Cladosporium*, el período de esporulación principal de *Alternaria* en la provincia de Buenos Aires se extiende desde agosto hasta abril incluyendo a la estación estival y primavera, con lo cual nuevamente nuestros resultados se encuentran en un contexto similar.

En relación a *Epicoccum*, mantuvo una tendencia definida en los tres años de muestreo al igual que sucedió con *Alternaria* presentando lás mayores concentraciones de esporas en el periodo verano/otoño. Si bien no se hallaron trabajos en Argentina que describieran la variación estacional de este género, nuestros resultados son comparables con los obtenidos en estudios realizados en otras partes del mundo. En el vecino país de Chile investigadores detectaron las concentraciones más altas en el verano y a comienzos del otoño (Ibañez y col., 1998; Henriquez y Villegas, 1999). Investigaciones llevadas a cabo en sitios más apartados como países de Europa reportan los máximos niveles de esporas en la estación otoñal y/o estival (Chrenova´ y col., 2004; Stępalska y Wołek, 2005; Rizzi-Longo y col., 2009; Oliveira y col., 2010; Ianovici y col., 2013; Rodinkova y col., 2015; Ščevková y col., 2016).

Aureobasidium, al igual que los géneros que se han mencionado hasta el momento, exhibe sus máximos niveles en el periodo verano/otoño a excepción del primer año donde se detectan máximas concentraciones en la estación invernal. Son prácticamente escasos los trabajos aeromicológicos que describen la variación estacional de este género. Chauhan y Kulshrestha (2006) detectaron en un trabajo llevado a cabo en la ciudad de Agra (India) que las máximas concentraciones de *Aureobasidium* se hallaron en la estación invernal, lo cual podría coincidir parcialmente con los datos obtenidos en nuestro trabajo durante el primer año de muestreo. Sin embargo, una investigación desarrollada en Chile por Ibañez y col. (1998), concluye que las esporas de este género no presentan una estacionalidad definida. En este contexto nuestros resultados sólo intentan aportar información sobre la distribución estacional de este hongo, dada la escasez de datos y la restringida posibilidad de compararlos en mayor profundidad con otros estudios.

En las estaciones de otoño y primavera se suelen dar los máximos niveles esporales para el género *Botrytis*, aunque en el segundo año se detectó una máxima en verano. Un panorama similar se observó el estudio trianual llevado a cabo por Leyronas y Nicot (2013) donde, en general, los niveles de inóculo de *Botrytis* en el aire tendieron a ser más altos durante el otoño. En el clima templado de Europa varias investigaciones coinciden en este resultado (Nikkels y col., 1996; Kasprzyk y Konopiñska, 2006; Kasprzyk y Worek, 2006). En otros sitios del mundo también se ha informado de la mayor presencia en aire de esporas de *Botrytis* en la estación de verano como sucedió en nuestra región durante el segundo año (Stepalka y Wolek, 2005; Rodríguez-Rajo y col., 2010) y primavera (Oliveira y col., 2009b). Si bien en nuestro trabajo no se detectaron máximas concentraciones de este género en la estación de invierno, esta situación se observó en Porto Alegre (Brasil) (Mezzari y col., 2002) y en Porto (Portugal) (Oliveira y col., 2009b).

Penicillium es un género predominante en climas templados (Grinn-Gofrón, 2011). Si bien numerosos autores no reportan cambios estacionales en la concentración de este género a lo largo del año (Larsen y Gravesen, 1991; Rosas y col., 1993; O'Gorman y Fuller ,2008), nosotros hemos hallado que los máximos niveles esporales se suelen dar en el periodo otoño/invierno y esporádicamente, durante el tercer año de muestreo, se detectó un pico en verano. Varios autores reportaron datos similares a los nuestros, detectando las mayores concentraciones en la estación invernal donde las temperaturas medias son bajas (Shaheen 1992; Abdel-Hafez y col., 1993; Sawane y Saoji, 2005; Abu-Dieyeh y col., 2010; Kunjam y Jadhav, 2017). Estos resultados podrían explicarse teniendo en cuenta que este género requiere de climas más fríos para desarrollarse (Kunjam y Jadhav, 2017). Sin embargo, la máxima hallada en la estación estival también ha sido hallada por otros autores en otras latitudes (Ahlström y Käärik 1977; Al-Subai, 2002; Adhikari y col., 2006). Los picos de esporas en la estación estival pueden explicarse por el proceso inicial de descomposición estacional de la materia vegetal que ofrecen gran cantidad de sustrato para el crecimiento de los hongos (Larsen, 1981).

Las esporas de *Fusarium* muestran sus máximas concentraciones en el periodo de verano/otoño y aisladamente en invierno durante el tercer año de muestreo, siempre registrando las mínimas en primavera. No existen muchas investigaciones a

nivel mundial y ninguna a nivel nacional que determine la variación estacional de este género. Sin embargo, nuestros resultados se asemejan a los obtenidos en la ciudad de Santiago de Compostela (España) donde la distribución anual de este género es más bien dispersa, registrándose máximos hacia el final del verano y durante el otoño (Fernández, 1990; Martínez y García, 2001). Un trabajo desarrollado por Sabariego y col. (1999) en Granada reporta los niveles más altos de *Fusarium* en la estación invernal lo cual coincidiría con los datos registrados en el tercer año de muestreo pero ellos también informan que los mínimos se dan en la estación estival, a diferencia de nuestros resultados. Otros trabajos que difieren con el presente trabajo reportan máximas también en la estación primaveral (Méndez y col., 2011). Estos datos sobre la variación estacional de *Fusarium* reflejan una probable y fuerte influencia de los factores climatológicos sobre la distribución de sus esporas a lo largo de las estaciones del año.

Phoma suele aparecer en bajas concentraciones e incluso estar ausente en el aire de ambientes externos. Nuestros estudios arrojan una variación estacional que comprende las máximas en el periodo primavera/verano hallándose sólo en el primer año también en otoño. Estos resultados son congruentes con otros hallados en otras regiones del mundo. Ambhore (2015) registró la máxima concentración de esporas de *Phoma* en la temporada de otoño en campos de maíz y arroz del estado de Maharashtra (India). Levetin y Dorsey (2006) encontraron una alta correlación entre ascosporas presentes en el aire con la concentración de esporas de *Phoma* en la superficie de hojas de olmos y robles, por lo que los autores proponen que en algún momento de su ciclo este género desarrolla esporas sexuales que son liberadas al aire y contribuye a los recuentos hallados que son más frecuentes en la temporada estival. Gioulekas y col. (2004) determinaron las concentraciones de esporas de hongos en el aire en la ciudad de Tesalónica (Grecia) durante un período de 15 años (1987-2001) para establecer un calendario de esporas alergénicas, entre las cuales *Phoma* se halló en muy baja proporción pero presentando sus máximas en el periodo primavera/verano.

En relación a *Arthrinium*, no presenta una marcada variación estacional ya que en cada uno de los años muestreados las máximas se dieron en períodos y estaciones distintas: otoño/invierno en el primer año, invierno/primavera en el segundo y otoño y

primavera en el tercer año. Sin embargo, luego de una exhaustiva búsqueda bibliográfica no se han hallado trabajos académicos que hayan investigado su distribución estacional, a excepción de un estudio llevado a cabo en la isla de Barbardos (Caribe) por Prospero y col. (2005) en el que este género fue el segundo en orden de predominancia y dado que las mayores concentraciones fúngicas se dieron en el verano con picos en otoño y primavera, se puede inferir que esta variación podría aplicarse al género aunque este análisis no se hizo para cada género hallado.

El conocimiento de la carga fúngica del aire y su variación estacional, aporta información relevante para la interpretación de numerosos problemas en patología vegetal, humana y animal. Estas variaciones estacionales en el conteo de esporas son atribuibles, en parte, a diversos factores relacionados con el clima que influyen en el desarrollo de hongos, producción de propágulos y dispersión de esporas en el aire (Aira y col., 2013).

Tabla N° 96: Variación estacional de los géneros fúngicos predominantes detallando los periodos y estaciones de las máximas concentraciones halladas (UFC/m^3).

Géneros	1° AÑO	2° AÑO	3° AÑO
Cladosporium	Primavera/ verano	Verano/ otoño	Verano/ otoño
Alternaria	Verano/ otoño	Verano/ otoño	Verano/ otoño
Epicoccum	Verano/ otoño	Verano/ otoño	Verano/ otoño
Aureobasidium	Invierno y verano	Verano/ otoño	Verano/ otoño
Botrytis	Otoño y primavera	Verano/ otoño	Otoño y primavera
Penicillium	Otoño/ invierno	Otoño/ invierno	Invierno y verano
Fusarium	Verano/ otoño	Verano/ otoño	Invierno y verano
Phoma	Otoño y primavera	Primavera/ verano	Primavera/ verano
Arthrinium	Otoño/ invierno	Invierno/ primavera	Otoño y primavera

5.1.4 Distribución geográfica de géneros fúngicos

El ámbito geográfico y las características climáticas de una región determinan el tipo de vegetación predominante, la cual junto con la materia orgánica en descomposición y la propia actividad agrícola influirán tanto en la concentración como en el tipo de taxones fúngicos presentes en la atmósfera (Awad, 2005; Sánchez-Espinosa y Almaguer Chávez, 2014). Dado que la región del Alto Valle del río Negro carece de datos aeromicológicos, estos resultados componen el primer estudio en este área de la Patagonia. La composición aeromicológica en términos de géneros no presentó grandes diferencias entre ambas zonas, a excepción del primer año donde la diversidad fue mayor en la zona Centro. Los resultados arrojan una gran diversidad fúngica en las dos zonas geográficas bajo estudio detectándose al menos 17 géneros en cada una de ellas durante los tres años de muestreo: *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Bipolaris*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Phoma*, *Pleospora* y *Ulocladium.* Los géneros predominantes en los dos sitios geográficos fueron *Cladosporium* seguido por *Alternaria* y *Epicoccum* en tercer orden. Esporádicamente *Botrytis* fue el tercer género más abundante en la zona Centro. *Aureobasidium* ha sido frecuentemente determinado en cuarto y quinto orden de preponderancia en ambos sitios y la diferencia reside en los géneros *Phoma* y *Fusarium* que predominan en este orden sólo en la zona Este y *Botrytis* que lo hace en la zona Centro. Estos resultados mantienen la tendencia anual y estacional en la región en cuanto a la distribución de géneros.

La información obtenida nos permiten concluir que si bien las dos zonas estudiadas no presentan grandes diferencias geográficas y climáticas dado que son muy cercanas entre sí con distancias que no superan los 50 km entre lo sitios de muestreo, se pueden detectar algunas diferencias respecto a la composición de géneros fúngicos presentes en cada área.

5.1.5 Distribución por sistema productivo de géneros fúngicos

Luego de una exhaustiva búsqueda bibliográfica no se hallaron estudios aeromicológicos tendientes a establecer la aeromicoflora de ambientes rurales que presenten sistemas productivos orgánicos y su comparación con sistemas productivos. Por lo tanto, nuevamente estos resultados arrojan los primeros datos al respecto tanto a nivel local, nacional y global.

No se detectan marcadas diferencias respecto a la diversidad de géneros entre ambos sistemas a excepción del primer año donde los sistemas orgánicos exhiben una variedad fúngica claramente mayor. Al menos 16 géneros fúngicos fueron determinados en ambos tipos de sistema durante los tres años de muestreo: *Alternaria*, *Arthrinium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Bipolaris*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma* y *Ulocladium.* Con respecto a la secuencia de géneros predominantes se vuelve a dar el mismo orden que el obtenido en el estudio anual, estacional y geográfico: *Cladosporium* en primer orden, seguido por *Alternaria* en el segundo y *Epicoccum* en el tercero en ambos sistemas. En cuarto y quinto orden de importancia han sido determinados *Botrytis* y *Aureobasidium* tanto en sistemas tradicionales como productivos. Sin embargo, en los tradicionales, se pueden hallar además otros géneros como *Fusarium* y *Phoma*. Cabe destacar además que en los sistemas orgánicos la secuencia de géneros predominantes es constante en los tres años de muestreo a diferencia de los sistemas tradicionales donde la tendencia varía en cada año para el cuarto y quinto puesto de importancia. Nuevamente y al igual que sucede con las distribución geográfica, los resultados obtenidos no pueden ser comparados debido a la ausencia de datos publicados. Pero podemos decir que si bien el manejo a campo en ambos sistemas productivos es similar en cuanto a la aplicación de fungicidas como previamente fuera mencionado, no lo es respecto a otras prácticas agrícolas que quizás puedan influir en la distribución de géneros como puede evidenciarse en los resultados.

5.2 Determinación de la concentración, densidad y distribución anual, estacional, geográfica y por sistema productivo de las especies halladas

Las investigaciones aeromicológicas, tanto a nivel global como a nivel nacional, reportan resultados de la composición aeromicológica de ambientes externos en términos de géneros principalmente. Los estudios que involucran la identificación a nivel especie son minoritarios pero aún así se han hallado varios trabajos desarrollados en distintos puntos del planeta y algunos en nuestro país. Algunos se centran en reportar las especies sólo del género más frecuentemente hallado como sucede con *Aspergillus* (Lázaro y col., 2000; Shelton y col., 2002; Haamed y col., 2009) y otros desarrollan un estudio más extensivo abarcando las especies de todos los géneros hallados. En este último grupo cabe mencionar los trabajos desarrollados en países europeos como España (Sabariego y col., 1999), Francia (Lanier y col., 2010) e Italia (Picco y Rodolfi, 2000); en países asiáticos como China (Fang y col., 2005; Wang y col., 2011), Irak (Muhsin y Adlan, 2012) e India (Nanda, 2015) y también en países africanos como Nigeria (Ogunlana, 1975) y Egipto (Abdel-Afez y col., 1993). Otros estudios aeromicológicos llevan a cabo investigaciones restringidas a la identificación de especies de un género en particular como se mencionará a continuación debido a su relevancia sobre la salud humana, animal o de cultivos. En Argentina, sólo dos trabajos aportan resultados concernientes a especies fúngicas presentes en ambientes externos en provincias del noreste como Chaco y Corrientes (Esquivel y col., 2003) y Santa Fé (Frisón y col., 2012). Con respecto a ambientes interiores existen dos trabajos desarrollados en la provincia de Buenos Aires (Borrego y col., 2011; Mallo y col., 2017) y uno en la provincia de Santa Fé (Aríngoli y col., 2008) que relevan las especies presentes en aire interior.

La importancia de relevar la presencia de hongos a nivel de especie radica en detectar aquellas con gran impacto en la salud humana, animal y vegetal debido a sus capacidades inmunológicas, micotoxicogénicas y fitopatógenas. Dado que la región bajo estudio es un valle dedicado a la producción frutícola que emplea mano de obra principalmente humana cobra importancia determinar las especies que forman parte

de la aeromicobiota de estos ambientes rurales y relacionarlas con posibles enfermedades de las personas y los cultivos. Nuevamente cabe destacar que los resultados de nuestro trabajo se convierten en los primeros datos reportados en la región del Alto Valle del río Negro.

5.2.1 Distribución anual de especies fúngicas

Si bien se halló una gran variedad de especies fúngicas, determinándose más de 38 en cada año de muestreo, algunas de las especies de *Cladosporium* y *Alternaria* son las que ocupan los primeros 5 puestos de importancia en términos de concentración, lo cual es congruente con el hecho de que son los géneros predominantes en la región. En este aspecto, *C. cladosporioides* fue la especie predominante en cada año muestreado, seguida por *A. tenuissima* y esporádicamente por *C. limoniforme*. Esta última especie junto a *C. asperulatum* y *C. pseudocladosporioides* fueron determinadas en tercer, cuarto y quinto orden de preponderancia en los dos años.

Con respecto a *Cladosporium*, Sandoval-Denis y col. (2015) afirman que la identificación morfológica de sus especies es difícil debido a la alta similitud morfológica entre especies estrechamente relacionadas. Esto se confirmó mientras se realizó la clasificación de los aislamientos en grupos morfológicos y, además, también se observó variabilidad morfológica dentro de cada especie, lo cual se ve reflejado en la reducción del número de especies de los 25 grupos morfológicos a las 11 especies confirmadas por técnicas moleculares.

Por otro lado, aunque se ha informado que este género es filogenéticamente muy heterogéneo (Sandoval-Denis y col., 2015), el análisis filogenético llevado a cabo en este trabajo, basado en el gen de actina, demostró su eficacia para discriminar especies de *Cladosporium* como otros autores han informado (Schubert y col., 2007; Bensch y col., 2010; Sandoval-Denis y col., 2015). La caracterización molecular reveló la existencia de once especies nucleadas en dos de los tres complejos de especies que presenta este género. De esta manera las especies del complejo *C. cladosporioides* (*C. cladosporioides*, *C. pseudocladosporioides*, *C. asperulatum*) y *C. herbarum* (*C. limoniforme*, *C. subtilissimum*, *C. aggregatocicatricatum*, *C. macrocarpum*, *C. tenellum*, *C. allicinum*, *C. ramotenellum*) coexisten en proporciones similares, aunque las de *C. cladosporioides* parecen ser un poco más abundantes y con una variedad más restringida de especies. Sin embargo, ninguno de los aislamientos identificados en este estudio perteneció al complejo *C. sphaerospermum*. Considerando que la región de la Patagonia Norte exhibe características climatológicas continentales (Rodríguez y Muñoz, 2006), la ausencia de aislamientos pertenecientes a este complejo es

consistente con lo reportado por Schubert y col. (2007) y por Bensch y col. (2012) que asocian la coexistencia de estas especies a ambientes ecológicos extremos. Cabe destacar que muchos de los trabajos aeromicológicos citan especies de este género teniendo en cuenta sólo el complejo al cual pertenecen y son minoritarios aquellos estudios que determinan las especies dentro de cada complejo. Resultados similares fueron obtenidos por otros autores a nivel global que citan a *C. cladosporioides* como el complejo-especie predominante en ambientes externos, aunque la brecha de abundancia con respecto al complejo *C. herbarum* es mucho mayor que la observada en nuestro trabajo (Sabariego y col., 2000; Wang y col., 2011; Aira y col., 2012; Muhsin y Adlan, 2012; Almaguer y col., 2013). Con respecto a estudios locales, nuestros resultados coinciden con otros determinados por autores argentinos como Esquivel y col. (2003) y Frisón y col. (2012) que hallaron a *C. cladosporioides* como el complejo de especies más abundante en ciudades del nordeste del país. Sin embargo, estos mismos autores han determinado, además, especies del complejo *C. sphaerospermum* en sus estudios. En otros trabajos sólo se hallaron especies del complejo *C. herbarum* (Nanda, 2015) o proporciones invertidas entre los complejos *C. herbarum* y *C. cladosporioides* que muestran al primero como más abundante (Abdel-Hafez y col., 1993). Esto se podría explicar, en principio por las diferencias climáticas y geográficas con respecto a nuestra zona y, en segundo lugar, porque la identificación sólo fue llevada a cabo morfológicamente, lo que puede introducir errores en los resultados debido a la dificultad que esta práctica presenta para este género (Sandoval-Denis y col., 2015).

Respecto al predominio de especies, las esporas de especies de *C. cladosporioides* se encuentran entre las más ubicuas que se encuentran en muestras al aire libre (Domsch y col., 1980; Mullins 2001; Park y col., 2004; Bensch y col., 2012). Nuestros resultados confirman que *C. cladosporioides* es, entre las 11 especies identificadas la más abundante en la región, seguida de cerca por *C. limoniforme*, un nuevo taxón recientemente descripto por Bensch y col. (2015). Al comparar nuestros datos con los obtenidos por otros autores hallamos similitudes con respecto a la especie predominante (Picco y Rodolfi, 2000) y a la especie *C. macrocarpum* (Harvey, 1967; Infante y col., 1999; Sadyś, 2017). Algunos trabajos citan la presencia de otras especies en ambientes externos como *C. herbarum*, *C. sphaerospermum*, *C. tenuissimum* en China (Fang y col., 2005), *C. cucumerinum* y *C. resinae* en Italia (Picco y

Rodolfi, 2000), *C. avellanum*, *C. colocasiae*, *C. elatum*, *C. oxyosporum*, *C. spongiosum* y *C. variabile* en España (Infante y col., 1999),

A nivel global, el género *Cladosporium* ha sido reportado por comprender especies capaces de causar enfermedades en plantaciones y en procesos de poscosecha (Tournas, 2005; Aira y col., 2012) y, a través de la producción de alérgenos, micosis pulmonares en humanos y animales (Black y col., 2000; Sellart-Altisent y col., 2007; Sandoval-Denis y col., 2015). Por lo expuesto anteriormente, y ante la ausencia de datos aeromicológicos en la zona se considera relevante conocer las especies presentes para detectar el potencial riesgo biológico y poder así tomar medidas preventivas al respecto. De esta manera estos resultados constituyen el primer estudio en Argentina con respecto a la identificación a nivel de especie de las esporas de *Cladosporium* transportadas por el aire. Además, es el primer informe en la región productiva de la Patagonia Norte y, más precisamente del Alto Valle del río Negro.

Determinar las especies de *Alternaria* resulta de suma importancia ya que algunas de ellas poseen una probada capacidad fitopatógena y micotoxicogénica como también alergológica. Entre ellas, *A. alternata* es el principal grupo-especies asociado a trastornos alérgicos (Simon-Nobbe y col., 2008; Pavón Moreno y col., 2012) como así también es responsable de enfermedad sobre varios tipos de cultivo (Lacey, 1989) y, particularmente en manzanos y duraznos ocasiona la patología llamada corazón mohoso (Horlock, 2006). Este grupo-especies también es de considerada importancia por su capacidad de producir toxinas con alto grado de severidad sobre la salud humana y animal (Lacey, 1989). De los tres grupo-especies de *Alternaria* determinados en este estudio, *A. tenuissima* resultó ser el más abundante y además ocupó el segundo y tercer puesto de predominancia con respecto a la distribución anual de especies. *A. alternata* presentó densidades relativas entre 1-3%, por lo cual se encuentra en concentraciones de magnitud considerable dado que la gran mayoría de las especies que no pertenecen a los géneros *Cladosporium* y *Alternaria* mostraron densidades inferiores al 1%. Nuestros resultados difieren en gran medida con los hallados en otras partes del mundo donde el principal grupo-especies de este género en aire es *A. alternata* (Abdel-Hafez y col., 1993; Picco y Rodolfi, 2000; Fang y col., 2005; Lanier y col., 2010; Wang y col., 2011; Muhsin y Adlan, 2012). Incluso en nuestro propio país este grupo-especies es el único dentro del género *Alternaria* que se

detectó en ambientes externos (Esquivel y col., 2003; Frisón y col., 2012). Muy pocos estudios coinciden con nuestros resultados reportando a *A. tenuissima* como el grupo-especies predominante en aire (Abu-Dieyeh y col., 2010; Almaguer y col., 2013). Sin embargo, en la región, *A. tenuissima* es el grupo-especies más abundante sobre la superficie de cultivos representativos de la región (Benavides Rozo, 2018). Además, cabe mencionar que, según Pitt y Hocking (2009), *A. alternata* y *A. tenuissima* están cercanamente relacionados y exhiben un perfil de metabolitos y de micotoxinas similar, diferenciándose principalmente de manera morfológica por la longitud de los conidios y la ramificación de las cadenas, característica que depende fundamentalmente de la identificación visual al microscopio óptico o lupa binocular.

Si bien las especies de *Cladosporium* y *Alternaria* fueron las más frecuentes en el aire de la región, esporas de *Epicoccum nigrum*, *Eurotium chevalieri*, *Pleospora alli*, *Stemphylium vesicarium* y de especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Phoma* también fueron determinadas en la zona. A excepción de *Epicoccum nigrum* que presentó densidades relativas entre 2-5% el resto de las especies se hallaron en pocentajes inferiores al 1%.

De acuerdo con Pitt y Hocking (2009) *E. nigrum* (sin. *E. purpurascens* Ehrenb. ex Schltdl) es la única especie existente del género. Es un saprófito o invasor secundario del tejido vegetal senescente y se encuentra ampliamente distribuido no sólo en aire sino también en el suelo y en la vegetación en descomposición. Su ubicuidad en el medio ambiente implica su presencia frecuente en los alimentos, y aunque es una causa poco común de deterioro ha sido reportado como patógeno de cultivos entre los que se destacan peras y manzanas (Combrink y col., 1985; Bruton y col., 1993; Pitt y Hocking, 2009). En nuestra región esta especie es luego de las especies de *Cladosporium* y *Alternaria*, la más frecuente y estos resultados coinciden con los reportados en otras partes del mundo (Lewis y col., 1991; Dixit y col., 1991; 1992; Picco y Rodolfi, 2000; Kasprzyk y Worek, 2006; Oliveira y col., 2010) y en nuestro país (Esquivel y col., 2003; Bonetto y col., 2006; Basílico y col., 2007; Frisón y col., 2012).

Las especies *Fusarium acuminatum*, *F. proliferatum*, *F. semitectum*, *F. sporotrichioides* fueron halladas en ambos años de muestreo y, entre estas, las últimas dos fueron las más frecuentes dentro del género. De forma más esporádica se determinaron, además, *F. chlamydosporum*, *F. compactum*, *F. crookwellense*, *F.*

dlamini, *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. polyphialidicum*, *F. reticulatum*, *F. sambucinum*, *F. solani* y *F. verticillioides* todas en proporciones inferiores al 1%. Varias de estas especies han sido citadas en otros trabajos aeromicológicos a nivel mundial como *F. chlamydosporum*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. semitectum* y *F. verticillioides* (Ogunlana, 1975; Picco y Rodolfi, 2000; Fang, 2005; Wang y col., 2011; Muhsin y Adlan, 2012). En Argentina también existen resultados coincidentes a los nuestros en ciudades del nordeste del país. Esquivel y col. (2003) determinaron, entre otras, las especies *F. chlamydosporum*, *F. oxysporum* y *F. solani* y, Frisón y col. (2012), *F. proliferatum* y *F. verticillioides*.

Históricamente las especies de *Fusarium* son reconocidas por su papel como patógenos de plantas principalmente de cereales y legumbres, que generalmente invaden antes de la cosecha. Son, además, una de las principales causas de pudrición de frutas y verduras y almacenadas. Sus especies están ampliamente distribuidas en los suelos, particularmente cultivados. Por otro lado, los miembros de este género pueden ocasionar enfermedades en humanos y animales domésticos. La tasa de mortalidad para pacientes humanos con infecciones sistémicas por *Fusarium* es superior al 70%, y los pacientes infectados por VIH también son susceptibles a dichas infecciones. Además, las especies de este género pueden producir una serie de metabolitos secundarios que están asociados con la enfermedad de las plantas, así como con el cáncer y otros defectos de crecimiento en humanos y animales domesticados. De hecho este género es uno de los tres principales productores de toxinas. Debido a la actividad agrícola del Alto Valle, abocada principalmente al cultivo de frutos de pepita, *Fusarium* no es identificado como un patógeno de importancia en la región a pesar de que se lo ha hallado en la superficie de frutos de manzana y pera (Moya y col., 2012) y se lo ha relacionado con podredumbres carpelares de manzanas (Di Masi y Benazzi, 2016). La principal importancia radica entonces en detectar especies particularmente peligrosas para la salud humana y animal. En este aspecto, dentro de las especies halladas en la región son relevantes *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. verticillioides* causante de la fusariosis diseminada en pacientes inmunosuprimidos (Bourgeois y col., 2010; Ríos, 2011; Almaguer, 2015). Con respecto a la producción de micotoxinas cabe mencionar la presencia en la región de *F. sporotrichioides*, principal productor de la toxina T-2 y, menos comúnmente, *F. poae* que causó la muerte de

muchas personas y animales durante el siglo XX, pero ahora es poco frecuente. *Fusarium oxysporum*, *F. proliferatum* y *F. verticillioides* son productores de fumonisinas (compuestos análogos de esfingosina) que, en humanos, están asociadas con el cáncer de esófago. Finalmente, aunque fue hallado en muy baja proporción, *F. crookwellense* es productor de zearalonona, un metabolito secundario que si bien no es muy tóxico y no se ha asociado con ningún trastorno fatal en animales o humanos, ha causado síndromes estrogénicos en cerdos, y tal vez en adolescentes humanos (Leslie y Summerell, 2006; Pitt y Hocking, 2009).

Las especies de *Penicillium* determinadas en ambos años de muestreo fueron *P. brevicompactum*, *P. canescens*, *P. expansum*, *P. raistrickii*, *P. solitum*. Esporádicamente se hallaron *P. chrysogenum*, *P. janczewsky*, *P. restrictum*, *P. funiculosum*, *P. paneum*, *P. verrucosum*. Todas estas especies a excepción de *P. raistrickii*, *P. solitum* y *P. paneum* han sido reportadas en otros estudios realizados en el mundo (Abdel-Hafez y col., 1993; Picco y Rodolfi, 2000; Fang y col., 2005; Wang y col., 2011). En Argentina, las especies *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum* y *P. expansum* fueron también determinadas por Esquivel y col. (2003). Sin embargo ninguna de ellas fue detectada por Frisón y col. (2012) que, en cambio encontraron sólo la especie *P. roqueforti*.

En cuanto a la relevancia de la presencia de las especies de este género, son muy importantes en el deterioro de los cultivos y los alimentos y dado que pueden crecer a bajas temperaturas son bastante comunes de hallar en productos refrigerados (Pitt y Hocking, 2009). En relación a las especies encontradas en la región cobra vital importancia *P. expansum* y *P. brevicompactum* que son conocidos patógenos causantes de la podredumbre azul en manzanas y peras almacenadas en cámaras frigoríficas, siendo el primero un importante productor de patulina, una micotoxina de elevada toxicidad. Todas las especies halladas, a excepción de *P. solitum* son capaces de producir micotoxinas (Pitt y Hocking, 2009).

Las especies de *Phoma glomerata* y *P. aliena* son las más frecuentes de este género en la región del Alto Valle. De manera más ocasional se determinaron también *P. betae* y *P. medicaginis*. Entre ellas, sólo *P. glomerata* fue también reportada en Irak (Muhsin y Adlan , 2012) y en China (Wang y col., 2011) mientras que en Argentina, Esquivel y col. (2003) también la hallaron en ciudades del nordeste argentino junto con *P. cruris-hominis*, *P. dennisii var. oculo hominis*, *P. eupyrena* y *P. herbarum*. En cuanto a

la relevancia de las especies halladas, *P. aliena* ha sido aislada principalmente de plantas leñosas y arbustos perennes en Europa en las que se comporta como un patógeno oportunista. *Phoma betae* se aisla comúnmente de la remolacha y espinaca y en ellas puede comportarse como patógeno causando gran variedad de síntomas en raíces y hojas (Boerema y col., 2004). *Phoma glomerata* es considerada una invasora secundaria tanto en una gran variedad de plantas hospedadoras incluidas peras y manzanas (Holz y col., 1989; Verma y Sharma, 1999) como también en infecciones humanas (Boerema y col., 2004) y *P. medicaginis* es principalmente un patógeno de alfalfa y otras leguminosas (Boerema y col., 2004).

Sólo la especie *Stemphylium vesicarium* y, más frecuentemente, su teleomorfo *Pleospora alli* fueron determinados en la región. Estos hongos también fueron hallados en Italia (Singh y col., 1999; Rossi y col., 2005), España, Francia, Holanda y Portugal (Llorente y col., 2012), Japón (Tanahashi y col., 2017), Sudáfrica (Aveling y Naude, 1992), Estados Unidos e India (Hill, 1996), en Venezuela (Cedeño y col., 2003) y en Brasil (Boiteux y col., 1994). Si bien son reportados como patógenos de una amplia variedad de plantas, en nuestra región cobra importancia su patogenicidad sobre frutales de pepita, particularmente de pera (Singh y col., 1999; Sing y col., 2000; Kurose y col., 2015; Di Masi, 2017; Tanahashi y col., 2017).

En relación a las especies de *Aspergillus* y su teleomorfo *Eurotium*, *A. niger* y *A. versicolor* fueron halladas en ambos años de muestreo y las especies *A. sydowii*, *A. wentii* y *E. chevalieri* fueron de ocurrencia más esporádica. Abdel-Hafez y col. (1993) han determinado, entre otras, las cuatro especies de *Aspergillus* halladas en la región y *A. niger* también fue citada en otros trabajos (Picco y Rodolfi, 2000; Fang y col., 2005; Muhsin y Adlan, 2012; Nanda, 2015). En Argentina, las especies *A. niger*, *A. sydowii* y *A. versicolor* fueron halladas por Esquivel y col. (2003) en las ciudades de Corrientes y Resistencia y *A. niger* por Frisón y col. (2012) en Santa Fé. Con respecto a especies de *Eurotium*, no se han hallado luego de la búsqueda bibliográfica reportes de especies de este género en aire a nivel global. No obstante, en Argentina, Frisón y col. (2012) reportaron la presencia de *E. amstelodami* en la ciudad de Santa Fé.

Aspergillus es uno de los géneros de hongos más conocidos y más frecuentemente reconocidos en la tierra. *Aspergillus niger* y *A. versicolor* son especies comúnmente halladas en el aire interior (Ríos, 2011). *Aspergillus niger* es, por mucho,

la especie de este género más comúnmente responsable de la descomposición poscosecha de la fruta fresca, incluidas las manzanas y las peras (Pitt y Hocking, 2009). Su impacto en la salud humana radica en su capacidad de producir alergias, endocarditis y onicomicosis (Ríos, 2011) y en la producción de micotoxinas del tipo de las ocratoxinas con potentes efectos nocivos sobre la salud. Afortunadamente, usualmente sólo un bajo porcentaje de aislamientos de *A. niger* pueden producir ocratoxina (Pitt y Hocking, 2009). Por otro lado, *A. versicolor* suele afectar cultivos principalmente de cerelaes y oleaginosas en el almacenamiento. Por lo tanto, en nuestra región, la importancia de su presencia se basa en la capacidad de producir enfermedad en humanos y animales. Se ha relacionado a *A. veriscolor* con irritación de la nariz y garganta en humanos y con inflamación aguda de los pulmones en ratones que inhalaron sus esporas. Además se ha comprobado que la exposición continua de ratas bebé a esporas de esta especie puede desarrollar tumores pituitarios (Pitt y Hocking, 2009).

5.2.2 Distribución estacional de especies fúngicas

Las especies *C. cladosporioides*, *C. limoniforme*, *C. asperulatum*, *A. tenuissima* y *E. nigrum* estuvieron presente en todas las estaciones de ambos años de muestreo. Con respecto a la preponderancia, *C. cladosporioides* fue predominante seguida por *C. limoniforme* y *C. asperulatum*. Luego le siguen en orden de importancia *A. tenuissima*, *C. pseudocladosporioides*, *E. nigrum*, *C. allicinum*, *C. tenellum* y *C. subtilissimum*.

Tal como sucede a nivel género se puede observar una variación estacional a nivel de especie coincidente con la de cada género al que pertenecen en la gran mayoría de los casos. Nuevamente se pueden apreciar discrepancias entre ambos años de muestreo para algunas especies a excepción de *C. cladosporioides*, *A. tenuissima* y *E. nigrum que* siguieron una variación definida y repetida en los dos años (Tabla N° 97). Estas tres especies presentan la misma estacionalidad que su género con máximas alcanzadas en el periodo verano/otoño. Los estudios sobre distribuciones estacionales de especies fúngicas en ambientes externos resultan ser escasos luego de consultar la literatura actual y nulo respecto de la especie *A. tenuissima*. Sin embargo, existen algunos que describen la variación estacional para los complejos de especies de *Cladosporium* y la especie *E. nigrum*. Dentro del complejo *C. cladosporioides*, la estacionalidad de las especies es muy variada. La especie *C. cladosporioides* exhibió sus máximas en el periodo verano/otoño en ambos años, *C. pseudocladosporioides* en el periodo invierno/primavera en el primer año y verano/otoño en el segundo y la especie *C. asperulatum* en el periodo invierno/primavera en el primer año y otoño/invierno en el segundo. Si bien la mayoría de los trabajos reporta al periodo verano/otoño como la estación en la que mayor abundancia de esporas aéreas se registran para especies de este complejo (Abdel-Hafez y El-Said, 1989; Rodríguez Rajo y col., 2005; Herrero y col., 2006; Aira y col., 2012; Muhsin y Adlan, 2012), hay otros que también destacan máximas concentraciones en la estación primaveral (Herrero y col., 2006) y también en la invernal (Muhsin y Adlan, 2012). Con respecto al complejo *C. herbarum*, también se observa una alta variabilidad en la estacionalidad de sus especies.

Cladosporium limoniforme presentó sus máximos niveles esporales en el periodo primavera/verano en el primer año y verano/otoño en el segundo. La especie

C. allicinum que sólo fue determinada en el primer año fue más abundante en el periodo verano/otoño. *C. tenellum* y *C. subtilissimum* exhibieron sus mayores concentraciones en el periodo otoño/invierno en el segundo año mientras que en el primero *C. tenellum* fue más abundante en el periodo invierno/primavera y *C. subtilissimum* en las estaciones de otoño y primavera. Al igual que sucede con el complejo *C. cladosporioides* los resultados observados en otras partes del mundo difieren entre sí y son congruentes con los datos obtenidos en esta región. Así, se han registrado máximas para el complejo *C. herbarum* en las estaciones de verano y otoño (Abdel-Hafez y El-Said, 1989; 1993; Rodríguez Rajo y col., 2005; Herrero y col., 2006; Aira y col., 2012; Muhsin y Adlan, 2012), invierno (Muhsin y Adlan, 2012) y primavera (Abdel-Hafez y col, 1993; Herrero y col., 2006). En relación a la especie *E. nigrum*, datos similares fueron hallados en Egipto (Abdel-Hafez y El-Said, 1989; 1993).

Tabla N° 97: Variación estacional de las especies fúngicas predominantes detallando los periodos y estaciones de las máximas concentraciones halladas (UFC/m^3).

Especies	1° AÑO	2° AÑO
C. cladosporioides	Verano/otoño	Verano/otoño
C. limoniforme	Primavera/verano	Verano/otoño
C. asperulatum	Invierno/primavera	Otoño/invierno
A. tenuissima	Verano/otoño	Verano/otoño
C. pseudocladosporioides	Invierno/primavera	Verano/otoño
E. nigrum	Verano/otoño	Verano/otoño
C. allicinum	Verano/otoño	ND
C. tenellum	Invierno/primavera	Otoño/invierno
C. subtilissimun	Otoño y primavera	Otoño/invierno

5.2.3 Distribución geográfica de especies fúngicas

Al igual que lo sucedido a nivel género, no existen en la región del Alto Valle del río Negro datos aeromicológicos sobre la biodiversidad de especies fúngicas por lo que estos resultados componen el primer estudio en esta área de la Patagonia. La composición aeromicológica en términos de especies no presentó grandes diferencias entre ambas zonas, a excepción del primer año donde la diversidad fue mayor en la zona Centro. Los resultados arrojan una gran diversidad de especies fúngicas en las dos zonas geográficas bajo estudio detectándose al menos 24 especies en cada una de ellas durante los dos años de muestreo: *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *Cladosporium aggregatocicatricatum*, *C. asperulatum*, *C. cladosporioides*, *C. limoniforme*, *C. pseudocladosporioides*, *C. subtilissimum*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium semitectum*, *Phoma aliena* y *Pleospora alli*. La especie predominante en los dos sitios geográficos fue *C. cladosporioides* seguido por *C. limoniforme*, *C. asperulatum* y *A. tenuissima* en segundo y tercer orden. La cuarta especie más abundante fue *C. asperulatum* en la zona Este y *A. tenuissima* en la zona Centro durante ambos años. En quinto orden de predominancia fue determinada *C. pseudocladosporioides* en ambas zonas y *C. allicinum* en la zona Centro y *C. subtilissimum* en la zona Este.

Cabe mencionar nuevamente que se pueden detectar algunas diferencias respecto a la predominancia y composición de especies fúngicas presentes en cada área a pesar de que las dos zonas bajo estudio pertenecen a una región con condiciones geográficas y climáticas uniformes en el rango de kilómetros que alojan ambos puntos de muestreo.

5.2.4 Distribución por sistema productivo de especies fúngicas

Teniendo en cuenta que, luego de consulta extensamente la bibliografía, no se hallaron estudios aeromicológicos que determinen la aeromicoflora en términos de género de ambientes rurales que presenten sistemas productivos orgánicos y su comparación con sistemas productivos, menos aún existen estos reportes a nivel de especie. Por lo tanto, nuevamente estos resultados arrojan los primeros datos al respecto tanto a nivel local, nacional y global.

No se detectan marcadas diferencias respecto a la diversidad de especies entre ambos sistemas y los resultados se invierten en un año respecto del otro. Al menos 27 especies fúngicas fueron halladas en ambos sistemas durante los dos años de muestreo: *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *Cladosporium aggregatocicatricatum*, *C. asperulatum*, *C. cladosporioides*, *C. limoniforme*, *C. pseudocladosporioides*, *C. subtilissimum*, *C. tenellum*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium proliferatum*, *F. semitectum*, *F. sporotrichioides*, *Penicillium canescens* y *Phoma aliena.* Con respecto a la frecuencia de especies predominantes, *C. cladosporioides* fue la de mayor importancia en ambos sistemas durante los dos años de muestreo seguida por *C. limoniforme*, *A. tenuissima* y *C. asperulatum* en el segundo, tercer y cuarto orden de predominancia. *C. pseudocladosporioides* fue la cuarta especie más abundante en sistemas tradicionales. En quinto orden de predominancia fueron determinadas *C. subtilissimum* y *C. asperulatum* en sistemas tradicionales y *E. nigrum* y *C. pseudocladosporioides* en sistemas orgánicos.

Cabe destacar nuevamente que las diferencias observadas a nivel especie entre ambos sistemas productivos pueden deberse a las distintas actividades agrícolas que se desarrollan en cada tipo de sistema para abordar su manejo. Pero debido a la ausencia de datos comparables a nivel local y global, estos resultados se convierten en los primeros aportes sobre las especies fúngicas presente en el aire de sistemas productivos orgánicos.

5.3 Relación de las variables climatológicas con la biodiversidad fúngica aérea de la región

Luego de analizar los parámetros meteorológicos para cada año de muestreo y de comparar las medias anuales de cada factor con las históricas (Rodríguez y Muñoz, 2006), se puede apreciar que ninguno de los tres años presenta valores típicos. Esto se ve reflejado principalmente en la velocidad media del viento donde los valores actuales son marcadamente inferiores a los históricos y en la radiación global media donde, al contrario, los datos actuales son ampliamente superiores a los históricos. Sólo se determinaron similitudes en la temperatura media anual, donde el segundo año se asemejó al dato histórico y en la humedad relativa media donde el tercer año fue el que más se asemejó al valor histórico. Esta disparidad de resultados entre los datos recopilados en la actualidad y los valores de décadas pasadas refleja un incipiente cambio climático en la región tal como sucede a nivel global que puede influir en los recuentos fúngicos (Cecchi y col., 2010).

Si bien el objetivo principal de este trabajo fue determinar la aeromicoflora presente en ambientes rurales de la región resulta interesante detectar si estos parámetros pueden influir en las concentraciones fúngicas, particularmente luego de hallar diferencias climáticas en la región respecto a los valores históricos. La relación entre la concentración y composición fúngica de los ambientes y las condiciones meteorológicas ha sido motivo de estudio de numerosas investigaciones. Los factores analizados incluyen ciertos episodios climatológicos (como el viento, la radiación solar, la temperatura, la humedad relativa) y la química atmosférica que puede ir en beneficio o desmedro de la dispersión de las esporas (Rosas y col., 2004). Por ejemplo, los recuentos fúngicos suelen encontrarse en concentraciones más altas durante estaciones cálidas con condiciones de calor y tiempo seco, aunque, por el contrario, un exceso de lluvia tiende a precipitar las esporas desde la atmósfera (Troutt y Levetin, 2001; Burch y Levetin, 2002).

Como resultado de los datos obtenidos en el presente trabajo se puede apreciar que los recuentos fúngicos están íntimamente influenciados por la temperatura media y la radiación global media. De hecho, la tendencia estacional de los recuentos

fúngicos del primer y tercer año de muestreo fue similar y obedece a la tendencia de estos dos parámetros. Las pequeñas diferencias observadas en las concentraciones otoñales y primaverales pueden residir en discrepancias registradas para los parámetros de velocidad media del viento y humedad relativa media en dichas estaciones. Algunos autores coinciden con estas observaciones, detectando una correlación positiva entre el incremento de la temperatura, la velocidad del viento y la humedad relativa con las concentraciones fúngicas (Hasnain, 1993; Burch y Levetin, 2002; Morales González, 2007; Cecchi y col., 2010; Grinn-Gofroń y Bosiacka, 2015). Asimismo algunos estudios también reportan que estas correlaciones dependen de la composición micológica en términos de géneros ya que algunos pueden exhibir una correlación negativa con alguno de estos parámetros (Ríos, 2011; Grinn-Gofroń y Bosiacka, 2015).

Sin embargo, la tendencia estacional de los recuentos fúngicos del segundo año es completamente distinta a los otros dos años de muestreo, aunque también lo son los factores climáticos, particularmente la velocidad media del viento y la humedad relativa media. Por lo cual es factible considerar que el comportamiento diferente de las concentraciones fúngicas durante el segundo año se deba a una combinación de la influencia de los parámetros meteorológicos, principalmente de estos dos últimos factores. Algunos trabajos proponen que el nivel de esporas en aire no puede ser predicho por una única variable meteorológica (Burch y Levetin, 2002) e incluso atribuirse únicamente a los cambios meteorológicos (Azcon-Bieto, y Talón, 2000; Grinn-Gofroń y Bosiacka, 2015). En este aspecto, Chakrabarti y col. (2012), luego de realizar un estudio longitudinal aeromicológico de cinco años en la ciudad de Calcuta (India) concluye que las diferencias halladas entre los años de muestreo se debe probablemente a las diferencias interanuales en los cambios climáticos como así también a los cambios en los patrones de vegetación durante el período de estudio. Este último factor también debe ser tenido en cuenta, especialmente considerando que se trata de una zona agrícola que aloja un sector productivo que en virtud de mejorar sus cultivos, realiza cambios en las plantaciones que involucran la reconversión de variedades de plantas con la consecuente tala y resiembra de nuevos frutales, o que, dada la desfavorable situación económica de la región, abandona la producción frutícola para destinarla a otro tipo de actividad.

5.4 Determinación de la patogenicidad y especificidad del hospedante de especies de *Cladosporium* y de especies de *Stemphylium* y *Pleospora*.

5.4.1 Especies de *Cladosporium*

Debido a la abundancia de las especies del género *Cladosporium* en el aire de ambientes rurales de la región, resulta relevante determinar su fitopatogenicidad sobre frutos de pepita (pera y manzana) que son los cultivos más representativos de la zona. Si bien no se hallaron en la bilbiografía gran cantidad de trabajos que estudien la patogenicidad de este género, algunos reportan la capacidad de especies de *Cladosporium*, principalmente del complejo de especies *C. herbarum*, para causar lesiones en peras saludables alrededor del mundo (Sugar y Powers 1986; Benbow y Sugar 1999; Park y col., 2008) y a nivel local (Colodner, 2013; Lutz y col., 2016).

Estos resultados coinciden con los obtenidos a partir de los ensayos llevados a cabo en este trabajo, los que permitieron demostrar la capacidad fitopatógena de las especies de este género sobre frutos de pera y no así sobre frutos de manzana, revelando, de esta manera, su especificidad de hospedante. Sin embargo, a diferencia de los estudios mencionados, no sólo las especies del complejo *C. herbarum* resultaron ser patógenas sino también las del complejo *C. cladosporioides*. Asimismo, cabe destacar que la variedad Abate Fetel fue más sensible a la infección que Packham's Triumph. Por otra parte, respecto al grado de patogenicidad de los aislamientos, en ambas variedades de pera se observa un porcentaje de patógenos leves ampliamente mayor al de patógenos moderados y sólo en la variedad Abate Fetel se pudo observar, en un porcentaje bajo, la presencia de patógenos severos. En relación a las especies se puede apreciar que *C. pseudocladosporioides*, *C. asperulatum* y *C. aggregatocicatricatum* parecerían presentar el mayor grado de patogenicidad.

Finalmente se debe mencionar que las lesiones externas observadas en nuestros ensayos no coincidieron con las descriptas en peras infectadas naturalmente que se presentan fuertemente pigmentadas en toda su extensión. Sin embargo, esto podría

estar relacionado con el hecho de que las condiciones experimentales de laboratorio no son iguales a las condiciones en las que naturalmente se registran los frutos dañados consistente con un almacenamiento en frío durante largos períodos de tiempo (Lutz y col., 2016).

La información que aportan estos ensayos es relevante para el sector productivo debido a que Abate Fetel es la cuarta variedad de pera con mayor abundancia en esta región (SENASA, 2017a). Reconocer la presencia de estas especies fitopatógenas de gran predominancia en los ambientes agrícolas de la zona, principalmente *C. asperulatum*, podría ayudar a los productores a tomar medidas preventivas apropiadas para evitar el daño biológico y económico.

5.4.2 Especies de *Stemphylium* y *Pleospora*

La mancha negra del peral es una patología causada por el hongo *Stemphylium vesicarium* (fase asexual) y por *Pleospora alli* (fase sexual). Ambos estados del patógeno son capaces de producir síntomas tanto en hojas como en frutos y ambos han sido identificados en la región a partir de ensayos llevados a cabo por el INTA (Di Masi, 2017). A diferencia de lo que sucede con el género *Cladosporium*, las especies de *Stemphylium* y *Pleospora* son muy poco frecuentes en aire. Sin embargo, dada la reciente afectación de algunos montes de perales en la región por la infección de estos hongos, la patología cobra relevancia a pesar de ser incipiente porque el daño ocasionado en la temporada pasada fue considerado como importante (Di Masi, 2017).

Los resultados obtenidos a partir de los ensayos realizados sobre frutos revelan la capacidad fitopatógena que poseen *Stemphylium vesicarium* y *Pleospora alli* en plantas hospedadoras como lo son ambas variedades de pera ensayadas. Estos resultados son coincidentes con los reportados en zonas productoras de Europa como España, Italia, Francia, Holanda, Bélgica y Portugal (Ponti y col., 1982; Llorente y Montesinos, 2006; Köhl y col., 2008) y en Japón (Tanahashi y col., 2008; 2017). Sin embargo, y a diferencia de lo citado en los trabajos mencionados, ambas fases del hongo también resultaron ser patógenas en plantas no hospedadoras como manzanas de la variedad Red Delicious, lo cual es demostrado por primera vez en este estudio. Respecto al grado de patogenicidad de los aislamientos, en ambas variedades de pera y en manzanas se observa un porcentaje de patógenos leves ampliamente mayor al de patógenos moderados; y sólo en la variedad Abate Fetel y en manzanas Red Delicious se pudo observar, en un porcentaje bajo, la presencia de patógenos severos. Aunque no parece apreciarse una gran diferencia en cuanto a la susceptibilidad varietal en peras, este último resultado podría indicar una mayor sensibilidad de la variedad Abate Fetel a la infección.

Con respecto a los resultados obtenidos de los ensayos realizados sobre hojas, también se pone en evidencia la capacidad fitopatógena de *Stemphylium vesicarium* y *Pleospora alli* sobre todas las variedades de pera ensayadas. Sin embargo no resultaron ser patógenos en plantas no hospedadoras como manzanas de la variedad Red Delicious y rosas, mostrando una especificidad de hospedante respecto a la

infección en hojas que, en este caso, es coincidente en su totalidad con los datos aportados en otros estudios a diferencia de lo que sucedió con los frutos (Ponti y col., 1982; Llorente y Montesinos, 2006; Köhl y col., 2008; Tanahashi y col., 2008; 2017). En relación al grado de patogenicidad de los aislamientos, el porcentaje de patógenos leves suele ser ampliamente mayor al de moderados y severos en las variedades D' Anjou y Williams. Sin embargo, el porcentaje de patógenos severos suele ser mayor o al menos igual que el de patógenos leves. Estos resultados parecen revelar una sensibilidad varietal, en la que Abate Fetel y Packham's Triumph resultan ser más susceptibles a la infección que D' Anjou y Williams.

Con respecto a las especies, tanto en frutos como en hojas, se puede apreciar que *P. alli* presenta un mayor grado de patogenicidad que *S. vesicarium*.

Por otro lado cabe mencionar que *Stemphylium vesicarium* produce dos toxinas hospedador-específicas (THEs) en filtrados de cultivos (toxina SV-I y SV-II) que ocasionan una necrosis venosa causante del síntoma en "V" específico de este patógeno en cultivares de pera. La concentración de toxina y la susceptibilidad varietal podrían influir en la severidad de la necrosis (Singh y col, 1999; Köhl y col., 2008) y debido a que fue demostrada su acción disruptiva sobre la función celular, estas toxinas juegan un papel sumamente importante en la virulencia o patogenicidad del hongo (Singh y col., 2000).

En nuestro trabajo, los resultados obtenidos muestran la capacidad fitopatógena que poseen los filtrados de cultivo de *Stemphylium vesicarium* y *Pleospora alli* sobre hojas de todas las variedades de pera ensayadas. Sin embargo no resultaron ser patógenos en plantas no hospedadoras como manzanas de la variedad Red Delicious y rosas, revelando una especificidad de hospedante respecto a la patogenicidad en hojas causada por toxinas hospedador específicas. Resultados similares a los nuestros fueron obtenidos por Singh y col. (1999; 2000) y Tanahashi y col. (2017). En relación al grado de patogenicidad de los aislamientos, el porcentaje de patógenos leves es ampliamente mayor al de moderados y severos en todas las variedades de pera a excepción de Abate Fetel, donde se revierte la situación siendo el mayor porcentaje registrado el correspondiente a patógenos severos. Estos resultados evidencian una sensibilidad varietal, en la que Abate Fetel se perfila como la variedad más susceptible a la posible presencia de toxinas hospedador específicas de *S.*

vesicarium y *P. alli*. Con respecto a las especies, no se aprecian diferencias marcadas entre la capacidad fitopatógena de las toxinas SV producidas en filtrados de cultivo de *S. vesicarium* y *P. alli*.

Analizando los resultados de patogenicidad sobre frutos y hojas conjuntamente se puede afirmar que *S vesicarium* y *P. alli* presentan una especificidad de hospedante en hojas, pero no así en frutos donde no sólo lesionan peras de las variedades ensayadas sino que también producen daño en manzanas, las cuales a la actualidad han sido reportadas como plantas no hospedadoras de ambos hongos. Respecto a peras, la variedad Abate Fetel parece ser la más susceptible a la infección seguida de la variedad Packham´s Triumph ya que registraron los mayores porcentajes de patógenos severos analizando los resultados obtenidos con suspensiones conidiales. Sin embargo, Packham´s Triumph parece ser resistente al daño ocasionado por toxinas hospedador específica ya que sólo presentó lesiones ocasionadas por patógenos leves.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Las esporas de hongos son un componente permanente del ambiente y se encuentran en casi todas las estaciones del año. Sin embargo, varían en su tipo, dispersión, abundancia y viabilidad ya que están estrechamente relacionados con numerosos factores, tales como condiciones climáticas, meteorológicas, contenido de material biológico degradable, estaciones del año y ubicación geográfica.

Los estudios aeromicológicos llevados a cabo en diversas partes del mundo son numerosos. Sin embargo, en nuestro país este tipo de estudios continúan siendo muy escasos y la mayoría de ellos se restringe a la identificación a nivel género de los aislamientos hallados y al relevo de la biodiversidad fúngica principalmente en ambientes interiores y alejados de las zonas rurales. Asimismo, la gran parte de los estudios que han sido llevados a cabo en ambientes externos o internos tuvo como finalidad relacionarlos a la salud humana, siendo muy escasos los que estudian ambientes agrícolas también en relación a posibles enfermedades en los cultivos. Con respecto a la región del Alto Valle, no existen en la literatura consultada estudios aeromicólogicos de las zonas rurales dedicadas a la producción frutihortícola, con lo cual el presente trabajo se convierte en el primer reporte de la biodiversidad micológica de los ambientes agrícolas del Alto Valle relacionando la presencia de los hongos hallados con posibles enfermedades a campo y poscosecha que puedan afectar a los cultivos y a su consecuente actividad económica asociada.

De esta manera, los resultados obtenidos a partir del mismo permiten evidenciar las siguientes conclusiones:

- Este es el primer estudio longitudinal de tres años consecutivos llevado a cabo en el país y el único, hasta el presente, con el objetivo de relevar la presencia de los géneros y especies fúngicas en el aire de ambientes rurales de la zona del Alto Valle del río Negro y de la región Norpatagónica.

- Los recuentos fúngicos anuales se hallaron en el orden de 10^4 UFC/m^3 de aire, siendo elevados en comparación con lo determinado por otros estudios aeromicológicos a nivel global y presentando una marcada variación estacional en la que las máximas concentraciones se exhibieron en el periodo verano/otoño. Con respecto a la variación geográfica y por sistema productivo, no se detectaron

marcadas diferencias entre las dos zonas del Alto Valle muestreadas y los dos tipos de sistemas productivos.

- La micoflora aérea reveló una amplia biodiversidad determinándose al menos 19 géneros y 38 especies fúngicas en cada año de muestreo. *Cladosporium* se perfiló como el género más abundante seguido por *Alternaria* y *Epicoccum*. En términos de especies, *C. cladosporioides* predominó, y luego continuaron en orden de importancia *A. tenuissima* y *C. limoniforme.* Otras especies de relevancia incluyeron a *C. asperulatum* y *E. nigrum*. Tendencias similares se observaron en cada estación del año aunque los distintos géneros y especies presentaron una variación estacional definida lo cual permite evidenciar una influencia climática sobre su distribución.

- La temperatura y la radiación global media parecen comandar la tendencia de los recuentos fúngicos aunque variables como la humedad relativa y la velocidad del viento podrían estar involucradas en las discrepancias observadas entre los años de muestreo con respecto a las concentraciones fúngicas.

- Se demostró la capacidad fitopatógena de las especies de *Cladosporium*, *Stemphylium* y *Pleospora* sobre los frutos de pepita más representativos de la región observándose una mayor susceptibilidad varietal para peras Abate Fetel que resultan ser la cuarta variedad más cultivada del Alto Valle. Además, los resultados revelaron la posible producción de fitotoxinas por parte de los aislamientos de de *S. vesicarium* y *P. alli* que resultaron ser altamente patogénicas en hojas de diversas variedades de pera, lo cual tiene relevancia debido a los incipientes ataques en la región durante la temporada pasada que ocasionaron pérdidas económicas al sector.

Consideramos que los datos obtenidos a partir del desarrollo del presente trabajo componen un aporte valioso al sector socio-productivo de la región del Alto Valle del río Negro que carecía, a la actualidad, de información respecto a la diversidad de hongos fitopatógenos y micotoxicogénicos presentes en el aire de sus ambientes

rurales. De esta manera, los conocimientos generados permitirán a los fruticultores emplear métodos adecuados y eficientes en tiempo y forma para reducir el daño biológico y económico que la presencia de los hongos puede ocasionar a sus cultivos mejorando las perspectivas del sector. Asimismo cabe también destacar que, si bien no fue el principal objetivo de este trabajo, relevar la aeromicoflora de la región permite, además, tomar conocimiento de la presencia de géneros y especies que tienen capacidad de ocasionar daño sobre la salud humana y animal para poder tomar medidas preventivas o curativas sobre los individuos expuestos.

Finalmente, luego de analizar los resultados y establecer las conclusiones, cabe plantear futuras perspectivas que puedan complementar la información recopilada para mejorar la situación tanto del sector productivo como de los habitantes de la región. En este sentido, resulta válido, luego de observar una influencia climática sobre los recuentos fúngicos y la distribución de géneros y especies, determinar de forma precisa el comportamiento particular frente a cada uno de los parámetros analizados empleando métodos estadísticos como el coeficiente de correlación de Spearman (Hasnain, 1993; Ščevková y col., 2016) y/o el Análisis de Correspondencia Canónica (ACC) (Grinn-Gofroń, 2011). Estos conocimientos brindarán la posibilidad de confeccionar calendarios de esporas fúngicas, particularmente, para aquellos géneros y especies fitopatógenas de manera tal que permitirán predecir la época del año en la que se incrementará la concentración fúngica de los mismos para aplicar las medidas de control más propicias.

Por otro lado, conocer la interacción entre los parámetros ambientales y los hongos es de suma importancia considerando que, sin ser la atmósfera un hábitat natural para ellos, eventos o cambios en ella influyen en su dispersión a cortas o largas distancias y, en consecuencia, en la colonización de sustratos diferentes a los de su fuente de origen en donde pueden actuar como fitopatógenos, alérgenos, colonizadores primarios, etc. (Rosas, 2004). Por lo tanto, se propone estudiar, en un futuro inmediato, la influencia de los parámetros ambientales sobre el crecimiento de las especies de *Cladosporium* y *Alternaria* que resultaron ser las más abundantes de la región, como así también sobre la producción de las micotoxinas más importantes de este último género (alternariol - AOH, alternariol monometil éter – AME, ácido

tenuazónico – AT) realizando un modelado matemático del crecimiento fúngico y de la producción de toxinas a diferentes temperaturas y valores de humedades relativas. Cabe destacar que si bien estudios ecofisiológicos de este tipo han sido llevados a cabo para especies de *Alternaria* como *A. alternata* (Pose y col., 2009; 2010) y *A. arborescens* (Vaquera y col., 2016), no han sido realizados para *A. tenuissima*, especie predominante en la región. Asimismo, respecto a *Cladosporium*, un sólo estudio ha sido llevado a cabo a nivel mundial con especies determinadas en la ciudad de Riyadh (Arabia Saudita) (Alhussaini y col., 2015), no siendo extrapolables, a priori, estos resultados a los obtenidos en nuestra región (variabilidad inter e intraespecie). De esta manera, la información obtenida permitirá determinar el impacto de los factores ambientales, principalmente teniendo en cuenta el incipiente cambio climático en el mundo y la región, sobre la dispersión, crecimiento y producción de micotoxinas de los hongos alergénicos y fitopatógenos de mayor importancia en la zona y a nivel mundial.

BIBLIOGRAFÍA

A

- Abdel-Hafez, S. I., Moubasher, A. A. H., & Barakat, A. (1993). Seasonal variations of fungi of outdoor air and sedimented dust at Assiut region, Upper Egypt. *Grana*, *32*(2), 115-121.

- Abdel-Hafez, S. I., & El-Said, A. H. (1989). Seasonal variations of airborne fungi in Wadi Qena, Eastern Desert, Egypt. *Grana*, *28*(3), 193-203.

- Abu-Dieyeh, M. H., Barham, R., Abu-Elteen, K., Al-Rashidi, R., & Shaheen, I. (2010). Seasonal variation of fungal spore populations in the atmosphere of Zarqa area, Jordan. *Aerobiologia*, *26*(4), 263-276.

- Adhikari, A., Reponen, T., Grinshpun, S. A., Martuzevicius, D., & LeMasters, G. (2006). Correlation of ambient inhalable bioaerosols with particulate matter and ozone: a two-year study. *Environmental Pollution*, *140*(1), 16-28.

- Adhikari, A., Sen, M. M., Gupta-Bhattacharya, S., & Chanda, S. (2004). Airborne viable, non-viable, and allergenic fungi in a rural agricultural area of India: a 2-year study at five outdoor sampling stations. *Science of the Total Environment*, *326*(1-3), 123-141.

- Agarwal, R., Devi, D., Gupta, D., & Chakrabarti, A. (2014). A questionnaire-based study on the role of environmental factors in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Lung India: official organ of Indian Chest Society*, *31*(3), 232.

- Agrios, G. N. (2005). Plant diseases caused by fungi. *Plant pathology*, *4*.

- Agrios, G. N. (1988). *Plant pathology* (No. 632.1 Ag84p Ej. 3 004499). Academic press,.

- Ahlström, K., & Käärik, A. (1977). A study of airborne fungal spores with the aid of the FOA slit-sampler. *Grana*, *16*(3), 133-137.

- Ainsworth, G. C. (1952). The incidence of air-borne *Cladosporium* spores in the London region. *Microbiology*, *7*(3-4), 358-361.

- Aira, M. J., Rodríguez-Rajo, F. J., Fernández-González, M., Seijo, C., Elvira-Rendueles, B., Abreu, I., ... & Tormo, R. (2013). Spatial and temporal distribution of *Alternaria* spores in the Iberian Peninsula atmosphere, and meteorological relationships: 1993–2009. *International journal of biometeorology*, *57*(2), 265-274.

- Aira, M. J., Rodríguez-Rajo, F. J., Fernández-González, M., Seijo, C., Elvira-Rendueles, B., Gutiérrez-Bustillo, M., ... & Morales, J. (2012). *Cladosporium* airborne spore incidence in the environmental quality of the Iberian Peninsula. *Grana*, *51*(4), 293-304.

- Aira, M. J., Jato, V., Stchigel, A. M., Rodríguez-Rajo, F. J., & Piontelli, E. (2007). Aeromycological study in the Cathedral of Santiago de Compostela (Spain). *International Biodeterioration & Biodegradation*, *60*(4), 231-237.

- Aldama Caballero, A., Acosta Sens, R., Rivelli, V., Insaurralde, S., Mendoza de Sánchez, G., & Celías, L. (2016). Disseminated aspergillosis with significant skin involvement. *Anales de la Facultad de Ciencias Médicas (Asunción)*, *49*(2), 89-97.

- Alhussaini, M. S., Moslem, M. A., Alghonaim, M. I., Al-Ghanayem, A. A., & Hefny, H. M. (2015). Biological studies on airborne *Cladosporium* species isolated from Riyadh City. *Life Science Journal, 12*(6), 83–91.

- Almaguer, M. (2015). *Diversidad y dinámica de la aeromicobiota en dos zonas del Occidente de Cuba: rural y urbana*. Editorial Universitaria. Tesis doctoral, Universidad de La Habana.

- Almaguer, M., Aira, M. J., Rodríguez-Rajo, F. J., & Rojas, T. I. (2013). Study of airborne fungus spores by viable and non-viable methods in Havana, Cuba. *Grana*, *52*(4), 289-298.

- Almaguer, M., Rojas, T. I., & Hernández, A. (2008). Perspectivas de los estudios aeromicológicos para la protección del cultivo del arroz. *Revista de Protección Vegetal*, *23*(3), 137-143.

- Almenar, M. I. V., Rodie, J. U., Cortada, G. E., Sarle, J. G., Ayala, I. L., & Ginjuan, D. I. R. (2013). *Poscosecha de pera, manzana y melocotón*. Mundi-Prensa Libros.

- Al-Subai, A. A. (2002). Air-borne fungi at Doha, Qatar. *Aerobiologia*, *18*(3-4), 175-183.

- Altieri, M. A., & Nicholls, C. I. (2007). Conversión agroecológica de sistemas convencionales de producción: teoría, estrategias y evaluación. *Revista Ecosistemas*, *16*(1).

- Altieri, M. A. (1995). Agroecology: The science of sustainable agriculture. Westview Press, Boulder, CO. *Agroecology: The science of sustainable agriculture. 2nd Edition. Westview Press, Boulder, CO.*

- Álvarez-Salafranca, M., Hernández-Ostiz, S., Salvo Gonzalo, S., & Ara Martin, M. (2017). Onicomicosis subungueal proximal por *Aspergillus niger*: un simulador de melanoma maligno subungueal. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, *108*(5), 482-485.

- Álvez, F., Figueras, C., Roselló, E., & Grupo de Trabajo de Infecciones Fúngicas de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica. (2010, July). Infecciones fúngicas invasivas emergentes. En *Anales de Pediatría* (Vol. 73, No. 1, pp. 52-e1). Elsevier Doyma.

- Ambhore, J. S. (2015). *Aeromycological studies over maize and paddy crops*. Lulu. com.
- Andersen, B., Krøger, E., & Roberts, R. G. (2002). Chemical and morphological segregation of *Alternaria arborescens*, *A. infectoria* and *A. tenuissima* species-groups. *Mycological Research*, *106*(2), 170-182.
- Anguiano, C. J., Cepeda, N. A. C., Morlett, C. J., & Zugasti, C. A. (2012). Contaminación por hongos filamentosos en manzana: amenaza para la salud y la economía. *CIENCIACIERTA No.31*. Disponible en: http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/CienciaCierta/CC31/6.html
- Angulo, G. B., & González, F. M. (2007). Microbios africanos de vacaciones en el Caribe. *Rev Mex Patol Clin*, *54*(4), 168-176.
- Angulo-Romero, J., Mediavilla-Molina, A., & Domínguez-Vilches, E. (1999). Conidia of *Alternaria* in the atmosphere of the city of Cordoba, Spain in relation to meteorological parameters. *International Journal of Biometeorology*, *43*(1), 45-49.
- Aríngoli, E. E., Basílico, M. D. L. L. Z., Altahus, R. L., & Basílico, J. C. (2008). Multivariate analysis of fungal associations in the indoor air of Argentinean houses. *International biodeterioration & biodegradation*, *62*(3), 281-286.
- Artaç, H., Temizer, İ. K., Özdemir, H., Pekcan, S., Doğan, C., & Reisli, İ. (2014). *Alternaria* and *Cladosporium* Spores in the Atmosphere of Konya and Their Relationship with Meteorological Factors. *Asthma Allergy Immunology*, *12*(3), 130-139.
- Ashworth Jr, L. J., Huysman, O. C., Weinhold, A. R., & Hancock, J. G. (1981). Estimating yield losses caused by soil-borne fungi. En: *Crop Loss Assessment Methods*. Supplement 3. Chiarappa, L. (ed.) pP. 91-95.
- Aubert, A. C., Lampurlanés, X. S., & Espadalé, R. M. A. (2010). Micotoxinas en ambientes laborales.

- Augustowska, M., & Dutkiewicz, J. (2006). Variability of airborne microflora in a hospital ward within a period of one year. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, *13*(1), 99-106.

- Aveling, T. A., & Naude, S. P. (1992). First report of *Stemphylium vesicarium* on garlic in South Africa. *Plant Disease*, *76*(4).

- Awad, A. H. A. (2005). Vegetation: A source of air fungal bio-contaminant. *Aerobiologia*, *21*(1), 53-61.

- Aylor, D. E. (1998). The aerobiology of apple scab. *Plant Disease*, *82*(8), 838-849.

- Azcon-Bieto, J., & Talón, M. (2000). Auxinas. *Fundamentos de fisiología vegetal. McGraw-Hill, Madrid*, 305-323.

B

- Basilico, M. D. L. L. Z., Chiericatti, C., Aringoli, E. E., Althaus, R. L., & Basilico, J. C. (2007). Influence of environmental factors on airborne fungi in houses of Santa Fe City, Argentina. *Science of the Total Environment*, *376*(1-3), 143-150.

- Bastian, F., Alabouvette, C., & Saiz-Jimenez, C. (2009a). The impact of arthropods on fungal community structure in Lascaux Cave. *Journal of applied microbiology*, *106*(5), 1456-1462.

- Bastian, F., Alabouvette, C., Jurado, V., & Saiz-Jimenez, C. (2009b). Impact of biocide treatments on the bacterial communities of the Lascaux Cave. *Naturwissenschaften*, *96*(7), 863-868.

- Beggs, P. J. (2010). Adaptation to impacts of climate change on aeroallergens and allergic respiratory diseases. *International journal of environmental research and public health*, *7*(8), 3006-3021.

- Benavides Rozo, M. E. (2018). *Caracterización de poblaciones de Alternaria Asociada a la Producción Frutícola del Alto Valle de río Negro mediante un enfoque Polifásico Basado en la Determinación de la Diversidad Morfológica, genética, y de producción de metabolitos secundarios*. Tesis doctoral, Universidad Nacional de Quilmes.

- Benbow, J. M., & Sugar, D. (1999). Fruit surface colonization and biological control of postharvest diseases of pear by preharvest yeast applications. *Plant Disease, 83,* 839–844.

- Bensch, K., Groenewald, J. Z., Braun, U., Dijksterhuis, J., de Jesús Yáñez-Morales, M., & Crous, P. W. (2015). Common but different: The expanding realm of *Cladosporium*. *Studies in mycology*, *82*, 23-74.

- Bensch, K., Braun, U., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2012). The genus C*ladosporium*. *Studies in mycology*, *72*, 1-401.

- Bensch, K., Groenewald, J. Z., Dijksterhuis, J., Starink-Willemse, M., Andersen, B., Summerell, B. A., ... & Crous, P. W. (2010). Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (*Davidiellaceae*, *Capnodiales*). *Studies in Mycology*, *67*, 1-94.

- Bergamini, B. M., Grillenzoni, S., Andreoni, A. D., Natali, P., Ranzi, A., & Bertolani, M. F. (2004). *Alternaria* spores at different heights from the ground. *Allergy*, *59*(7), 746-752.

- Black, P. N., Udy, A. A., & Brodie, S. M. (2000). Sensitivity to fungal allergens is a risk factor for life-threatening asthma. *Allergy*, *55*(5), 501-504.

- Boccacci, L., Casilli, M., Grandi, C., D'Ovidio, M. C., & Pace, L. (2017) Monitoring airborne fungal spores (*Alternaria* and *Cladosporium*) in L'Aquila: a useful tool for climate change and occupational health assessment. Disponible en: http://www.dispaa.unifi.it/vp-555-pubblicazioni.html

- Boerema, G. H. (Ed.). (2004). *Phoma identification manual: differentiation of specific and infra-specific taxa in culture*. CABI.

- Bohse, M. L., & Woods, J. P. (2007). Expression and interstrain variability of the YPS3 gene of *Histoplasma capsulatum*. *Eukaryotic cell*, *6*(4), 609-615.

- Boiteux, I., Lima, M. F., Sobrinho, J. M., & Lopes, C. A. (1994). A garlic (*Allium sativum*) leaf blight caused by *Stemphylium vesicarium* in Brazil. *Plant pathology*, *43*(2), 412-414.

- Bonetto, S., Delaferrara, C., Bordón, G., Aríngoli, E., Chiericatti, C., & Basílico, M. (2006, November). Bioaerosoles fúngicos en centros de acopio durante la cosecha del trigo. En *Tercer Congreso Argentino de Microbiología de Alimentos, Buenos Aires, Argentina*.

- Bonifaz Trujillo, J. A. (2012). *Micología médica básica (4a)*. McGraw Hill Mexico.

- Borrego, S. C., Perdomo, I., de la Paz, J., de Saravia, S. G. G., & Guiamet, P. S. (2011). Relevamiento microbiológico del aire y de materiales almacenados en el Archivo Histórico del Museo de La Plata, Argentina y en el Archivo Nacional de la República de Cuba. *Revista del Museo de la Plata*, *18*(119), 1-18.

- Borrego, S., Pons, V., & Perdomo, I. (2008). La contaminación microbiana del aire en dos depósitos del Archivo Nacional de la República de Cuba. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, *39*(1), 63-69.

- Bourgeois, G. P., Cafardi, J. A., Sellheyer, K., & Andea, A. A. (2010). Disseminated *Fusarium* originating from toenail paronychia in a neutropenic patient. *Cutis; cutaneous medicine for the practitioner*, *85*(4), 191.

- Boysen, M., Skouboe, P., Frisvad, J., & Rossen, L. (1996). Reclassification of the *Penicillium roqueforti* group into three species on the basis of molecular genetic and biochemical profiles. *Microbiology*, *142*(3), 541-549.

- Brummund, W., Kurup, V. P., Harris, G. J., Duncavage, J. A., & Arkins, J. A. (1986). Allergic sino-orbital mycosis: a clinical and immunologic study. *JAMA*, *256*(23), 3249-3253.

- Bruton, B. D., Redlin, S. C., Collins, J. K., & Sams, C. E. (1993). Postharvest decay of cantaloupe caused by *Epicoccum nigrum*. *Plant Disease (USA)*.

- Bueno, D. J., Silva, J. O., & Oliver, G. (2003). Hongos ambientales en una biblioteca: un año de estudio. En *Anales de documentación* (Vol. 6, pp. 27-34).

- Buitrago Torrado, M. F., Vives Restrepo, J. E., Fernández Santodomingo, A. S., Bolívar, M., Samara, F., & Carrillo Tete, D. (2013). Overview of Mycotic Queratitis. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*, *45*(3), 55-69.

- Burch, M., & Levetin, E. (2002). Effects of meteorological conditions on spore plumes. *International journal of biometeorology*, *46*(3), 107-117.

- Burger, H. (1990). Bioaerosols: prevalence and health effects in the indoor environment. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *86*(5), 687-701.

- Burge, H. A. (1986). Some comments on the aerobiology of fungus spores. *Grana*, *25*(2), 143-146.

- Bush, R. K., & Prochnau, J. J. (2004). *Alternaria*-induced asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *113*(2), 227-234.

C

- Caballero Escuti, G., Chiesura, V., Valente, E., Kurpis, M., & Ruiz Lascano, A. (2014). Histoplasmosis diseminada con manifestaciones cutáneas en un paciente con SIDA. *Revista argentina de dermatología*, *95*(2), 27-29.

- Cadenas, F. (2009). Fitopatología general. *Universidad Nacional Agraria La Molina. La Molina, México*.

- Cafarchia, C., Camarda, A., Iatta, R., Danesi, P., Favuzzi, V., Di Paola, G., ... & Otranto, D. (2014). Environmental contamination by *Aspergillus* spp. in laying hen farms and associated health risks for farm workers. *Journal of medical microbiology*, *63*(3), 464-470.

- CAFI. (2014). Producción de peras y manzanas en Argentina. Cámara Argentina de Fruticultores Integrados. Disponible en: http://www.cafi.org.ar/produccion-de-peras-y-manzanas-en-argentina/

- Calderon, C., Lacey, J., McCartney, H. A., & Rosas, I. (1995). Seasonal and diurnal variation of airborne basidiomycete spore concentrations in Mexico City. *Grana*, *34*(4), 260-268.

- Carbone, I., & Kohn, L. M. (1999). A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*, 553-556.

- Caretta, G. (1992). Epidemiology of allergic disease: the fungi. *Aerobiologia*, *8*(3), 439-445.

- Caretta, G., Crippa, A., Della Franca, P., Del Frate, G., Guglielminetti, M., Mangiarotti, A. M., ... & Savino, E. (1983). Airborne fungi at Pavia (Italy). *Boletin Micol6gieo*, *1*, 187-199.

- Casadesús, L., & Pazos, V. (1989). Fitopatología. ENPES. *La Habana*.

- CAST. (2003). *Mycotoxins: Risks in plant, animal, and human systems* (No. 139). Council for Agricultural Science and Technology. USA.

- Cecchi, L., d'Amato, G., Ayres, J. G., Galan, C., Forastiere, F., Forsberg, B., ... & Dahl, R. (2010). Projections of the effects of climate change on allergic asthma: the contribution of aerobiology. *Allergy*, *65*(9), 1073-1081.

- Cedeño, L., Carrero, C., Quintero, K., Pino, H., & Espinoza, W. (2003). *Stemphylium vesicarium*, causante de quema foliar en ajo y cebolla en Mérida, Venezuela. *Interciencia*, *28*(3), 174-177.

- Chakrabarti, H. S., Das, S., & Gupta-Bhattacharya, S. (2012). Outdoor airborne fungal spora load in a suburb of Kolkata, India: its variation, meteorological determinants and health impact. *International journal of environmental health research*, *22*(1), 37-50.

- Chauhan, S., & Kulshrestha, A. (2006). Aeromycospora of Agra City. *Recent Mycological Researches*, 34.

- Chrenova´, J., Misˇ´ık, M., Sˇcˇevkova´, J., Micˇieta, K., & Mlynarcˇ´ık, D. (2004). Monitoring of microscopic airborne fungi in Bratislava. Acta Facult Pharm Comenianae, 51, 68–72

- Cichón, L. I., Di Masi, S., Fernández, D., Magdalena, J., Rial, E., & Rossini, M. (1996). *Guía ilustrada para el monitoreo de plagas y enfermedades en frutales de pepita*. INTA.

- Coello, M. D. C. S., Rajo, F. J. R., & Rodríguez, M. V. J. (2002). Estudio de los niveles de los principales fitopatógenos para la optimización de cosechas de "*Vitis vinifera*" en Valdeorras, Ourense (1998). *Botanica complutensis*, (26), 121-136.

- Cogliati, M. G., & Mazzeo, N. A. (1999). Climatología del viento en el Alto Valle del Río Negro. *Energías Renovables y Medio Ambiente*, *3*, 181-184.

- Colodner, A. (2013). Enfermedades de poscosecha en peras Abate Fetel. Taller Pera Abate Fetel. Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_enfermedades-poscosecha-peras-abate-fetel.pdf

- Combrink, J. C., Kotzl, J. M., Wehner, F. C., & Grobbelaar, C. J. (1985). Fungi associated with core rot of Starking apples in South Africa. *Phytophylactica 17*:81-83.

- Cordeiro, R. A., Brilhante, R. S., Pantoja, L. D., Moreira Filho, R. E., Vieira, P., Rocha, M. F., ... & Sidrim, J. J. (2010). Isolation of pathogenic yeasts in the air from hospital environments in the city of Fortaleza, northeast Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, *14*(1), 30-34.

- Corden, J. M., Millington, W. M., & Mullins, J. (2003). Long-term trends and regional variation in the aeroallergen *Alternaria* in Cardiff and Derby UK–are differences in climate and cereal production having an effect?. *Aerobiologia*, *19*(3-4), 191-199.

- Cosentino, S., Pisano, P. L., Fadda, M. E., & Palmas, F. (1990). Pollen and mold allergy: aerobiologic survey in the atmosphere of Cagliari, Italy (1986-1988). *Annals of Allergy*, *65*(5), 393-400.

- Cruz, R., Barthel, E., Piontelli, E., & Fernandez, G. (2005). Reportes Clínicos: Infección Rinosinusal probada por *Aspergillus flavus* y probable infección pulmonar por *Emericella nidulans* en pacientes inmunodeprimidos. *Boletín Micológico*, *20*.

- Culver González, M. (2015). Calidad del aire interior. Contaminantes biológicos (II). Tipos de muestreo. NTP N° 1065. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). Disponible en: http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/NTP/NTP/Ficheros/1055a1065/ntp-1065w.pdf

- Curutchet, D. (2010). Zigomicosis. *Revista argentina de dermatología*, *91*(2), 00. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-300X2010000200004&lng=es&tlng=es.

D

- D'amato, G., & Spieksma, F. T. M. (1995). Aerobiologic and clinical aspects of mould allergy in Europe. *Allergy*, *50*(11), 870-877.

- De la Rosa M., Mosso M., & Ullán, C. (2002). El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio medioambiental*, *5*(2002), 375-402.

- De Lara, J. M. T., Tessier, J. F., Lafond-Grellety, J., Domblides, P., Mary, J., Faugère, J. G., & Taytard, A. (1990). Indoor moulds in asthmatic patients homes. *Aerobiologia*, *6*(1), 98-101.

- De Lucca, A. J. (2007). Harmful fungi in both agriculture and medicine. *Revista iberoamericana de micología*, *24*(1), 3.

- De Pauw, B. E. (2011). What Are Fungal Infections? *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, *3*(1), e2011001. Disponible en: http://doi.org/10.4084/MJHID.2011.001

- Denning, D. W., Pashley, C., Hartl, D., Wardlaw, A., Godet, C., Del Giacco, S., ... & Sergejeva, S. (2014). Fungal allergy in asthma–state of the art and research needs. *Clinical and translational allergy*, *4*(1), 14.

- Denning, D. W., O'driscoll, B. R., Hogaboam, C. M., Bowyer, P., & Niven, R. M. (2006). The link between fungi and severe asthma: a summary of the evidence. *European Respiratory Journal*, *27*(3), 615-626.

- Despot, D. J., & Klarić, M. Š. (2014). A year-round investigation of indoor airborne fungi in Croatia. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, *65*(2), 209-218.

- Di Masi, S. (2017). La mancha negra del peral afecta la región. Diario Río Negro. Disponible en: http://www.rionegro.com.ar/la-mancha-negra-del-peral-afecta-la-region-YG2293441

- Di Masi, S. & Benazzi, L. (2016). Corazón mohoso de la manzana. Disponible en: https://inta.gob.ar/documentos/corazon-mohoso-de-la-manzana-0

- Di Masi, S. (2014). Corazón Mohoso de la manzana. Disponible en: https://inta.gob.ar/documentos/corazon-mohoso-de-la-manzana

- Díaz-Pérez, G. D., Molina, R. T., Palacios, M. I. S., & Rodríguez, A. F. M. (2001). Esporas de "*Cladosporium*" y "*Alternaria*" en la atmósfera de la ciudad de Cáceres. En *Palinología: diversidad y aplicaciones: trabajos del XII Simposio de Palinología (APLE) León, 1998* (pp. 277-286). Servicio de Publicaciones.

- Dixit, A. B., Lewis, W. H., & Wedner, H. J. (1992). The allergens of *Epicoccum nigrum* link: I. Identification of the allergens by immunoblotting. *Journal of allergy and clinical immunology*, *90*(1), 11-20.

- Dixit, A., Lewis, W., & Wedner, H. J. (1991). 167 Establishment of growth conditions for sporulation of *Epicoccum nigrum*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *87*(1), 180.

- Dobra, A. C., Sosa, M. C., & Dussi, M. C. (2007, May). Low incidence of fungal and bacterial diseases in the pear production of North Patagonia, Argentina. In *X International Pear Symposium 800* (pp. 907-912).

- Domsch, K. H., Gams, W., & Anderson, T. H. (1980). *Cladosporium* Link ex Fr. 1821. *Compendium of Soil Fungi*, *1*, 201-210.

- Dugan, F. M., Braun, U., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2008). Morphological plasticity in *Cladosporium sphaerospermum*. *Persoonia, 21*, 9–16.

- Dugan, F. M., Schubert, K., & Braun, U. (2004). Check-list of *Cladosporium* names. *Schlechtendalia, 11*, 1–103.

E

- Eames, I., Tang, J. W., Li, Y., & Wilson, P. (2009). Airborne transmission of disease in hospitals. *J R Soc Interface*, 6 Suppl 6: S697-702.

- Ebner, M. R., Haselwandter, K., & Frank, A. (1992). Indoor and outdoor incidence of airborne fungal allergens at low-and high-altitude alpine environments. *Mycological Research*, *96*(2), 117-124.

- Elbert, W., Taylor, P. E., Andreae, M. O., & Pöschl, U. (2007). Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: wet and dry discharged spores, carbohydrates, and inorganic ions. *Atmospheric Chemistry and Physics*, *7*(17), 4569-4588.

- Emberlin, J., Newman, T., & Bryant, R. (1995). The incidence of fungal spores in the ambient air and inside homes: evidence from London. *Aerobiologia*, *11*(4), 253.

- Erkara, I. P., Asan, A., Yilmaz, V., Pehlivan, S., & Okten, S. S. (2008). Airborne *Alternaria* and *Cladosporium* species and relationship with meteorological conditions in Eskisehir City, Turkey. *Environmental monitoring and assessment*, *144*(1-3), 31.

- Esquivel, P., Mangiaterra, M., Giusiano, G., & Sosa, M. A. (2003). Microhongos anemófilos en ambientes abiertos de dos ciudades del nordeste argentino. *Boletín Micológico*, *18*.

- Eversmeyer, M. G., & Kramer, C. L. (1975). Air-spora above a Kansas wheat field. *Phytopathology*, *65*(4), 490-492.

F

- Falloon, P. G., Falloon, L. M., & Grogan, R. G. (1987). Etiology and Epidemiology of *Stemphylium* Leaf Spot and Purple Spot. *Phytopathology*, *77*, 407-413.

- Fang, Z., Ouyang, Z., Hu, L., Wang, X., Zheng, H., & Lin, X. (2005). Culturable airborne fungi in outdoor environments in Beijing, China. *Science of the Total Environment*, *350*(1-3), 47-58.

- FAO. (2001). Manual de capacitación. La importancia de comer frutas y hortalizas. Estudio FAO Alimentación y Nutrición N° 46.

- Fernández, M. (1990). *Estudio del contenido de polen y esporas en la atmósfera de la ciudad de León.* Tesis doctoral, Universidad de León.

- Fernstrom, A., & Goldblatt, M. (2013). Aerobiology and its role in the transmission of infectious diseases. *Journal of Pathogens*, *2013*, 493960. Disponible en: http://doi.org/10.1155/2013/493960

- Frenguelli, G. (2013). New trends in aerobiology. *Rev. Allergy Clin. Immunol*, *23*.

- Frisón, L. N., Colomba, P. S., Aríngoli, E. E., & Basílico, J. C. (2012). Diversidad fúngica en ambientes de industrias alimentarias. *FABICIB*, *16*(1), 78-92.

- Frisvad, 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), 1-174.

- Frivsad, J. C. (1985). Creatine sucrose agar, a differential medium for mycotoxin producing terverticillate *Penicillium* species. *Letters in Applied Microbiology*, *1*(6), 109-113.

- Frisvad, J. C. (1981). Physiological criteria and mycotoxin production as aids in identification of common asymmetric penicillia. *Applied and Environmental Microbiology*, *41*(3), 568-579.

- Fröhlich-Nowoisky, J., Burrows, S. M., Xie, Z., Engling, G., Solomon, P. A., Fraser, M. P., ... & Andreae, M. O. (2012). Biogeography in the air: fungal diversity over land and oceans. *Biogeosciences*, *9*(3), 1125.

G

- Gaztambide, A. I. (2005). Distribución vertical y temporal de *Glomerella cingulata* (*Colletotrichum gloeosporioides*) sobre una siembra comercial de gandul (*Cajanus cajan* L.)(Spanish text).

- Ghanbarnia, K., Dilantha Fernando, W. G., & Crow, G. (2011). Comparison of disease severity and incidence at different growth stages of naturally infected canola plants under field conditions by pycnidiospores of *Phoma lingam* as a main source of inoculum. *Canadian Journal of Plant Pathology*, *33*(3), 355-363.

- Gil, J. E. R., Monterrubio, R. L. F., & Martínez, A. C. (2014). Hongos del aire de una zona suburbana de la ciudad de Villahermosa, Tabasco. *Kuxulkab'*, *19*(37).

- Gioulekas, D., Damialis, A., Papakosta, D., Spieksma, F., Giouleka, P., & Patakas, D. (2004). Allergenic fungi spore records (15 years) and sensitization in patients with respiratory allergy in Thessaloniki-Greece. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, *14*, 225-231.

- Giraldo, C., Velásquez, M. M., & Correa, L. A. (2010). Infección diseminada por *Fusarium* spp. en un paciente con anemia aplásica. *Rev. Asoc. Colomb. Dermatol. Cir. Dermatol*, *18*(4).

- Gliessman, S. R. (1998). *Field and Laboratory Investigations in Agroecology: A Manual to Accompany Agroecology: Ecological Processes in Sustainable Agriculture*. Ann Arbor Press.

- Godish, T. (2001). *Indoor Environmental Quality*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL: CRC Press.

- Greco, M., Kemppainen, M., Pose, G., & Pardo, A. (2015). Taxonomic characterization and secondary metabolite profiling of *Aspergillus* section *Aspergillus* contaminating feeds and feedstuffs. *Toxins, 7*(9), 3512–3537.

- Grijalbab, E. P. B., Villamizar, L. R., & Cotes, A. M. P. (2009). Evaluación de la estabilidad de *Paecilomyces* sp. y *Beauveria bassiana* frente a la radiación

ultravioleta/Evaluation of the stability of *Paecilomyces* sp. and *Beauveria bassiana* under ultraviolet radiation. *Revista colombiana de entomología*, *35*(1), 1.

- Grinn-Gofroń, A., & Bosiacka, B. (2015). Effects of meteorological factors on the composition of selected fungal spores in the air. *Aerobiologia*, *31*(1), 63-72.

- Grinn-Gofroń, A. (2011). Airborne *Aspergillus* and *Penicillium* in the atmosphere of Szczecin,(Poland)(2004–2009). *Aerobiologia*, *27*(1), 67-76.

- Guinea, J., Pelaez, T., Alcalá, L., Ruiz-Serrano, M. J., & Bouza, E. (2005). Antifungal susceptibility of 596 *Aspergillus fumigatus* strains isolated from outdoor air, hospital air, and clinical samples: analysis by site of isolation. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *49*(8), 3495-3497.

- Guzmán, M. D. P. R. (2001). Biodiversidad de los hongos fitopatógenos del suelo de México. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, (Es1), 53-78.

H

- Haas, D., Habib, J., Galler, H., Buzina, W., Schlacher, R., Marth, E., & Reinthaler, F. F. (2007). Assessment of indoor air in Austrian apartments with and without visible mold growth. *Atmospheric Environment*, *41*(25), 5192-5201.

- Hahn, M. (2014). The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: Botrytis as a case study. *Journal of chemical biology*, *7*(4), 133-141.

- Halwagy, M. H. (1989). Seasonal airspora at three sites in Kuwait 1977–1982. *Mycological research*, *93*(2), 208-213.

- Hameed, A. A., Khoder, M. I., Yuosra, S., Osman, A. M., & Ghanem, S. (2009). Diurnal distribution of airborne bacteria and fungi in the atmosphere of Helwan area, Egypt. *Science of the Total Environment*, *407*(24), 6217-6222.

- Harteveld, D. O., Akinsanmi, O. A., & Drenth, A. (2014). Pathogenic variation of *Alternaria* species associated with leaf blotch and fruit spot of apple in Australia. *European journal of plant pathology*, *139*(4), 789-799.

- Harvey, R. (1967). Air-spora studies at Cardiff: I. *Cladosporium*. *Transactions of the British Mycological Society*, *50*(3), 479-IN5.

- Hasnain, S. M. (1993). Influence of meteorological factors on the air spora. *Grana*, *32*(3), 184-188.

- Hedayati, M. T., Pasqualotto, A. C., Warn, P. A., Bowyer, P., & Denning, D. W. (2007). *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology*, *153*(6), 1677-1692.

- Henriquez, V. I., & Villegas, G. R. (1999). Aerosporas fúngicas del área oriente de Santiago (1996-1997). *Boletín Micológico*, *14*, 83-89.

- Hernández-Castillo, O., Mugica-Álvarez, V., Castañeda-Briones, M. T., Murcia, J. M., García-Franco, F., & Briseño, Y. F. (2014). Aerobiological study in the Mexico City subway system. *Aerobiologia*, *30*(4), 357-367.

- Herrero, A. D., Ruiz, S. S., Bustillo, M. G., & Morales, P. C. (2006). Study of airborne fungal spores in Madrid, Spain. *Aerobiologia*, *22*(2), 133.

- Hill, J.P. (1996). *Stemphylium* leaf blight and stalk rot. En: Schwartz HF, Mohan SK (Eds.) *Compendium of onion and garlic diseases*. APS Press. St. Paul, Minnesota. EEUU. pp. 25-26.

- Hjelmroos, M. (1993). Relationship between airborne fungal spore presence and weather variables: *Cladosporium* and *Alternaria*. *Grana*, *32*(1), 40-47.

- Hocker, T. L., Wada, D. A., Bridges, A., & el-Azhary, R. (2010). Disseminated zygomycosis heralded by a subtle cutaneous finding. *Dermatology online journal*, *16*(9).

- Holz, G., Morley, M., & Schheudeh, W. (1989). 2. Pathogenicity of *Phoma Glomerata*, *P. cava*, *P.* e*upyrena* and *Cytospora chrysosperma* on blackthorn (*Acacia mellifera* subsp. *detinens*).

- Horlock, C. M. (2006). *Management of Alternaria leaf and fruit spot in apples*. Horticulture Australia.

I

- I.P.C.C (2004). Cambio Climático 2001: Informe de Síntesis. 2001. Disponible en: http://www.ipcc.ch/ipccreports/tar/vol4/spanish/pdf/syrfull.pdf.

- Ianovici, N., & Tudorica, D. (2009). Aeromycoflora in outdoor environment of Timisoara city (Romania). *Notulae Scientia Biologicae*, *1*(1), 21.

- Ianovici, N., Maria, C., Radutoiu, M. N., Hanis, A., & Tudorica, D. (2013). Variation in airborne fungal spore concentrations in four different microclimate regions in Romania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *41*(2), 450.

- Ianovici, N., Popescu, A., & Nemeş, C. (2008). Aeromycological monitoring of *Cladosporium* spores in Timisoara. *Annals of West University of Timişoara, Biology*, *11*, 1-8.

- Ibañez, V., Thompson, L., & Mañalich, J. (1998). Fluctuación estacional de hongos anemófilos en Santiago Norte-Chile. *Boletín Micológico*, *13*, 47-56.

- Infante, F., Castro, A., Domínguez, E., Guardia, A., Méndez, J., Sabariego, S., & Vega, A. (1999). A comparative study of the incidence of *Cladosporium* conidia in the atmosphere of five Spanish cities. *Polen*, *10*, 17-25.

- Isard, S. A., Russo, J. M., & Ariatti, A. (2007). The Integrated Aerobiology Modeling System applied to the spread of soybean rust into the Ohio River valley during September 2006. *Aerobiologia*, *23*(4), 271-282.

J

- Juárez-Becerra, G. P., Sosa-Morales, M. E., & López-Malo, A. (2010). Hongos Fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, *4*(2), 14-23.

K

- Kaarakainen, P., Meklin, T., Rintala, H., Hyvärinen, A., Kärkkäinen, P., Vepsäläinen, A., ... & Nevalainen, A. (2008). Seasonal variation in airborne microbial concentrations and diversity at landfill, urban and rural sites. *CLEAN–Soil, Air, Water*, *36*(7), 556-563.

- Kasprzyk, I. (2008). Aeromycology–main research fields of interest during the last 25 years. *Ann Agric Environ Med*, *15*(1), 1-7.

- Kasprzyk, I., & Konopiñska, A. (2006). Comparative analysis of the concentration of fungal spores in the air of Lublin and Rzeszow [Eastern Poland]. *Acta Agrobotanica*, *59*(2).

- Kasprzyk, I., & Worek, M. (2006). Airborne fungal spores in urban and rural environments in Poland. *Aerobiologia*, *22*(3), 169.

- Kasprzyk, I., Rzepowska, B., & Wasylów, M. (2004). Fungal spores in the atmosphere of Rzeszow (south-east Poland). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, *11*(2), 285-289.

- Klanova, K. (2000). The concentrations of mixed populations of fungi in indoor air: rooms with and without mould problems; rooms with and without health complaints. *Central European Journal of Public Health*, *8*(1), 59-61.

- Koch, R. (1890). *Über Bakteriologische Forschung; Vortrag in der 1. allgemeinen Sitzung des X. internationalen medicinischen Congresses am 4. August 1890*. Hirschwald.

- Koch, R. (1884). The aetiology of tuberculosis [in German]. *Mitt Kaiser Gesundh*, *2*, 1-88.

- Köeppen, W. (1931). Grundiss der Klimakunde. 12. Walter de Gruyter, Berlín. 338pp.

- Köhl, J., Groenenboom-de Haas, B., Goossen-van de Geijn, H., Speksnijder, A., Kastelein, P., de Hoog, S., & van den Ende, B. G. (2009). Pathogenicity of *Stemphylium vesicarium* from different hosts causing brown spot in pear. *European Journal of Plant Pathology*, *124*(1), 151.

- Kortekangas-Savolainen, O., Lammintausta, K., & Kalimo, K. (1993). Skin prick test reactions to brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in adult atopic dermatitis patients. *Allergy*, *48*(3), 147-150.

- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, *33*(7), 1870-1874.

- Kunjam, S., & Jadhav, S. (2017). Airborne *Penicillium* in the atmosphere of Panabaras, Rajnandgaon district. *Indian J. Sci. Res*, *13*(1), 29-33.

- Kurose, D., Misawa, T., Suzui, T., Ichikawa, K., Kisaki, G., Hoang, L. H., ... & Sato, T. (2015). Taxonomic re-examination of several Japanese *Stemphylium* strains based on morphological and molecular phylogenetic analyses. *Journal of general plant pathology*, *81*(5), 358-367.

- Kurup VP. (2003). Fungal Allergy. En Arora, D. K. (Ed.). 2003. *Handbook of fungal biotechnology*. CRC Press. New York, Dekker, 2003, pp 515–525.

L

- Labarrere, N., Gómez, A., Avila, I., Guevara, M., & Fernández, B. (2003). Riesgos biológicos en ambientes confinados. *Revista Cubana de Salud y Trabajo*, *4*(1-2), 4-7.

- Lacey, J. (1989). Pre-and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. *Journal of Applied Microbiology*, *67*(s18).

- Lanier, C., Richard, E., Heutte, N., Picquet, R., Bouchart, V., & Garon, D. (2010). Airborne molds and mycotoxins associated with handling of corn silage and oilseed cakes in agricultural environment. *Atmospheric Environment*, *44*(16), 1980-1986.

- Larsen, L. S. (1981). A three-year survey of microfungi in the outdoor air of Copenhagen 1977–79. *Grana*, *20*(3), 197-198.

- Larsen, L., & Gravesen, S. (1991). Seasonal variation of outdoor airborne viable microfungi in Copenhagen, Denmark. *Grana*, *30*(2), 467-471.

- Lastres, L., & Soza, F. (2009). Manual de Sanidad Vegetal. *Programa para la Agricultura Sostenible en Laderas de América Central. Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. Escuela Agrícola Panamericana. Honduras*, 30-31.

- Lázaro, J. A., Ferrer, T. D. T., Cabo, J. G., Gargallo, C. L., Asensio, C. B., & Moure, A. R. (2000). An aerobiological study in the rural areas of Aragon (Spain) with a high population of pigs. *Grana*, *39*(5), 259-265.

- Lee, S. A., Adhikari, A., Grinshpun, S. A., McKay, R., Shukla, R., & Reponen, T. (2006). Personal exposure to airborne dust and microorganisms in agricultural environments. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, *3*(3), 118-130.

- Lee, T., Grinshpun, S. A., Martuzevicius, D., Adhikari, A., Crawford, C. M., & Reponen, T. (2006). Culturability and concentration of indoor and outdoor airborne fungi in six single-family homes. *Atmospheric Environment*, *40*(16), 2902-2910.

- Lesk, A. M. (2002). Introduction to bioinformatics. Oxford University Press.

- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). The *Fusarium* laboratory manual. 2006. *Ames, Iowa: Blackwell Publishing CrossRef Google Scholar*.

- Leung, D. Y. (2000). Atopic dermatitis: new insights and opportunities for therapeutic intervention. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *105*(5), 860-876.

- Levetin, E., & Dorsey, K. (2006). Contribution of leaf surface fungi to the air spora. *Aerobiologia*, *22*(1), 3-12.

- Lewis, W., Dixit, A., & Wedner, H. J. (1991). 175 Mold aerospora of the Texas gulf coast region. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *87*(1), 182.

- Leyronas, C., & Nicot, P. C. (2013). Monitoring viable airborne inoculum of Botrytis cinerea in the South-East of France over 3 years: relation with climatic parameters and the origin of air masses. *Aerobiologia*, *29*(2), 291-299.

- Lim, S. H., Chew, F. T., Binti Mohd Dali, S. D., Wah Tan, H. T., Lee, B. W., & Tan, T. K. (1998). Outdoor airborne fungal spores in Singapore. *Grana*, *37*(4), 246-252.

- Liu, C. Q., Hu, K. D., Li, T. T., Yang, Y., Yang, F., Li, Y. H., ... & Zhang, H. (2017). Polygalacturonase gene pgxB in *Aspergillus niger* is a virulence factor in apple fruit. *PloS one*, *12*(3), e0173277.

- Llorente, I., & Montesinos, E. (2006). Brown spot of pear: an emerging disease of economic importance in Europe. *Plant disease*, *90*(11), 1368-1375.

- Llorente, I., Moragrega, C., Ruz, L., & Montesinos, E. (2012). An update on control of brown spot of pear. *Trees*, *26*(1), 239-245.

- Loera, J., Isara, S. A., Irwip, M. E., Gage, S., Lingreny, P., & Raulston, J. (1994). Aerobiologia: Una nueva area de investigacion. *Agronomía Mesoamericana*, *5*, 159-163.

- Louw, J. P. (2014). *The pathogenicity and host specificity of Penicillium spp. on pome and citrus fruit*. Tesis doctoral, Universidad de Pretoria.

- Louw, J. P., & Korsten, L. (2014). Pathogenic *Penicillium* spp. on apple and pear. *Plant Disease*, *98*(5), 590-598.

- Lucero, H., Soto, A., Linardelli, C., Tarquini, A., Lafi, G. L., & Pizzuolo, P. (2003). Sarna del manzano: detección de la forma sexual (*Venturia inaequalis*) en Mendoza (Argentina). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo*, *35*(1), 63-66.

- Lund, F. (1995). Differentiating *Penicillium* species by detection of indole metabolites using a filter paper method. *Letters in Applied Microbiology*, *20*(4), 228-231.

- Lutz, M. C., Sosa, M. C., & Colodner, A. D. (2017). Effect of pre and postharvest application of fungicides on postharvest decay of Bosc pear caused by *Alternaria—Cladosporium* complex in North Patagonia, Argentina. *Scientia Horticulturae*, *225*, 810-817.

- Lyles, M. B., Fredrickson, H. L., Bednar, A. J., Fannin, H. B., & Sobecki, T. M. (2005). The chemical, biological, and mechanical characterization of airborne micro-particulates from Kuwait. Abstr. In *8th Ann. Force Health Protect. Conf., session* (Vol. 2586).

M

- Magan, N., Medina, A., & Aldred, D. (2011). Possible climate-change effects on mycotoxin contamination of food crops pre-and postharvest. *Plant Pathology*, *60*(1), 150-163.

- Mallo, A. C., Elíades, L. A., Nitiu, D. S., & Saparrat, M. C. (2017). Fungal monitoring of the indoor air of the Museo de La Plata Herbarium, Argentina. *Revista iberoamericana de micologia*, *34*(2), 99-105.

- Mangiaterra, M., Alonso, J. M., Medina, E., & Cerbera, L. (1993). Microflora Anemófila de la ciudad de Resistencia. *Rev. argent. micol*, *16*(2), 10-6.

- Martínez, D., & García, M. H. (2001). Concentración de esporas de *Alternaria*, *Cladosporium* y *Fusarium* en la atmósfera de Santiago de Compostela (1996). *Bot. Complutensis*, *25*, 83-91.

- Maya-Manzano, J. M., Fernández-Rodríguez, S., Hernández-Trejo, F., Díaz-Pérez, G., Gonzalo-Garijo, Á., Silva-Palacios, I., ... & Tormo-Molina, R. (2012). Seasonal Mediterranean pattern for airborne spores of *Alternaria*. *Aerobiologia*, *28*(4), 515-525.

- Maya-Manzano, J. M., Muñoz-Triviño, M., Fernández-Rodríguez, S., Silva-Palacios, I., Gonzalo-Garijo, A., & Tormo-Molina, R. (2016). Airborne *Alternaria* conidia in Mediterranean rural environments in SW of Iberian Peninsula and weather parameters that influence their seasonality in relation to climate change. *Aerobiologia*, *32*(1), 95-108.

- Mayayo, E., Landeyro, J., Stchigel, A. M., Gazzoni, A., & Capilla, J. (2010). Infiltración perineural por células fúngicas. Presentación de un caso y revisión de la literatura. *Revista Iberoamericana de Micología*, *27*(2), 94-97.

- Méndez, J., Coello, M. D. C. S., & Fernández, I. I. (2001). Evolución del contenido de macroconidios de "*Fusarium*" en el aire de la ciudad de Ourense (NW España). *Botanica complutensis*, (25), 73-82.

- Menezes, E. A., Trindade, E. C. P., Costa, M. M., Freire, C. C. F., Cavalcante, M. D. S., & Cunha, F. A. (2004). Airborne fungi isolated from Fortaleza city, State of Ceara, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, *46*(3), 133-137.

- Mezzari, A., Perin, C., Santos Junior, S. A., & Bernd, L. A. G. (2002). Airborne fungi in the city of Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, *44*(5), 269-272.

- Miquel, M. & Cambert, R. (1901). Traité de bacteriologie pure et appliqueé. Ed. Masson et Cie, Paris. En: De la Rosa M., Mosso M., & Ullán, C. (2002). El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio medioambiental*, *5*(2002), 375-402.

- Mitakakis, T. Z., & Guest, D. I. (2001). A fungal spore calendar for the atmosphere of Melbourne, Australia, for the year 1993. *Aerobiologia*, *17*(2), 171-176.

- Mobin, M., & Salmito, M. D. A. (2006). Fungus microbiota in air conditioners in intensive care units in Teresina, Piauí. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, *39*(6), 556-559.

- Morales González, J. (2007). Possible effects of the climate change on human health: alergy and malaria. En: El cambio climático en Andalucía: evolución y consecuencias medioambientales Consejería de Medio Ambiente (Junta de Andalucía): 211-223.

- Moya, M., Temperini, C., Pardo, A., & Pose, G. (2012). Hongos micotoxigénicos asociados a la producción frutícola del Alto Valle del Río Negro y su relación en la inocuidad alimentaria. En: IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

- Muhsin, T. M., & Adlan, M. M. (2012). Seasonal distribution pattern of outdoor airborne fungi in Basrah city, southern Iraq. *Journal of Basrah Researches*, *38*.

- Muilenberg, M. L. (1995). The outdoor aerosol. *Bioaerosols. Lewis Publishers, Boca Raton*, 163-204.

- Mullins, J. (2001). Microorganisms in outdoor air. *Microorganisms in home and indoor work environments: Diversity, health impacts, investigation and control*, 3-16.

N

- Nanda, A. (2015). Studies on Environmental Biopollution by Airborne Fungi over a Sugarcane field.

- Nava, A., García, H., Leal-Lozano, L., & Sánchez-Yáñez, J. M. (2004). Microorganismos en la atmósfera de la ciudad de Monterrey, México. Universidad autónoma de Nuevo León. Disponible en: http://www.monografias.com/trabajos32/microorganismos-aire-monterrey/microorganismos-aire-monterrey.shtml

- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., & Marasas, W. F. O. (1983). *Fusarium* species: an illustrated manual for identification.

- Niedoszytko, M., Chełmińska, M., Jassem, E., & Czestochowska, E. (2007). Association between sensitization to *Aureobasidium pullulans* (*Pullularia* sp.) and severity of asthma. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, *98*(2), 153-156.

- Nieto-Lugilde, D. (2008). *Estudio aerobiológico de la zona costera de la provincia de Granada (Motril): evolución de las concentraciones de polen y esporas*. Tesis doctoral, Universidad de Granada.

- Nikkels, A. H., Terstegge, P., & Spieksma, F. T. M. (1996). Ten types of microscopically identifiable airborne fungal spores at Leiden, The Netherlands. *Aerobiologia*, *12*(1), 107-112.

- Nitiu, D. S., & Mallo, A. C. (2011). Variaciones en la estacionalidad de polen y esporas fúngicas en la atmósfera de la ciudad de La Plata (Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, *46*(3-4), 297-304.

- Nitiu, D. S., Mallo, A. C., Gardella Sambeth, M. C., & Morbelli, M. A. (2010). Contribución a la identificación de esporas del Reino Fungi en la atmósfera de La Plata, Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, *45*(3-4), 301-308.

- Nordenstrom, G.H. (2006). El Cambio Climático en el Alto Valle. Disponible en: http://www.redagraria.com/meteorologia/Alto%20Valle%20Clima.html.

O

- O'Gorman, C. M., & Fuller, H. T. (2008). Prevalence of culturable airborne spores of selected allergenic and pathogenic fungi in outdoor air. *Atmospheric Environment*, *42*(18), 4355-4368.

- O'Brien, I. M., Bull, J., Creamer, B., Sepulveda, R., Harries, M., Burge, P. S., & Pepys, J. (1978). Asthma and extrinsic allergic alveolitis due to *Merulius lacrymans*. *Clinical & Experimental Allergy*, *8*(6), 535-542.

- Ogórek, R., Lejman, A., & Matkowski, K. (2014). Influence of the External Environment on Airborne Fungi Isolated from a Cave. *Polish Journal of Environmental Studies*, *23*(2).

- Ogunlana, E. O. (1975). Fungal air spora at Ibadan, Nigeria. *Applied microbiology*, *29*(4), 458-463.

- Olivares, R., Alfaro, J., Díaz, J., Cristina, M., & Thompson, L. (2005). Fusariosis diseminada por *Fusarium oxysporum* en un paciente adulto con leucemia mieloide aguda y neutropenia severa febril. *Revista chilena de infectología*, *22*(4), 356-360.

- Oliveira, M., & Caramalho, R. (2014). Aspergillus fumigatus: a mere bioaerosol or a powerful biohazard. *Nova Acta Científica Compostelana (Bioloxía)*, *21*, 57-64.

- Oliveira, M., Guerner-Moreira, J., Mesquita, M. M., & Abreu, I. (2009b). Important phytopathogenic airborne fungal spores in a rural area: incidence of *Botrytis cinerea* and *Oidium* spp. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, *16*(2), 197-204.

- Oliveira, M., Ribeiro, H., Delgado, J. L., & Abreu, I. (2009a). The effects of meteorological factors on airborne fungal spore concentration in two areas differing in urbanisation level. *International journal of biometeorology*, *53*(1), 61-73.

- Oliveira, M., Ribeiro, H., Delgado, L., Fonseca, J., Gastel-Branco, M. G., & Abreu, I. (2010). 4 Outdoor Allergenic Fungal Spores: Comparison Between an Urban and a Rural Area in Northern Portugal. *Journal of investigational allergology & clinical immunology*, *20*(2), 117.

P

- Park, H. G., Managbanag, J. R., Stamenova, E. K., & Jong, S. C. (2004). Comparative analysis of common indoor *Cladosporium* species based on molecular data and conidial characters. *Mycotaxon*.

- Park, Y. S., Kim, K. C., Lee, J. H., Cho, S. M., Choi, Y. S., & Kim, Y. C. (2008). *Cladosporium* sp. is the major causal agent in the microbial complex associated with the skin sooty dapple disease of the asian pear in Korea. *The Plant Pathology Journal*, *24*(2), 118-124.

- Parrón, M., Torres, I., Pardo, M., Morales, C., Navarro, M., & Martínez-Schmizcraft, M. (2008). Signo del halo en la tomografía computarizada de tórax: diagnóstico diferencial con correlación anatomopatológica. *Archivos de Bronconeumología*, *44*(7), 386-392.

- Pasanen, A. L., Kalliokoski, P., Pasanen, P., Jantunen, M. J., & Nevalainen, A. (1991). Laboratory studies on the relationship between fungal growth and atmospheric temperature and humidity. *Environment International*, *17*(4), 225-228.

- Paterson R. R. M., & Lima, N. (2010d). World climate change presents a serious threat to food and drink from mycotoxigenic fungi. *Presentation abstract. International*

Mycotoxigenic Conference, MycoRed, Global Mycotoxin Reduction Strategies: Asia and Pacific Rim, Penang, Malaysia 1-4 December.

- Paterson, R. R. M., & Lima, N. (2010a). How will climate change affect mycotoxins in food?. *Food Research International*, *43*(7), 1902-1914.

- Paterson, R. R. M., & Lima, N. (2010b). World climate change and mycotoxins in food and water. *World Mycotoxin Forum. Abstract and Presentation, World Mycotoxin Forum. November 8–10, 2010. Noordwijkerhout, the Netherlands* (pp. 69–70)

- Paterson, R. R. M., & Lima, N. (2010c). World climate change and mycotoxins in relation to food safety. *1st International Conference on Food Safety and Security under Changing Climate. Parkroyal Hotel December 6-7, Penang-Malaysia. Presentation, abstract, and CD.* Disponible en: http://www.selamat.wur.nl/UK/Training+and+workshops/2010+Malaysia/(20/1/11).

- Paterson, R. R. M., & Lima, N. (2011). Further mycotoxin effects from climate change. *Food Research International*, *44*(9), 2555-2566.

- Pavón Moreno, M. Á., González Alonso, I., Martín de Santos, R., & García Lacarra, T. (2012). Importancia del género *Alternaria* como productor de micotoxinas y agente causal de enfermedades humanas. *Nutrición Hospitalaria*, *27*(6), 1772-1781. Disponible en: http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/6017.pdf

- Pei-Chih, W., Huey-Jen, S., & Chia-Yin, L. (2000). Characteristics of indoor and outdoor airborne fungi at suburban and urban homes in two seasons. *Science of the Total Environment*, *253*(1-3), 111-118.

- Perdomo, J. (2013). Ventajas y desventajas de los sistemas de producción convencionales, orgánicos y transgénicos. Foro Internacional de Alimentos Sanos, Queretaro, México. Disponible en: http://www.croplifela.org/PDF/documentos/JosePerdomo-Ventajasydesventajas.pdf

- Pereira, A. M. V., Jiménez, M. R. M., De La Cruz, Y. P. S., & Caicedo, Y. C. (2009). Emisiones Atmosféricas de Origen Biológico: Generalidades, impactos asociados y medidas de control de aerosoles Fungi. *Revista Retakvn*, *2*(1), 2027-2162.

- Pérez, E., Santos, R., Montiel, A., Isea, F., Marín, M., & Sandoval, L. (2003). Método para el muestreo de esporas de hongos en una plantación de guayabo (*Psidium guajava* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía*, *20*(1), 52-62.

- Picco, A. M. (1992). Presence in the atmosphere of vine and tomato pathogens. *Aerobiologia*, *8*(3), 459-463.

- Picco, A. M., & Rodolfi, M. (2000). Airborne fungi as biocontaminants at two Milan underground stations. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *45*(1-2), 43-47.

- Picco, A. M., & Rodolfi, M. (2002). *Pyricularia grisea* and *Bipolaris oryzae*: a preliminary study on the occurrence of airborne spores in a rice field. *Aerobiologia*, *18*(2), 163-167.

- Pitt, J. I. (1979). *Penicillium crustosum* and *P. simplicissimum*, the correct names for two common species producing tremorgenic mycotoxins. *Mycologia*, 1166-1177.

- Pitt, J. I. (1993). A modified creatine sucrose medium for differentiation of species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. *Journal of Applied Microbiology*, *75*(6), 559-563.

- Pitt, J. I. (2000). A Laboratory Guide to Common *Penicillium* Species. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, North Ryde. *NSW*.

- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (1985). New species of fungi from Indonesian dried fish. *Mycotaxon*, *22*, 197-208.

- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (1997). Fungi and food spoilage. Blackie Academic & Professional. *New South Wales, Australia*.

- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). Fungi and Food Spoilage. 3rd. *Springer. New York*.

- Ponti, I., Cavanni, P., Brunelli, A. (1982). Brown spot of pear: Aetiology and protection. *Informatore Fitopatologico 32*:35-40.

- Pose, G., Patriarca, A., Kyanko, V., Pardo, A., & Pinto, V. F. (2009). Effect of water activity and temperature on growth of *Alternaria alternata* on a synthetic tomato medium. *International journal of food microbiology*, *135*(1), 60-63.

- Pose, G., Patriarca, A., Kyanko, V., Pardo, A., & Pinto, V. F. (2010). Water activity and temperature effects on mycotoxin production by *Alternaria alternata* on a synthetic tomato medium. *International journal of food microbiology*, *142*(3), 348-353.

- Prados-Ligero, A. M., Melero-Vara, J. M., Corpas-Hervias, C., & Basallote-Ureba, M. J. (2003). Relationships between weather variables, airborne spore concentrations and severity of leaf blight of garlic caused by *Stemphylium vesicarium* in Spain. *European Journal of Plant Pathology*, *109*(4), 301-310.

- Prohaska, F. (1976). The climate of Argentina, Paraguay and Uruguay. *Climates of Central and South America*, *12*, 13-112.

- Prospero, J. M., Blades, E., Mathison, G., & Naidu, R. (2005). Interhemispheric transport of viable fungi and bacteria from Africa to the Caribbean with soil dust. *Aerobiologia*, *21*(1), 1-19.

Q

- Quintero, E., Rivera-Mariani, F., & Bolaños-Rosero, B. (2010). Analysis of environmental factors and their effects on fungal spores in the atmosphere of a tropical urban area (San Juan, Puerto Rico). *Aerobiologia*, *26*(2), 113-124.

- Quiroga de Pascual, Lidia, R., & Nobile, R. (1985). Incidencia de hongos ambientales durante un año en la ciudad de Córdoba. *Rev. argent. micol*, *8*(1), 16-22.

R

- Reyes, E. S., de la Cruz, D. R., Merino, E. S., & Sánchez, J. S. (2009). Meteorological and agricultural effects on airborne *Alternaria* and *Cladosporium* spores and clinical aspects in Valladolid [Spain]. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, *16*(1), 53-61.

- Ríos, J. M. (2011). La aeromicología y su importancia para la medicina. *Revista médico científica*, *24*(2), 28-42.

- Rivera, J. M. (2008). Deterioro poscosecha de las frutas y hortalizas frescas por hongos y bacterias. *Fundación Hondureña de investigación agrícola. Hoja técnica*, (1).

- Rizzi-Longo, L., Pizzulin-Sauli, M., & Ganis, P. (2009). Seasonal occurrence of *Alternaria* [1993-2004] and *Epicoccum* [1994-2004] spores in Trieste [NE Italy]. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, *16*(1), 63-70.

- Robbins, C. A., Swenson, L. J., Nealley, M. L., Kelman, B. J., & Gots, R. E. (2000). Health effects of mycotoxins in indoor air: a critical review. *Applied occupational and environmental hygiene*, *15*(10), 773-784.

- Roberts, R. G. (2005). *Alternaria yaliinficiens* sp. nov. on Ya Li pear fruit: from interception to identification. *Plant disease*, *89*(2), 134-145.

- Rocha Estrada, A., Alvarado Vázquez, M. A., Gutiérrez Reyes, R., Salcedo Martínez, S. M., & Moreno Limón, S. (2013). Variación temporal de esporas de *Alternaria*, *Cladosporium*, *Coprinus*, *Curvularia* y *Venturia* en el aire del área metropolitana de Monterrey, Nuevo León, México. *Revista internacional de contaminación ambiental*, *29*(2), 155-165.

- Rodinkova, V., Bilous, E. S., Motruk, I., Musatova, K. V., Slobodyanyuk, L. V., & DuBuske, L. M. (2015). Seasonal and Daily Distribution of Allergic *Epicoccum* Spores in Ambient Air in Vinnitsa, Ukraine. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *135*(2), AB20.

- Rodríguez de Kopp, N., Chiericatti, C., Basílico, M. Z., & Basílico, J. C. (1998). Estudio de la flora fúngica ambiental de la biblioteca de la Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Litoral. *Rev. argent. micol*, 10-3.

- Rodríguez, A., & Muñoz, A. (2006). Síntesis Agrometeorológica para el período 1990-2004. EEA Alto Valle. Ed. INTA. *Boletín Divulgación Técnica*, (53), 38.

- Rodríguez, S., Sauri, M. R., Peniche, I., Pacheco, J., & Ramírez, J. M. (2005). Aerotransportables viables en el área de tratamiento y disposición final de residuos sólidos municipales de Mérida, Yucatán. *Ingeniería*, *9*(3).

- RodrÍGuez-Rajo, F. J., Iglesias, I., & Jato, V. (2005). Variation assessment of airborne *Alternaria* and *Cladosporium* spores at different bioclimatical conditions. *Mycological research*, *109*(4), 497-507.

- Rodríguez-Rajo, F. J., Jato, V., Fernández-González, M., & Aira, M. J. (2010). The use of aerobiological methods for forecasting *Botrytis* spore concentrations in a vineyard. *Grana,49*, 56–65.

- Rodríguez-Rajo, F. J., Seijo, M. C., & Jato, V. (2002). Estudio Aerobiologico de la Atmósfera de A Guardia, NO de España (1998). *REA*, *7*, 7-15.

- Rosas, I. (2004). *Microbiología ambiental*. Instituto Nacional de Ecología.

- Rosas, I., Calderon, C., Ulloa, M., & Lacey, J. (1993). Abundance of airborne *Penicillium* CFU in relation to urbanization in Mexico City. *Applied and Environmental Microbiology*, *59*(8), 2648-2652.

- Rosas, I., Salinas E., Martínez L., & Eslava, C. (2005). *Bacterias en la Atmósfera*. En: *Microbiología Ambiental*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México y Programa Universitario del Medio Ambiente.

- Rossi, V., Bugiani, R., Giosué, S., & Natali, P. (2005). Patterns of airborne conidia of *Stemphylium vesicarium*, the causal agent of brown spot disease of pears, in relation to weather conditions. *Aerobiologia*, *21*(3-4), 203-216.

- Rossi, V., Ponti, I., Marinelli, M., Giosue, S., & Bugiani, R. (1999). Field evaluation of some models estimating the seasonal pattern of airborne ascospores of *Venturia inaequalis*. *Journal of Phytopathology*, *147*(10), 567-575.

S

- Sabariego, S., de la Guardia Díaz, C., & Alba, F. S. (1999). Contribution to the aeromycological study in the atmosphere of the city of Granada (South of Spain): seasonal and daily variations. *Revista iberoamericana de micologia*, *16*(4), 230-234.

- Sabariego, S., Díez, A., & Gutiérrez, M. (2007). Monitoring of airborne fungi in Madrid (Spain). *Acta Botanica Croatica*, *66*(2), 117-126.

- Sadyś, M. (2017). Effects of wind speed and direction on monthly fluctuations of *Cladosporium* conidia concentration in the air. *Aerobiologia*, *33*(3), 445-456.

- Salonen, H., Duchaine, C., Mazaheri, M., Clifford, S., & Morawska, L. (2015). Airborne culturable fungi in naturally ventilated primary school environments in a subtropical climate. *Atmospheric environment*, *106*, 412-418.

- Sambrook, J., Fritsch, E. F., & Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual* (No. Ed. 2). Cold spring harbor laboratory press.

- Samson, R. A., E. S. Hoekstra, J. C. Frisvad, & O. Filtenborg. (2000). Introduction to Food- and Airborne Fungi, 6th ed..

- Sánchez Espinosa, K. C., & Almaguer Chávez, M. (2014). Aeromicología y salud humana. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, *66*(3), 322-337.

- Sandoval-Denis, M., Sutton, D. A., Martin-Vicente, A., Cano-Lira, J. F., Wiederhold, N., Guarro, J., & Gené, J. (2015). *Cladosporium* species recovered from clinical samples in the United States. *Journal of clinical microbiology*, JCM-01482.

- Sastre, J., Ibanez, M. D., Lopez, M., & Lehrer, S. B. (1990). Respiratory and immunological reactions among *Shiitake* (*Lentinus edodes*) mushroom workers. *Clinical & Experimental Allergy*, *20*(1), 13-19.

- Sautour, M., Sixt, N., Dalle, F., L'Ollivier, C., Fourquenet, V., Calinon, C., ... & Couillault, G. (2009). Profiles and seasonal distribution of airborne fungi in indoor and outdoor environments at a French hospital. *Science of the total environment*, *407*(12), 3766-3771.

- Sawamura, K. (1990). *Alternaria* blotch. En: *Compendium of apple and pear diseases*. APS Press, St. Paul, MN, pp24–25.

- Sawane, A. M., & Saoji, A. A. (2005). Airborne *Penicillium* in the grain shops of Nagpur (India). *Grana*, *44*(2), 123-128.

- Ščevková, J., Dušička, J., Mičieta, K., & Somorčík, J. (2016). The effects of recent changes in air temperature on trends in airborne *Alternaria*, *Epicoccum* and *Stemphylium* spore seasons in Bratislava (Slovakia). *Aerobiologia*, *32*(1), 69-81.

- Schubert, K., Groenewald, J. Z., Braun, U., Dijksterhuis, J., Starink, M., Hill, C. F., ... & Crous, 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.

- Sellart-Altisent, M., Torres-Rodríguez, J. M., de Ana Gómez, S., & Alvarado-Ramírez, E. (2007). Nasal fungal microbiota in allergic and healthy subjects. *Revista iberoamericana de micologia*, *24*(2), 125-130.

- SENASA. (2017a). Anuario Estadístico 2016. Centro Regional Patagonia Norte. Disponible en: http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/SENASA%20COMUNICA/adjuntos_varios/anuario_estadistico_2016_crpn.pdf.

- SENASA. (2017b). "Situación de la Producción Orgánica en la Argentina durante el año 2016". Dirección Nacional de Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Dirección de Calidad Agroalimentaria. Coordinación de Productos Ecológicos. Disponible en: http://www.oia.com.ar/Documentos/SituaciondelaPOenlaArgentina2016.pdf

- Sever, Z., Ivić, D., Kos, T., & Miličević, T. (2012). Identification of *Fusarium* Species Isolated From Stored Apple Fruit in Croatia/Identifikacija Vrsta Roda *Fusarium* Izoliranih S Plodova Jabuke Nakon Skladištenja. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, *63*(4), 463-470.

- Shabi, E. (1988, May). Pear scab: epidemiology, control and resistance of *Venturia pirina* to fungicides. En *V International Symposium on Pear Growing 256* (pp. 168-168).

- Shaheen, I. A. (1992). Aeromycology of Amman area, Jordan. *Grana*, *31*(3), 223-228.

- Shams-Ghahfarokhi, M., Aghaei-Gharehbolagh, S., Aslani, N., & Razzaghi-Abyaneh, M. (2014). Investigation on distribution of airborne fungi in outdoor environment in Tehran, Iran. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, *12*(1), 54.

- Shelton, B. G., Kirkland, K. H., Flanders, W. D., & Morris, G. K. (2002). Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. *Applied and environmental microbiology*, *68*(4), 1743-1753.

- Simeray, J., Chaumont, J. P., & Léger, D. (1993). Seasonal variations in the airborne fungal spore population of the East of France (Franche-Comte). Comparison between urban and rural environment during two years. *Aerobiologia*, *9*(2-3), 201-206.

- Simmons, E. G. (2007). *Alternaria: An Indentification Manual*(No. PA 632.488 S56.).

- Simmons, E. G., & Roberts, R. G. (1993). *Alternaria* themes and variations (73). *Mycotaxon*, *48*, 109-140.

- Simon-Nobbe, B., Denk, U., Pöll, V., Rid, R., & Breitenbach, M. (2008). The spectrum of fungal allergy. *International archives of allergy and immunology*, *145*(1), 58-86.

- Sindt, C., Besancenot, J. P., & Thibaudon, M. (2016). Airborne *Cladosporium* fungal spores and climate change in France. *Aerobiologia*, *32*(1), 53-68.

- Singh, P., Bugiani, R., Cavanni, P., Nakajima, H., Kodama, M., Otani, H., & Kohmoto, K. (1999). Purification and biological characterization of host-specific SV-toxins from *Stemphylium vesicarium* causing brown spot of European pear. *Phytopathology*, *89*(10), 947-953.

- Singh, P., Park, P., Bugiani, R., Cavanni, P., Nakajima, H., Kodama, M., ... & Kohmoto, K. (2000). Effects of Host-Selective SV-Toxin from *Stemphylium vesicarium*, the Cause

of Brown Spot of European Pear Plants, on Ultrastructure of Leaf Cells. *Journal of Phytopathology*, *148*(2), 87-93.

- Smith, G. (1980). *Ecology and Field Biology*. Harper & Row, New York.

- Smits, N., & Sinoquet, H. (2004, June). Fungal bioinsecticide survival in response to UVB in 3D digitized grapevine canopies: a simulation study. En *Proceedings of the 4th International workshop on functional-structural plant models* (pp. 7-11).

- Sokolova, O., Morocko-Bicevska, I., & Bankina, B. (2014). Review of the pear scab caused by *Venturia pyrina*. En *Research for Rural Development. International Scientific Conference Proceedings (Latvia)*. Latvia University of Agriculture.

- Spieksma, F. T. M. (1992). Allergological aerobiology. *Aerobiologia*, *8*(1), 5-8.

- Spotts, R. A., Cervantes, L. A., & Cervantes, L. A. (1994). Factors affecting maturation and release of ascospores of *Venturia pirina* in Oregon. *Phytopathology*, *84*(3), 260-264.

- Srikanth, P., Sudharsanam, S., & Steinberg, R. (2008). Bio-aerosols in indoor environment: composition, health effects and analysis. *Indian journal of medical microbiology*, *26*(4), 302.

- Stennett, P. J., & Beggs, P. J. (2004). *Alternaria* spores in the atmosphere of Sydney, Australia, and relationships with meteorological factors. *International Journal of Biometeorology*, *49*(2), 98-105.

- Stepalka, D., & Wolek, J. (2005). Variation in fungal spore concentrations of selected taxa associated to weather conditions in Cracow, Poland, in 1997. *Aerobiologia, 21*, 43–52.

- Sugar, D., & Powers, K. (1986). Interactions among fungi causing postharvest decay of pear. *Plant Disease, 70,* 1132–1134.

- Sun, J., & Ariya, P. A. (2006). Atmospheric organic and bio-aerosols as cloud condensation nuclei (CCN): A review. *Atmospheric Environment*, *40*(5), 795-820.

T

- Tanahashi, M., Minoguchi, C., Yokoyama, K, & Otani, H. (2008). The first report of brown spot of European pear caused by *Stemphylium* sp. in Niigata prefecture Japan. Jpn. *J Phytopathol 74*:183 (in Japanese).

- Tanahashi, M., Okuda, S., Miyazaki, E., Parada, R. Y., Ishihara, A., Otani, H., & Osaki-Oka, K. (2017). Production of Host-selective SV-toxins by *Stemphylium* sp. Causing Brown Spot of European Pear in Japan. *Journal of Phytopathology*, *165*(3), 189-194.

- Toranzo, J. (2017). Sarna del peral: una amenaza que llegó en esta temporada. Diario Río Negro. Suplementos: Pulso. Disponible en: http://www.rionegro.com.ar/pulso/sarna-del-peral-una-amenaza-que-llego-en-esta-temporada-IY2427684

- Tournas, V. H. (2005). Spoilage of vegetable crops by bacteria and fungi and related health hazards. *Critical reviews in microbiology*, *31*(1), 33-44.

- Tovar, V. (2002). Manifestaciones Bucales e Infecciones Oportunistas más frecuentes encontradas en 208 pacientes con Infección por VIH: SIDA. *Acta Odontológica Venezolana*, *40*(3), 260-264.

- Treves, D. S., & Martens, C. M. (2010). *Penicillium* and *Aspergillus* dominate a collection of culturable molds from a tannery in Indiana. En *Proceedings of the Indiana Academy of Science* (Vol. 119, No. 2, pp. 170-173).

- 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*(SPE), 125-129.

- Troutt, C., & Levetin, E. (2001). Correlation of spring spore concentrations and meteorological conditions in Tulsa, Oklahoma. *International journal of biometeorology*, *45*(2), 64-74.

- Tsai, F. C., Macher, J. M., & Hung, Y. Y. (2007). Biodiversity and concentrations of airborne fungi in large US office buildings from the BASE study. *Atmospheric Environment*, *41*(25), 5181-5191.

U

- USDA. (2017). Fresh Deciduous Fruit: World Markets and Trade (Apples, Grapes, & Pears). United States Department of Agriculture. Disponible en: https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/fruit.pdf

- Uzochukwu, O. V., & Nkpouto, U. (2013). Airborne fungi in the indoor and outdoor environments of a higher institution in Nigeria. *International Journal of Advanced Biological Research*, *3*(1), 9-12.

V

- Valentín, N. (2001). Microbial contamination and insect infestation in Spanish museums, archives and libraries. *Coalition (3)*, 5-6.

- Vanittanakom, N., Cooper, C. R., Fisher, M. C., & Sirisanthana, T. (2006). *Penicillium marneffei* infection and recent advances in the epidemiology and molecular biology aspects. *Clinical microbiology reviews*, *19*(1), 95-110.

- Vaquera, S., Patriarca, A., & Pinto, V. F. (2016). Influence of environmental parameters on mycotoxin production by *Alternaria arborescens*. *International journal of food microbiology*, *219*, 44-49.

- Verma, L. R., & Sharma, R. C. (1999). *Diseases of horticultural crops: fruits*. Indus Publishing.

W

- Wang, W., Ma, X., Ma, Y., Mao, L., Wu, F., Ma, X., ... & Feng, H. (2010). Seasonal dynamics of airborne fungi in different caves of the Mogao Grottoes, Dunhuang, China. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *64*(6), 461-466.

- Wang, W., Ma, X., Ma, Y., Mao, L., Wu, F., Ma, X., ... & Feng, H. (2011). Molecular characterization of airborne fungi in caves of the Mogao Grottoes, Dunhuang, China. *International biodeterioration & biodegradation*, *65*(5), 726-731.

- Warris, A., Voss, A., & Verweij, P. E. (2001). Hospital sources of *Aspergillus* species: New routes of transmission?. *Revista iberoamericana de micología*, *18*(4), 156-162.

- Wenneker, M., & Köhl, J. (2013, April). Postharvest decay of apples and pears in the Netherlands. En: *II International Symposium on Discovery and Development of Innovative Strategies for Postharvest Disease Management 1053* (pp. 107-112).

- Wheat, L. J. (2007). *Histoplasmosis. Atlas of Fungal Infections*. Springer, Filadelfia, USA.

- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., & Taylor, J. L. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En: *PCR protocols: a guide to methods and applications*, *18*(1), 315-322.

- Willett, M., Kupferman, G., Roberts, R., Spotts, R., Sugar, D., Apel, G., ... & Bryant, B. (1989). Integrated management of postharvest diseases and disorders of apples, pears and cherries. *Postharvest pomology newsletter*.

Y

- Yee, C. W. (2006). *The eco-physiology of outdoor airborne fungi in Hong Kong*. Tesis doctoral, Universidad de Hong Kong.

- Yu, J., Wu, G., Jurick, W. M., Gaskins, V. L., Yin, Y., Yin, G., ... & Shelton, D. R. (2016). Genome sequence of *Penicillium solitum* RS1, which causes postharvest apple decay. *Genome announcements*, *4*(3), e00363-16.

Z

- Zaidman, N. A., O'Grady, K. E., Patil, N., Milavetz, F., Maniak, P. J., Kita, H., & O'Grady, S. M. (2017). Airway epithelial anion secretion and barrier function following exposure to fungal aeroallergens: role of oxidative stress. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, *313*(1), C68-C79.

- Zalar, P., de Hoog, G. S., Schroers, H.-J., Crous, P. W., Groenewald, J. Z., & Gunde-Cimerman, 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.

- Zhang, N., O'Donnell, K., Sutton, D. A., Nalim, F. A., Summerbell, R. C., Padhye, A. A., & Geiser, D. M. (2006). Members of the *Fusarium solani* species complex that cause infections in both humans and plants are common in the environment. *Journal of Clinical Microbiology*, *44*(6), 2186-2190.

- Zureik, M., Neukirch, C., Leynaert, B., Liard, R., Bousquet, J., & Neukirch, F. (2002). Sensitisation to airborne moulds and severity of asthma: cross sectional study from European Community respiratory health survey. *Bmj*, *325*(7361), 411.

PUBLICACIÓN DE RESULTADOS

8.1 Presentaciones a congresos nacionales e internacionales

-*Determinación de la capacidad fitopatógena de Stemphylium vesicarium y Pleospora alli aislados de ambientes rurales del Alto Valle del río Negro sobre frutos de pera y manzana*. Temperini, C.; Pardo, A. y Pose, G. IV Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. Presentación de poster. 2018.

-*Estudio trianual de la biodiversidad y concentración fúngica en ambientes agrícolas del Alto Valle del río Negro.* Temperini, C., Alonso J., Pardo, A., Pose, G. III Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología Ambiental. Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina. Presentación de poster. 2017.

-*Primer reporte de especies del género Cladosporium presentes en el aire de ambientes rurales del Alto Valle del río Negro. .* Temperini, C., Alonso J., Pardo, A., Pose, G. III Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología Ambiental. Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina. Presentación de poster. 2017.

-*Concentración y distribución de géneros fúngicos en ambientes agrícolas de sistemas productivos tradicionales y orgánicos del Alto Valle del río Negro.* Temperini, C., Colodner A., Faría, C., Pardo, A., Pose, G. Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas a la Industria. Universidad Nacional de Cuyo, San Rafael, Mendoza, Argentina. Presentación de poster. 2015.

-*Monitoreo de la diversidad fúngica en ambientes agrícolas del Alto Valle del río Negro.* Temperini, C., Colodner A., Pardo, A., Pose, G. Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas a la Industria. Universidad Nacional de Cuyo, San Rafael, Mendoza, Argentina. Presentación de poster. 2015.

-*Determinación de especies de Alternaria asociadas a la producción de uva en el Alto Valle del río Negro.* Benavides, M., Fica, R., Moya, M, Temperini, C., Fernández Pinto,

V., Pose G. Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas a la Industria. Universidad Nacional de Cuyo, San Rafael, Mendoza, Argentina. Presentación de poster. 2015.

-*Determinación de géneros fúngicos presentes durante la estación estival en ambientes de sistemas productivos tradicionales y orgánicos de frutos de pepita del Alto Valle del río Negro.* Temperini, C., Colodner A., Pardo, A., Pose, G. XIII Congreso Argentino de Micología. Círculo Oficiales de Mar, Ciudad de Buenos Aires, Argentina. Presentación de poster. 2014.

8.2 Publicación en revista con referato internacional

-Temperini, C.V., Pardo, A.G. & Pose, G.N. Diversity of airborne *Cladosporium* species isolated from agricultural environments of northern Argentinean Patagonia: molecular characterization and plant pathogenicity. *Aerobiologia* (2018). https://doi.org/10.1007/s10453-018-9509-7. Springer Netherlands. Print ISSN0393-5965. Online ISSN1573-3025.

Diversity of airborne Cladosporium *species isolated from agricultural environments of northern Argentinean Patagonia: molecular characterization and plant pathogenicity*

Carolina Virginia Temperini, Alejandro Guillermo Pardo & Graciela Noemí Pose

Aerobiologia
International Journal of Aerobiology - including the online journal `Physical Aerobiology'

ISSN 0393-5965

Aerobiologia
DOI 10.1007/s10453-018-9509-7

Springer

Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by Springer Science+Business Media B.V., part of Springer Nature. This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your article, please use the accepted manuscript version for posting on your own website. You may further deposit the accepted manuscript version in any repository, provided it is only made publicly available 12 months after official publication or later and provided acknowledgement is given to the original source of publication and a link is inserted to the published article on Springer's website. The link must be accompanied by the following text: "The final publication is available at link.springer.com".

Author's personal copy

Aerobiologia
https://doi.org/10.1007/s10453-018-9509-7

ORIGINAL PAPER

Diversity of airborne *Cladosporium* species isolated from agricultural environments of northern Argentinean Patagonia: molecular characterization and plant pathogenicity

Carolina Virginia Temperini · Alejandro Guillermo Pardo · Graciela Noemí Pose

Received: 22 August 2017 / Accepted: 13 February 2018
© Springer Science+Business Media B.V., part of Springer Nature 2018

Abstract Fungal spores are normal components of external environments. They have been reported to be associated with human, animal and plant diseases causing primary and opportunistic infections. *Cladosporium* is commonly the most frequently isolated genus from air samples, and its species are considered mainly saprophytic, but there is a wide variety of taxa that can cause adverse effects on human and animal health and also on plants. In this work, we aimed to record *Cladosporium* spores frequency of isolation in northern Argentinean Patagonia and to perform a molecular characterization based on actin gene complemented with EF1α and ITS genes. The ability of the pathogens to cause disease in pip fruits of Packham's Triumph and Abate Fetel pears and red delicious apples was determined. Results confirmed *Cladosporium* spores as the main genera isolated from air samples, and the molecular characterization revealed the existence of 11 species in this region grouped in *C. cladosporioides* and *C. herbarum* complexes. Pathogenicity tests revealed that *Cladosporium* sp. cause disease on fruit. Abate Fetel was the most susceptible to infection. These results compose the first study in Argentina in respect of identification at species level of airborne *Cladosporium* spores, and furthermore, it is the first report in northern Patagonia and the high valley of Río Negro productive region. This knowledge can help farmers to take preventive measures in order to avoid biological damage.

Keywords *Cladosporium* · Airborne · Molecular characterization · Northern Patagonia

C. V. Temperini (✉) · G. N. Pose
Escuela de Producción, Tecnología y Medio Ambiente, Universidad Nacional de Río Negro and Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Mitre 331, 8336 Villa Regina, Provincia de Río Negro, Argentina
e-mail: ctemperini@unrn.edu.ar

A. G. Pardo
Laboratorio de Micología Molecular, Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes and Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Roque Saenz Peña 352, B1876BXD Bernal, Provincia de Buenos Aires, Argentina

1 Introduction

Argentina is mainly an agricultural country, and the province of Río Negro, in northern Patagonia, is the first producer and exporter of pip fruits in the nation. This province possesses a valley which begins at the confluence of the rivers Limay and Neuquén where the Río Negro River originates. This valley splits in three different zones through its path: high valley, middle valley and lower valley. The high valley region is situated between 38°40′S and 39°20′S and 65°50′W and 68°20′W (Rodríguez and Muñoz 2006).

Fungi are one of the most common microorganisms in air. They are considered to be related to air pollution

Published online: 23 February 2018

Author's personal copy

and have been proposed to cause adverse effects to human, animal (Robbins et al. 2000; Lee et al. 2006) and plant health (Cvetnic and Pepelnjak 1997; Fang et al. 2005; Abdel Hameed et al. 2009). Aeromycological studies in our country are scarce, being none existent with respect to the high valley region. Besides, most of the studies in Argentina have been carried out in external and internal environments in relation to human health, but few have focused on agricultural environments in relation to possible plant diseases to our knowledge.

Cladosporium is usually the most frequently isolated genus of aerial samples in many parts of the world, reaching values between 30 and 85% of isolated spores (Mullins 2001; Sindt et al. 2016). *Cladosporium* spores have been investigated in several countries including Spain and Portugal (Kulko and Marfenina 2001; Mitakakis and Guest 2001; Shelton et al. 2002; Grinn-Gofron et al. 2011; Aira et al. 2012), Turkey (Erkara et al. 2008; Artac et al. 2009), France (Sindt et al. 2016); and Saudi Arabia (Alhussaini et al. 2015), but *Cladosporium* species in air samples in Argentina have not been investigated.

This genus is one of the largest and most heterogeneous both morphologically and phylogenetically (Sandoval-Denis et al. 2015), and it has been reported to have over 700 different taxa (Dugan et al. 2004). Therefore, it is necessary to examine its diversity, phylogeny and taxonomy in order to achieve an updated and modern revision. Bensch et al. (2012) carried out a taxonomic study of this genus based on morphological and molecular analysis. As a result 169 taxa were included in *Cladosporium* genus after a reexamination of 993 names under study repositioning the rest in other genera.

On the other hand, several preliminary studies led to the introduction of subgenera due to the discovery of three heterogeneous complexes: *C. herbarum* (Schubert et al. 2007), *C. sphaerospermum* (Zalar et al. 2007; Dugan et al. 2008) and *C. cladosporioides* (Bensch et al. 2010), each of them composed by species that are distinguishable morphologically and genetically. Species showing clear morphological differences possibly belong to different species complexes and even genetically they are usually distinct and form separate clusters (Braun 2003; Bensch et al. 2012). In order to identify and distinguish closely related species with similar morphological characteristics, molecular sequence analysis seems to be a useful method. However, ITS analysis is often not sufficient to differentiate taxa closely related and morphologically similar within complexes. In fact, a few authors choose to perform a multilocus DNA sequence approach based on ITS, actin, calmodulin, translation elongation factor 1-α and histone H3 because they provide a higher resolution and a better discrimination of closely allied species (Schubert et al. 2007; Bensch et al. 2010).

Cladosporium includes many saprophytic species isolated from soil and plant materials, and some others are plant pathogens affecting mainly post-harvest processes (Tournas 2005; Aira et al. 2012) and animals, including humans causing allergies and opportunistic infections (Sandoval-Denis et al. 2015). There are also some species that can biodegrade some aromatic compounds in industry (Alhussaini et al. 2015).

In this study, due to the fact that fruit culture and its exportation are the main economic activity we focus on the ability of *Cladosporium* species to produce plant pathogenicity in pip fruits. Some researchers remark the ability of *C. herbarum* complex species to cause side rots that become problematic in pears stored for long periods (Sugar and Powers 1986; Benbow and Sugar 1999). A local study carried out in the high valley region reported decays by *Alternaria* spp. and *Cladosporium* spp. on "Bosc" pear fruits during cold storage (Lutz et al. 2016). In Korea, a high frequency of *Cladosporium* from diseased tissues of Asian pears showing skin sooty dapple disease was reported, forming a microbial complex with other microorganisms (Park et al. 2008).

Considering the absence of aeromycological studies in the high valley producing region of Argentinean northern Patagonia, the aim of this work was to identify and determine the pathogenicity of *Cladosporium* species in agricultural environments of this zone in order to take preventive measures and thus avoid biological damage and economical losses.

2 Materials and methods

2.1 Sampling area

Eight rural establishments were selected for sampling. Four of them are located in the eastern part of the valley and the other four in the central zone. All of

Author's personal copy

them present the espalier production system for pip fruits, currently the most widespread in the region. Within each establishment, samples were taken by duplicate at the geographical points that make up the vertices of a triangle, once for each season of the year during the period 2014–2016.

2.2 Sampling method

Sampling was carried out using a microflow air sampler (Microflow α 90 Aquaria version 3.0.0 cod. G.1015). In this equipment, the air is drawn through a perforated autoclavable anodized aluminum head, with 380 holes (Ø 1 mm), at constant velocity (30–60–90–100–120 L/min) and for a specific period of time depending on the volume to be sampled (1–2000 L). The inflow air impacts in the surface of the culture media placed in 90-mm disposable Petri dishes containing potato dextrose agar (PDA) medium supplemented with Chloramphenicol (0.1 g/L) to inhibit bacteria development (Bueno et al. 2003; Muhsin and Adlan 2012) and dichloran (2 mg/L) to limit fungal colonies growth. Two volumes were used to take samples: 50 and 100 L at the lowest sample rate, 30 L/min. These parameters were chosen after several trials on field which threw fungal counts between 10 and 100 CFU/plate suitable for counting and further isolation and identification. The sampler was placed at a height of 1.50 m over ground level (Al-Doory and Domson 1984; Aríngoli et al. 2008), on a photographic tripod and the head of the equipment was cleaned with iso-propanol between each sampling. A positive hole conversion table was not used to obtain data with this microflow air sample.

Isolation and morphological identification: plates obtained after sampling were incubated at 25 °C for 5 days (Verhoeff et al. 1990; Aríngoli et al. 2008) and were used for differential count of fungal genera after microscopic observation which was carried out according to Samson et al. (2000) and Pitt and Hocking (2009). Concentrations were calculated as colony-forming units per cubic meter of air (CFU/m^3). To obtain pure cultures of *Cladosporium* isolates for further tests, pieces of mycelia were aseptically taken and placed on individual 60-mm plates with malt extract agar (MEA) and then incubated as previously mentioned. For specie identification, 397 isolates were randomly selected and grouped according to the morphological characteristics of the colonies based on mycelia color and diameter, texture, furcation and other general observations of the colony appearance. Moreover, they were observed microscopically in order to classify them between the three major complexes. Then, 59 isolates representative of all the morphological groups obtained were proportionally and randomly chosen to perform molecular tests.

2.3 Molecular methods

2.3.1 Mycelia harvest

Pieces of mycelium from each isolate were aseptically taken and placed into a penicillin vial containing 5 mL of YES medium (sucrose 15% and yeast extract 2%). Vials were incubated in an orbital shaker at 100 rpm at 25 °C for 48–96 h until observation of a mycelium layer free of spores. Then, mycelia were dried with Whatman No. 1 filter paper, weighed and stored in Eppendorf tubes at − 75 °C until use.

2.3.2 DNA extraction

DNA extraction was performed with the DNeasy Plant Mini Kit following manufacturer's instructions (Qiagen, Intl) with a previous rupture with liquid nitrogen. Genomic DNA was quantified with the fluorimeter Qubit 2.0 (Life Technologies, Intl.).

2.3.3 PCR amplifications and sequencing

To obtain resolution at species level, partial gene sequences of the actin gene (ACT) were obtained through PCR amplification and sequenced to identify the isolates. This gene was supplemented with the translation elongation factor 1-α gene (EF1α) and the internal transcribed spacer (ITS) of nuclear ribosomal DNA.

PCR amplifications for ACT gene and EF1α gene were performed using primers ACT-512F: ATGTGCAAGGCCGGTTTCGC and ACT-783R: TACGAGTCCTTCTGGCCCAT for actin gene and primers EF1-728F: CATCGAGAAGTTCGAGAAGG and EF1-986R: TACTTGAAGGAACCCTTACC for EF1α gene (Carbone and Kohn 1999; Bensch et al. 2012). Reactions contained a total volume of 40 µL with 20 ng of DNA template, 1× PCR buffer, 0.5 µM of each primer (GBT Oligos, Buenos Aires), 0.2 µM of each dNTP, 2 mM MgCl2,

Author's personal copy

1%, DMSO and 0.5 U of Taq DNA polymerase (Thermo Fischer Scientific, Invitrogen, Argentina S.A.). Reaction tubes were placed in a Multigene Thermal Cycler (Labnet International Cycler) with the following running conditions: initial denaturation step at 95 °C for 8 min followed by 35 cycles of denaturation at 95 °C for 30 s, annealing at 48 °C for 30 s and extension at 72 °C for 1 min, with a final extension step at 72 °C for 5 min. Water was used as negative control.

PCR amplifications for internal transcribed spacer (ITS) of nuclear ribosomal DNA were performed with ITS1: 5′-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3′ and ITS4: 5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′ primers (White et al. 1990). Reactions contained a total volume of 40 µL with 20 ng of DNA template, 1× PCR buffer, 1 µM of each primer (GBT Oligos, Buenos Aires), 0.2 µM of each dNTP, 1.5 mM $MgCl_2$, 1% DMSO and 1 U of Taq DNA polymerase (Thermo Fischer Scientific, Invitrogen Argentina S.A.). Reaction tubes were placed in a Multigene Thermal Cycler (Labnet International Cycler) with the following running conditions: initial denaturation step at 94 °C for 5 min followed by 35 cycles of denaturation at 94 °C for 30 s, annealing at 50 °C for 30 s and extension at 72 °C for 1 min, with a final extension step at 72 °C for 5 min. Water was used as negative control.

Amplicons were visualized under UV light after running 10 µL of each reaction on 1% agarose gel with Gel Red. Sequencing of fragments was done with ACT-512F primer EF1-728F primer and ITS1 primer by Macrogen Inc. (Seoul, Korea).

2.3.4 Phylogenetic analysis

The resulting sequences were compared with other fungal DNA sequences from NCBI's GenBank sequence database using a blast search to identify species. Phylogenetic analyses were run using the MEGA 7 program package (Kumar et al. 2016), and *Cladosporium* strain reference sequences used were obtained from GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). The species strain numbers, and the ACT, EF1α and ITS sequences with their respective GenBank accession numbers are indicated in Table 1. The sequence of *Cercospora beticola*, strain CBS116456, was used as outgroup in the analyses to root the trees (Bensch et al. 2012). The isolates nucleotide sequences were aligned all together with the reference sequences using the Muscle method (Edgar 2004), and when necessary they were adjusted manually. The phylogenetic study was performed using the maximum likelihood analyses with Kimura 2 parameters using gamma distribution model and treating gaps, and missing data as partial deletion (Greco et al. 2015). The bootstrap values were generated with 1000 replicates, and they were considered significant when they were higher than 85%. The ACT alignment consisted of 161 and the concatenated alignment of ACT, EF1α and ITS of 736 nucleotide positions.

2.3.5 Storage of isolates/strains

Pure isolates of each *Cladosporium* species were maintained on solid MEA at 4 °C and stored in glycerol 18% v/v at − 75 °C for long-term storage.

2.3.6 Pathogenicity tests

Twenty-six molecularly identified isolates were used to perform pathogenicity tests: 3 *C. cladosporioides*, 3 *C. pseudocladosporioides*, 3 *C. macrocarpum*, 3 *C. asperulatum*, 3 *C. limoniforme*, 3 *C. aggregatocicatricatum*, 2 *C. tenellum*, 1 *C. ramotenellum*, 1 *C. subtilissimum* and 4 *C.* sp. The pathogenicity and host specificity for each of the 26 isolates were determined on the following fruit types and varieties: Packham's Triumph and Abate Fetel pears and red delicious apples. The tests were performed immediately after harvest, using the toothpicks technique (Andersen et al. 2002). Toothpicks split into halves were autoclaved five times in distilled water and once in MEA broth. Once sterile, they were placed in pairs in 90-mm-diameter Petri dishes containing medium MEA supplemented with chloramphenicol (0.1 g/L). Plates were inoculated at the center of each pair with each of the strains to be evaluated and incubated at 25 °C for 15–21 days. Fruits were disinfected superficially submerging them in a hypochlorite solution (10%) for 5 min and rinsed twice with sterile water in laminar flow. Sterile fruits were inoculated by introducing three toothpicks into the fruit at a depth of approximately 8 mm, two of them colonized by each *Cladosporium* isolate and one free of fungal growth, as

Author's personal copy

Table 1 Actin, EF1α and ITS sequences used in the phylogenetic analyses

Species	Strain	GenBank nucleotide accession number		
		Actin	EF1α	ITS
Cercospora beticola	CBS:116456	AY840458	AY840494	NR121315
Cladosporium aggregatocicatricatum	CPC:14709	KT600645		
	CBS:113151	KT600646		
	14ACT	MG680498		
	36ACT	MG680499		
	37ACT	MG680500		
Cladosporium allicinum	CBS:121624	EF679502	EF679425	EF679350
	CPC:11840	EF679497	EF679420	EF679345
	21ACT	MG680501		
Cladosporium asperulatum	CBS:126340	HM148485		
	5ACT	MG680502		
	15ACT	MG680503		
	16ACT	MG680504		
	27ACT	MG680505		
	39ACT	MG680506		
	50ACT	MG680507		
	51ACT	MG680508		
	58ACT	MG680509		
	59ACT	MG680510		
Cladosporium cladosporioides	CPC:11121	HM148505		
	CPC:11123	HM148507		
	CPC:13978	HM148551		
	MUT ITA 4985	KU315007		
	MUT ITA 1729	KU935615		
	UTHSC DI-13-209	LN834543		
	1ACT	MG680511		
	19ACT	MG680512		
	20ACT	MG680513		
	23ACT	MG680514		
	25ACT	MG680515		
	26ACT	MG680516		
	29ACT	MG680517		
	42ACT	MG680518		
	43ACT	MG680519		
	46ACT	MG680520		
	47ACT	MG680521		
	52ACT	MG680522		
	56ACT	MG680523		

Author's personal copy

Table 1 continued

Species	Strain	GenBank nucleotide accession number		
		Actin	EF1α	ITS
Cladosporium limoniforme	CBS:113737	KT600591		
	CPC:12039	KT600592		
	18ACT	MG680524		
	24ACT	MG680525		
	40ACT	MG680526		
	41ACT	MG680527		
	45ACT	MG680528		
	49ACT	MG680529		
	55ACT	MG680530		
Cladosporium macrocarpum	CPC:12757	EF679532		
	UTHSC DI-13-191	LN834563		
	6ACT	MG680531		
	11ACT	MG680532		
	12ACT	MG680533		
Cladosporium pseudocladosporioides	CPC:11841	HM148657		
	CPC:14010	HM148671		
	CPC:14020	HM148674		
	2ACT	MG680534		
	3ACT	MG680535		
	4ACT	MG680536		
	22ACT	MG680537		
	30ACT	MG680538		
Cladosporium ramotenellum	CBS:109031	KT600615		
	CPC:13789	KT600629		
	17ACT	MG680539		
Cladosporium sinuosum	CBS:121629	EF679450	EF679464	EF679386
	CPC:17632	KT600642	KT600544	KT600445
Cladosporium sphaerospermum	CPC:13995	EU570273		
	CPC:14016	EU570274		
Cladosporium subtilissimum	CBS:17252	EF679544		
	CBS:113741	EF679545		
	7ACT	MG680540		
	13ACT	MG680541		
	28ACT	MG680542		
	44ACT	MG680543		
	48ACT	MG680544		
	53ACT	MG680545		
Cladosporium tenellum	CPC:11813	EF679553		
	CPC:12051	EF679554		
	31ACT	MG680546		
	33ACT	MG680547		

Author's personal copy

Table 1 continued

Species	Strain	GenBank nucleotide accession number		
		Actin	EF1α	ITS
Cladosporium sp.	8ACT	MG680548	MG686620	MG702494
	9ACT	MG680549	MG686621	MG702495
	32ACT	MG680550	MG686622	MG702496
	57ACT	MG680551	MG686623	MG702497
	34ACT	MG680552	MG686624	MG702498
	35ACT	MG680553	MG686625	MG702499
	10ACT	MG680554	MG686626	MG702500
	54ACT	MG680555	MG686627	MG702501
	38ACT	MG680556	MG686628	MG702502

control. Then, they were individually placed in transparent plastic bags and incubated at 25 °C for 14 days. After the incubation period, the external and internal lesions of the fruits were observed. Pathogenicity was determined according to the diameter of the lesion and confirmed according to the Koch postulates. Host specificity was determined according to the ability of the strain to produce the lesion or not.

3 Results

3.1 Relative frequencies of isolation

Total fungal counts for each season of both years of sampling were considered to calculate relative frequencies of the genus. In the first year of sampling, total fungal count was 2.41×10^4 CFU/m^3 in autumn, 1.79×10^4 CFU/m^3 in winter, 2.45×10^4 CFU/m^3 in spring and 1.01×10^5 CFU/m^3 in summer. *Cladosporium* isolates count for each season and their relative frequencies of isolation were as follows: 1.67×10^4 CFU/m^3 (69.13%) in autumn, 1.37×10^4 CFU/m^3 (76.61%) in winter, 1.89×10^4 CFU/m^3 (77.19%) in spring and 8.72×10^4 CFU/m^3 (85.98%) in summer. Total fungal count on the second year of sampling was 5.84×10^4 CFU/m^3 in autumn, 2.33×10^4 CFU/m^3 in winter, 8.58×10^3 CFU/m^3 in spring and 4.39×10^4 CFU/m^3 in summer. *Cladosporium* isolates count for each season and their relative frequencies of isolation were as follows: 4.46×10^4 CFU/m^3 (76.42%) in autumn, 1.72×10^4 CFU/m^3 (74.03%) in winter, 5.62×10^3 CFU/m^3 (65.5%) in spring and 2.81×10^4 CFU/m^3 (64.0%) in summer. Average and SD values are shown in Table 2.

3.1.1 *Molecular characterization and phylogenetic analysis*

The sequences of the studied isolates were 100% identical to GenBank type strain reference sequences except for 9 isolates (8 ACT, 9 ACT, 10 ACT, 32 ACT, 34 ACT, 35 ACT, 38 ACT, 54 ACT and 57 ACT) which shared at most 94% of homology with *C. allicinum* and/or *C. sinuosum* type strain reference sequences. The phylogenetic analysis based on the actin gene fragment resulted in discrimination between the isolates included in this study, and the three major *Cladosporium* complexes and all the terminal species clades were strongly supported having bootstrap values higher than 85. As a result, 45.76% of the isolates were nested into the *C. cladosporioides* complex, where 13 isolates were identified as *C. cladosporioides*, 5 isolates as *C. pseudocladosporioides* and 9 isolates as *C. asperulatum*. The remaining 54.24% of the isolates belonged to the *C. herbarum* complex where 8 isolates were identified as *C. limoniforme*, 5 isolates as *C. subtilissimum*, 3 isolates as *C. aggregatocicatricatum*, 3 isolates as *C. macrocarpum*, 2 isolates as *C. tenellum*, 1 isolate as *C. allicinum* and 1 isolate as *C. ramotenellum*. The lasting 9 isolates formed part of three terminal clades which were distant phylogenetically from any species of the genus currently known (Fig. 1). These nine species were then tested with EF1α and ITS genes in order to achieve taxa identification. However, blast results for each gene threw a 100% of homology with several type strain reference sequences and phylogenetic trees based on each gene did not show species resolution (data not shown).

Author's personal copy

Table 2 Average and standard deviation values for total fungal counts and *Cladosporium* isolates counts of the first and second year of sampling

Season	1st year of sampling				2nd year of sampling			
	Total fungal count (CFU/m^3)		*Cladosporium* isolates count (CFU/m^3)		Total fungal count (CFU/m^3)		*Cladosporium* isolates count (CFU/m^3)	
	Average	SD	Average	SD	Average	SD	Average	SD
Autumn	2.41×10^4	$\pm 1.70 \times 10^2$	1.67×10^4	$\pm 4.79 \times 10^2$	5.84×10^4	$\pm 8.34 \times 10^2$	4.46×10^4	$\pm 8.77 \times 10^2$
Winter	1.79×10^4	$\pm 6.08 \times 10^2$	1.37×10^4	$\pm 1.26 \times 10^2$	2.33×10^4	$\pm 8.49 \times 10^2$	1.72×10^4	$\pm 1.06 \times 10^3$
Spring	2.45×10^4	$\pm 8.63 \times 10^2$	1.89×10^4	$\pm 8.20 \times 10^2$	8.58×10^3	$\pm 1.72 \times 10^2$	5.62×10^3	$\pm 5.37 \times 10^2$
Summer	1.01×10^5	$\pm 9.31 \times 10^2$	8.72×10^4	$\pm 1.09 \times 10^3$	4.39×10^4	$\pm 8.63 \times 10^2$	2.81×10^4	$\pm 8.34 \times 10^2$

Therefore, we proceeded to carry out a concatenated study using the sequences from the three genes and results aided to support those obtained with actin gene phylogenetic analysis (Fig. 2). Thus, these isolates are outlined to be part of three different new species. Nevertheless, further phenotypical and molecular analysis must be conducted in order to confirm their identity.

3.1.2 *Morphological characterization and Cladosporium species frequencies of isolation*

Prior to molecular identification, characterization based on macroscopical features of the colonies grouped the 397 isolates in 25 different morphological groups which after the molecular analysis were reduced into 13 groups (Fig. 3). This morphological identification was carried out according to the key proposed by Bensch et al. (2012). The 397 isolates were identified at species level according to their morphological group belonging and respective molecular characterization. As a result, 58.68% of the species belonged to the *C. cladosporioides* complex in which isolates were identified as *C. cladosporioides* (35.01%), *C. asperulatum* (17.88%) and *C. pseudocladosporioides* (5.79%). The remaining 41.32% were nested into the *C. herbarum* complex where isolates were identified as *C. limoniforme* (25.44%), *C. subtilissimum* (6.05%), *C. aggregatocicatricatum* (2.02%), *C. tenellum* (1.51%), *C. macrocarpum* (1.51%), *C. allicinum* (1.01%), *C. ramotenellum* (0.25%) and *C.* sp. (3.53%).

3.1.3 *Pathogenicity*

On pears of Packham's Triumph variety, only 4 isolates caused lesion on healthy fruits (15.4%); 2 of them belonged to *C. pseudocladosporioides* species (7.7%) and the other two to *C. asperulatum* species (7.7%). The external appearance of lesions is difficult to appreciate due to the absence of a necrotic area on the tissue and the lack of a color different from the natural skin color of the fruit. A necrotic point at the inoculation site with a maximum extent of 0.5 cm could only be observed. Only one isolate of *C. asperulatum* showed fungal growth on the external tissue and caused a big necrotic patch which turned brown to blackish (Fig. 4a). Internal injuries consisted of a black or brownish necrosis which extended from 0.5 to 1.8 cm from the inoculation point. It also produced a hardening of the tissue at the necrotic patch. One isolate of *C. pseudocladosporioides* and one of *C. asperulatum* caused hollowing of the inner tissue (Fig. 4b).

On pears of Abate Fetel variety, six fruits did not exhibit any lesion in the external or internal tissues (15.6%). Seventeen fruits presented external symptoms (65.4%) with diameters ranging from 0.6 to 1.5 cm caused by isolates of *C. cladosporioides*, *C. pseudocladosporioides*, *C. asperulatum*, *C. aggregatocicatricatum* and *C. ramotenellum*. In all of them, a drying zone covering the diameter of the lesion was detected and it was generally colorless except for one of *C. asperulatum* isolate which caused a brown necrosis halo and for *C. cladosporioides*, *C. pseudocladosporioides* and *C. asperulatum* isolates which presented black necrosis in 4 fruits at the inoculation point (Fig. 4c). Moreover, *C. cladosporioides*, *C. pseudocladosporioides*, *C. asperulatum*, *C.*

Author's personal copy

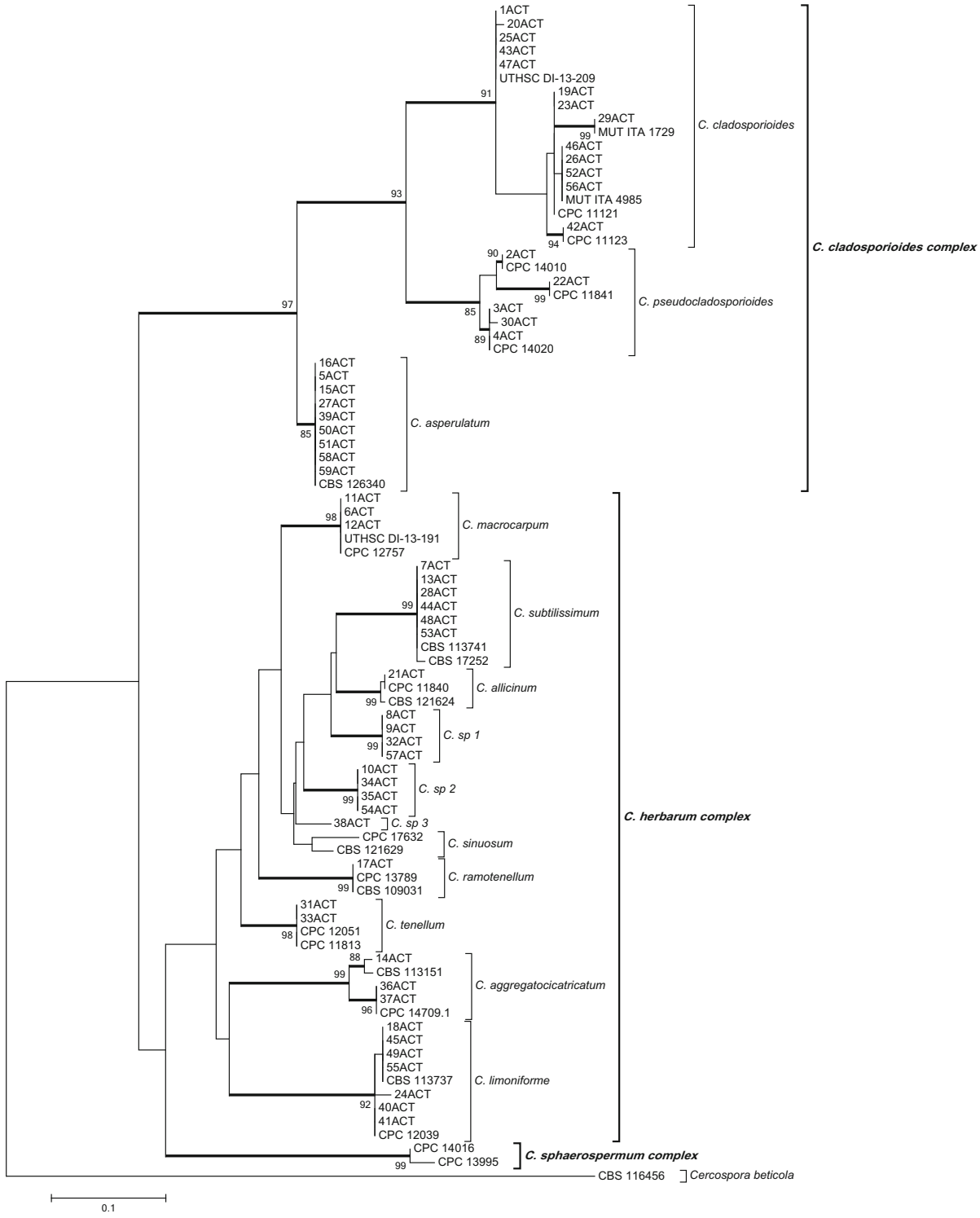


Fig. 1 Maximum likelihood phylogenetic tree based on the ACT gene displaying the analysis of the 59 *Cladosporium* isolates obtained from air samples altogether with type strain reference sequences. *Cercospora beticola* (CBS:116456) was used as outgroup to root the tree. The thickened lines represent lineages with > 85% bootstrap values

Author's personal copy

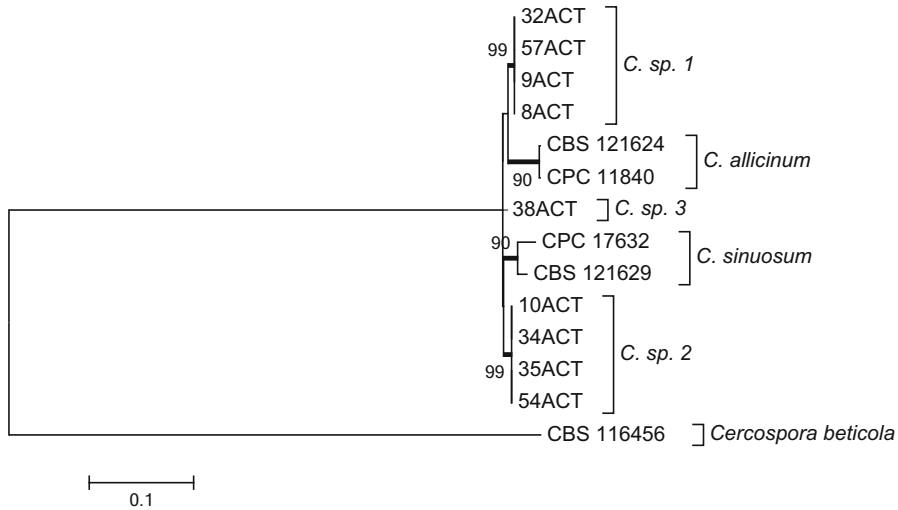


Fig. 2 Maximum likelihood phylogenetic tree based on the concatenated analysis of ACT, EF1α and ITS genes displaying the analysis of the 59 *Cladosporium* isolates obtained from air samples altogether with type strain reference sequences. *Cercospora beticola* (CBS:116456) was used as outgroup to root the tree. The thickened lines represent lineages with > 85% bootstrap values

aggregatocicatricatum and *C. ramotenellum* isolates showed mycelial development in six fruits. Three of the fruits tested did not show any kind of external symptoms (11.54%). On the other hand, 16 fruits presented inner lesions consisting of a black necrosis caused by isolates of all of the species tested (61.54%) (Fig. 4d). Only one *Cladosporium* sp. isolate showed a brown necrosis of the inner tissue (3.85%). The diameters of lesions ranged from 0.8 to 3 cm of injury. Only two isolates of *C. cladosporioides* and *C. pseudocladosporioides* presented mycelium development with hollowing of the tissue. Every lesion observed whether it was necrotic or hollowed, exhibited drying characteristics of the compromised area and hardening of the tissue. Nine fruits did not exhibit any kind of injury (34.61%).

On the other hand, red delicious apple was resistant to the 26 isolates tested.

4 Discussion

These results compose the first study in Argentina in respect of identification at species level of airborne *Cladosporium* spores. Furthermore, it is the first report in northern Patagonia and high valley of Río Negro productive region. Fungal counts obtained along the 2 years of sampling showed and confirmed *Cladosporium* spores as the main genera isolated from air samples, as other authors have previously cited (Mullins 2001; Sindt et al. 2016).

Sandoval-Denis claims that morphological identification of *Cladosporium* species is difficult due to the high morphological similarity between closely related species (Sandoval-Denis et al. 2015). This was confirmed while morphological group classification was carried out. Moreover, we have also observed morphological variability within each species. This is reflected by the reduction in species number from the 25 morphological different groups obtained by the macroscopical analysis to the 11 species confirmed by molecular techniques.

On the other hand, while this genus has been reported to be phylogenetically very heterogeneous (Sandoval-Denis et al. 2015), the phylogenetic analysis carried out in this work based on the actin gene proved its efficiency to discriminate between *Cladosporium* species as other authors reported (Schubert et al. 2007; Bensch et al. 2010; Sandoval-Denis et al. 2015). However, it was not possible to identify 15% of the isolates tested. These were grouped in two clades and one monotypic lineage and they may probably represent three new species. However, this must be confirmed by further studies combining morphological with molecular studies.

Author's personal copy

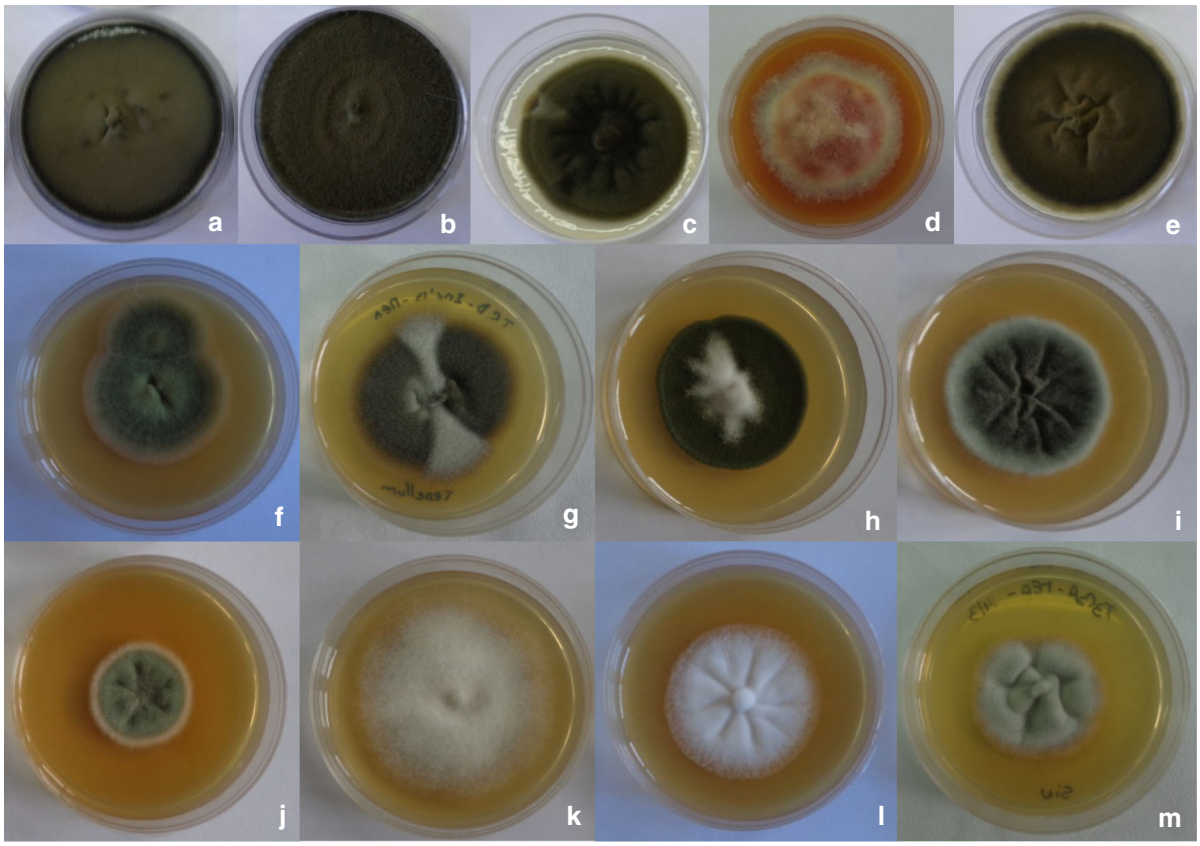


Fig. 3 *Cladosporium* species morphological classification: The figure shows macroscopical characteristics of the 13 species group found after the molecular analysis. **a** *C. cladosporioides*; **b** *C. pseudocladosporioides*; **c** *C. asperulatum*; **d** *C. macrocarpum*; **e** *C. limoniforme*; **f** *C. ramotenellum*; **g** *C. tenellum*; **h** *C. aggregatocicatricatum*; **i** *C. allicinum*; **j** *C. subtilissimum*; **k** *C.* sp. 1; **l** *C.* sp. 2; **m** *C.* sp. 3

Molecular characterization thus revealed the existence of eleven identified species in this region. Isolates from *C. cladosporioides* and *C. herbarum* complexes coexist in similar proportions, though *C. cladosporioides* complex species seem to be slightly more abundant and with a more restricted variety of species. However, none of the isolates identified in this study belonged to the *C. sphaerospermum* complex. Considering that the northern Patagonia region exhibits continental climatological characteristics (Rodríguez and Muñoz 2006), the absence of isolates belonging to this complex is consistent with Schubert et al. (2007) and Bensch et al. (2012) who associate the coexistence of these species to extreme ecological environments.

Regarding species predominance, spores of *C. cladosporioides* species are among the most ubiquitous ones found in outdoor samples (Domsch et al. 1980; Mullins 2001; Park et al. 2004; Bensch et al. 2012). Our results confirm *C. cladosporioides* as the main species found in environmental samples followed closely by *C. limoniforme*, a new taxon recently described by Bensch et al. (2012).

Respect to *Cladosporium* species pathogenicity, it has been proven their ability to cause lesions in healthy pears in many parts of the world (Sugar and Powers 1986; Benbow and Sugar 1999; Park et al. 2008; Lutz et al. 2016). We could demonstrate the host specificity not only for *C. herbarum* complex species but also for *C. cladosporioides* complex species. Moreover, among pears variety, Abate Fetel was the most susceptible to infection. The external lesions observed were not generally identical to those visualized in pears naturally infected, but this could be related to the experimental laboratory conditions which certainly did not match to those given in cold storage for long

Author's personal copy

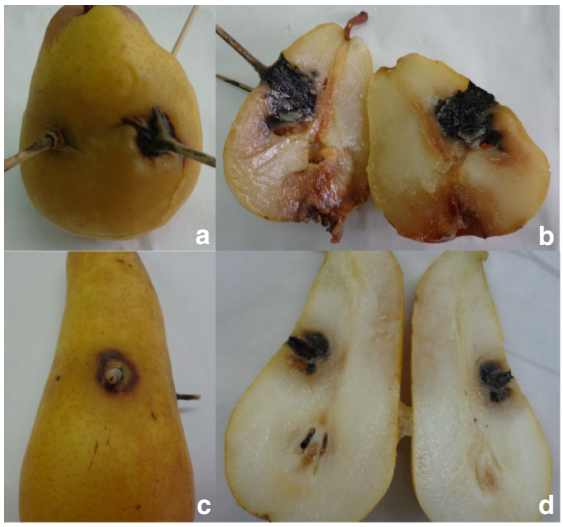


Fig. 4 Lesions caused by *Cladosporium asperulatum*. **a** External symptomatology on Packham's Triumph pear in which mycelium development covering a black necrotic lesion can be observed. **b** Internal injury of the same pear which consists of a big necrotic patch and hollowing of the tissue. **c** External symptomatology on Abate Fetel pear which shows a brown necrotic patch around the inoculation site. **d** Internal symptomatology of the same pear exhibiting black necrosis and hollowing of the tissue

time periods (Lutz et al. 2016). These data are relevant to the production sector due to the fact that Abate Fetel is the fourth pear variety with more abundance in this region and acknowledging the presence of this pathogenic species could help producers to take appropriate preventive measures.

In conclusion, we have conducted a study which has brought in light knowledge about *Cladosporium* species and their occurrence in rural environments of northern Argentinean Patagonia based on molecular and morphological characterization. Moreover, studies carried out to test their pathogenicity were successful and revealed *Cladosporium* species were able to cause injury on healthy fruits. This becomes important when taking into account the fact that this is the main genus present in air which can contaminate fruits on fields, such as Abate Fetel pears, that later are stored under refrigeration conditions.

Acknowledgements The authors acknowledge Javier Alonso (Universidad Nacional de Río Negro), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad Nacional de Río Negro (UNRN) (Grant No. PI 40-A-382) and Universidad Nacional de Quilmes (UNQ) for financial support.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

Abdel Hameed, A. A., Khoder, M. I., Yuosra, S., Osman, A. M., & Ghanem, S. (2009). Diurnal distribution of airborne bacteria and fungi in the atmosphere of Helwan area, Egypt. *Science of the Total Environment, 407,* 6217–6222.

Aira, M. J., Rodríguez-Rajo, F. J., Fernández-González, M., Seijo, C., Elvira-Rendueles, B., Gutiérrez-Bustillo Abreu, I., et al. (2012). *Cladosporium* airborne spore incidence in the environmental quality of the Iberian Peninsula. *Grana, 51*(4), 293–304.

Al-Doory, Y., & Domson, J. F. (1984). *Mould allergy*. Philadelphia, PA: Lea and Febiger.

Alhussaini, M. S., Moslem, M. A., Alghonaim, M. I., Al-Ghanayem, A. A., & Hefny, H. M. (2015). Biological studies on airborne *Cladosporium* species isolated from Riyadh City. *Life Science Journal, 12*(6), 83–91.

Andersen, B., Kroger, E., & Roberts, R. (2002). Chemical and morphological segregation of *Alternaria arborescens*, *A. infectoria* and *A. tenuissima* species-groups. *Mycological Research, 106*(2), 170–182.

Aríngoli, E. E., Basílico, M. Z., Altahus, R. L., & Basílico, J. C. (2008). Multivariate analysis of fungal associations in the indoor air of Argentinean houses. *International Biodeterioration and Biodegradation, 62,* 281–286.

Artac, H., Kizilpinar, I., Pekcan, S., Dogan, C., & Reisli, I. (2009). *Alternaria* and *Cladosporium* spores in the atmosphere of Konya, Turkey. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology, 64,* 248–249.

Benbow, J. M., & Sugar, D. (1999). Fruit surface colonization and biological control of postharvest diseases of pear by preharvest yeast applications. *Plant Disease, 83,* 839–844.

Bensch, K., Braun, U., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2012). The genus *Cladosporium*. *Studies in Mycology, 72,* 1–401.

Bensch, K., Groenewald, J. Z., Dijksterhuis, J., Starink-Willemse, M., Andersen, B., Shin, H.-D., et al. (2010). Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (Davidiellaceae, Capnodiales). *Studies in Mycology, 67,* 1–94.

Braun, U. (2003). Miscellaneous notes on some cercosporoid hyphomycetes. *Bibliotheca Lichenologica, 86,* 79–98.

Bueno, D. J., Silva, J. O., & Oliver, G. (2003). Hongos ambientales en una biblioteca: un año de estudio. *Anales de Documentación, 6,* 27–34.

Carbone, I., & Kohn, L. M. (1999). A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia, 91,* 553–556.

Cvetnic, Z., & Pepelnjak, S. (1997). Distribution and mycotoxin-producing ability of some fungal isolates from the air. *Atmospheric Environment, 31,* 491–495.

Domsch, K. H., Gams, W., & Anderson, T. H. (1980). *Compendium of soil fungi* (Vols. 1 & 2). London: Academic Press.

Author's personal copy

Dugan, F. M., Braun, U., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2008). Morphological plasticity in *Cladosporium sphaerospermum*. *Persoonia, 21,* 9–16.

Dugan, F. M., Schubert, K., & Braun, U. (2004). Check-list of *Cladosporium* names. *Schlechtendalia, 11,* 1–103.

Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research, 32,* 1792–1797.

Erkara, I. P., Asan, A., Yilmaz, V., Pehlivan, S., & Okten, S. S. (2008). Airborne *Alternaria* and *Cladosporium* species and relationship with meteorological conditions in Eskisehir City, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment, 144*(1), 31–41.

Fang, Z., Ouyang, Z., Hu, L., Wang, X., Zheng, H., & Lin, X. (2005). Culturable airborne fungi in outdoor environments in Beijing, China. *Science of the Total Environment, 350,* 47–58.

Greco, M., Kemppainen, M., Pose, G., & Pardo, A. (2015). Taxonomic characterization and secondary metabolite profiling of *Aspergillus* section *Aspergillus* contaminating feeds and feedstuffs. *Toxins, 7*(9), 3512–3537.

Grinn-Gofroń, A., Strzelczak, A., & Wolski, T. (2011). The relationships between air pollutants, meteorological parameters and concentration of airborne fungal spores. *Environmental Pollution, 159,* 602–608.

Kulko, A. B., & Marfenina, O. E. (2001). Distribution of microscopic fungi along Moscow roads. *Mikrobiologia, 70,* 709–771.

Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution, 33,* 1870–1874.

Lee, T., Grinshpun, S. A., Martuzevicius, D., Adhikari, A., Crawford, C. M., & Reponen, T. (2006). Culturability and concentration of indoor and outdoor airborne fungi in six single-family homes. *Atmospheric Environment, 40,* 2902–2910.

Lutz, C. M., Sosa, C. M., & Colodner, A. (2016). *Effect of pre and postharvest application of fungicides on postharvest decay of Bosc pear caused by Alternaria-Cladosporium complex in North Patagonia*. Argentina: Scientia Horticulturae. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.05.007.

Mitakakis, T. Z., & Guest, D. I. (2001). A fungal spore calendar for the atmosphere of Melbourne, Australia, for the year 1993. *Aerobiologia, 17,* 171–176.

Muhsin, T. M., & Adlan, M. M. (2012). Seasonal distribution pattern of outdoor airborne fungi in Basrah city, southern Iraq. *Journal of Basrah Researches, 38*(1A), 90–98.

Mullins, J. (2001). Microorganisms in outdoor air. In R. A. Samson & J. D. Miller (Eds.), *Microorganisms in home and indoor work environments: Diversity, health impacts, investigation and control (flannigan B* (pp. 3–16). London: Taylor and Francis.

Park, H. G., Managbanag, J. R., Stamenova, E. K., & Jong, S. C. (2004). Comparative analysis of common indoor *Cladosporium* species based on molecular data and conidial characters. *Mycotaxon, 89*(2), 441–451.

Park, Y. S., Kim, K. C., Lee, J. H., Cho, S. M., Choi, Y. S., & Kim, Y. C. (2008). *Cladosporium* sp. is the major causal agent in the microbial complex associated with the skin sooty dapple disease of the asian pear in Korea. *The Plant Pathology Journal, 24*(2), 118–124.

Pitt, J., & Hocking, A. (2009). *Fungi and food spoilage* (3rd ed.). New York, NY: Springer.

Robbins, C. A., Swenson, L. J., Nealley, M. L., Gots, R. E., & Kelman, B. J. (2000). Health effects of mycotoxins in indoor air: A critical review. *Applied Occupational and Environmental Hygiene, 15,* 773–784.

Rodríguez, A., & Muñoz, A. (2006). Síntesis Agrometeorológica para el período 1990-2004. EEA Alto Valle. Ed. INTA. Boletín Divulgación Técnica, (53), 38.

Samson, R., Hoekstra, E., Frisvad, J., & Filtenborg, O. (2000). *Introduction to food- and airborne fungi* (6^{a} ed.). Utrecht: Centraalbureau Voor Schímmelcultures.

Sandoval-Denis, M., Sutton, D. A., Martin-Vicente, A., Cano-Lira, J. F., Wiederhold, N., Guarro, J., et al. (2015). *Cladosporium* species recovered from clinical samples in the United States. *Journal of Clinical Microbiology, 53,* 2990–3000. https://doi.org/10.1128/JCM.01482-1.

Schubert, K., Groenewald, J. Z., Braun, U., Dijksterhuis, J., Starink, M. S., Hill, C. F., et al. (2007). Biodiversity in the *Cladosporium herbarum* complex (Davidiellaceae, Capnodiales), with standardisation of methods for *Cladosporium* taxonomy and diagnostics. *Studies in Mycology, 58,* 105–156.

Shelton, B. G., Kirkland, K. H., Flanders, W. D., & Morris, G. K. (2002). Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. *Applied and Environmental Microbiology, 68,* 1743–1753.

Sindt, C., Besancenot, J. P., & Thibaudon, M. (2016). Airborne *Cladosporium* fungal spores and climate change in France. *Aerobiologia, 32*(1), 53–68.

Sugar, D., & Powers, K. (1986). Interactions among fungi causing postharvest decay of pear. *Plant Disease, 70,* 1132–1134.

Tournas, V. H. (2005). Spoilage of vegetable crops by bacteria and fungi and related health hazards. *Critical Reviews in Microbiology, 31,* 33–44.

Verhoeff, A. P., Van Wijnen, J. H., Boleij, J. S. M., Brunekreef, B., Van Reenen-Hoekstra, E. S., & Samson, R. A. (1990). Enumeration and identification of airborne viable mould propagules in houses. *Allergy, 45,* 275–284.

White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR Protocols: A guide to methods and applications (Innis MA* (pp. 315–322). San Diego, CA: Academic Press.

Zalar, P., de Hoog, G. S., Schroers, H.-J., Crous, P. W., Groenewald, J. Z., & Gunde-Cimerman, 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.

ANEXOS

Composición de medios de cultivo y soluciones

Medios de cultivo

Agar agua (AA)	
Agar	20 g
Agua destilada	1 L
Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min.	

Agar avena (OA)	
Escamas de avena	20 g
Agar	20 g
Agua destilada	1 L
Preparación: Hervir las escamas de avena en 0,5 L de agua destilada, filtrar y completar a volumen de 1L. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min.	

Agar Creatina Sacarosa Neutral (CSN)	
Concentrado CS	10 ml
Sacarosa	10 g
Creatina	5 g
KH_2PO_4	1 g
Púrpura de bromocresol	0,05 g
Agar	15 g
Agua destilada	1 L
Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min.	

Concentrado Creatina Sacarosa (CS)	
KCl	5 g
$MgSO_4.7H_2O$	5 g
$FeSO_4.7H_2O$	0,1 g
$ZnSO_4.7H_2O$	0,1 g
$CuSO_4.5H_2O$	0,05 g
Agua destilada	100 ml
Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min. El pH final es de aproximadamente 6,8.	

Agar Czapek Extracto de Levadura (CYA)	
KH_2PO_4	1 g
Concentrado Czapek	10 ml
Solución de metales traza	1 ml
Extracto de levadura	5 g
Sacarosa	30 g
Agar	15 g
Agua destilada	1 L
Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min. El pH final es de 6,7.	

Concentrado Czapek	
$NaNO_3$	30 g
KCl	5 g
$MgSO_4.7H_2O$	5 g
$FeSO_4.7H_2O$	0,1 g
Agua destilada	100 ml
No requiere esterilización. Se debe resuspender antes de utilizar.	

Solución de metales traza	
$CuSO_4.5H_2O$	0,5 g
$ZnSO_4.7H_2O$	1,0 g
Agua destilada	100 ml
No requiere esterilización. Se debe resuspender antes de utilizar.	

Agar Czapek Extracto de Levadura con 20% de Sacarosa (CY20S)	
KH_2PO_4	1 g
Concentrado Czapek	10 ml
Extracto de levadura	5 g
Sacarosa	200 g
Agar	15 g
Agua destilada	1 L
Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min. El pH final es de 5,2.	

Agar Diclorán Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC)	
Glucosa	10 g
Peptona bacteriológica	5 g
KH_2PO_4	1 g
$MgSO_4.7H_2O$	0,5 g
Rosa de Bengala	0,5 ml (5% v/v en agua)
Diclorán	1 ml (0,2% v/v en etanol)
Cloranfenicol	100 mg
Agar	15 g
Agua destilada	1 L
Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min. El pH final es de 5,5-5,8. Mantener el medio en oscuridad.	

Agar Glicerol Nitrato 25% (G25N)	
KH_2PO_4	0,75 g
Concentrado Czapek	7,5 ml
Extracto de levadura	3,7 g
Glicerol de grado analítico	250 g
Agar	12 g
Agua destilada	1 L
Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min. El pH final es 7,0.	

Agar Extracto de Malta (MEA)	
Extracto de malta	20 g
Peptona	1 g
Glucosa	20 g
Agar	20 g
Agua destilada	1 L
Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min. El pH final es de 5,6.	

Agar Papa Dextrosa (PDA) (Polvo commercial)	
Infusión de Papa	4 g
Glucosa	20 g
Agar	15 g
Agua destilada	1 L
Preparación: 39 g de polvo por litro de agua. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min. El pH final es de 5,6.	

Agar Papa Zanahoria (PZA)	
Papa	20 g
Zanahoria	20 g
Agar	20 g
Agua destilada	1 L
Preparación: Cortar los vegetales sin pelar y hervirlos en 0,5 L de agua destilada durante 20-30 min. Filtrar y llevar a volumen final de 1 L. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min.	

Agar Spezieller Nahrstoffarmer (SNA)	
KH_2PO_4	1 g
$NaNO_3$	1 g
$MgSO_4.7H_2O$	0,5 g
KCl	0,5 g
Glucosa	0,2 g
Sacarosa	0,2 g
Agar	20 g
Agua destilada	1 L
Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min. El pH final es de 6,7.	

Agar 8 verduras (V8)	
Jugo V8	200 ml
$CaCO_3$	3 g
Agar	20 g
Agua destilada	1 L
Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min.	

Caldo Richard's modificado	
KH_2PO_4	5 g
KNO_3	10 g
$MgSO_4.7H_2O$	2,5 g
$FeCl_3$	0,02 g
Glucosa	25 g
Extracto de levadura	1 g
Agua destilada	1 L
Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min.	

Soluciones

Reactivo de Ehrlich	
4-dimetilaminobenzaldehido	2 g
Etanol	85 ml
HCl	15 ml

Solución de crioconservación Glicerol 18% v/v	
Glycerol	18 ml
Tween 80	0,1 ml
Agua destilada	81,9 ml
Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min.	

Caldo Extracto de levadura Sacarosa (YES)	
Sacarosa	15 g
Extracto de levadura	2 g
Agua destilada	100 ml
Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min.	

Buffer TBE (5X)	
Ácido bórico	27,5 g
Tris-Base	54 g
EDTA 0,5M (pH 8)	20 ml
Agua destilada	980 ml
Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min. Almacenar en frasco color caramelo a T° ambiente y diluir con agua destilada para obtener la solución 0,5X.	

EDTA 0,5M (pH 8)	
EDTA.$2H_2O$	186,1 g
Agua destilada	1 L
Disolver la sal en 800 ml de agua destilada y ajustar el volumen con granallas de NaOH a pH 8. Luego completar a volumen de 1 L.	

Buffer de carga Sacarosa Azul de Bromofenol (6X)	
Sacarosa	4 g
Azul de Bromofenol	0,025 g
Agua destilada	10 ml
Diluir los componentes en agua destilada y filtrar con papel de filtro Whatman N° 1. Conservar a 4 °C.	

Tablas de recuento fúngico diferencial

1° Año: periodo otoño 2014-verano 2015

Otoño 2014

TRADICIONAL 1	CUADRO 1 (Vol: 100L)		CUADRO 11B (Vol: 50L)		CUADRO 12 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	6	**60**	6	**120**	7	**70**
Arthrinium	1	**10**	1	**20**	ND	**ND**
Aureobasidium	4	**40**	ND	**ND**	3	**30**
Bipolaris	1	**10**	ND	**ND**	1	**10**
Cladosporium	102	**1020**	13	**260**	51	**510**
Drechslera	2	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Epicoccum	18	**180**	2	**40**	1	**10**
Fusarium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Penicillium	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**20**
Phoma	2	**20**	ND	**ND**	1	**10**
Pleospora	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 2	CUADRO 1 (Vol: 50L)		CUADRO 2 (Vol: 100L)		CUADRO 4 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	4	**80**	6	**60**	16	**160**
Aspergillus	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Aureobasidium	1	**20**	ND	**ND**	1	**10**
Cladosporium	5	**100**	12	**120**	19	**190**
Epicoccum	4	**80**	ND	**ND**	1	**10**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	3	**30**	ND	**ND**
Pleospora	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Otros	1	**20**	2	**20**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 3	CUADRO 1 (Vol: 50L)		CUADRO 2 (Vol: 100L)		CUADRO 3 (Vol: 50L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	27	**540**	28	**280**	18	**360**
Aureobasidium	2	**40**	5	**50**	7	**140**
Bipolaris	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Cladosporium	151	**3020**	286	**2860**	59	**1180**
Epicoccum	27	**540**	39	**390**	6	**120**
Fusarium	2	**40**	ND	**ND**	ND	**ND**
Mucor	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Penicillium	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**40**
Ulocladium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Otros	27	**540**	28	**280**	18	**360**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 4	CUADRO 8 (Vol: 100L)		CUADRO 10 (Vol: 50L)		CUADRO 11 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	10	**100**	2	**40**	11	**110**
Botrytis	ND	**ND**	2	**40**	ND	**ND**
Cladosporium	60	**600**	22	**440**	57	**570**
Epicoccum	13	**130**	2	**40**	5	**50**
Fusarium	1	**10**	1	**20**	ND	**ND**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Ulocladium	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 1	CUADRO 5 (Vol: 100L)		CUADRO 11 (Vol: 100L)		CUADRO 16 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	1	**10**	2	**20**	2	**20**
Aureobasidium	1	**10**	1	**10**	1	**10**
Cladosporium	44	**440**	17	**170**	14	**140**
Drechslera	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**20**

Epicoccum	2	**20**	ND	**ND**	5	**50**
Fusarium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 2	**CUADRO 5 (Vol: 100L)**		**CUADRO 6 (Vol: 100L)**		**CUADRO 7 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	12	**120**	9	**90**	15	**150**
Arthrinium	1	**10**	1	**10**	2	**20**
Cladosporium	48	**480**	41	**410**	64	**640**
Epicoccum	6	**60**	11	**110**	1	**10**
Fusarium	1	**10**	ND	**ND**	5	**50**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**20**
Penicillium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 3	**CUADRO 5 (Vol: 100L)**		**CUADRO 9 (Vol: 50L)**		**CUADRO 18 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	15	**150**	14	**280**	7	**70**
Arthrinium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Aureobasidium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Botrytis	33	**330**	1	**20**	ND	**ND**
Cladosporium	44	**440**	14	**280**	21	**210**
Epicoccum	14	**140**	ND	**ND**	1	**10**
Penicillium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Ulocladium	1	**10**	1	**20**	ND	**ND**
Otros	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 4	**CUADRO 2 (Vol: 100L)**		**CUADRO 3 (Vol: 100L)**		**CUADRO 5 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	7	**70**	8	**80**	10	**100**

Aureobasidium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Bipolaris	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Botrytis	36	**360**	4	**40**	9	**90**
Cladosporium	102	**1020**	148	**1480**	9	**90**
Epicoccum	2	**20**	ND	**ND**	2	**20**
Mycelia sterilia	2	**20**	ND	**ND**	2	**20**
Penicillium	2	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Ulocladium	2	**20**	5	**50**	ND	**ND**
Otros	12	**120**	6	**60**	ND	**ND**

ND: No Determinado

Invierno 2014

TRADICIONAL 1	**CUADRO 1 (Vol: 100L)**		**CUADRO 11B (Vol: 100L)**		**CUADRO 12 (Vol: 50L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	16	**160**	7	**70**	4	**80**
Arthrinium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Aureobasidium	16	**160**	4	**40**	1	**20**
Cladosporium	185	**1850**	57	**570**	37	**740**
Drechslera	1	**10**	1	**10**	ND	**ND**
Epicoccum	3	**30**	ND	**ND**	1	**20**
Fusarium	8	**80**	ND	**ND**	ND	**ND**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Nigrospora	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Penicillium	2	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Ulocladium	3	**30**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 2	**CUADRO 1 (Vol: 100L)**		**CUADRO 2 (Vol: 100L)**		**CUADRO 4 (Vol: 50L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	6	**60**	3	**30**	2	**40**
Aureobasidium	ND	**ND**	ND	**ND**	3	**60**

Bipolaris	1	**10**	ND	**ND**	1	**20**
Botrytis	3	**30**	ND	**ND**	ND	**ND**
Cladosporium	22	**220**	14	**140**	10	**200**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Pleospora	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Ulocladium	1	**10**	1	**10**	ND	**ND**
Otros	ND	**ND**	2	**20**	2	**40**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 3	**CUADRO 1 (Vol: 100L)**		**CUADRO 2 (Vol: 100L)**		**CUADRO 3 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	1	**10**	5	**50**	6	**60**
Arthrinium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Aureobasidium	1	**10**	ND	**ND**	5	**50**
Botrytis	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Cladosporium	7	**70**	20	**200**	45	**450**
Drechslera	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Epicoccum	3	**30**	1	**10**	ND	**ND**
Ulocladium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Otros	ND	**ND**	3	**30**	2	**20**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 4	**CUADRO 8 (Vol: 100L)**		**CUADRO 10 (Vol: 100L)**		**CUADRO 11 (Vol: 50L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Acremonium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Alternaria	6	**60**	8	**80**	3	**60**
Aureobasidium	ND	**ND**	2	**20**	1	**20**
Cladosporium	17	**170**	49	**490**	6	**120**
Epicoccum	ND	**ND**	1	**10**	1	**20**
Penicillium	1	**10**	1	**10**	ND	**ND**
Otros	ND	**ND**	3	**30**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 1	CUADRO 5 (Vol: 100L)		CUADRO 11 (Vol: 100L)		CUADRO 16 (Vol: 50L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	3	**30**	5	**50**	13	**260**
Arthrinium	ND	**ND**	1	**10**	1	**20**
Aureobasidium	2	**20**	1	**10**	3	**60**
Cladosporium	40	**400**	15	**150**	168	**3360**
Curvularia	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Drechslera	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Epicoccum	ND	**ND**	1	**10**	4	**80**
Nigrospora	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 2	CUADRO 5 (Vol: 100L)		CUADRO 6 (Vol: 50L)		CUADRO 7 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Acremonium	2	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Alternaria	11	**110**	4	**80**	47	**470**
Arthrinium	2	**20**	ND	**ND**	6	**60**
Aureobasidium	1	**10**	3	**60**	3	**30**
Bipolaris	1	**10**	ND	**ND**	1	**10**
Cladosporium	28	**280**	34	**680**	242	**2420**
Drechslera	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Epicoccum	ND	**ND**	3	**60**	2	**20**
Fusarium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Penicillium	ND	**ND**	1	**20**	2	**20**
Scopulariopsis	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 3	CUADRO 5 (Vol: 100L)		CUADRO 9 (Vol: 100L)		CUADRO 18 (Vol: 50L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	4	**40**	4	**40**	2	**40**
Aureobasidium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Cladosporium	21	**210**	9	**90**	10	**200**

Epicoccum	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Penicillium	2	**20**	ND	**ND**	2	**40**
Otros	ND	**ND**	2	**20**	3	**60**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 4	**CUADRO 2 (Vol: 50L)**		**CUADRO 3 (Vol: 50L)**		**CUADRO 5 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	1	**20**	7	**140**	1	**10**
Arthrinium	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**20**
Aspergillus	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Aureobasidium	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Cladosporium	8	**160**	22	**440**	8	**80**
Eurotium	ND	**ND**	ND	**ND**	6	**60**
Penicillium	1	**20**	ND	**ND**	4	**40**
Scopulariopsis	1	**20**	ND	**ND**	2	**20**
Stachybotrys	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Trichothecium	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**20**
Ulocladium	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**20**
Otros	ND	**ND**	1	**20**	3	**30**

ND: No Determinado

Primavera 2014

TRADICIONAL 1	**CUADRO 1 (Vol: 50L)**		**CUADRO 11B (Vol: 100L)**		**CUADRO 12 (Vol: 50L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	15	**300**	8	**80**	5	**100**
Arthrinium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Cladosporium	147	**2940**	24	**240**	116	**2320**
Phoma	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Otros	2	**40**	ND	**ND**	1	**20**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 2	CUADRO 1 (Vol: 50L)		CUADRO 2 (Vol: 100L)		CUADRO 4 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	8	**160**	8	**80**	4	**40**
Aureobasidium	2	**40**	ND	**ND**	1	**10**
Botrytis	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Cladosporium	29	**580**	58	**580**	27	**270**
Drechslera	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Epicoccum	ND	**ND**	1	**10**	1	**10**
Fusarium	ND	**ND**	2	**20**	ND	**ND**
Penicillium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Phoma	3	**60**	ND	**ND**	ND	**ND**
Ulocladium	ND	**ND**	4	**40**	2	**20**
Otros	3	**60**	4	**40**	7	**70**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 3	CUADRO 1 (Vol: 100L)		CUADRO 2 (Vol: 50L)		CUADRO 3 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	10	**100**	12	**240**	18	**180**
Aureobasidium	2	**20**	1	**20**	1	**10**
Botrytis	4	**40**	1	**20**	1	**10**
Cladosporium	23	**230**	35	**700**	50	**500**
Epicoccum	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	3	**60**	17	**170**
Phoma	1	**10**	ND	**ND**	1	**10**
Otros	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 4	CUADRO 8 (Vol: 100L)		CUADRO 10 (Vol: 100L)		CUADRO 11 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	2	**20**	3	**30**	2	**20**
Aureobasidium	ND	**ND**	1	**10**	2	**20**
Botrytis	2	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**

Cladosporium	11	**110**	9	**90**	13	**130**
Epicoccum	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Geotrichum	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Pleospora	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Otros	4	**40**	ND	**ND**	3	**30**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 1	**CUADRO 5 (Vol: 50L)**		**CUADRO 11 (Vol: 50L)**		**CUADRO 16 (Vol: 50L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	9	**180**	11	**220**	4	**80**
Cladosporium	43	**860**	230	**4600**	19	**380**
Epicoccum	1	**20**	ND	**ND**	2	**40**
Mucor	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Otros	8	**160**	1	**20**	1	**20**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 2	**CUADRO 5 (Vol: 100L)**		**CUADRO 6 (Vol: 100L)**		**CUADRO 7 (Vol: 50L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	2	**20**	25	**250**	28	**560**
Arthrinium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Aureobasidium	1	**10**	3	**30**	ND	**ND**
Cladosporium	4	**40**	123	**1230**	55	**1100**
Epicoccum	1	**10**	4	**40**	ND	**ND**
Penicillium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Otros	ND	**ND**	7	**70**	10	**200**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 3	**CUADRO 5 (Vol: 100L)**		**CUADRO 9 (Vol: 100L)**		**CUADRO 18 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	6	**60**	1	**10**	4	**40**
Aureobasidium	1	**10**	2	**20**	1	**10**
Botrytis	9	**90**	5	**50**	3	**30**

Cladosporium	20	**200**	10	**100**	12	**120**
Epicoccum	1	**10**	ND	**ND**	2	**20**
Moniliella	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Mucor	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Nigrospora	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**20**
Phoma	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Pleospora	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Stemphylium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Wallemia	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Otros	6	**60**	1	**10**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 4	**CUADRO 2 (Vol: 100L)**		**CUADRO 3 (Vol: 100L)**		**CUADRO 5 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	6	**60**	8	**80**	3	**30**
Arthrinium	ND	**ND**	3	**30**	ND	**ND**
Aureobasidium	ND	**ND**	ND	**ND**	17	**170**
Botrytis	7	**70**	1	**10**	14	**140**
Cladosporium	56	**560**	26	**260**	78	**780**
Phoma	ND	**ND**	ND	**ND**	4	**40**
Pleospora	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Otros	1	**10**	2	**20**	2	**20**

ND: No Determinado

Verano 2015

TRADICIONAL 1	**CUADRO 1 (Vol: 50L)**		**CUADRO 11B (Vol: 100L)**		**CUADRO 12 (Vol: 50L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	11	**220**	26	**260**	17	**340**
Aureobasidium	3	**60**	2	**20**	10	**200**
Botrytis	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Cladosporium	52	**1040**	95	**950**	91	**1820**
Fusarium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**

Pleospora	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Otros	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**40**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 2	**CUADRO 1 (Vol: 180L)**		**CUADRO 2 (Vol: 180L)**		**CUADRO 4 (Vol: 180L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Acremonium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**6**
Alternaria	7	**42**	28	**168**	8	**48**
Arthrinium	ND	**ND**	1	**6**	1	**6**
Aureobasidium	ND	**ND**	1	**6**	2	**12**
Botrytis	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**6**
Cladosporium	73	**438**	39	**234**	25	**150**
Drechslera	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**6**
Epicoccum	ND	**ND**	1	**6**	ND	**ND**
Fusarium	ND	**ND**	2	**12**	ND	**ND**
Mycelia sterilia	1	**6**	ND	**ND**	1	**6**
Ulocladium	ND	**ND**	ND	**ND**	3	**18**
Otros	2	**12**	1	**6**	3	**18**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 3	**CUADRO 1 (Vol: 50L)**		**CUADRO 2 (Vol: 100L)**		**CUADRO 3 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	13	**260**	46	**460**	80	**800**
Cladosporium	443	**8860**	788	**7880**	832	**8320**
Epicoccum	ND	**ND**	20	**200**	16	**160**
Fusarium	1	**20**	ND	**ND**	7	**70**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Ulocladium	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Otros	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 4	**CUADRO 8 (Vol: 50L)**		**CUADRO 10 (Vol: 50L)**		**CUADRO 11 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**

Alternaria	7	**140**	19	**380**	18	**180**
Aspergillus	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Botrytis	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Cladosporium	146	**2920**	132	**2640**	150	**1500**
Curvularia	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Epicoccum	1	**20**	8	**160**	1	**10**
Penicillium	1	**20**	ND	**ND**	1	**10**
Ulocladium	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**20**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 1	**CUADRO 5 (Vol: 100L)**		**CUADRO 11 (Vol: 50L)**		**CUADRO 16 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	37	**370**	27	**540**	164	**1640**
Botrytis	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Cladosporium	312	**3120**	436	**8720**	728	**7280**
Drechslera	2	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Epicoccum	13	**130**	4	**80**	22	**220**
Fusarium	ND	**ND**	ND	**ND**	46	**460**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 2	**CUADRO 5 (Vol: 50L)**		**CUADRO 6 (Vol: 100L)**		**CUADRO 7 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	140	**2800**	100	**1000**	80	**800**
Cladosporium	800	**16000**	510	**5100**	294	**2940**
Epicoccum	12	**240**	3	**30**	6	**60**
Fusarium	4	**80**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 3	**CUADRO 5 (Vol: 180L)**		**CUADRO 9 (Vol: 180L)**		**CUADRO 18 (Vol: 180L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Acremonium	1	**6**	ND	**ND**	ND	**ND**
Alternaria	10	**60**	25	**150**	3	**18**
Arthrinium	ND	**ND**	1	**6**	ND	**ND**

Aspergillus	1	**6**	ND	**ND**	2	**12**
Aureobasidium	ND	**ND**	3	**18**	12	**72**
Botrytis	3	**18**	ND	**ND**	1	**6**
Cladosporium	134	**804**	388	**2328**	73	**438**
Curvularia	3	**18**	ND	**ND**	ND	**ND**
Drechslera	9	**54**	ND	**ND**	1	**6**
Epicoccum	1	**6**	4	**24**	ND	**ND**
Fusarium	4	**24**	ND	**ND**	ND	**ND**
Mycelia sterilia	1	**6**	ND	**ND**	1	**6**
Ulocladium	1	**6**	ND	**ND**	ND	**ND**
Otros	5	**30**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 4	**CUADRO 2 (Vol: 50L)**		**CUADRO 3 (Vol: 100L)**		**CUADRO 5 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	8	**160**	13	**130**	6	**60**
Arthrinium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Aureobasidium	ND	**ND**	1	**10**	12	**120**
Botrytis	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Cladosporium	22	**440**	196	**1960**	135	**1350**
Drechslera	ND	**ND**	2	**20**	ND	**ND**
Epicoccum	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Penicillium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Phoma	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Otros	1	**20**	1	**10**	ND	**ND**

ND: No Determinado

2° Año: periodo otoño 2015-verano 2016

Otoño 2015

TRADICIONAL 1	CUADRO 1 (Vol: 100L)		CUADRO 11B (Vol: 50L)		CUADRO 12 (Vol: 50L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	156	**1560**	13	**260**	80	**1600**
Arthrinium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Botrytis	ND	**ND**	ND	**ND**	4	**80**
Cladosporium	713	**7130**	257	**5140**	360	**7200**
Epicoccum	128	**1280**	1	**20**	4	**80**
Fusarium	20	**200**	1	**20**	4	**80**
Mucor	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Penicillium	6	**60**	1	**20**	8	**160**
Otros	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 2	CUADRO 1 (Vol: 50L)		CUADRO 2 (Vol: 100L)		CUADRO 4 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Acremonium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Alternaria	26	**520**	18	**180**	47	**470**
Aureobasidium	1	**20**	ND	**ND**	6	**60**
Bipolaris	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**20**
Cladosporium	104	**2080**	59	**590**	236	**2360**
Curvularia	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Drechslera	ND	**ND**	ND	**ND**	5	**50**
Epicoccum	1	**20**	1	**10**	1	**10**
Fusarium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Penicillium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 3	CUADRO 1 (Vol: 100L)		CUADRO 2 (Vol: 50L)		CUADRO 3 (Vol: 50L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	21	**210**	14	**280**	18	**360**
Aureobasidium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Bipolaris	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Botrytis	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Cladosporium	164	**1640**	105	**2100**	40	**800**
Drechslera	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Epicoccum	13	**130**	12	**240**	5	**100**
Fusarium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Nigrospora	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Penicillium	2	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Ulocladium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Otros	2	**20**	4	**80**	3	**60**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 4	CUADRO 8 (Vol: 100L)		CUADRO 10 (Vol: 50L)		CUADRO 11 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	26	**260**	14	**280**	17	**170**
Aureobasidium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Bipolaris	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Botrytis	11	**110**	ND	**ND**	ND	**ND**
Cladosporium	84	**840**	42	**840**	49	**490**
Epicoccum	7	**70**	9	**180**	9	**90**
Nigrospora	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Ulocladium	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Otros	ND	**ND**	1	**20**	5	**50**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 1	CUADRO 5 (Vol: 100L)		CUADRO 11 (Vol: 100L)		CUADRO 16 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Acremonium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**

Alternaria	6	**60**	9	**90**	7	**70**
Arthrinium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Aureobasidium	2	**20**	ND	**ND**	4	**40**
Cladosporium	36	**360**	58	**580**	78	**780**
Epicoccum	14	**140**	6	**60**	1	**10**
Fusarium	ND	**ND**	1	**10**	1	**10**
Penicillium	1	**10**	ND	**ND**	1	**10**
Ulocladium	ND	**ND**	2	**20**	ND	**ND**
Otros	ND	**ND**	1	**10**	6	**60**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 2	**CUADRO 5 (Vol: 50L)**		**CUADRO 6 (Vol: 50L)**		**CUADRO 7 (Vol: 50L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	5	**100**	9	**180**	10	**200**
Arthrinium	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Aureobasidium	1	**20**	2	**40**	3	**60**
Botrytis	ND	**ND**	2	**40**	ND	**ND**
Cladosporium	70	**1400**	72	**1440**	81	**1620**
Epicoccum	2	**40**	5	**100**	6	**120**
Fusarium	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Nigrospora	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Penicillium	2	**40**	ND	**ND**	2	**40**
Otros	1	**20**	ND	**ND**	1	**20**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 3	**CUADRO 5 (Vol: 100L)**		**CUADRO 9 (Vol: 100L)**		**CUADRO 18 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	10	**100**	15	**150**	16	**160**
Aureobasidium	3	**30**	ND	**ND**	2	**20**
Botrytis	3	**30**	3	**30**	2	**20**
Cladosporium	51	**510**	50	**500**	51	**510**
Drechslera	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**20**

Epicoccum	6	**60**	6	**60**	3	**30**
Geotrichum	2	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Otros	1	**10**	5	**50**	10	**100**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 4	**CUADRO 2 (Vol: 100L)**		**CUADRO 3 (Vol: 50L)**		**CUADRO 5 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	8	**80**	7	**140**	24	**240**
Arthrinium	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Aspergillus	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Aureobasidium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Botrytis	ND	**ND**	22	**440**	ND	**ND**
Cladosporium	111	**1110**	153	**3060**	154	**1540**
Epicoccum	4	**40**	ND	**ND**	10	**100**
Fusarium	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**20**
Penicillium	2	**20**	1	**20**	ND	**ND**
Sordaria	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Otros	6	**60**	5	**100**	7	**70**

ND: No Determinado

Invierno 2015

TRADICIONAL 1	**CUADRO 1 (Vol: 100L)**		**CUADRO 11B (Vol: 50L)**		**CUADRO 12 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	7	**70**	8	**160**	3	**30**
Arthrinium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Aureobasidium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Botrytis	1	**10**	ND	**ND**	1	**10**
Cladosporium	4	**40**	82	**1640**	96	**960**
Drechslera	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Epicoccum	1	**10**	1	**20**	ND	**ND**
Mycelia sterilia	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Phoma	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 2	CUADRO 1 (Vol: 100L)		CUADRO 2 (Vol: 50L)		CUADRO 4 (Vol: 50L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	18	**180**	2	**40**	16	**320**
Aureobasidium	ND	**ND**	1	**20**	3	**60**
Cladosporium	138	**1380**	14	**280**	80	**1600**
Drechslera	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Epicoccum	10	**100**	ND	**ND**	3	**60**
Fusarium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Pleospora	2	**20**	ND	**ND**	2	**40**
Otros	2	**20**	1	**20**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 3	CUADRO 1 (Vol: 100L)		CUADRO 2 (Vol: 100L)		CUADRO 3 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	7	70	15	150	12	120
Aspergillus	1	10	ND	**ND**	ND	**ND**
Botrytis	ND	**ND**	1	10	1	10
Cladosporium	42	420	71	710	58	580
Drechslera	1	10	ND	**ND**	ND	**ND**
Epicoccum	3	30	3	30	4	40
Penicillium	1	10	3	30	2	20
Ulocladium	ND	**ND**	1	10	ND	**ND**
Otros	1	10	ND	**ND**	1	10

ND: No Determinado

TRADICIONAL 4	CUADRO 8 (Vol: 50L)		CUADRO 10 (Vol: 100L)		CUADRO 11 (Vol: 50L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	8	**160**	13	**130**	7	**140**
Cladosporium	26	**520**	38	**380**	30	**600**
Epicoccum	1	**20**	3	**30**	4	**80**
Fusarium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**

Mycelia sterilia	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Otros	ND	**ND**	2	**20**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 1	**CUADRO 5 (Vol: 100L)**		**CUADRO 11 (Vol: 100L)**		**CUADRO 16 (Vol: 50L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Acremonium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Alternaria	7	**70**	23	**230**	13	**260**
Aureobasidium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Bipolaris	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Cladosporium	28	**280**	70	**700**	26	**520**
Drechslera	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Epicoccum	1	**10**	2	**20**	2	**40**
Penicillium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Ulocladium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Otros	ND	**ND**	1	**10**	1	**20**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 2	**CUADRO 5 (Vol: 100L)**		**CUADRO 6 (Vol: 100L)**		**CUADRO 7 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	10	**100**	6	**60**	146	**1460**
Arthrinium	3	**30**	ND	**ND**	ND	**ND**
Botrytis	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Cladosporium	16	**160**	85	**850**	300	**3000**
Epicoccum	ND	**ND**	2	**20**	4	**40**
Penicillium	ND	**ND**	ND	**ND**	3	**30**
Ulocladium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 3	**CUADRO 5 (Vol: 100L)**		**CUADRO 9 (Vol: 100L)**		**CUADRO 18 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	7	70	9	90	18	180

Arthrinium	ND	**ND**	1	10	2	20
Botrytis	ND	**ND**	2	20	4	40
Cladosporium	37	370	103	1030	333	3330
Drechslera	1	10	ND	**ND**	2	20
Epicoccum	ND	**ND**	1	10	3	30
Fusarium	ND	**ND**	1	10	1	10
Mycelia sterilia	1	10	ND	**ND**	ND	**ND**
Neosartorya	1	10	ND	**ND**	ND	**ND**
Penicillium	ND	**ND**	2	20	2	20
Otros	ND	**ND**	1	10	8	80

ND: No Determinado

ORGÁNICA 4	**CUADRO 2 (Vol: 100L)**		**CUADRO 3 (Vol: 50L)**		**CUADRO 5 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	8	80	1	20	14	140
Aureobasidium	2	20	ND	**ND**	ND	**ND**
Botrytis	ND	**ND**	1	20	4	40
Cladosporium	35	350	12	240	132	1320
Drechslera	ND	**ND**	ND	**ND**	1	10
Fusarium	1	10	ND	**ND**	2	20
Phoma	1	10	ND	**ND**	ND	**ND**
Otros	ND	**ND**	1	20	1	10

ND: No Determinado

Primavera 2015

TRADICIONAL 1	**CUADRO 1 (Vol: 100L)**		**CUADRO 11B (Vol: 50L)**		**CUADRO 12 (Vol: 50L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	2	**20**	18	**360**	1	**20**
Arthrinium	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Aureobasidium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Botrytis	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**

Cladosporium	14	**140**	105	**2100**	4	**80**
Epicoccum	1	**10**	1	**20**	ND	**ND**
Ulocladium	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Otros	2	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 2	**CUADRO 1 (Vol: 100L)**		**CUADRO 2 (Vol: 100L)**		**CUADRO 4 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	8	**80**	3	**30**	21	**210**
Aspergillus	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Botrytis	ND	**ND**	2	**20**	ND	**ND**
Cladosporium	15	**150**	17	**170**	59	**590**
Curvularia	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Drechslera	1	**10**	ND	**ND**	1	**10**
Fusarium	2	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Phoma	1	**10**	ND	**ND**	1	**10**
Ulocladium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Otros	2	**20**	ND	**ND**	2	**20**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 3	**CUADRO 1 (Vol: 100L)**		**CUADRO 2 (Vol: 100L)**		**CUADRO 3 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	7	70	3	30	7	70
Aureobasidium	4	40	4	40	1	10
Cladosporium	21	210	6	60	10	100
Fusarium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	10
Phoma	1	10	ND	**ND**	ND	**ND**
Pleospora	1	10	ND	**ND**	ND	**ND**
Ulocladium	1	10	ND	**ND**	ND	**ND**
Otros	2	20	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 4	CUADRO 8 (Vol: 50L)		CUADRO 10 (Vol: 100L)		CUADRO 11 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Acremonium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Alternaria	2	**40**	4	**40**	ND	**ND**
Aureobasidium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Cladosporium	5	**100**	7	**70**	6	**60**
Phoma	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Ulocladium	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Otros	3	**60**	2	**20**	1	**10**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 1	CUADRO 5 (Vol: 100L)		CUADRO 11 (Vol: 100L)		CUADRO 16 (Vol: 50L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	1	**10**	12	**120**	7	**140**
Arthrinium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Aureobasidium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Cladosporium	4	**40**	12	**120**	8	**160**
Epicoccum	4	**40**	2	**20**	ND	**ND**
Nigrospora	ND	**ND**	ND	**ND**	3	**60**
Ulocladium	1	**10**	1	**10**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 2	CUADRO 5 (Vol: 100L)		CUADRO 6 (Vol: 100L)		CUADRO 7 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	1	**10**	8	**80**	6	**60**
Arthrinium	4	**40**	ND	**ND**	1	**10**
Aureobasidium	ND	**ND**	2	**20**	ND	**ND**
Cladosporium	9	**90**	9	**90**	7	**70**
Drechslera	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Emericella	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Epicoccum	2	**20**	ND	**ND**	2	**20**
Nigrospora	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**

Penicillium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Trichoderma	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Ulocladium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 3	**CUADRO 5 (Vol: 100L)**		**CUADRO 9 (Vol: 50L)**		**CUADRO 18 (Vol: 50L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	1	10	4	80	ND	**ND**
Arthrinium	ND	**ND**	ND	**ND**	2	40
Aureobasidium	1	10	ND	**ND**	1	20
Botrytis	ND	**ND**	ND	**ND**	2	40
Cladosporium	6	60	10	200	33	660
Drechslera	ND	**ND**	1	20	ND	**ND**
Epicoccum	ND	**ND**	ND	**ND**	1	20
Nigrospora	ND	**ND**	ND	**ND**	1	20
Otros	2	20	3	60	1	20

ND: No Determinado

ORGÁNICA 4	**CUADRO 2 (Vol: 100L)**		**CUADRO 3 (Vol: 100L)**		**CUADRO 5 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	2	20	2	20	3	30
Arthrinium	1	10	1	10	ND	**ND**
Aspergillus	ND	**ND**	ND	**ND**	1	10
Aureobasidium	2	20	2	20	1	10
Botrytis	ND	**ND**	2	20	ND	**ND**
Cladosporium	4	40	15	150	11	110
Drechslera	1	10	1	10	ND	**ND**
Phoma	ND	**ND**	1	10	ND	**ND**
Trichoderma	ND	**ND**	ND	**ND**	3	30
Otros	ND	**ND**	1	10	1	10

ND: No Determinado

Verano 2016

TRADICIONAL 1	CUADRO 1 (Vol: 50L)		CUADRO 11B (Vol: 100L)		CUADRO 12 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	13	**260**	11	**110**	17	**170**
Aureobasidium	ND	**ND**	1	**10**	1	**10**
Bipolaris	7	**140**	ND	**ND**	1	**10**
Chrysonilia	ND	**ND**	2	**20**	ND	**ND**
Cladosporium	10	**200**	27	**270**	25	**250**
Epicoccum	3	**60**	2	**20**	1	**10**
Mycelia sterilia	3	**60**	ND	**ND**	1	**10**
Nigrospora	ND	**ND**	1	**10**	2	**20**
Otros	ND	**ND**	3	**30**	2	**20**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 2	CUADRO 1 (Vol: 50L)		CUADRO 2 (Vol: 100L)		CUADRO 4 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	11	**220**	38	**380**	18	**180**
Aspergillus	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Bipolaris	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Cladosporium	11	**220**	64	**640**	42	**420**
Curvularia	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Drechslera	1	**20**	ND	**ND**	1	**10**
Epicoccum	ND	**ND**	1	**10**	2	**20**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Nigrospora	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Phoma	ND	**ND**	1	**10**	1	**10**
Otros	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 3	CUADRO 1 (Vol: 100L)		CUADRO 2 (Vol: 50L)		CUADRO 3 (Vol: 50L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	32	**320**	26	**520**	20	**400**

Aureobasidium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Cladosporium	83	**830**	65	**1300**	50	**1000**
Drechslera	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Epicoccum	3	**30**	6	**120**	3	**60**
Fusarium	8	**80**	2	**40**	ND	**ND**
Nigrospora	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Phoma	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Ulocladium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Otros	ND	**ND**	ND	**ND**	10	**200**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 4	**CUADRO 8 (Vol: 100L)**		**CUADRO 10 (Vol: 100L)**		**CUADRO 11 (Vol: 50L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	43	**430**	14	**140**	17	**340**
Bipolaris	ND	**ND**	1	**10**	1	**20**
Botrytis	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Cladosporium	176	**1760**	36	**360**	27	**540**
Drechslera	5	**50**	1	**10**	ND	**ND**
Epicoccum	3	**30**	3	**30**	ND	**ND**
Fusarium	6	**60**	ND	**ND**	ND	**ND**
Nigrospora	ND	**ND**	4	**40**	ND	**ND**
Ulocladium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Otros	ND	**ND**	1	**10**	5	**100**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 1	**CUADRO 5 (Vol: 50L)**		**CUADRO 11 (Vol: 100L)**		**CUADRO 16 (Vol: 50L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	31	**620**	24	**240**	17	**340**
Aureobasidium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Cladosporium	34	**680**	80	**800**	16	**320**
Epicoccum	18	**360**	17	**170**	15	**300**
Fusarium	2	**40**	11	**110**	1	**20**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 2	CUADRO 5 (Vol: 100L)		CUADRO 6 (Vol: 50L)		CUADRO 7 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	19	**190**	22	**440**	128	**1280**
Bipolaris	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Cladosporium	43	**430**	16	**320**	240	**2400**
Curvularia	8	**80**	ND	**ND**	ND	**ND**
Drechslera	25	**250**	14	**280**	52	**520**
Epicoccum	9	**90**	3	**60**	4	**40**
Fusarium	ND	**ND**	ND	**ND**	3	**30**
Otros	19	**190**	22	**440**	128	**1280**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 3	CUADRO 5 (Vol: 100L)		CUADRO 9 (Vol: 50L)		CUADRO 18 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	8	**80**	24	**480**	64	**640**
Arthrinium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Aureobasidium	1	**10**	1	**20**	ND	**ND**
Botrytis	27	**270**	32	**640**	19	**190**
Cladosporium	48	**480**	315	**6300**	704	**7040**
Drechslera	ND	**ND**	ND	**ND**	3	**30**
Epicoccum	3	**30**	19	**380**	16	**160**
Fusarium	ND	**ND**	8	**160**	1	**10**
Mycelia sterilia	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Ulocladium	ND	**ND**	ND	**ND**	3	**30**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 4	CUADRO 2 (Vol: 100L)		CUADRO 3 (Vol: 50L)		CUADRO 5 (Vol: 50L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	16	**160**	3	**60**	3	**60**
Aureobasidium	1	**10**	ND	**ND**	12	**240**
Bipolaris	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**

Botrytis	6	**60**	34	**680**	25	**500**
Cladosporium	43	**430**	6	**120**	49	**980**
Drechslera	2	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Epicoccum	1	**10**	ND	**ND**	1	**20**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**40**
Nigrospora	1	**10**	ND	**ND**	1	**20**
Phoma	ND	**ND**	ND	**ND**	3	**60**
Otros	10	**100**	1	**20**	ND	**ND**

ND: No Determinado

3° Año: periodo otoño 2016-verano 2017

Otoño 2016

TRADICIONAL 1	CUADRO 1 (Vol: 100L)		CUADRO 11B (Vol: 100L)		CUADRO 12 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	ND	**ND**	2	**20**	ND	**ND**
Cladosporium	17	**170**	28	**280**	14	**140**
Epicoccum	10	**100**	9	**90**	13	**130**
Mycelia sterilia	1	**10**	1	**10**	ND	**ND**
Otros	1	**10**	2	**20**	2	**20**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 2	CUADRO 1 (Vol: 100L)		CUADRO 2 (Vol: 100L)		CUADRO 4 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	13	**130**	16	**160**	6	**60**
Aureobasidium	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**20**
Botrytis	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Cladosporium	37	**370**	36	**360**	54	**540**
Epicoccum	13	**130**	9	**90**	11	**110**
Nigrospora	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Phoma	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 3	CUADRO 1 (Vol: 50L)		CUADRO 2 (Vol: 50L)		CUADRO 3 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	8	**160**	14	**280**	18	**180**
Aspergillus	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Aureobasidium	1	**20**	4	**80**	6	**60**
Botrytis	3	**60**	1	**20**	4	**40**
Cladosporium	28	**560**	40	**800**	35	**350**
Epicoccum	14	**280**	11	**220**	14	**140**

Mycelia sterilia	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Ulocladium	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 4	**CUADRO 8 (Vol: 100L)**		**CUADRO 10 (Vol: 100L)**		**CUADRO 11 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	100	**1000**	10	**100**	8	**80**
Aureobasidium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Bipolaris	2	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Botrytis	32	**320**	10	**100**	3	**30**
Cladosporium	300	**3000**	36	**360**	88	**880**
Drechslera	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Epicoccum	54	**540**	8	**80**	38	**380**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 1	**CUADRO 5 (Vol: 100L)**		**CUADRO 11 (Vol: 100L)**		**CUADRO 16 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	3	**30**	2	**20**	4	**40**
Arthrinium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Botrytis	ND	**ND**	1	**10**	1	**10**
Cladosporium	11	**110**	14	**140**	17	**170**
Drechslera	1	**10**	1	**10**	ND	**ND**
Epicoccum	12	**120**	13	**130**	10	**100**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	2	**20**	ND	**ND**
Otros	2	**20**	2	**20**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 2	**CUADRO 5 (Vol: 50L)**		**CUADRO 6 (Vol: 100L)**		**CUADRO 7 (Vol: 50L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	19	**380**	6	**60**	7	**140**
Arthrinium	1	**20**	2	**20**	ND	**ND**
Cladosporium	8	**160**	46	**460**	120	**2400**

Curvularia	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Epicoccum	13	**260**	38	**380**	38	**760**
Mycelia sterilia	1	**20**	1	**10**	2	**40**
Otros	2	**40**	4	**40**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 3	**CUADRO 5 (Vol: 50L)**		**CUADRO 9 (Vol: 100L)**		**CUADRO 18 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	16	**320**	22	**220**	23	**230**
Arthrinium	1	20	ND	**ND**	ND	**ND**
Aureobasidium	4	80	4	**40**	ND	**ND**
Botrytis	7	140	4	**40**	ND	**ND**
Cladosporium	85	1700	107	**1070**	97	**970**
Epicoccum	5	100	11	**110**	31	**310**
Penicillium	ND	**ND**	2	**20**	ND	**ND**
Phoma	1	20	ND	**ND**	ND	**ND**
Otros	5	100	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 4	**CUADRO 2 (Vol: 100L)**		**CUADRO 3 (Vol: 100L)**		**CUADRO 5 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	6	**60**	11	**110**	8	**80**
Arthrinium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Aureobasidium	5	**50**	1	**10**	1	**10**
Botrytis	6	**60**	4	**40**	9	**90**
Cladosporium	125	**1250**	20	**200**	42	**420**
Epicoccum	10	**100**	2	**20**	10	**100**
Fusarium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Mycelia sterilia	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Stemphylium	ND	**ND**	2	**20**	ND	**ND**
Otros	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**

ND: No Determinado

Invierno 2016

TRADICIONAL 1	**CUADRO 1 (Vol: 100L)**		**CUADRO 11B (Vol: 100L)**		**CUADRO 12 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	7	**70**	10	**100**	4	**40**
Aureobasidium	3	**30**	4	**40**	ND	**ND**
Cladosporium	23	**230**	19	**190**	11	**110**
Drechslera	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Epicoccum	3	**30**	ND	**ND**	ND	**ND**
Fusarium	2	**20**	ND	**ND**	1	**10**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Penicillium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 2	**CUADRO 1 (Vol: 100L)**		**CUADRO 2 (Vol: 100L)**		**CUADRO 4 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	1	**10**	7	**70**	2	**20**
Aureobasidium	ND	**ND**	10	**100**	ND	**ND**
Botrytis	1	**10**	1	**10**	ND	**ND**
Cladosporium	6	**60**	31	**310**	9	**90**
Epicoccum	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Mycelia sterilia	1	**10**	2	**20**	ND	**ND**
Phoma	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Otros	ND	**ND**	1	**10**	2	**20**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 3	**CUADRO 1 (Vol: 100L)**		**CUADRO 2 (Vol: 100L)**		**CUADRO 3 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	3	**30**	2	**20**	5	**50**
Aureobasidium	2	**20**	2	**20**	ND	**ND**
Botrytis	ND	**ND**	ND	**ND**	3	**30**
Cladosporium	16	**160**	13	**130**	11	**110**

Epicoccum	ND	**ND**	ND	**ND**	6	**60**
Fusarium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Penicillium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Phoma	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Otros	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 4	**CUADRO 8 (Vol: 100L)**		**CUADRO 10 (Vol: 100L)**		**CUADRO 11 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	4	**40**	3	**30**	5	**50**
Aureobasidium	1	**10**	ND	**ND**	3	**30**
Bipolaris	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Botrytis	ND	**ND**	4	**40**	1	**10**
Cladosporium	6	**60**	11	**110**	25	**250**
Epicoccum	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Fusarium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Phoma	ND	**ND**	1	**10**	1	**10**
Otros	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 1	**CUADRO 5 (Vol: 100L)**		**CUADRO 11 (Vol: 100L)**		**CUADRO 16 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	9	**90**	5	**50**	6	**60**
Aspergillus	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Aureobasidium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Cladosporium	5	**50**	10	**100**	31	**310**
Drechslera	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**20**
Otros	ND	**ND**	2	**20**	1	**10**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 2	CUADRO 5 (Vol: 50L)		CUADRO 6 (Vol: 100L)		CUADRO 7 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	6	**120**	1	**10**	ND	**ND**
Arthrinium	1	**20**	ND	**ND**	1	**10**
Cladosporium	15	**300**	2	**20**	5	**50**
Epicoccum	9	**180**	ND	**ND**	2	**20**
Fusarium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Otros	2	**40**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 3	1° AÑO		2° AÑO		3° AÑO	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	7	**70**	5	**50**	1	**20**
Arthrinium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Aureobasidium	2	**20**	2	**20**	1	**20**
Botrytis	ND	**ND**	3	**30**	ND	**ND**
Cladosporium	11	**110**	19	**190**	3	**60**
Epicoccum	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Fusarium	2	**20**	1	**10**	ND	**ND**
Penicillium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Phoma	2	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Pleospora	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Ulocladium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Otros	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 4	1° AÑO		2° AÑO		3° AÑO	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	4	**40**	2	**20**	3	**60**
Arthrinium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Aureobasidium	3	**30**	ND	**ND**	ND	**ND**
Botrytis	2	**20**	6	**60**	1	**20**

Cladosporium	22	**220**	14	**140**	3	**60**
Epicoccum	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Penicillium	1	**10**	ND	**ND**	1	**20**

ND: No Determinado

Primavera 2016

TRADICIONAL 1	**CUADRO 1 (Vol: 100L)**		**CUADRO 11B (Vol: 100L)**		**CUADRO 12 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	11	**110**	5	**50**	4	**40**
Arthrinium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Aureobasidium	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**20**
Cladosporium	42	**420**	55	**550**	25	**250**
Drechslera	1	**10**	ND	**ND**	1	**10**
Epicoccum	5	**50**	2	**20**	1	**10**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Trichoderma	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Otros	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 2	**CUADRO 1 (Vol: 50L)**		**CUADRO 2 (Vol: 100L)**		**CUADRO 4 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	2	**40**	6	**60**	10	**100**
Arthrinium	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**20**
Aureobasidium	1	**20**	3	**30**	ND	**ND**
Bipolaris	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Botrytis	2	**40**	1	**10**	2	**20**
Cladosporium	26	**520**	12	**120**	32	**320**
Epicoccum	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Fusarium	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	3	**30**	ND	**ND**
Otros	2	**40**	6	**60**	2	**20**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 3	CUADRO 1 (Vol: 50L)		CUADRO 2 (Vol: 100L)		CUADRO 3 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	3	**60**	4	**40**	26	**260**
Aureobasidium	1	**20**	ND	**ND**	1	**10**
Cladosporium	68	**1360**	7	**70**	316	**3160**
Epicoccum	ND	**ND**	ND	**ND**	5	**50**
Mycelia sterilia	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Phoma	ND	**ND**	4	**40**	ND	**ND**
Otros	2	**40**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 4	CUADRO 8 (Vol: 100L)		CUADRO 10 (Vol: 100L)		CUADRO 11 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Acremonium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Alternaria	4	**40**	2	**20**	3	**30**
Arthrinium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Botrytis	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Cladosporium	11	**110**	11	**110**	6	**60**
Epicoccum	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Phoma	ND	**ND**	1	**10**	1	**10**
Otros	3	**30**	1	**10**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 1	CUADRO 5 (Vol: 100L)		CUADRO 11 (Vol: 100L)		CUADRO 16 (Vol: 50L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	11	**110**	17	**170**	10	**200**
Arthrinium	2	**20**	ND	**ND**	4	**80**
Aureobasidium	2	**20**	2	**20**	ND	**ND**
Botrytis	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Cladosporium	21	**210**	85	**850**	201	**4020**

Epicoccum	4	**40**	3	**30**	6	**120**
Fusarium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**20**
Phoma	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Ulocladium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 2	**CUADRO 5 (Vol: 50L)**		**CUADRO 6 (Vol: 100L)**		**CUADRO 7 (Vol: 50L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	5	**100**	27	**270**	11	**220**
Arthrinium	1	**20**	2	**20**	3	**60**
Cladosporium	4	**80**	20	**200**	5	**100**
Drechslera	ND	**ND**	3	**30**	1	**20**
Epicoccum	2	**40**	27	**270**	2	**40**
Fusarium	ND	**ND**	2	**20**	ND	**ND**
Phoma	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 3	**CUADRO 5 (Vol: 50L)**		**CUADRO 9 (Vol: 100L)**		**CUADRO 18 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	3	**60**	3	**30**	5	**50**
Arthrinium	2	**40**	1	**10**	ND	**ND**
Aureobasidium	3	**60**	ND	**ND**	2	**20**
Bipolaris	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Botrytis	1	**20**	3	**30**	1	**10**
Cladosporium	12	**240**	15	**150**	4	**40**
Drechslera	3	**60**	ND	**ND**	ND	**ND**
Epicoccum	5	**100**	ND	**ND**	ND	**ND**
Fusarium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Phoma	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**
Otros	2	**40**	ND	**ND**	2	**20**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 4	CUADRO 2 (Vol: 100L)		CUADRO 3 (Vol: 50L)		CUADRO 5 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	4	**40**	2	**40**	6	**60**
Arthrinium	ND	**ND**	5	**100**	ND	**ND**
Aureobasidium	1	**10**	4	**80**	ND	**ND**
Botrytis	7	**70**	78	**1560**	3	**30**
Cladosporium	25	**250**	25	**500**	48	**480**
Epicoccum	ND	**ND**	3	**60**	2	**20**
Penicillium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Trichoderma	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**

ND: No Determinado

Verano 2017

TRADICIONAL 1	CUADRO 1 (Vol: 100L)		CUADRO 11B (Vol: 100L)		CUADRO 12 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	17	**170**	27	**270**	34	**340**
Aureobasidium	2	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Cladosporium	102	**1020**	140	**1400**	170	**1700**
Epicoccum	4	**40**	2	**20**	50	**500**
Fusarium	5	**50**	ND	**ND**	ND	**ND**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Penicillium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Ulocladium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Otros	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 2	CUADRO 1 (Vol: 50L)		CUADRO 2 (Vol: 50L)		CUADRO 4 (Vol: 50L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	7	**140**	10	**200**	18	**360**
Aureobasidium	ND	**ND**	ND	**ND**	2	**40**
Cladosporium	80	**1600**	93	**1860**	338	**6760**

Drechslera	1	**20**	ND	**ND**	ND	**ND**
Epicoccum	ND	**ND**	2	**40**	1	**20**
Penicillium	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Phoma	17	**340**	7	**140**	1	**20**
Ulocladium	ND	**ND**	1	**20**	2	**40**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 3	**CUADRO 1 (Vol: 50L)**		**CUADRO 2 (Vol: 50L)**		**CUADRO 3 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	2	**40**	10	**200**	28	**280**
Aureobasidium	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Cladosporium	144	**2880**	195	**3900**	326	**3260**
Epicoccum	ND	**ND**	7	**140**	6	**60**
Otros	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**

ND: No Determinado

TRADICIONAL 4	**CUADRO 8 (Vol: 100L)**		**CUADRO 10 (Vol: 50L)**		**CUADRO 11 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	22	**220**	8	**160**	11	**110**
Aureobasidium	1	**10**	ND	**ND**	ND	**ND**
Bipolaris	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Cladosporium	127	**1270**	43	**860**	159	**1590**
Drechslera	ND	**ND**	5	**100**	1	**10**
Epicoccum	1	**10**	11	**220**	2	**20**
Penicillium	1	**10**	ND	**ND**	1	**10**
Phoma	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 1	**CUADRO 5 (Vol: 50L)**		**CUADRO 11 (Vol: 100L)**		**CUADRO 16 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	19	**380**	22	**220**	28	**280**
Aureobasidium	2	**40**	ND	**ND**	2	**20**

Cladosporium	81	**1620**	175	**1750**	140	**1400**
Drechslera	ND	**ND**	ND	**ND**	4	**40**
Epicoccum	3	**60**	7	**70**	8	**80**
Fusarium	ND	**ND**	1	**10**	1	**10**
Mycelia sterilia	1	**20**	1	**10**	ND	**ND**
Stemphylium	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 2	**CUADRO 5 (Vol: 50L)**		**CUADRO 6 (Vol: 100L)**		**CUADRO 7 (Vol: 50L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	20	**400**	37	**370**	24	**480**
Arthrinium	1	**20**	ND	**ND**	2	**40**
Aureobasidium	1	**20**	3	**30**	ND	**ND**
Cladosporium	83	**1660**	111	**1110**	165	**3300**
Drechslera	1	**20**	ND	**ND**	1	**20**
Epicoccum	6	**120**	9	**90**	12	**240**
Fusarium	1	**20**	ND	**ND**	1	**20**
Phoma	ND	**ND**	1	**10**	ND	**ND**

ND: No Determinado

ORGÁNICA 3	**CUADRO 5 (Vol: 100L)**		**CUADRO 9 (Vol: 50L)**		**CUADRO 18 (Vol: 100L)**	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	45	**450**	30	**600**	49	**490**
Bipolaris	ND	**ND**	2	**40**	ND	**ND**
Cladosporium	302	**3020**	157	**3140**	810	**8100**
Curvularia	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Drechslera	5	**50**	ND	**ND**	ND	**ND**
Epicoccum	52	**520**	8	**160**	20	**200**
Fusarium	ND	**ND**	2	**40**	2	**20**
Mycelia sterilia	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Ulocladium	2	**20**	ND	**ND**	1	**10**
Otros	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**

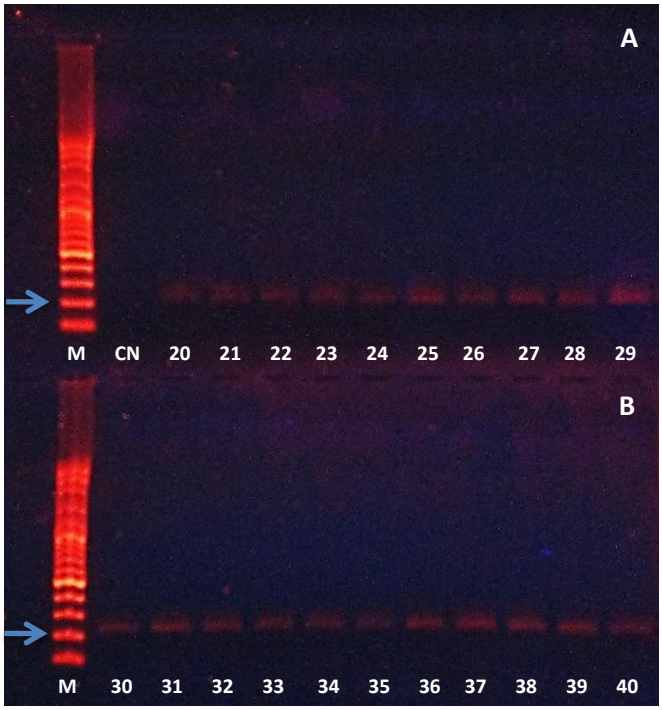
ND: No Determinado

ORGÁNICA 4	CUADRO 2 (Vol: 100L)		CUADRO 3 (Vol: 50L)		CUADRO 5 (Vol: 100L)	
Géneros	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**	N° de aislamientos	**Recuento (UFC/M^3)**
Alternaria	20	**200**	4	**80**	7	**70**
Aspergillus	ND	**ND**	ND	**ND**	1	**10**
Aureobasidium	ND	**ND**	4	**80**	10	**100**
Botrytis	1	**10**	ND	**ND**	1	**10**
Cladosporium	270	**2700**	133	**2660**	720	**7200**
Drechslera	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**
Epicoccum	15	**150**	1	**20**	2	**20**
Fusarium	ND	**ND**	1	**20**	ND	**ND**

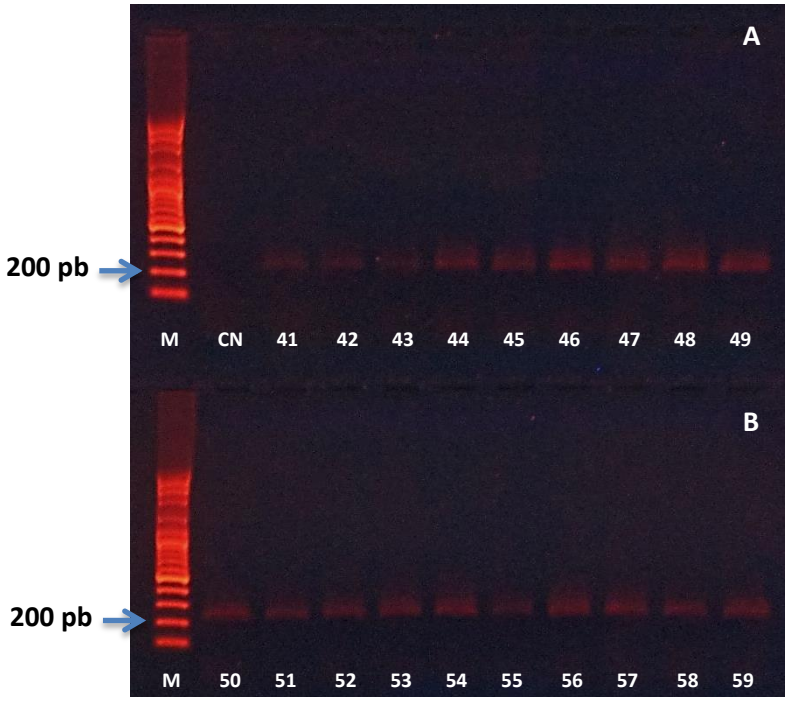
ND: No Determinado

Geles, secuencias de genes y cromatogramas

Geles adicionales de fragmentos de actina de *Cladosporium*



Corrida electroforética de los fragmentos amplificados del gen de actina por PCR de aislamientos de *Cladosporium*. A. Peine superior, M: Marcador ladder de 100 bp; CN: Control negativo; muestras 20-29. B. Peine inferior, M: Marcador ladder de 100 bp; Muestras 30-40.



Corrida electroforética de los fragmentos amplificados del gen de actina por PCR de aislamientos de *Cladosporium*. A. Peine superior, M: Marcador ladder de 100 bp; CN: Control negativo; muestras 41-49. B. Peine inferior, M: Marcador ladder de 100 bp; Muestras 50-59.

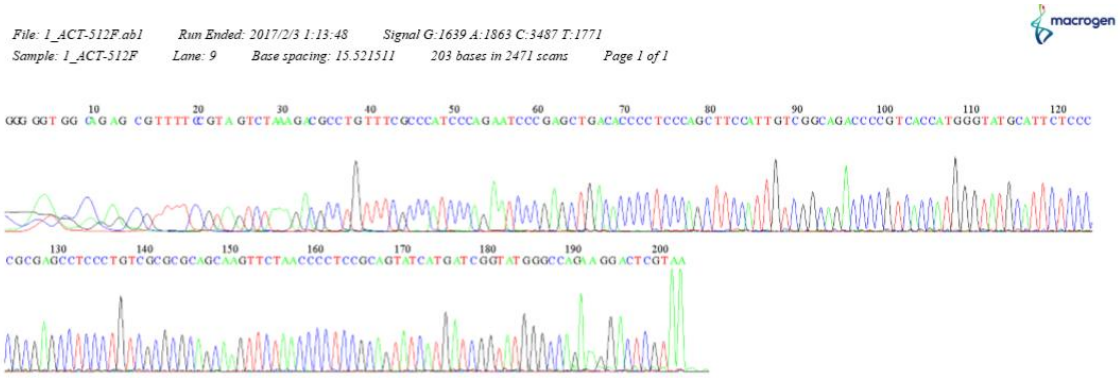
Secuencias de genes y cromatogramas

Género *Cladosporium*

Secuencias de actina:

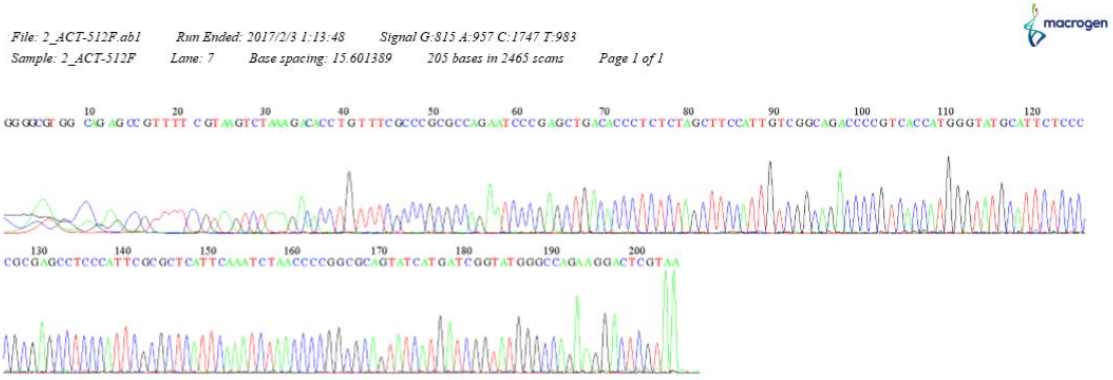
C. cladosporioides 1ACT

GGGGGTGGCAGAGCGTTTTCCGTAGTCTAAAGACGCCTGTTTCGCCCATCCCAGAATCCCGAGCTGACACCCCTCC
CAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCATTCTCCCCGCGAGCCTCCCTGTCGCGCGCAGCAAG
TTCTAACCCCTCCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



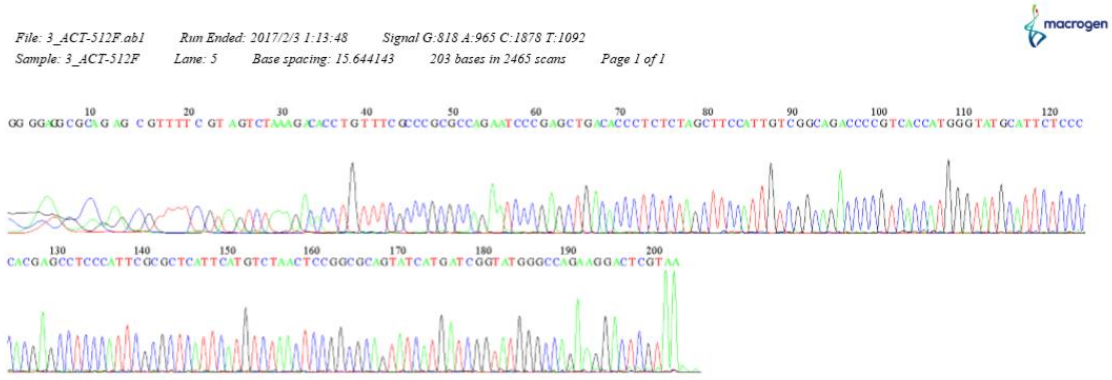
C. pseudocladosporioides 2ACT

GGGGCGTGGCAGAGCCGTTTTCGTAAGTCTAAAGACACCTGTTTCGCCCGCGCCAGAATCCCGAGCTGACACCCT
CTCTAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCATTCTCCCCGCGAGCCTCCCATTCGCGCTCATTC
AAATCTAACCCCGGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



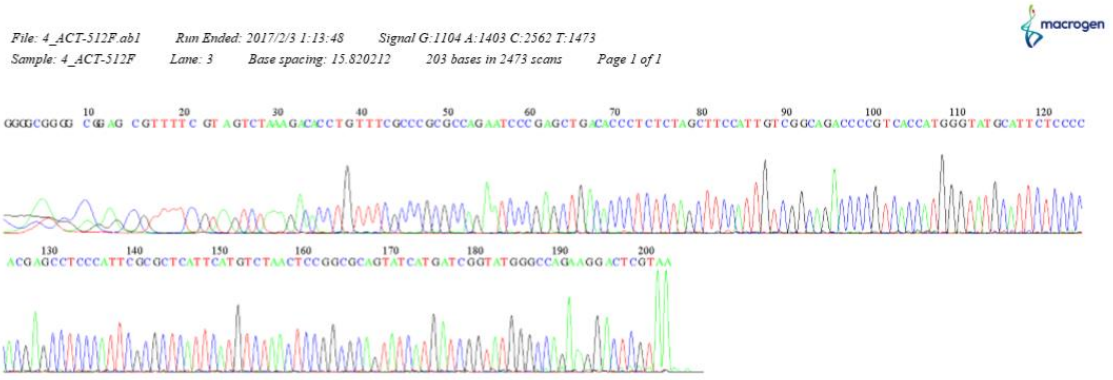
C. pseudocladosporioides 3ACT

GGGGAGGCGCAGAGCGTTTTCGTAGTCTAAAGACACCTGTTTCGCCCGCGCCAGAATCCCGAGCTGACACCCTCT
CTAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCATTCTCCCCACGAGCCTCCCATTCGCGCTCATTCAT
GTCTAACTCCGGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



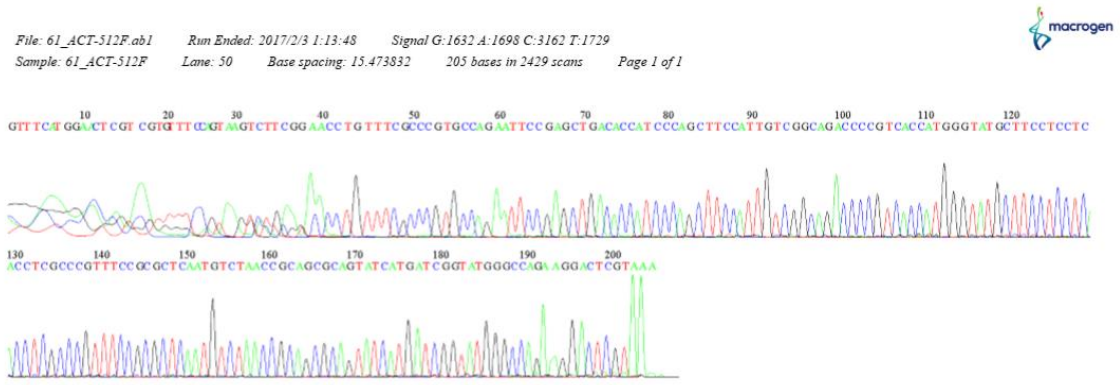
C. pseudocladosporioides 4ACT

GGGGCGGGGCGGAGCGTTTTCGTAGTCTAAAGACACCTGTTTCGCCCGCGCCAGAATCCCGAGCTGACACCCTCT
CTAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCATTCTCCCCACGAGCCTCCCATTCGCGCTCATTCAT
GTCTAACTCCGGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



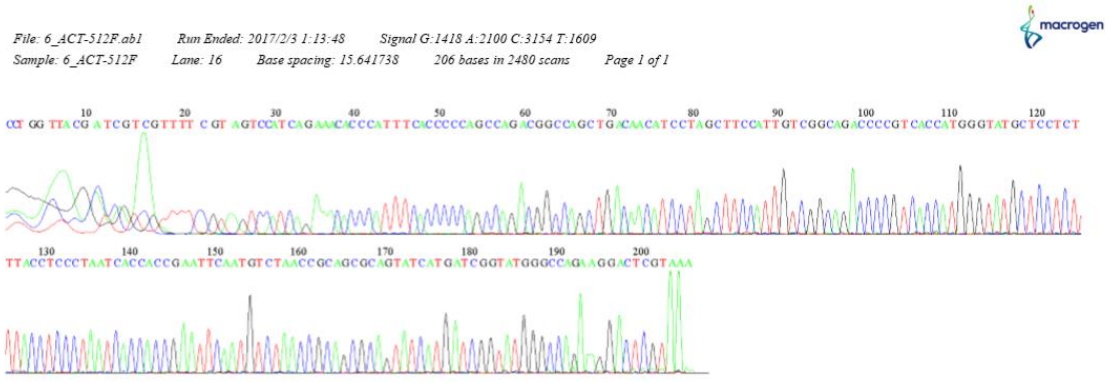
C. asperulatum 5ACT

GTTTCATGGAACTCGTCGTGTTTCCAGTAAGTCTTCGGAACCTGTTTCGCCCGTGCCAGAATTCCGAGCTGACACCA
TCCCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTTCCTCCTCACCTCGCCCGTTTCCGCGCTCAATG
TCTAACCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



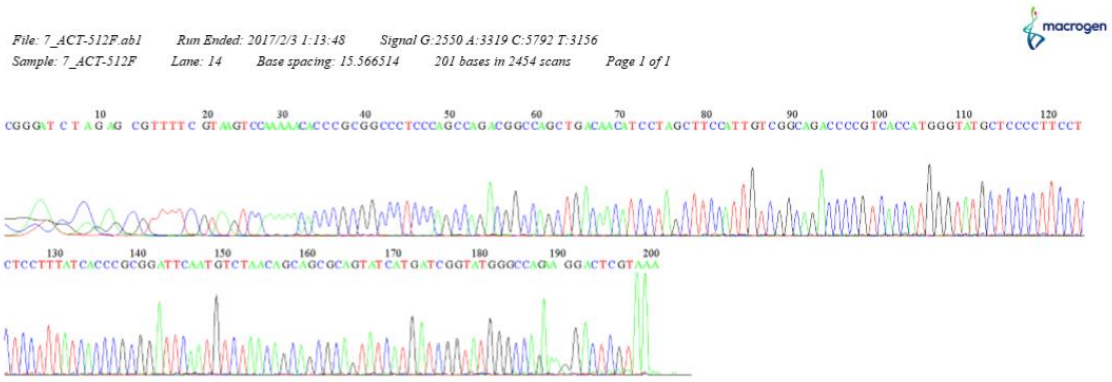
C. macrocarpum 6ACT

CCTGGTTACGATCGTCGTTTTCGTAGTCCATCAGAAACACCCATTTCACCCCCAGCCAGACGGCCAGCTGACAACAT
CCTAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCTCTTTACCTCCCTAATCACCACCGAATTCAATG
TCTAACCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



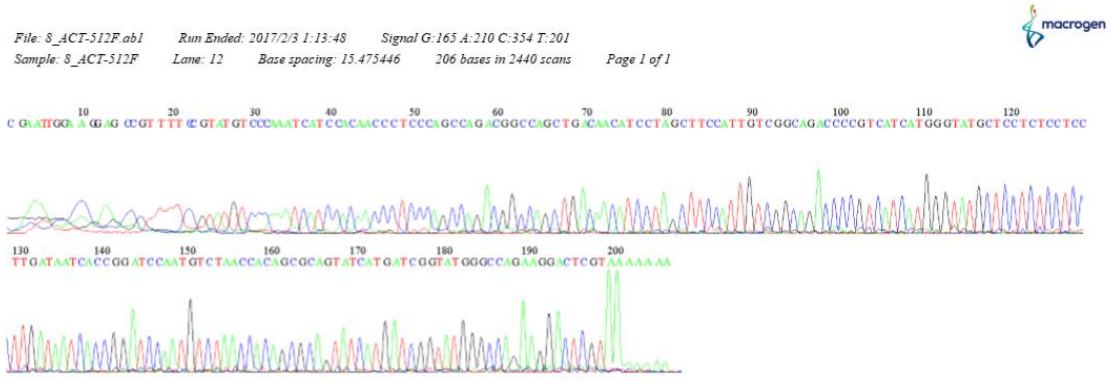
C. subtilissimum 7ACT

CGGGATCTAGAGCGTTTTCGTAAGTCCAAAAACACCCGCGGCCCTCCCAGCCAGACGGCCAGCTGACAACATCCT
AGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCCCTTCCTCTCCTTTATCACCCGCGGATTCAATGTCT
AACAGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



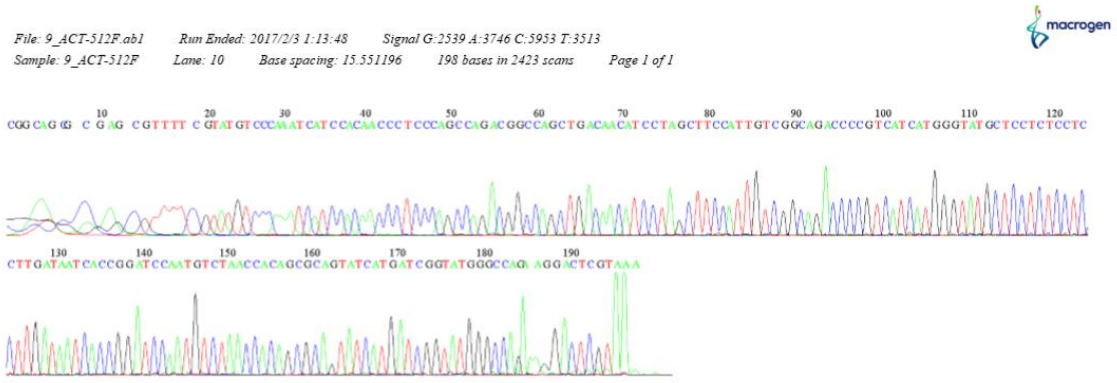
C. sp. 8ACT

CGAATTGGAAGGAGCCGTTTTCCGTATGTCCCAAATCATCCACAACCCTCCCAGCCAGACGGCCAGCTGACAACAT
CCTAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCATCATGGGTATGCTCCTCTCCTCCTTGATAATCACCGGATCCAATGTC
TAACCACAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAAAAAA



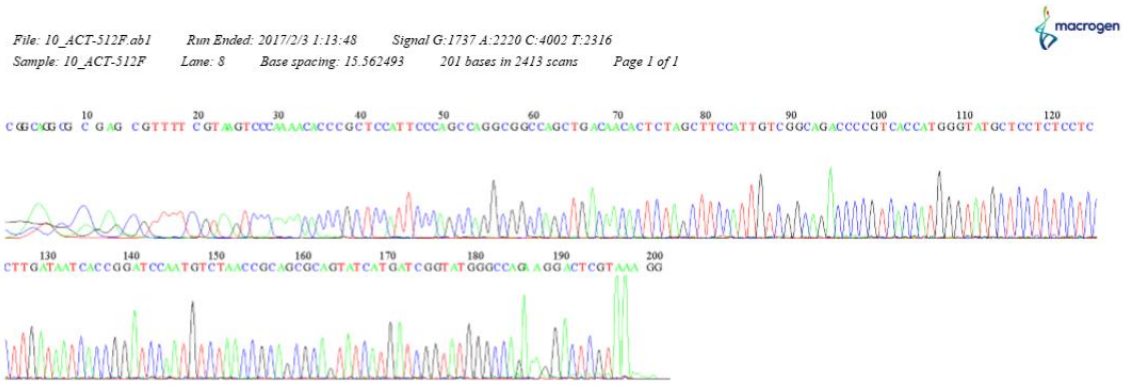
C. sp. 9ACT

CGGCAGCGCGAGCGTTTTCGTATGTCCCAAATCATCCACAACCCTCCCAGCCAGACGGCCAGCTGACAACATCCTA
GCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCATCATGGGTATGCTCCTCTCCTCCTTGATAATCACCGGATCCAATGTCTAAC
CACAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



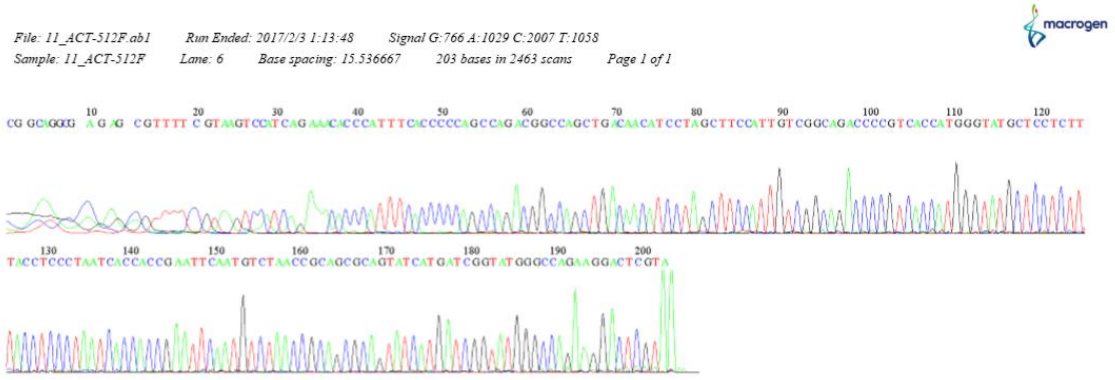
C. sp. 10ACT

CGGCAGGCGCGAGCGTTTTCGTAAGTCCCAAAACACCCGCTCCATTCCCAGCCAGGCGGCCAGCTGACAACACTCT
AGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCTCTCCTCCTTGATAATCACCGGATCCAATGTCTAA
CCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAAGG



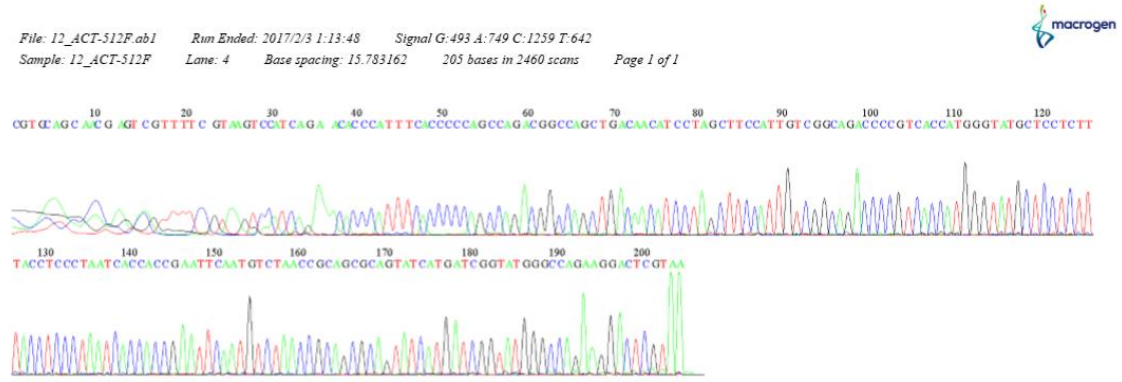
C. macrocarpum 11ACT

CGGCAGGCGAGAGCGTTTTCGTAAGTCCATCAGAAACACCCATTTCACCCCCAGCCAGACGGCCAGCTGACAACA
TCCTAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCTCTTTACCTCCCTAATCACCACCGAATTCAAT
GTCTAACCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTA



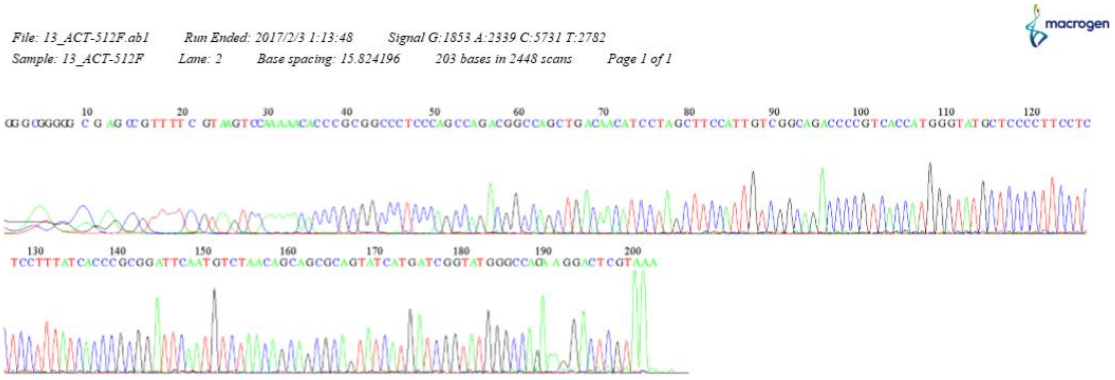
C. macrocarpum 12ACT

CGTGCAGCAACGAGTCGTTTTCGTAAGTCCATCAGAACACCCATTTCACCCCCAGCCAGACGGCCAGCTGACAACA
TCCTAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCTCTTTACCTCCCTAATCACCACCGAATTCAAT
GTCTAACCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



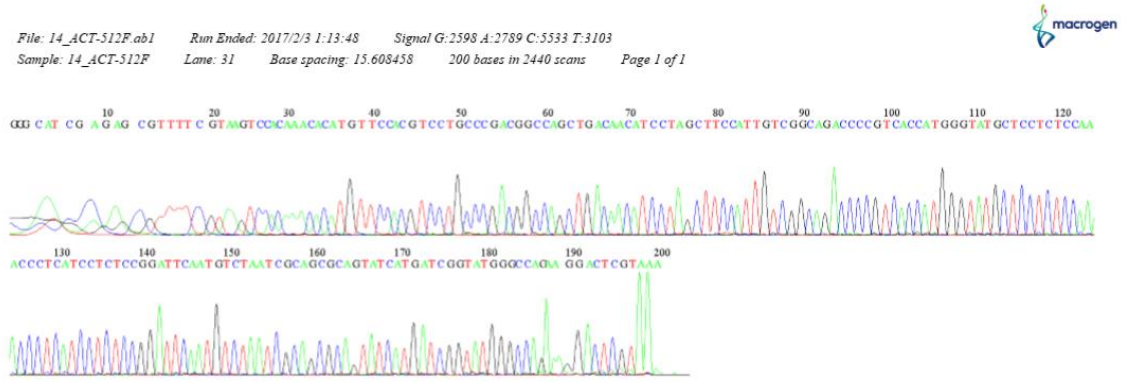
C. subtilissimum 13ACT

GGGCGGGGGCGAGCCGTTTTCGTAAGTCCAAAAACACCCGCGGCCCTCCCAGCCAGACGGCCAGCTGACAACATC
CTAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCCCTTCCTCTCCTTTATCACCCGCGGATTCAATGT
CTAACAGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



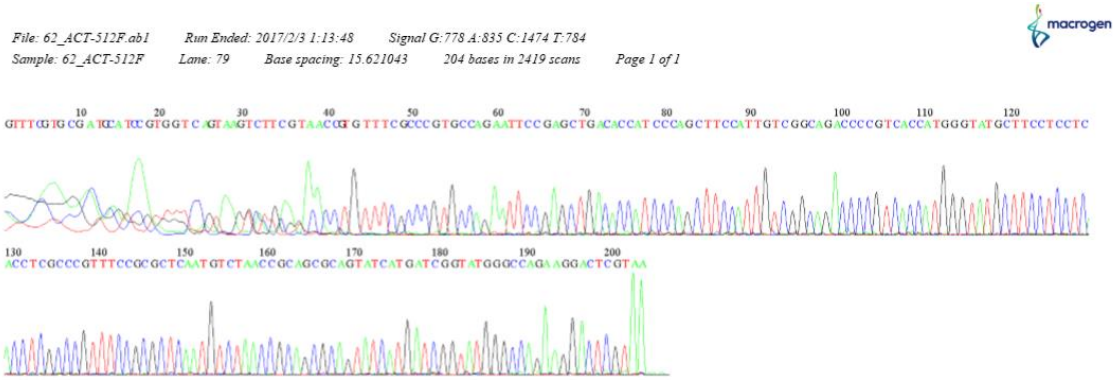
C. aggregatocicatricatum 14ACT

GGGCATCGAGAGCGTTTTCGTAAGTCCACAAACACATGTTCCACGTCCTGCCCGACGGCCAGCTGACAACATCCTA
GCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCTCTCCAAACCCTCATCCTCTCCGGATTCAATGTCTA
ATCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



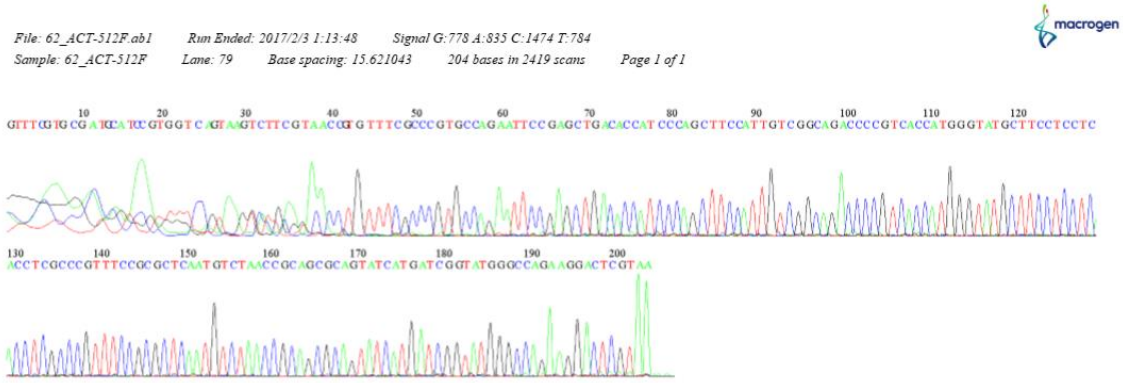
C. asperulatum 15ACT

GTTTCGTGCGATGCATCCGTGGTCAGTAAGTCTTCGTAACCGTGTTTCGCCCGTGCCAGAATTCCGAGCTGACACC
ATCCCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTTCCTCCTCACCTCGCCCGTTTCCGCGCTCAAT
GTCTAACCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



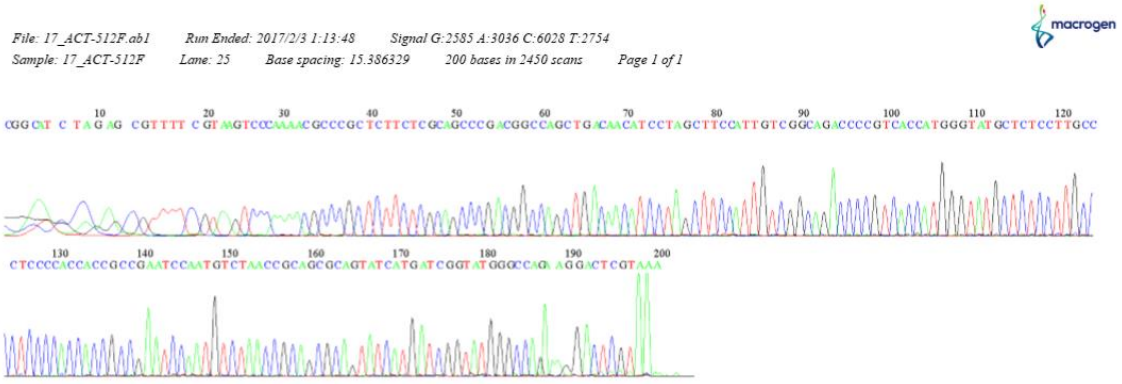
C. asperulatum 16ACT

TTTGTCGTTAAACGGGGTCCGTGTTTCCAGTAAGTCTTCGGAACCTGGTTTCGCCCGTGCCAGAATTCCGAGCTGA
CACCATCCCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTTCCTCCTCACCTCGCCCGTTTCCGCGCT
CAATGTCTAACCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



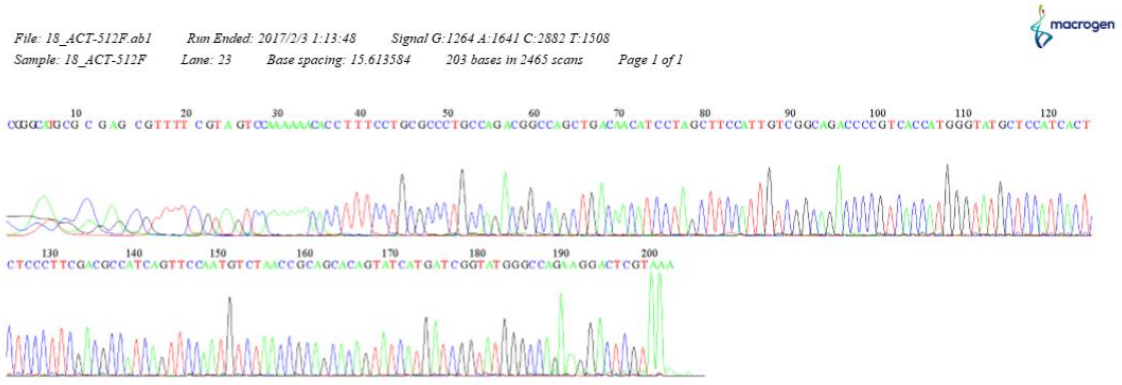
C. ramotenellum 17ACT

CGGCATCTAGAGCGTTTTCGTAAGTCCCAAAACGCCCGCTCTTCTCGCAGCCCGACGGCCAGCTGACAACATCCTA
GCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCTCCTTGCCCTCCCCACCACCGCCGAATCCAATGTCTA
ACCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



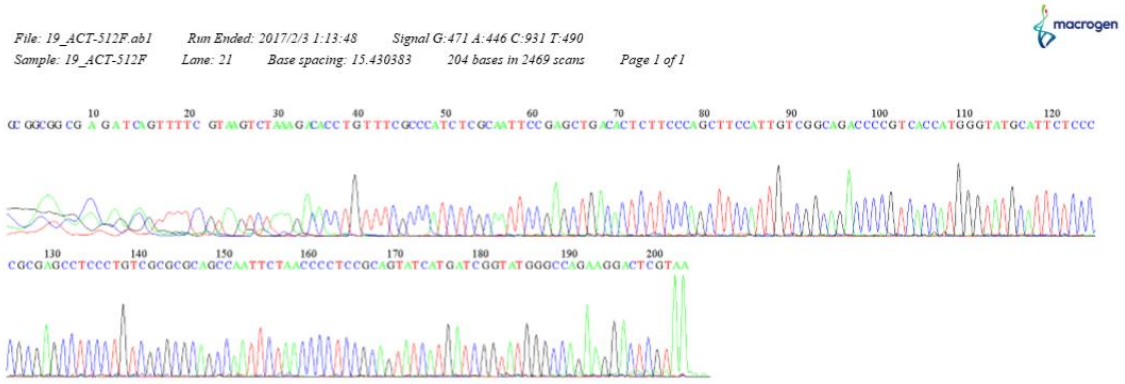
C. ramotenellum 18ACT

CGGGCATGCGCGAGCGTTTTCGTAGTCCAAAAAACACCTTTCCTGCGCCCTGCCAGACGGCCAGCTGACAACATCC
TAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCATCACTCTCCCTTCGACGCCATCAGTTCCAATGT
CTAACCGCAGCACAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



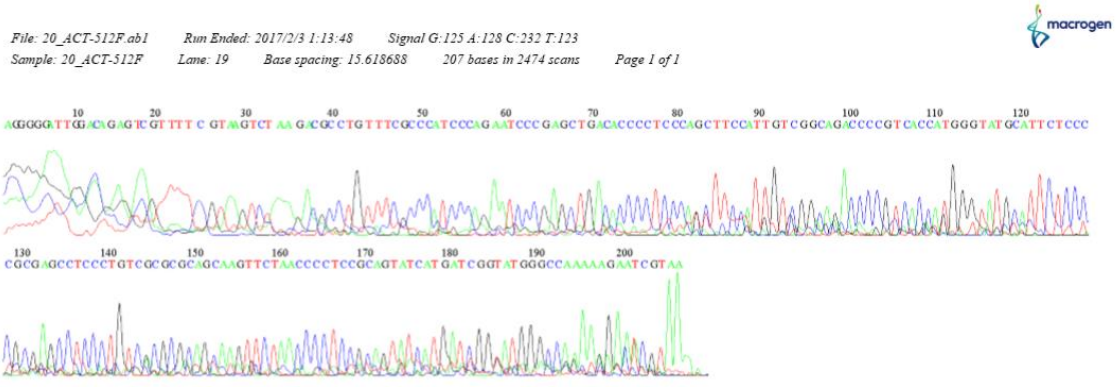
C. cladosporioides 19ACT

GCGGCGGCGAGATCAGTTTTCGTAAGTCTAAAGACACCTGTTTCGCCCATCTCGCAATTCCGAGCTGACACTCTTC
CCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCATTCTCCCCGCGAGCCTCCCTGTCGCGCGCAGCCA
ATTCTAACCCCTCCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



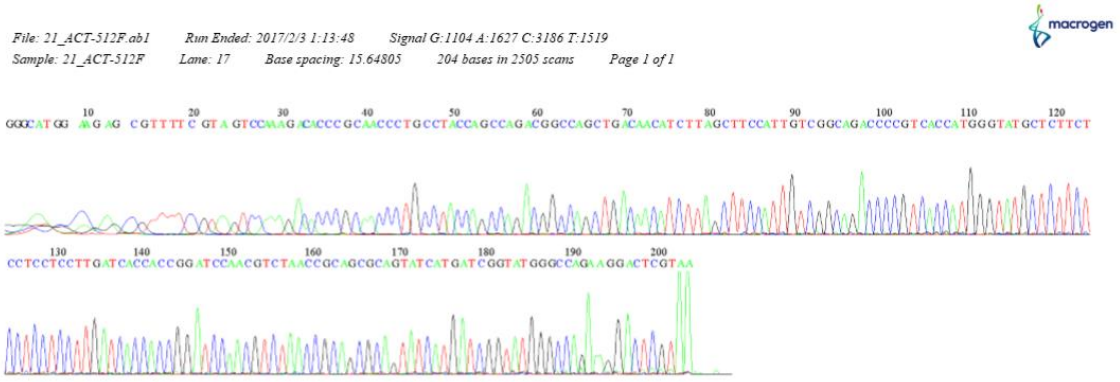
C. cladosporioides 20ACT

AGGGGGATTGGACAGAGTCGTTTTCGTAAGTCTAAGACGCCTGTTTCGCCCATCCCAGAATCCCGAGCTGACACCC
CTCCCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCATTCTCCCCGCGAGCCTCCCTGTCGCGCGCAG
CAAGTTCTAACCCCTCCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAAAAAGAATCGTAA



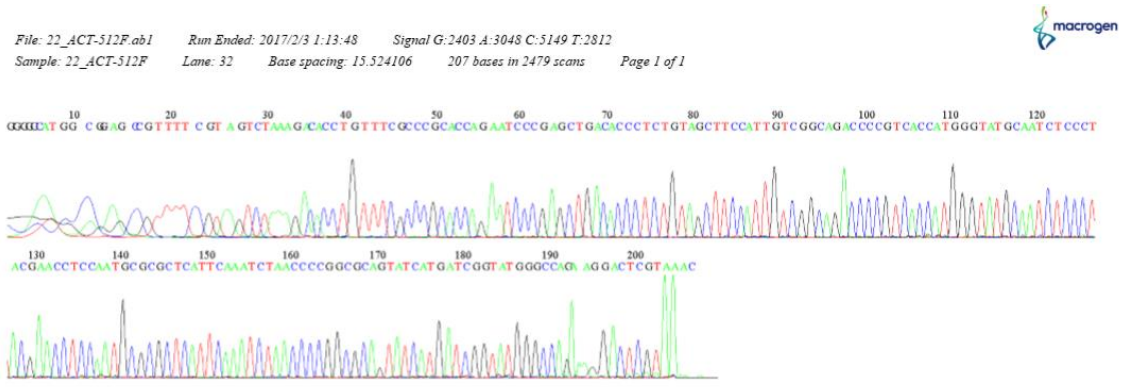
C. allicinum 21ACT

GGGCATGGAAGAGCGTTTTCGTAGTCCAAAGACACCCGCAACCCTGCCTACCAGCCAGACGGCCAGCTGACAACA
TCTTAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCTTCTCCTCCTCCTTGATCACCACCGGATCCAAC
GTCTAACCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



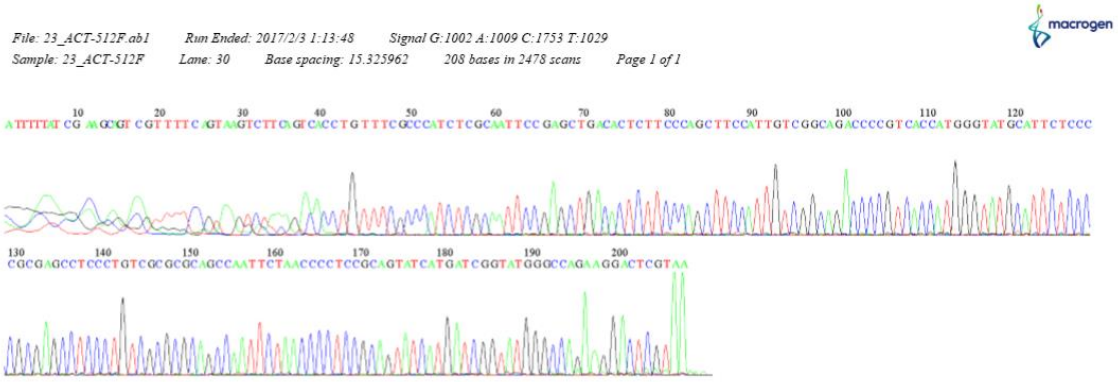
C. pseudocladosporioides 22ACT

GGGGGCATGGCGGAGCCGTTTTCGTAGTCTAAAGACACCTGTTTCGCCCGCACCAGAATCCCGAGCTGACACCCT
CTGTAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCAATCTCCCTACGAACCTCCAATGCGCGCTCATTC
AAATCTAACCCCGGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAAC



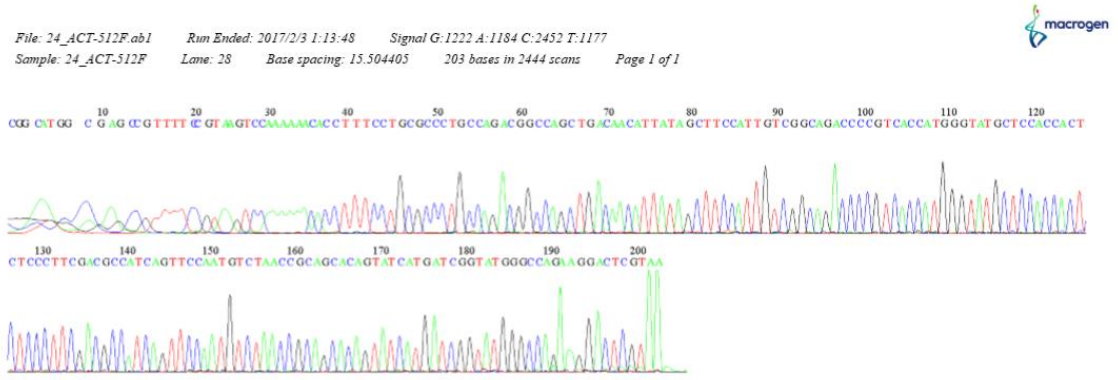
C. cladosporioides 23ACT

ATTTTTATCGAAGCAGTCGTTTTCAGTAAGTCTTCAGTCACCTGTTTCGCCCATCTCGCAATTCCGAGCTGACACTCT
TCCCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCATTCTCCCCGCGAGCCTCCCTGTCGCGCGCAGC
CAATTCTAACCCCTCCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



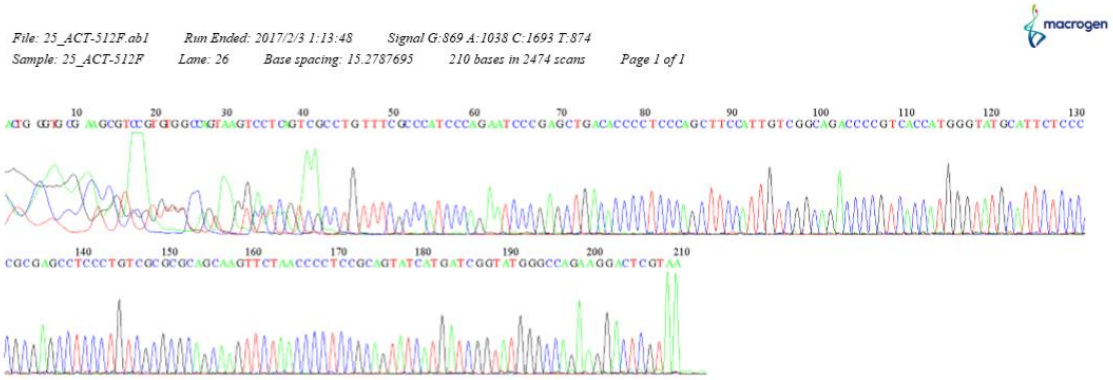
C. limoniforme 24ACT

CGGCATGGCGAGCCGTTTTCCGTAAGTCCAAAAAACACCTTTCCTGCGCCCTGCCAGACGGCCAGCTGACAACATT
ATAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCACCACTCTCCCTTCGACGCCATCAGTTCCAATG
TCTAACCGCAGCACAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



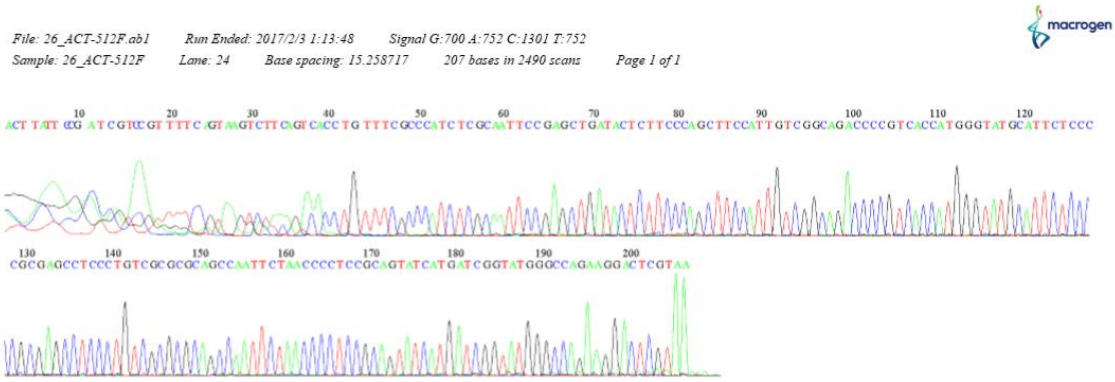
C. cladosporioides 25ACT

ACTGGGTGCGAAGCGTCCGTGTGGCCAGTAAGTCCTCAGTCGCCTGTTTCGCCCATCCCAGAATCCCGAGCTGACA
CCCCTCCCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCATTCTCCCCGCGAGCCTCCCTGTCGCGCGC
AGCAAGTTCTAACCCCTCCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



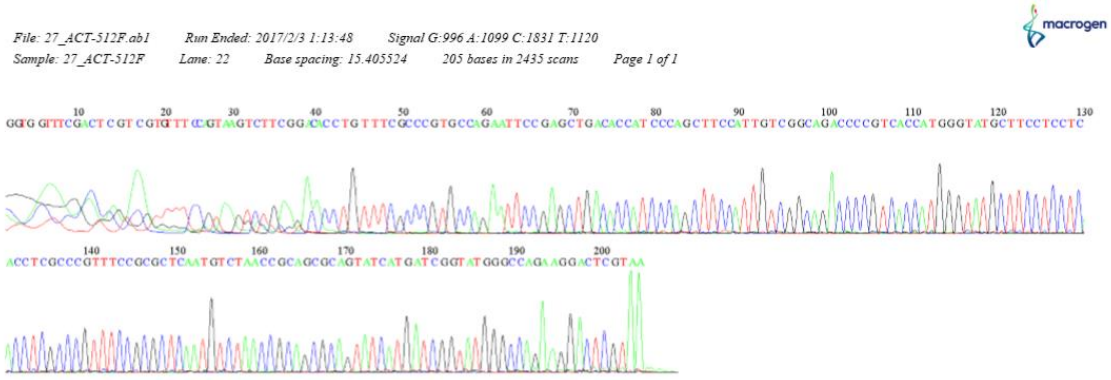
C. cladosporioides 26ACT

ACTTATTCCGATCGTCCGTTTTCAGTAAGTCTTCAGTCACCTGTTTCGCCCATCTCGCAATTCCGAGCTGATACTCTT
CCCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCATTCTCCCCGCGAGCCTCCCTGTCGCGCGCAGCC
AATTCTAACCCCTCCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



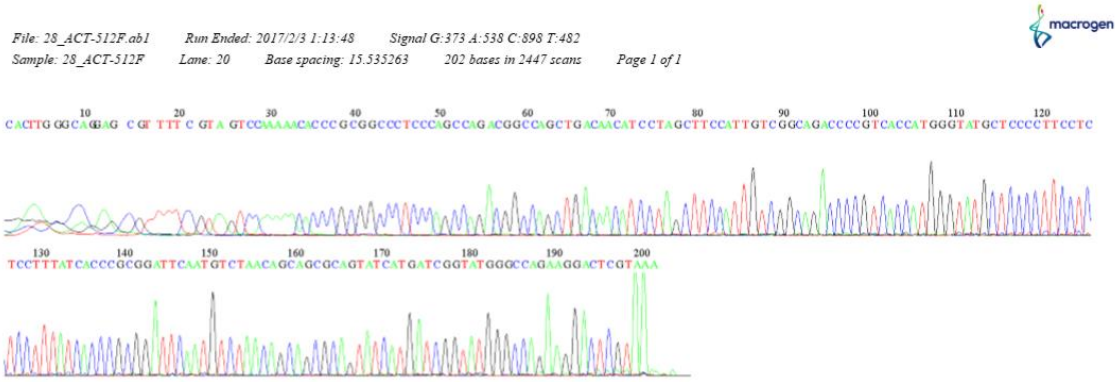
C. asperulatum 27ACT

GGTGGTTTCGACTCGTCGTGTTTCCAGTAAGTCTTCGGACACCTGTTTCGCCCGTGCCAGAATTCCGAGCTGACAC
CATCCCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTTCCTCCTCACCTCGCCCGTTTCCGCGCTCAA
TGTCTAACCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



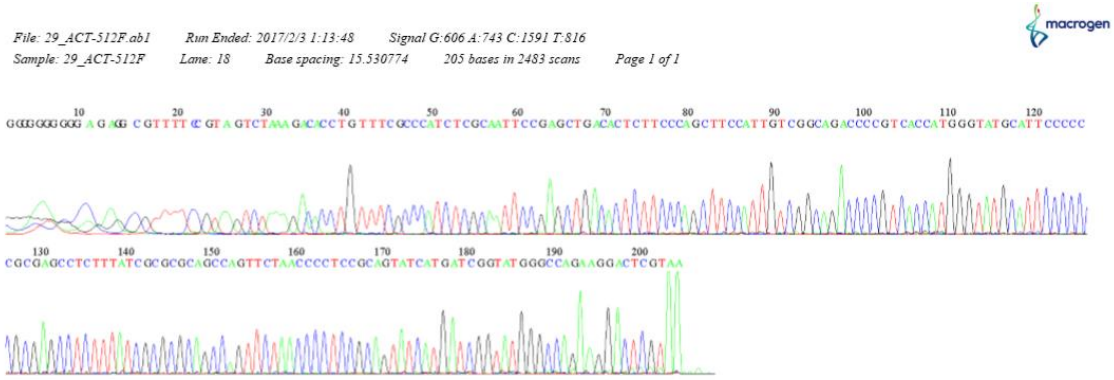
C. subtilissimum 28ACT

CACTTGGGCAGGAGCGTTTTCGTAGTCCAAAAACACCCGCGGCCCTCCCAGCCAGACGGCCAGCTGACAACATCC
TAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCCCTTCCTCTCCTTTATCACCCGCGGATTCAATGTC
TAACAGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



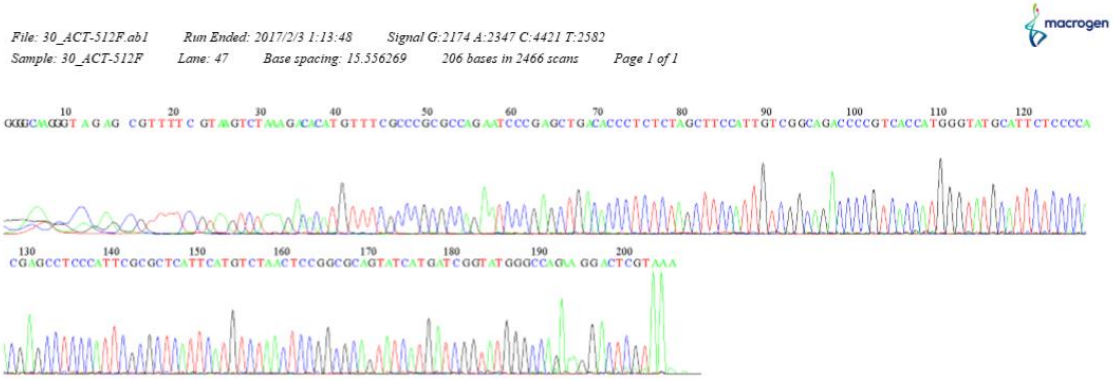
C. cladosporioides 29ACT

GGGGGGGGGGAGAGGCGTTTTCCGTAGTCTAAAGACACCTGTTTCGCCCATCTCGCAATTCCGAGCTGACACTCT
TCCCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCATTCCCCCCGCGAGCCTCTTTATCGCGCGCAGCC
AGTTCTAACCCCTCCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



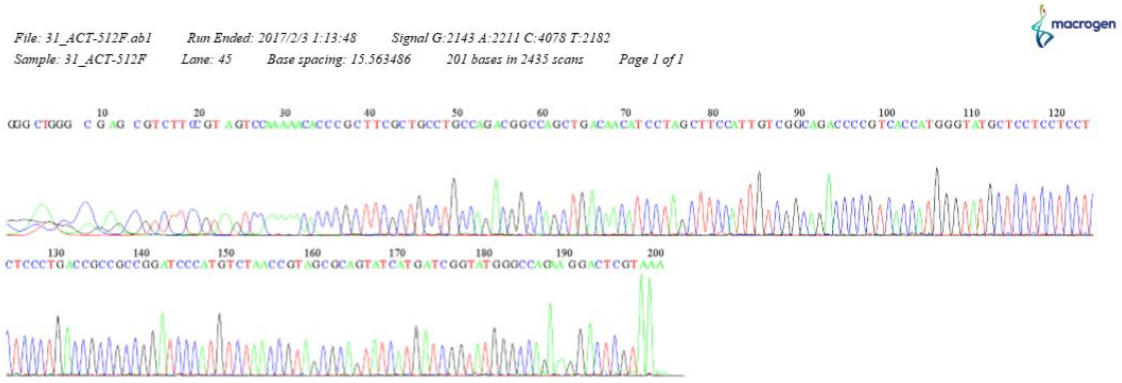
C. pseudocladosporioides 30ACT

GGGGCAAGGGTAGAGCGTTTTCGTAAGTCTAAAGACACATGTTTCGCCCGCGCCAGAATCCCGAGCTGACACCCT
CTCTAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCATTCTCCCCACGAGCCTCCCATTCGCGCTCATTC
ATGTCTAACTCCGGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



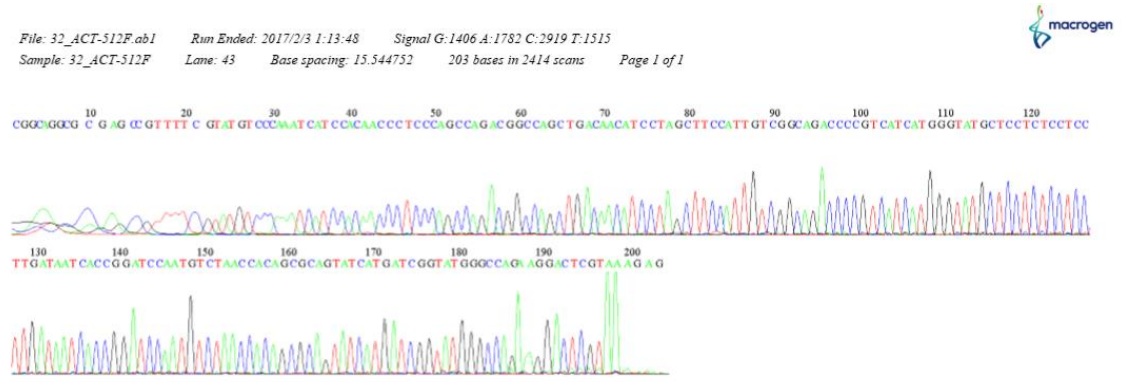
C. tenellum 31ACT

GGGCTGGGCGAGCGTCTTCCGTAGTCCAAAAACACCCGCTTCGCTGCCTGCCAGACGGCCAGCTGACAACATCCT
AGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCTCCTCCTCTCCCTGACCGCCGCCGGATCCCATGTC
TAACCGTAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



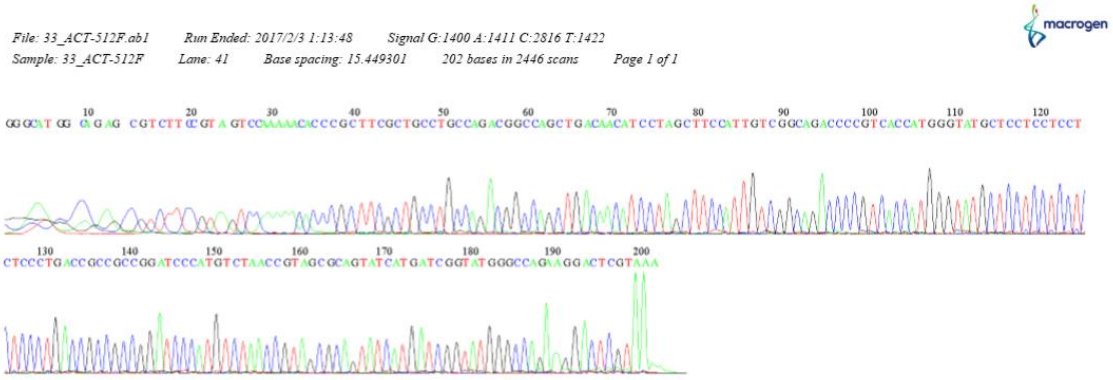
C. sp. 32ACT

CGGCAGGCGCGAGCCGTTTTCGTATGTCCCAAATCATCCACAACCCTCCCAGCCAGACGGCCAGCTGACAACATCC
TAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCATCATGGGTATGCTCCTCTCCTCCTTGATAATCACCGGATCCAATGTCTA
ACCACAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAAGAG



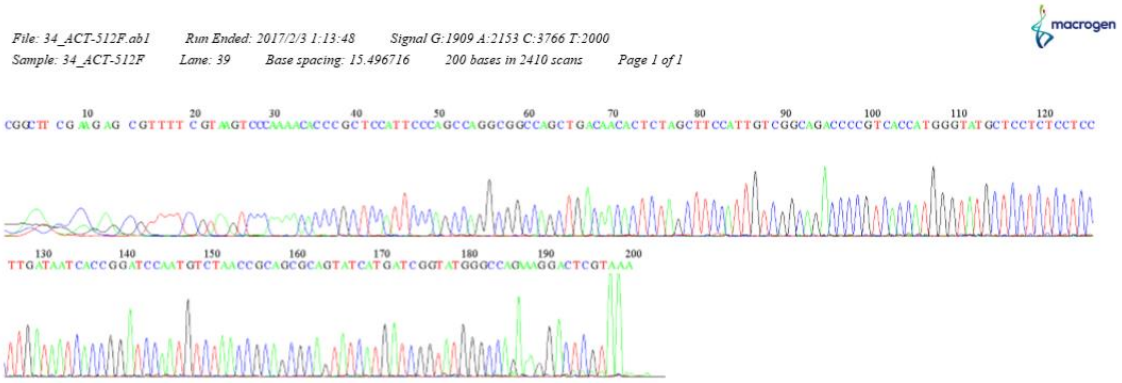
C. cladosporioides 33ACT

GGGCATGGCAGAGCGTCTTCCGTAGTCCAAAAACACCCGCTTCGCTGCCTGCCAGACGGCCAGCTGACAACATCC
TAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCTCCTCCTCTCCCTGACCGCCGCCGGATCCCATGT
CTAACCGTAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



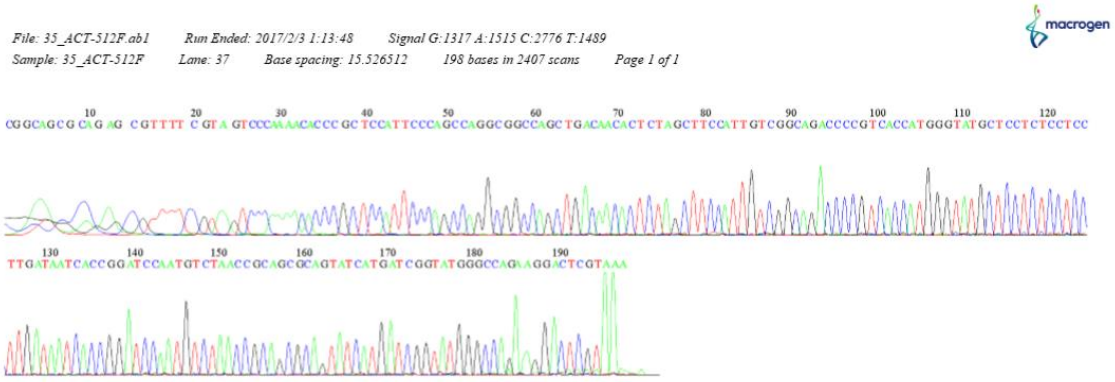
C. sp. 34ACT

CGGCTTCGAAGAGCGTTTTCGTAAGTCCCAAAACACCCGCTCCATTCCCAGCCAGGCGGCCAGCTGACAACACTCT
AGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCTCTCCTCCTTGATAATCACCGGATCCAATGTCTAA
CCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAAGGACTCGTAAA



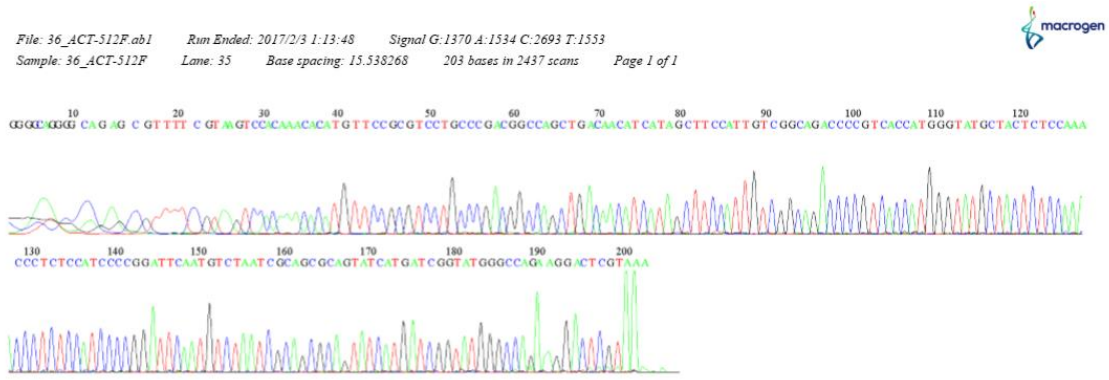
C. sp. 35ACT

CGGCAGCGCAGAGCGTTTTCGTAGTCCCAAAACACCCGCTCCATTCCCAGCCAGGCGGCCAGCTGACAACACTCTA
GCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCTCTCCTCCTTGATAATCACCGGATCCAATGTCTAAC
CGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



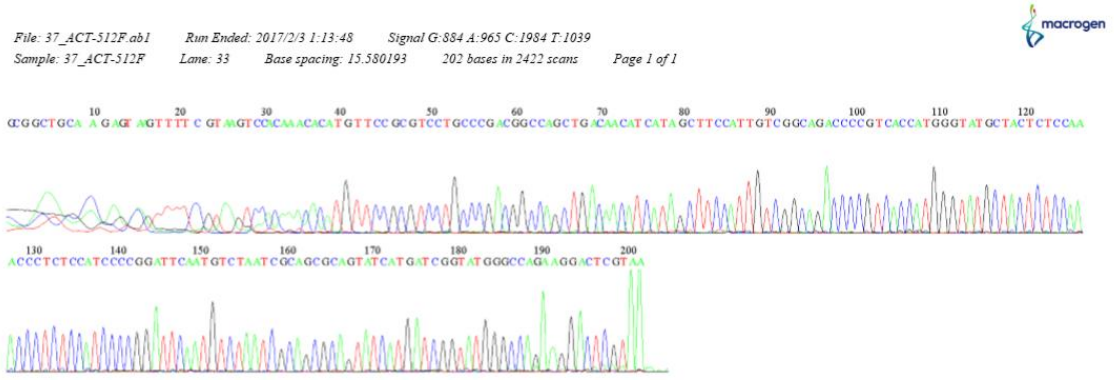
C. aggregatocicatricatum 36ACT

GGGGCAGGGGCAGAGCGTTTTCGTAAGTCCACAAACACATGTTCCGCGTCCTGCCCGACGGCCAGCTGACAACAT
CATAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTACTCTCCAAACCCTCTCCATCCCCGGATTCAATG
TCTAATCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



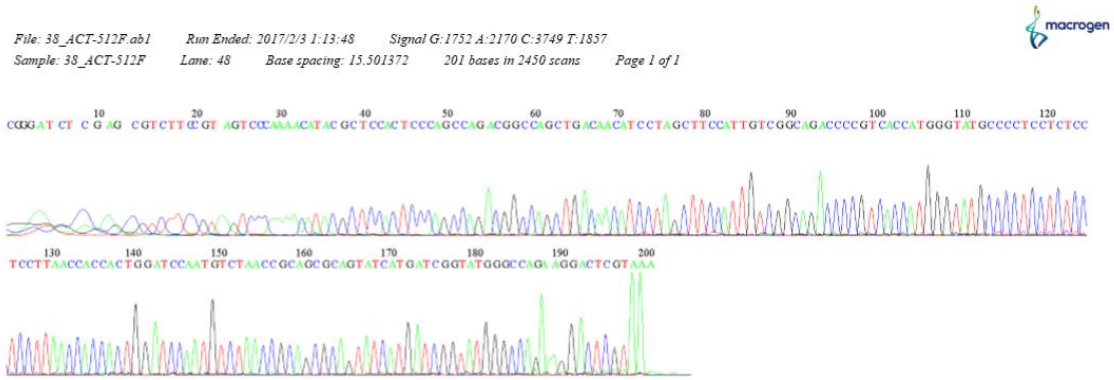
C. aggregatocicatricatum 37ACT

GCGGCTGCAAGAGTAAGTTTTCGTAAGTCCACAAACACATGTTCCGCGTCCTGCCCGACGGCCAGCTGACAACATC
ATAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTACTCTCCAAACCCTCTCCATCCCCGGATTCAATGT
CTAATCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



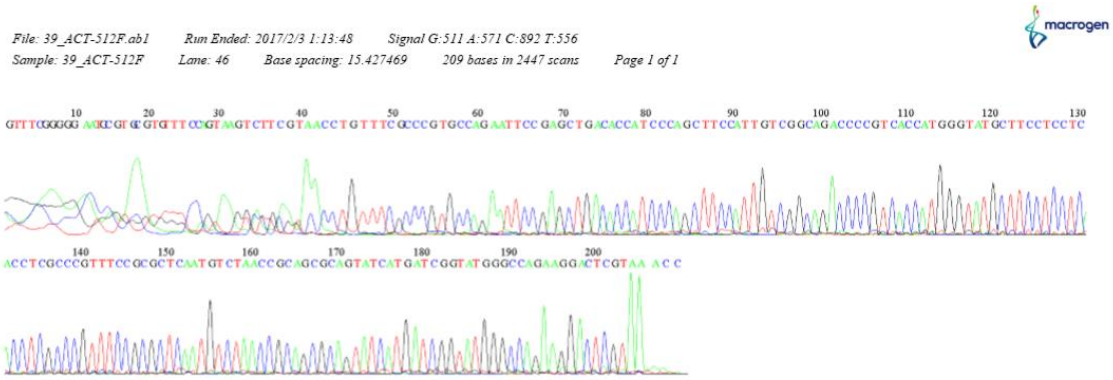
C. sp. 38ACT

CGGGATCTCGAGCGTCTTCCGTAGTCCCAAAACATACGCTCCACTCCCAGCCAGACGGCCAGCTGACAACATCCTA
GCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCCCCTCCTCTCCTCCTTAACCACCACTGGATCCAATGTCT
AACCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



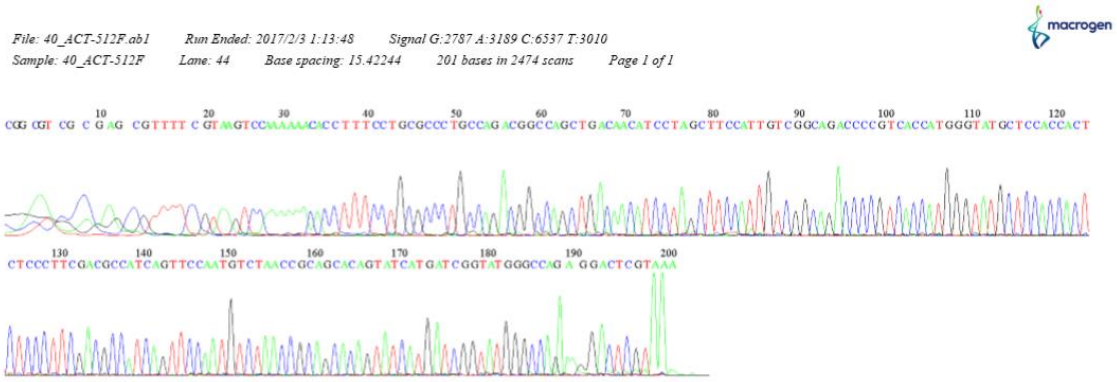
C. asperulatum 39ACT

GTTTCGGGGGAATGCGTGCGTGTTTCCAGTAAGTCTTCGTAACCTGTTTCGCCCGTGCCAGAATTCCGAGCTGACA
CCATCCCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTTCCTCCTCACCTCGCCCGTTTCCGCGCTCA
ATGTCTAACCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAACC



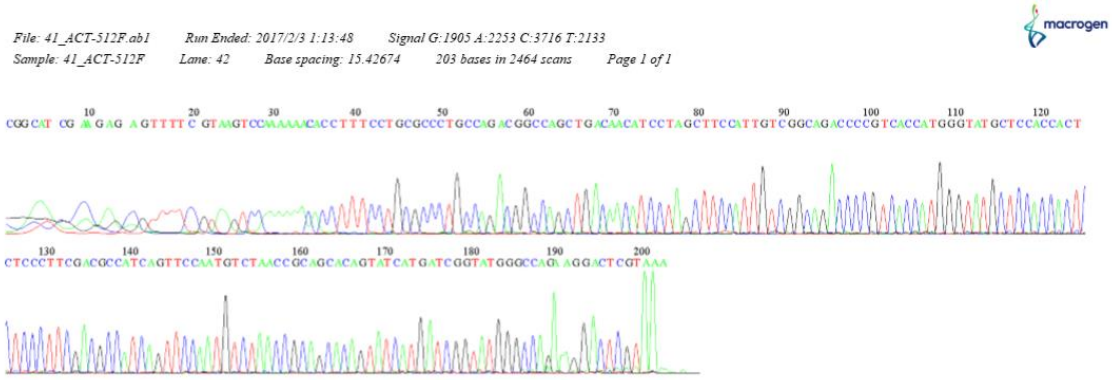
C. limoniforme 40ACT

CGGCGTCGCGAGCGTTTTCGTAAGTCCAAAAAACACCTTTCCTGCGCCCTGCCAGACGGCCAGCTGACAACATCCT
AGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCACCACTCTCCCTTCGACGCCATCAGTTCCAATGTC
TAACCGCAGCACAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAGGACTCGTAAA



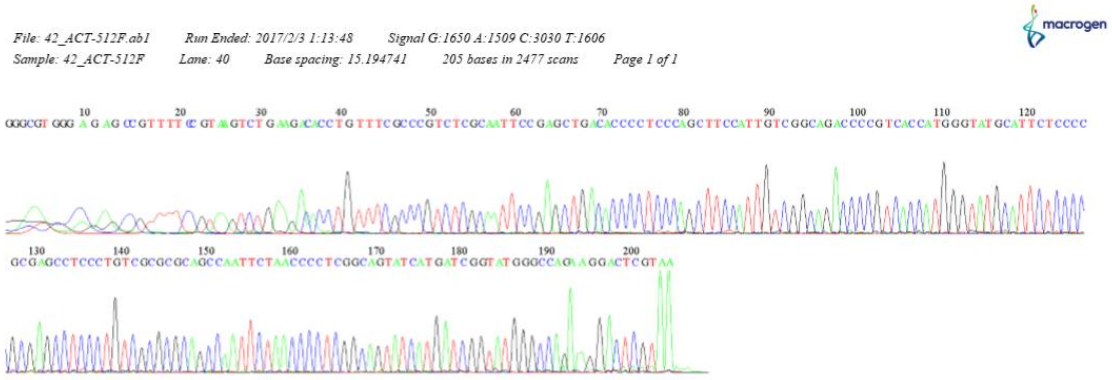
C. limoniforme 41ACT

CGGCATCGAAGAGAGTTTTCGTAAGTCCAAAAAACACCTTTCCTGCGCCCTGCCAGACGGCCAGCTGACAACATCC
TAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCACCACTCTCCCTTCGACGCCATCAGTTCCAATGT
CTAACCGCAGCACAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



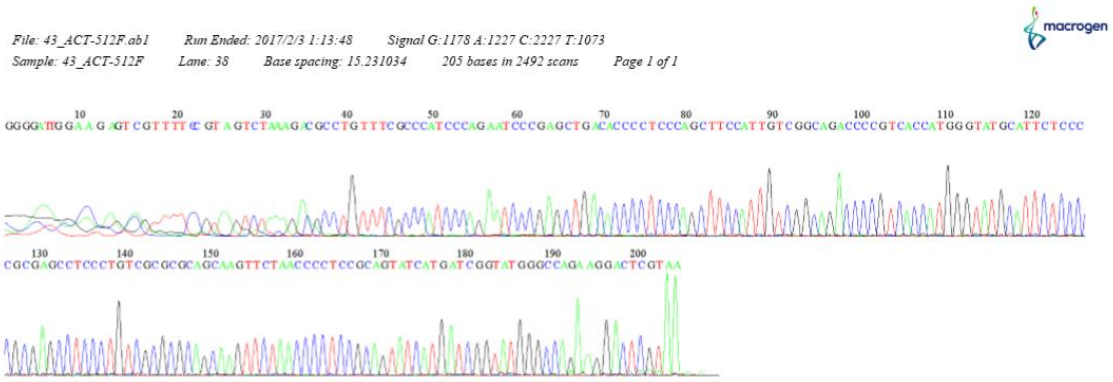
C. cladosporioides 42ACT

GGGCGTGGGAGAGCCGTTTTCCGTAAGTCTGAAGACACCTGTTTCGCCCGTCTCGCAATTCCGAGCTGACACCCCT
CCCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCATTCTCCCCGCGAGCCTCCCTGTCGCGCGCAGCC
AATTCTAACCCCTCGGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



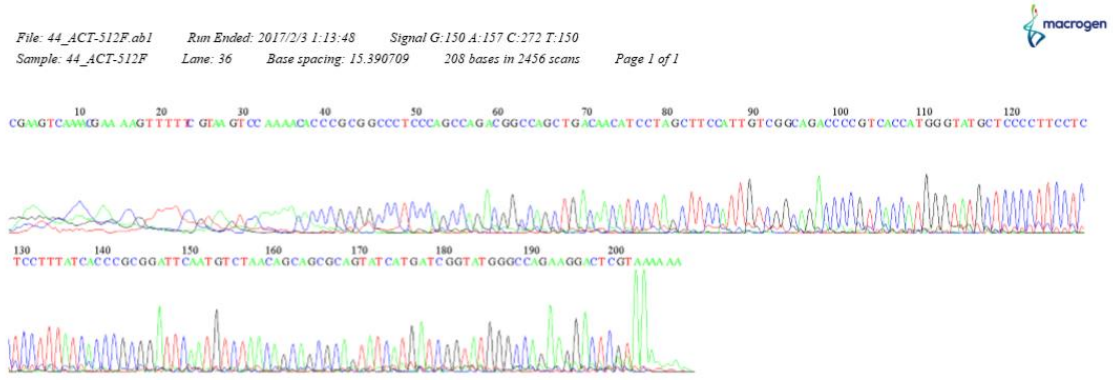
C. cladosporioides 43ACT

GGGGATTGGAAGAGTCGTTTTCCGTAGTCTAAAGACGCCTGTTTCGCCCATCCCAGAATCCCGAGCTGACACCCCT
CCCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCATTCTCCCCGCGAGCCTCCCTGTCGCGCGCAGCA
AGTTCTAACCCCTCCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



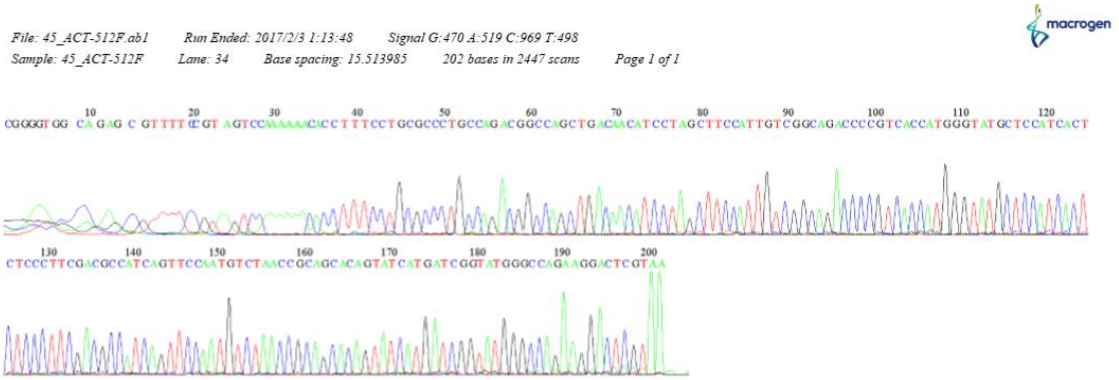
C. subtilissimum 44ACT

CGAAGTCAAAACGAAAAGTTTTTCGTAAGTCCAAAACACCCGCGGCCCTCCCAGCCAGACGGCCAGCTGACAACA
TCCTAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCCCTTCCTCTCCTTTATCACCCGCGGATTCAAT
GTCTAACAGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAAAAA



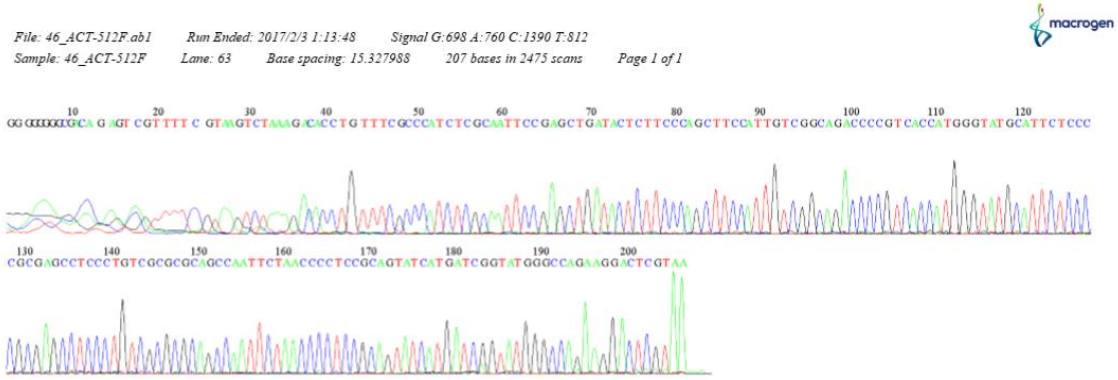
C. limoniforme 45ACT

CGGGGTGGCAGAGCGTTTTCCGTAGTCCAAAAAACACCTTTCCTGCGCCCTGCCAGACGGCCAGCTGACAACATCC
TAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCATCACTCTCCCTTCGACGCCATCAGTTCCAATGT
CTAACCGCAGCACAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



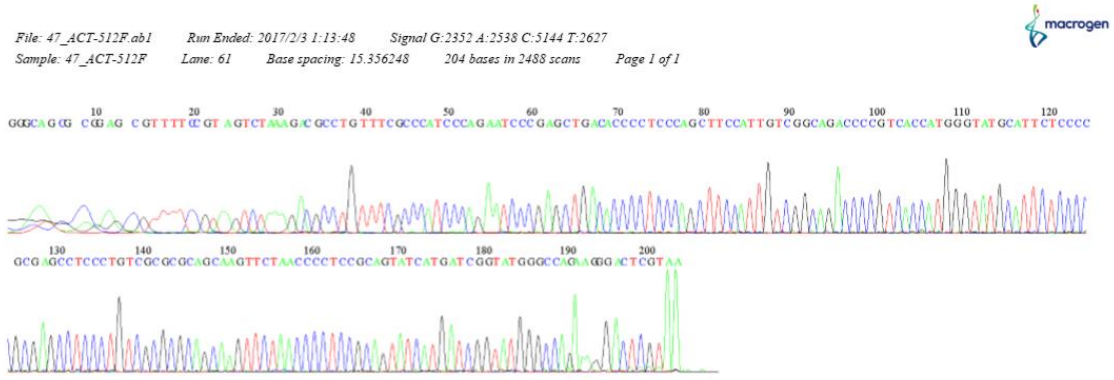
C. cladosporioides 46ACT

GGGGGGGGCGACAGAGTCGTTTTCGTAAGTCTAAAGACACCTGTTTCGCCCATCTCGCAATTCCGAGCTGATACTC
TTCCCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCATTCTCCCCGCGAGCCTCCCTGTCGCGCGCAGC
CAATTCTAACCCCTCCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



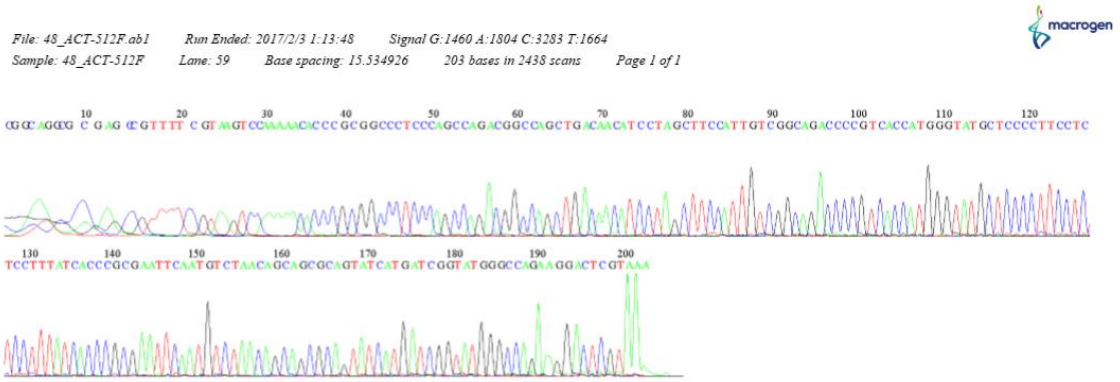
C. cladosporioides 47ACT

GGGCAGCGCGGAGCGTTTTCCGTAGTCTAAAGACGCCTGTTTCGCCCATCCCAGAATCCCGAGCTGACACCCCTCC
CAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCATTCTCCCCGCGAGCCTCCCTGTCGCGCGCAGCAAG
TTCTAACCCCTCCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGGACTCGTAA



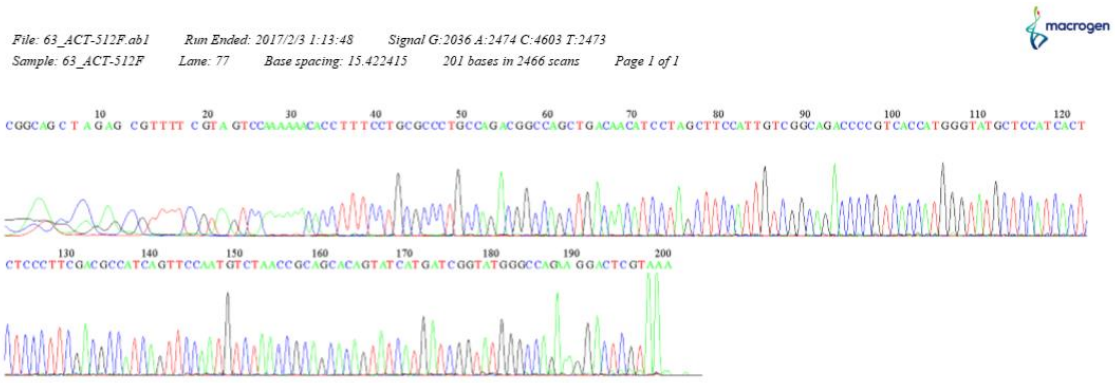
C. subtilissimum 48ACT

CGGCAGGCGCGAGCCGTTTTCGTAAGTCCAAAAACACCCGCGGCCCTCCCAGCCAGACGGCCAGCTGACAACATC
CTAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCCCTTCCTCTCCTTTATCACCCGCGAATTCAATGT
CTAACAGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



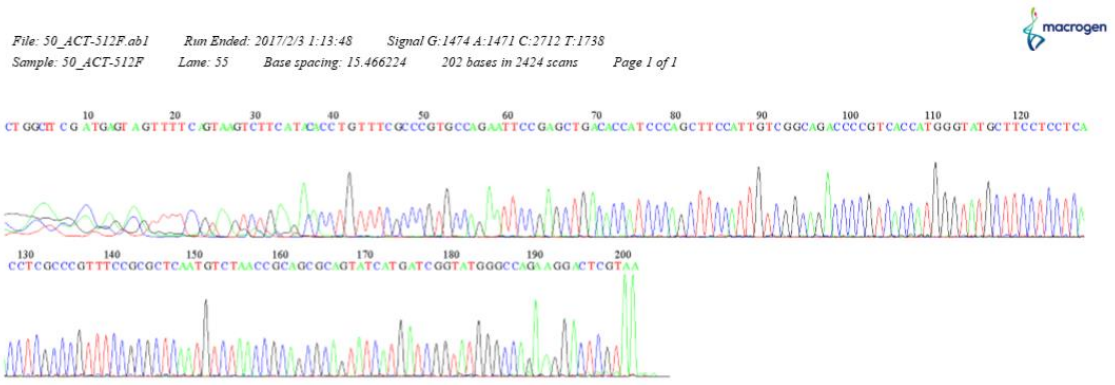
C. limoniforme 49ACT

CGGCAGCTAGAGCGTTTTCGTAGTCCAAAAAACACCTTTCCTGCGCCCTGCCAGACGGCCAGCTGACAACATCCTA
GCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCATCACTCTCCCTTCGACGCCATCAGTTCCAATGTCT
AACCGCAGCACAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



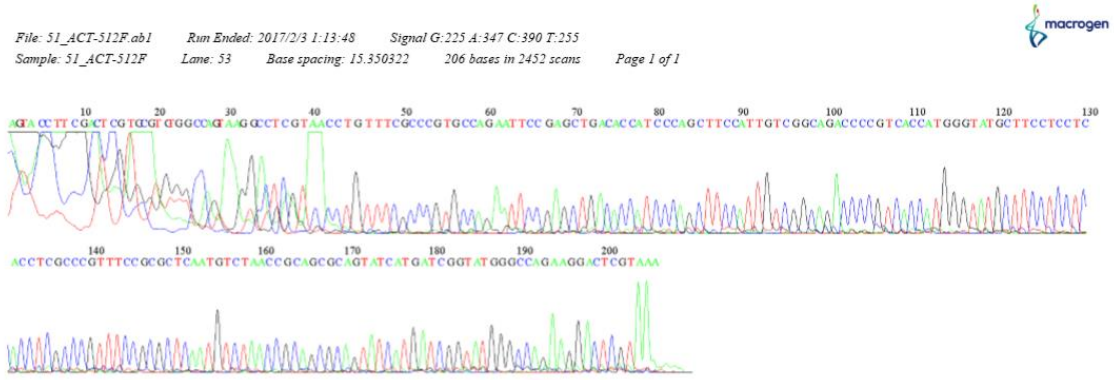
C. asperulatum 50ACT

CTGGCTTCGATGAGTAGTTTTCAGTAAGTCTTCATACACCTGTTTCGCCCGTGCCAGAATTCCGAGCTGACACCATC
CCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTTCCTCCTCACCTCGCCCGTTTCCGCGCTCAATGTC
TAACCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



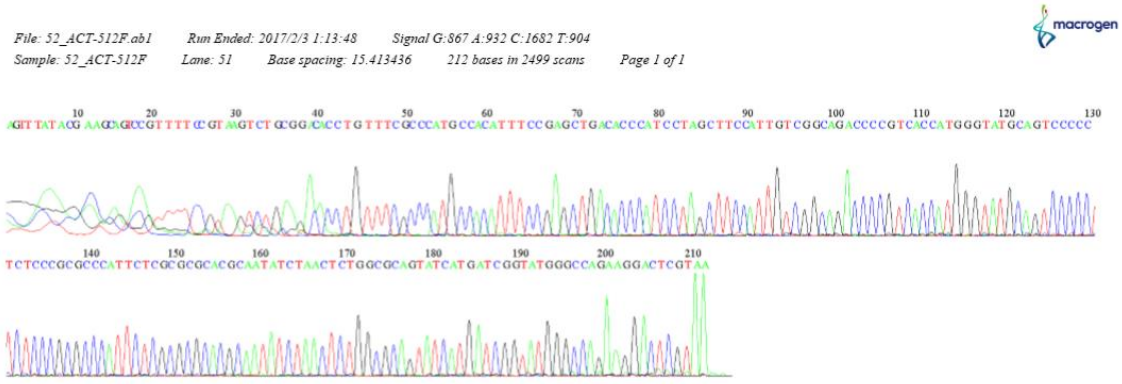
C. asperulatum 51ACT

AGTACCTTCGACTCGTGCGTGTGGCCAGTAAGGCCTCGTAACCTGTTTCGCCCGTGCCAGAATTCCGAGCTGACAC
CATCCCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTTCCTCCTCACCTCGCCCGTTTCCGCGCTCAA
TGTCTAACCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



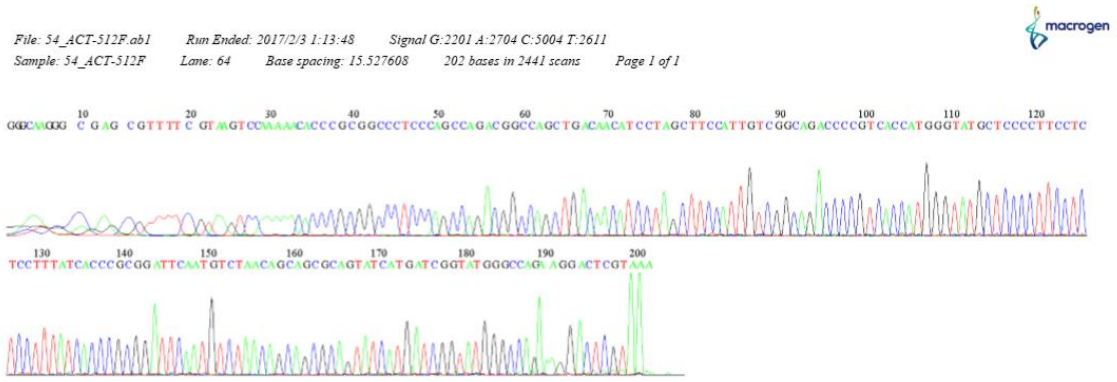
C. cladosporioides 52ACT

AGTTTATACGAAGCAGTCCGTTTTCCGTAAGTCTGCGGACACCTGTTTCGCCCATGCCACATTTCCGAGCTGACACC
CATCCTAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCAGTCCCCCTCTCCCGCGCCCATTCTCGCGCGC
ACGCAATATCTAACTCTGGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



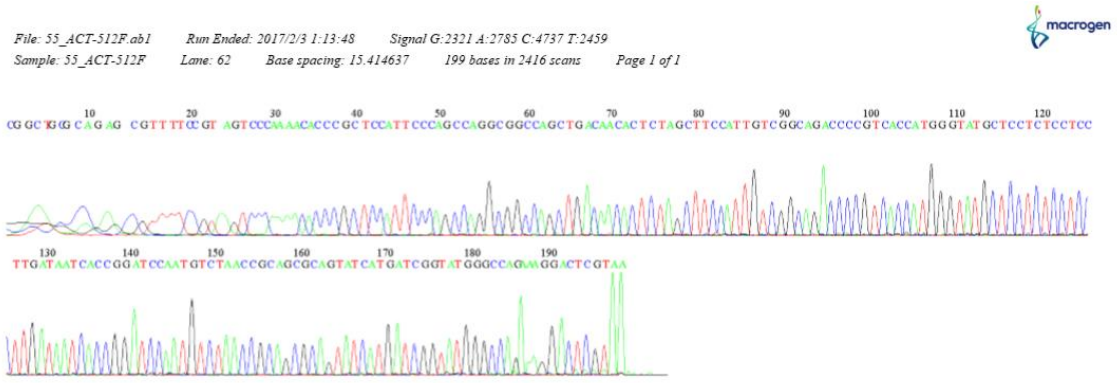
C. subtilissimum 53ACT

GGGCAAGGGCGAGCGTTTTCGTAAGTCCAAAAACACCCGCGGCCCTCCCAGCCAGACGGCCAGCTGACAACATCC
TAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCCCTTCCTCTCCTTTATCACCCGCGGATTCAATGTC
TAACAGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



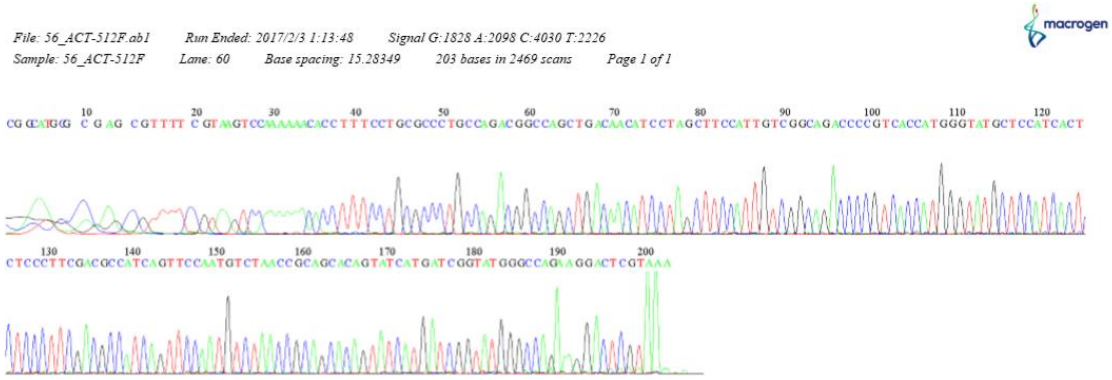
C. sp. 54ACT

CGGCTGCGCAGAGCGTTTTCCGTAGTCCCAAAACACCCGCTCCATTCCCAGCCAGGCGGCCAGCTGACAACACTCT
AGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCTCTCCTCCTTGATAATCACCGGATCCAATGTCTAA
CCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAAGGACTCGTAA



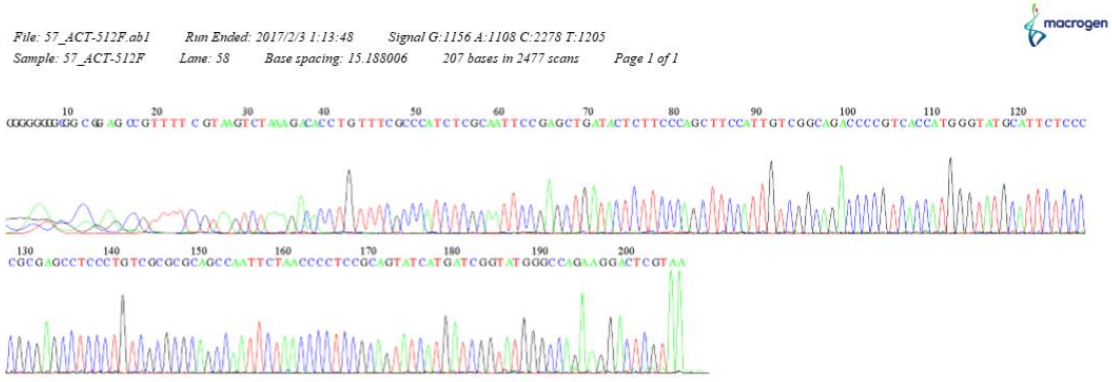
C. limoniforme 55ACT

CGGCATGCGCGAGCGTTTTCGTAAGTCCAAAAAACACCTTTCCTGCGCCCTGCCAGACGGCCAGCTGACAACATCC
TAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTCCATCACTCTCCCTTCGACGCCATCAGTTCCAATGT
CTAACCGCAGCACAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



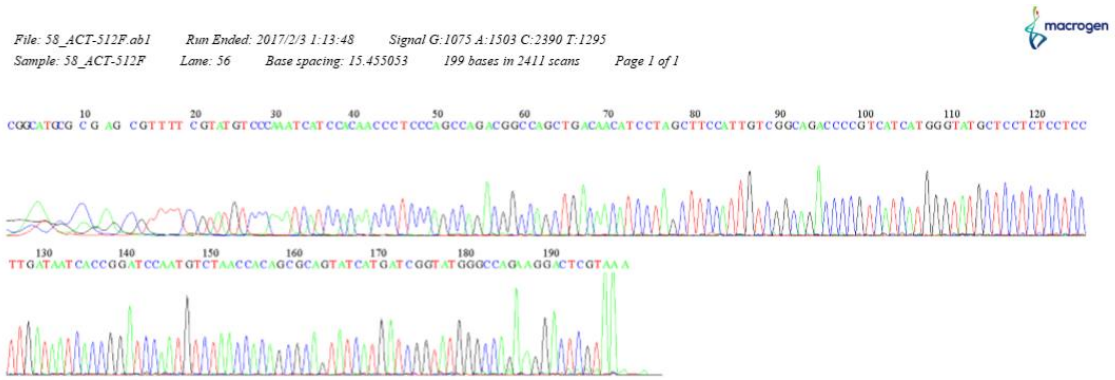
C. cladosporioides 56ACT

GGGGGGGGCGGCGGAGCCGTTTTCGTAAGTCTAAAGACACCTGTTTCGCCCATCTCGCAATTCCGAGCTGATACT
CTTCCCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCATTCTCCCCGCGAGCCTCCCTGTCGCGCGCAG
CCAATTCTAACCCCTCCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



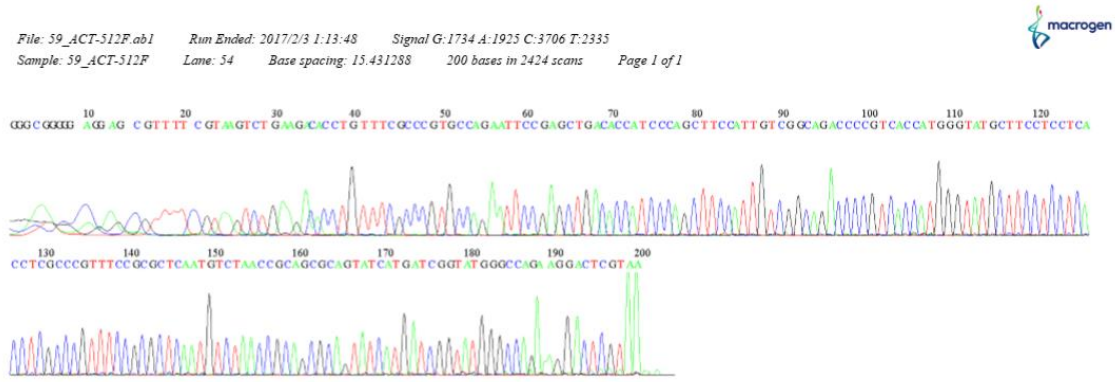
C. sp. 57ACT

CGGCATGCGCGAGCGTTTTCGTATGTCCCAAATCATCCACAACCCTCCCAGCCAGACGGCCAGCTGACAACATCCT
AGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCATCATGGGTATGCTCCTCTCCTCCTTGATAATCACCGGATCCAATGTCTAA
CCACAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAAA



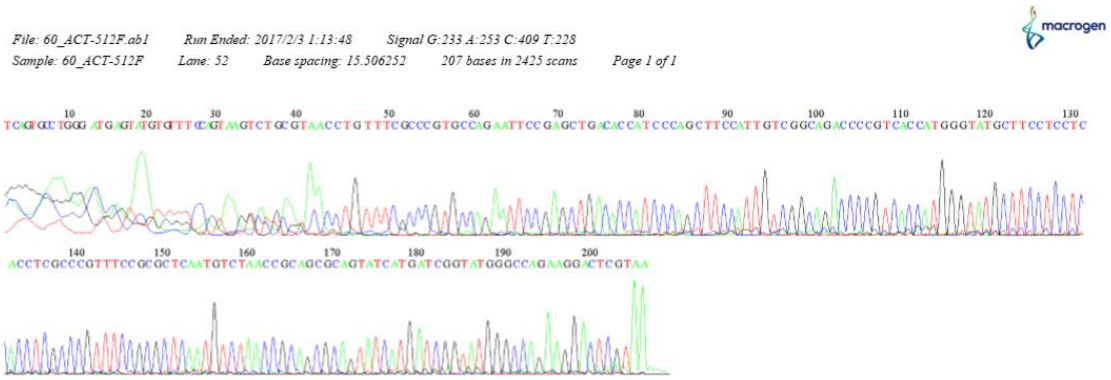
C. asperulatum 58ACT

GGGCGGGGGAGGAGCGTTTTCGTAAGTCTGAAGACACCTGTTTCGCCCGTGCCAGAATTCCGAGCTGACACCATC
CCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTTCCTCCTCACCTCGCCCGTTTCCGCGCTCAATGTC
TAACCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



C. asperulatum 59ACT

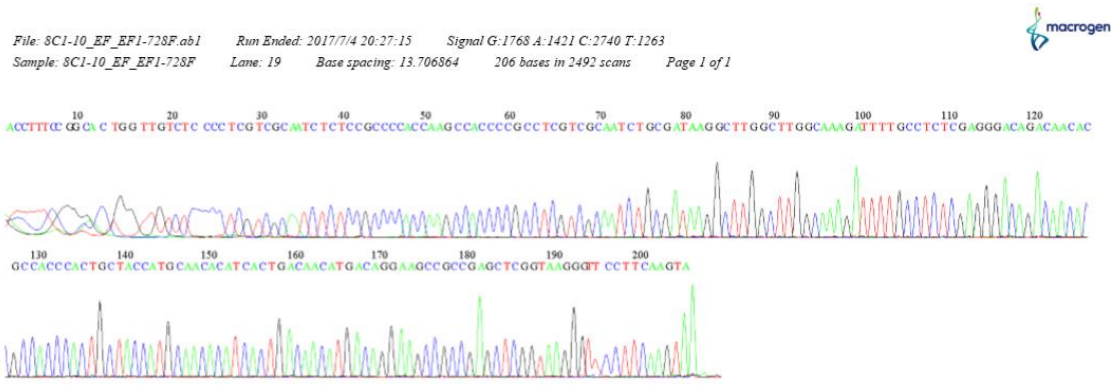
TCAGTGCCTGGGATGAGTATGTGTTTCCAGTAAGTCTGCGTAACCTGTTTCGCCCGTGCCAGAATTCCGAGCTGAC
ACCATCCCAGCTTCCATTGTCGGCAGACCCCGTCACCATGGGTATGCTTCCTCCTCACCTCGCCCGTTTCCGCGCTC
AATGTCTAACCGCAGCGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



Secuencias del factor de elongación 1-α:

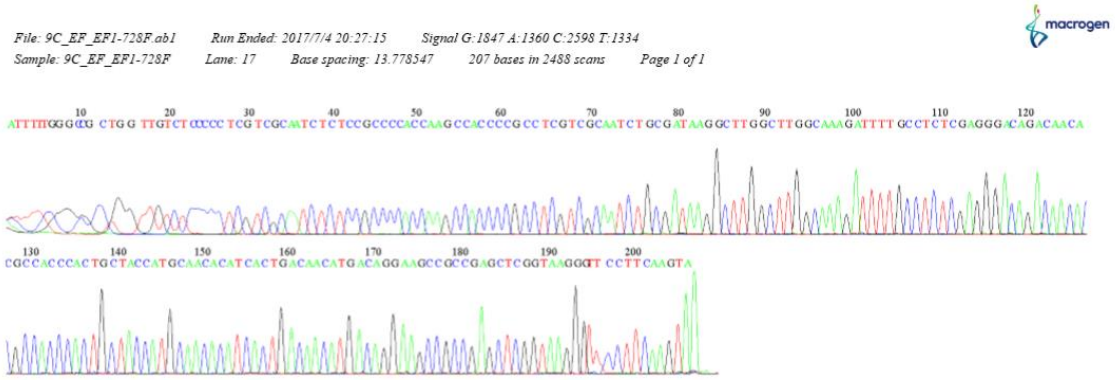
C. sp. 8ACT

ACCTTTCCGGCACTGGTTGTCTCCCCTCGTCGCAATCTCTCCGCCCCACCAAGCCACCCCGCCTCGTCGCAATCTGC
GATAAGGCTTGGCTTGGCAAAGATTTTGCCTCTCGAGGGACAGACAACACGCCACCCACTGCTACCATGCAACAC
ATCACTGACAACATGACAGGAAGCCGCCGAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGTA



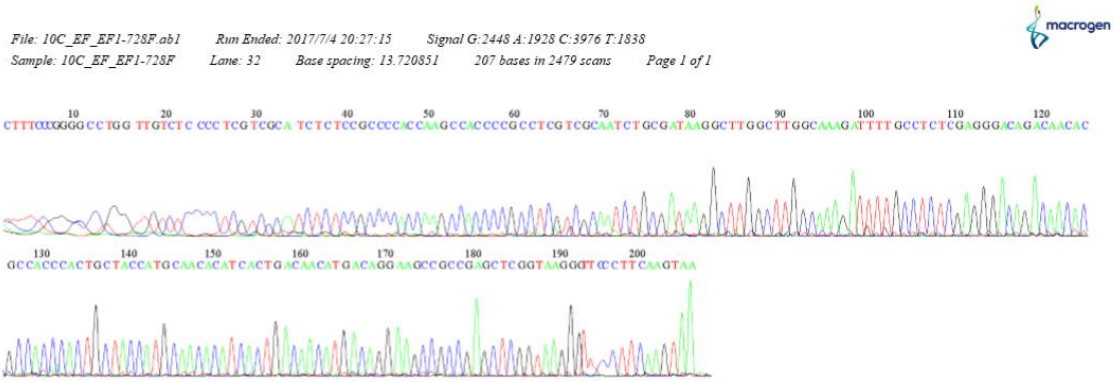
C. sp. 9ACT

ATTTTTGGGCCGCTGGTTGTCTCCCCCTCGTCGCAATCTCTCCGCCCCACCAAGCCACCCCGCCTCGTCGCAATCTG
CGATAAGGCTTGGCTTGGCAAAGATTTTGCCTCTCGAGGGACAGACAACACGCCACCCACTGCTACCATGCAACAC
ATCACTGACAACATGACAGGAAGCCGCCGAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGTA



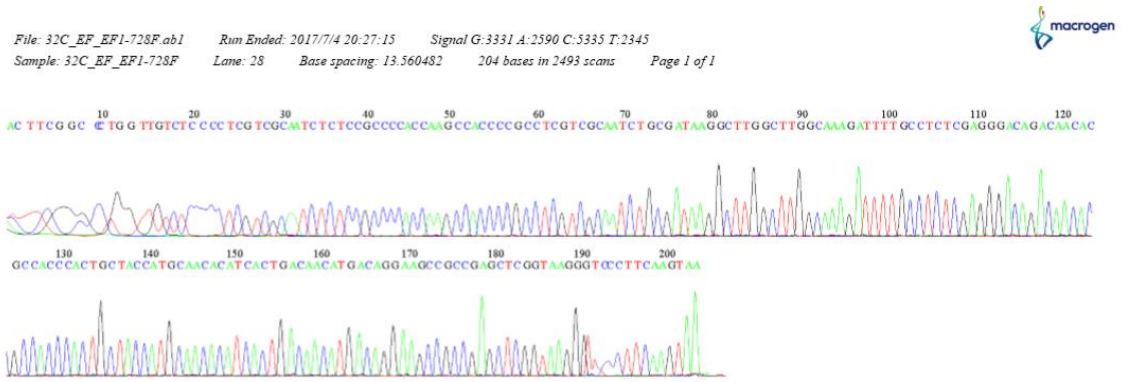
C. sp. 10ACT

CTTTCCCGGGGCCTGGTTGTCTCCCCTCGTCGCATCTCTCCGCCCCACCAAGCCACCCCGCCTCGTCGCAATCTGCG
ATAAGGCTTGGCTTGGCAAAGATTTTGCCTCTCGAGGGACAGACAACACGCCACCCACTGCTACCATGCAACACAT
CACTGACAACATGACAGGAAGCCGCCGAGCTCGGTAAGGGTTCCCTTCAAGTAA



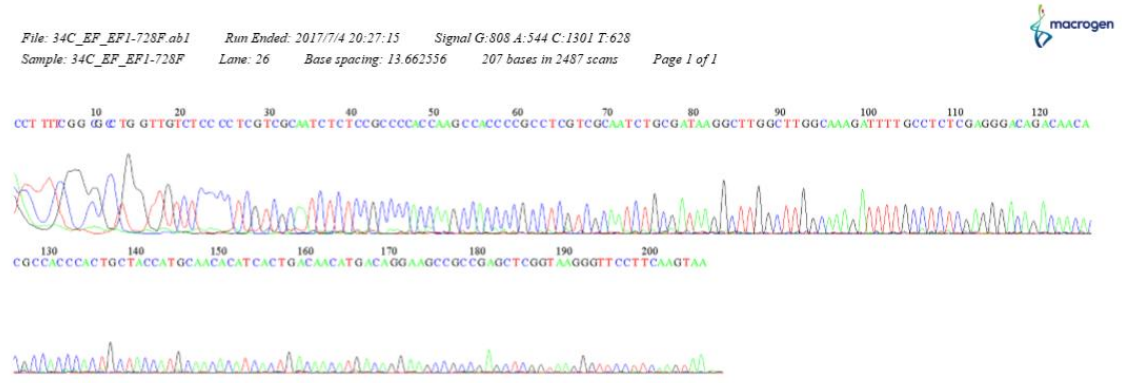
C. sp. 32ACT

ACTTCGGCCCTGGTTGTCTCCCCTCGTCGCAATCTCTCCGCCCCACCAAGCCACCCCGCCTCGTCGCAATCTGCGAT
AAGGCTTGGCTTGGCAAAGATTTTGCCTCTCGAGGGACAGACAACACGCCACCCACTGCTACCATGCAACACATCA
CTGACAACATGACAGGAAGCCGCCGAGCTCGGTAAGGGTCCCTTCAAGTAA



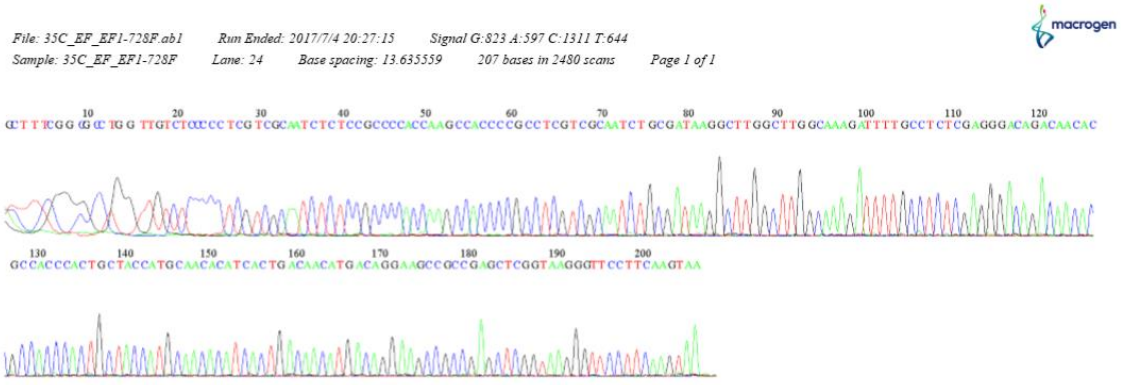
C. sp. 34ACT

CCTTTTCGGCGCCTGGTTGTCTCCCCTCGTCGCAATCTCTCCGCCCCACCAAGCCACCCCGCCTCGTCGCAATCTGC
GATAAGGCTTGGCTTGGCAAAGATTTTGCCTCTCGAGGGACAGACAACACGCCACCCACTGCTACCATGCAACAC
ATCACTGACAACATGACAGGAAGCCGCCGAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGTAA



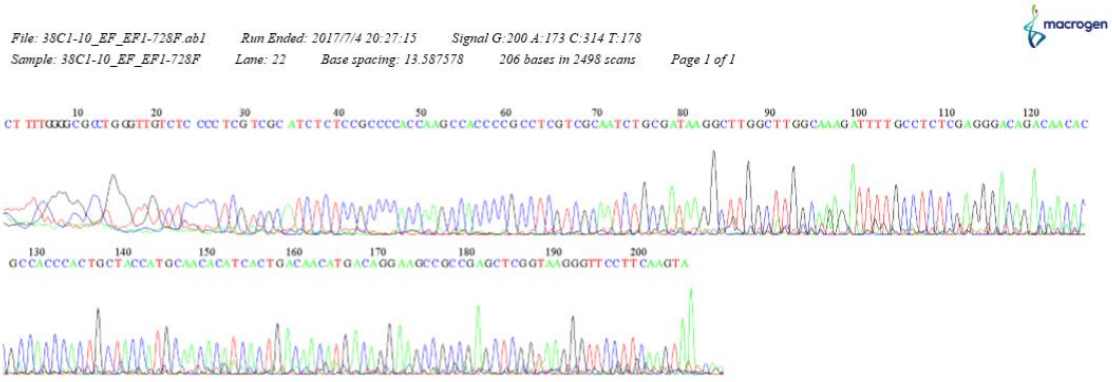
C. sp. 35ACT

GCTTTCGGCGCCTGGTTGTCTCCCCCTCGTCGCAATCTCTCCGCCCCACCAAGCCACCCCGCCTCGTCGCAATCTGC
GATAAGGCTTGGCTTGGCAAAGATTTTGCCTCTCGAGGGACAGACAACACGCCACCCACTGCTACCATGCAACAC
ATCACTGACAACATGACAGGAAGCCGCCGAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGTAA



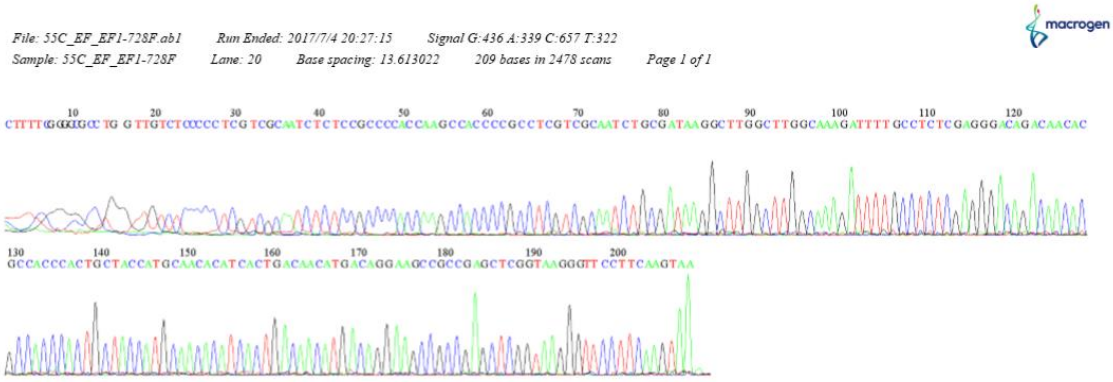
C. sp. 38ACT

CTTTTGGGGCGCCTGGGTTGTCTCCCCTCGTCGCATCTCTCCGCCCCACCAAGCCACCCCGCCTCGTCGCAATCTGC
GATAAGGCTTGGCTTGGCAAAGATTTTGCCTCTCGAGGGACAGACAACACGCCACCCACTGCTACCATGCAACAC
ATCACTGACAACATGACAGGAAGCCGCCGAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGTA



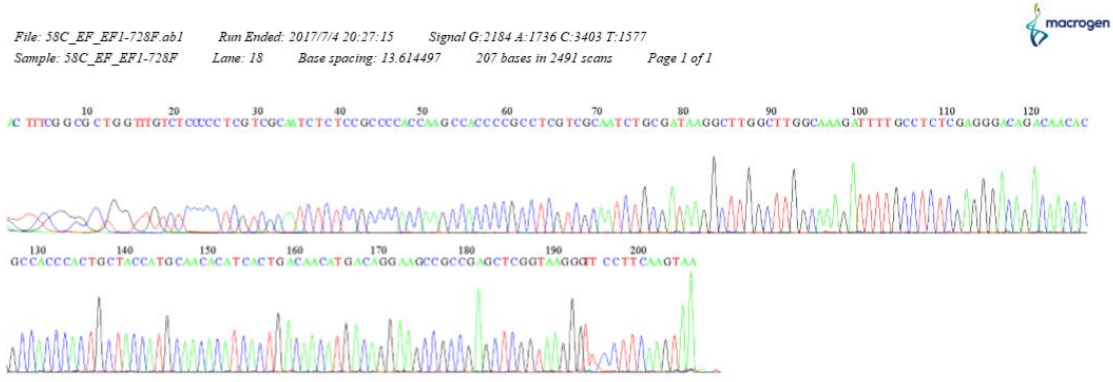
C. sp. 54ACT

CTTTTCGGGGCGCCTGGTTGTCTCCCCCTCGTCGCAATCTCTCCGCCCCACCAAGCCACCCCGCCTCGTCGCAATCT
GCGATAAGGCTTGGCTTGGCAAAGATTTTGCCTCTCGAGGGACAGACAACACGCCACCCACTGCTACCATGCAAC
ACATCACTGACAACATGACAGGAAGCCGCCGAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGTAA



C. sp. 57ACT

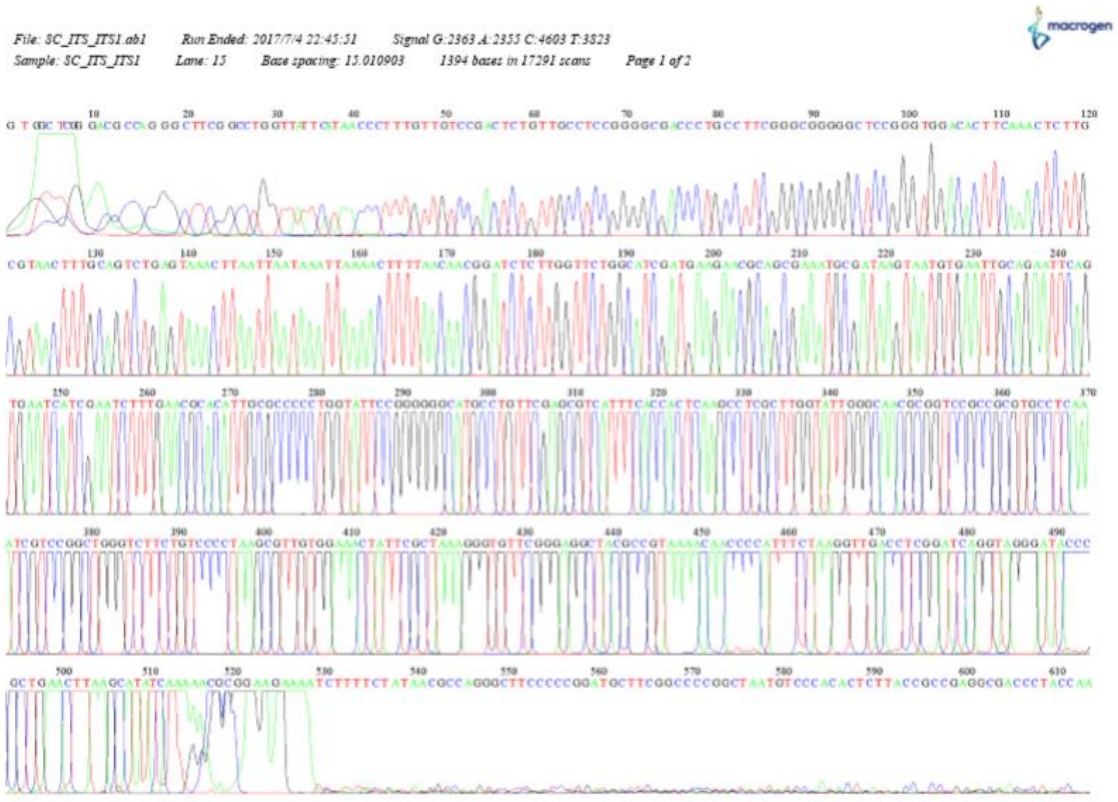
ACTTTCGGCGCTGGTTTGTCTCCCCCTCGTCGCAATCTCTCCGCCCCACCAAGCCACCCCGCCTCGTCGCAATCTGC
GATAAGGCTTGGCTTGGCAAAGATTTTGCCTCTCGAGGGACAGACAACACGCCACCCACTGCTACCATGCAACAC
ATCACTGACAACATGACAGGAAGCCGCCGAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGTAA



Secuencias de ITS de los genes codificantes de ARNr:

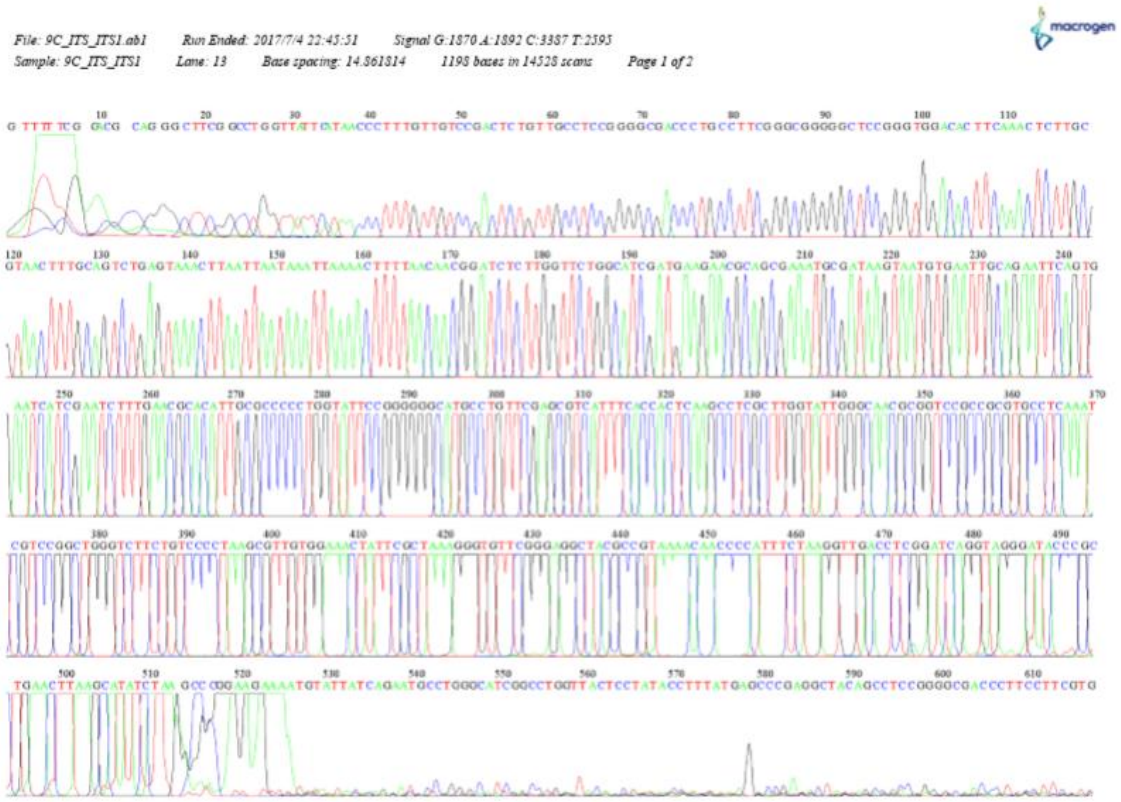
C. sp. 8ACT

GTGGCTCGGGACGCCAGGGCTTCGGCCTGGTTATTCATAACCCTTTGTTGTCCGACTCTGTTGCCTCCGGGGCGAC
CCTGCCTTCGGGCGGGGGCTCCGGGTGGACACTTCAAACTCTTGCGTAACTTTGCAGTCTGAGTAAACTTAATTAA
TAAATTAAAACTTTTAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGT
GAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGT
TCGAGCGTCATTTCACCACTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCAACGCGGTCCGCCGCGTGCCTCAAATCGTCCGGC
TGGGTCTTCTGTCCCCTAAGCGTTGTGGAAACTATTCGCTAAAGGGTGTTCGGGAGGCTACGCCGTAAAACAACCC
CATTTCTAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAAAACGCGGAAGAAAATC
TTTTCTATAACGCCAGGGCTTCCCCCGGATGCTTCGGCCCCGGCTAATGTCCCACACTCTTACCGCCGAGGCGACCC
TACCAA



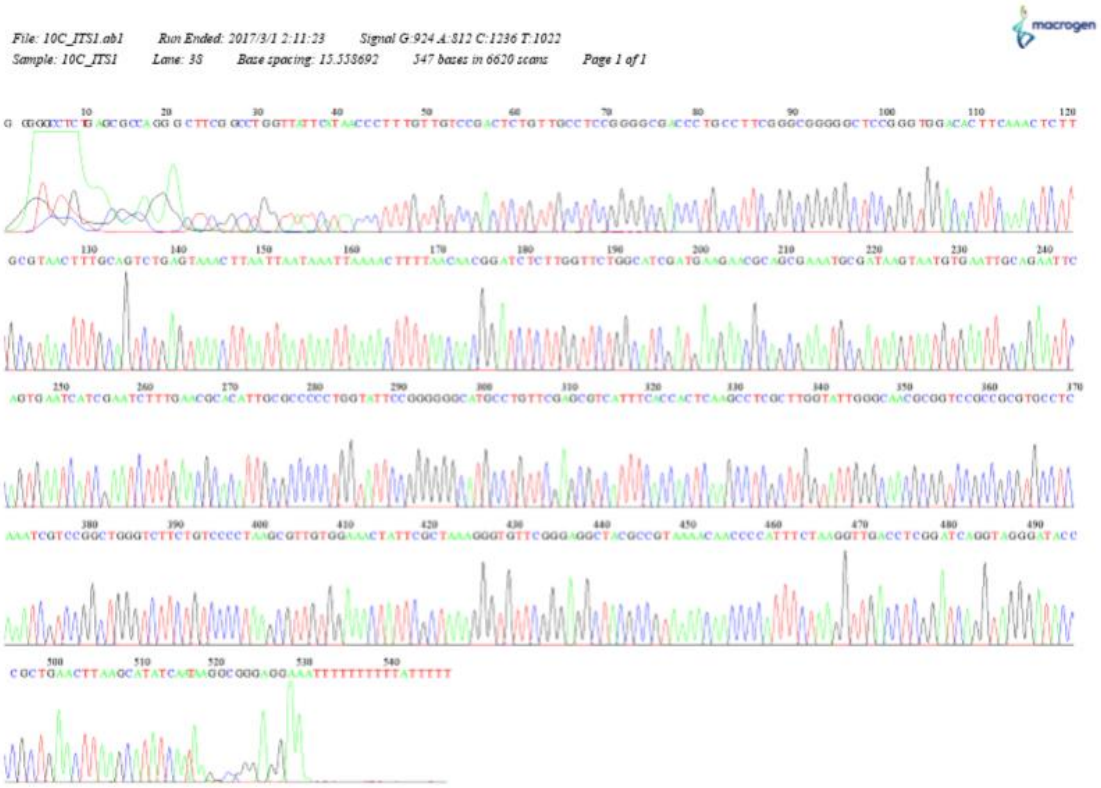
C. sp. 9ACT

GTTTTTCGGACGCAGGGCTTCGGCCTGGTTATTCATAACCCTTTGTTGTCCGACTCTGTTGCCTCCGGGGCGACCCT
GCCTTCGGGCGGGGGCTCCGGGTGGACACTTCAAACTCTTGCGTAACTTTGCAGTCTGAGTAAACTTAATTAATAA
ATTAAAACTTTTAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAA
TTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTTCG
AGCGTCATTTCACCACTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCAACGCGGTCCGCCGCGTGCCTCAAATCGTCCGGCTGG
GTCTTCTGTCCCCTAAGCGTTGTGGAAACTATTCGCTAAAGGGTGTTCGGGAGGCTACGCCGTAAAACAACCCCAT
TTCTAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCTAAGCCCGGAAGAAAATGTATTA
TCAGAATGCCTGGGCATCGGCCTGGTTACTCCTATACCTTTATGAGCCCGAGGCTACAGCCTCCGGGGCGACCCTT
CCTTCGTG



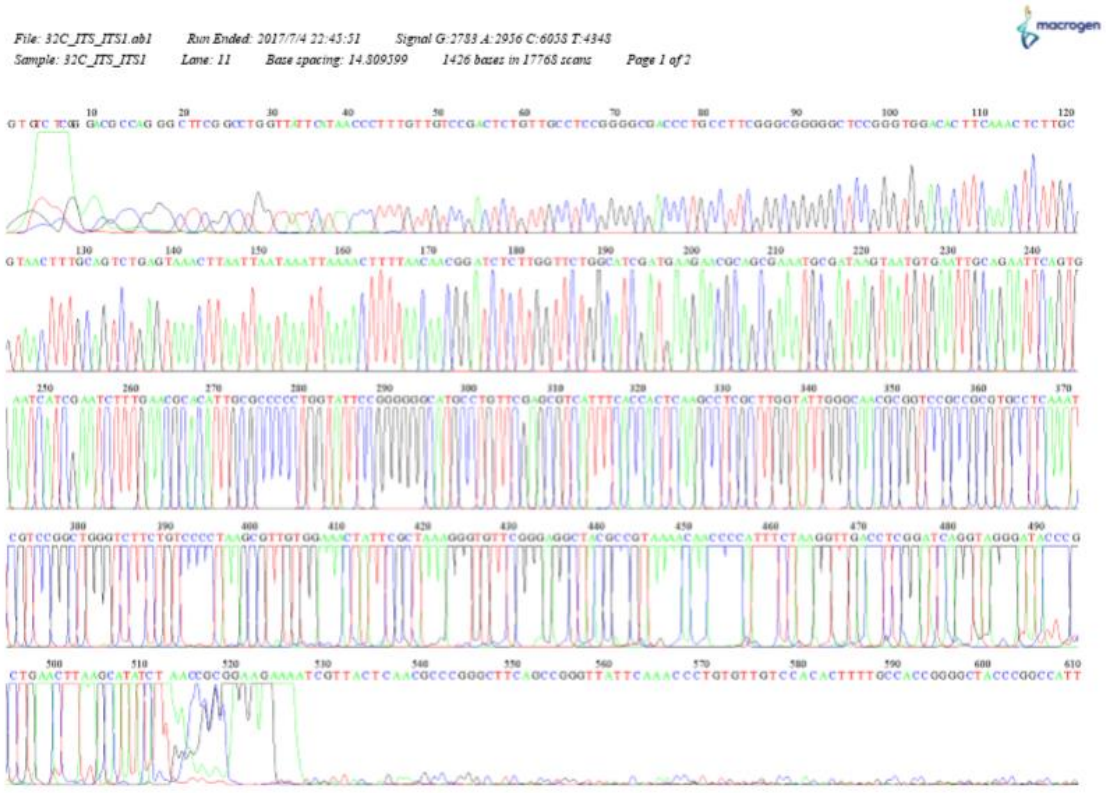
C. sp. 10ACT

GGGGGCCTCTGAGCGCCAGGGCTTCGGCCTGGTTATTCATAACCCTTTGTTGTCCGACTCTGTTGCCTCCGGGGCG
ACCCTGCCTTCGGGCGGGGGCTCCGGGTGGACACTTCAAACTCTTGCGTAACTTTGCAGTCTGAGTAAACTTAATT
AATAAATTAAAACTTTTAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAAT
GTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCT
GTTCGAGCGTCATTTCACCACTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCAACGCGGTCCGCCGCGTGCCTCAAATCGTCCG
GCTGGGTCTTCTGTCCCCTAAGCGTTGTGGAAACTATTCGCTAAAGGGTGTTCGGGAGGCTACGCCGTAAAACAA
CCCCATTTCTAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGGCGGGAGGAA
ATTTTTTTTTTATTTTT



C. sp. 32ACT

GTGTCTCGGGACGCCAGGGCTTCGGCCTGGTTATTCATAACCCTTTGTTGTCCGACTCTGTTGCCTCCGGGGCGAC
CCTGCCTTCGGGCGGGGGCTCCGGGTGGACACTTCAAACTCTTGCGTAACTTTGCAGTCTGAGTAAACTTAATTAA
TAAATTAAAACTTTTAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGT
GAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGT
TCGAGCGTCATTTCACCACTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCAACGCGGTCCGCCGCGTGCCTCAAATCGTCCGGC
TGGGTCTTCTGTCCCCTAAGCGTTGTGGAAACTATTCGCTAAAGGGTGTTCGGGAGGCTACGCCGTAAAACAACCC
CATTTCTAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCTAACCGCGGAAGAAAATCGT
TACTCAACGCCCGGGCTTCAGCCGGGTTATTCAAACCCTGTGTTGTCCACACTTTTGCCACCGGGGCTACCCGGCC
ATT

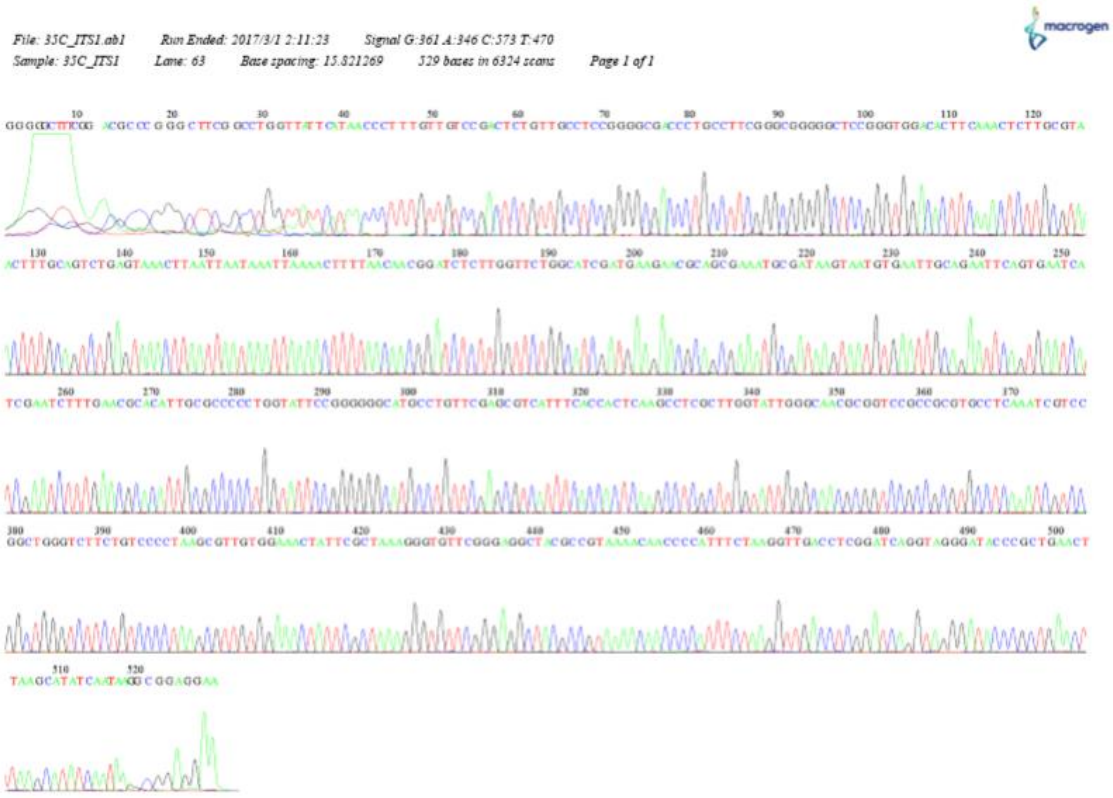


C. sp. 34ACT

GATGGGCCTTCGACGCCGGGCTTCGGCCTGGTTATTCATAACCCTTTGTTGTCCGACTCTGTTGCCTCCGGGGCGA
CCCTGCCTTCGGGCGGGGGCTCCGGGTGGACACTTCAAACTCTTGCGTAACTTTGCAGTCTGAGTAAACTTAATTA
ATAAATTAAAACTTTTAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATG
TGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTG
TTCGAGCGTCATTTCACCACTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCAACGCGGTCCGCCGCGTGCCTCAAATCGTCCGG
CTGGGTCTTCTGTCCCCTAAGCGTTGTGGAAACTATTCGCTAAAGGGTGTTCGGGAGGCTACGCCGTAAAACAACC
CCATTTCTAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGGCGGGAGGAAAA
TAAAAAAAAAA

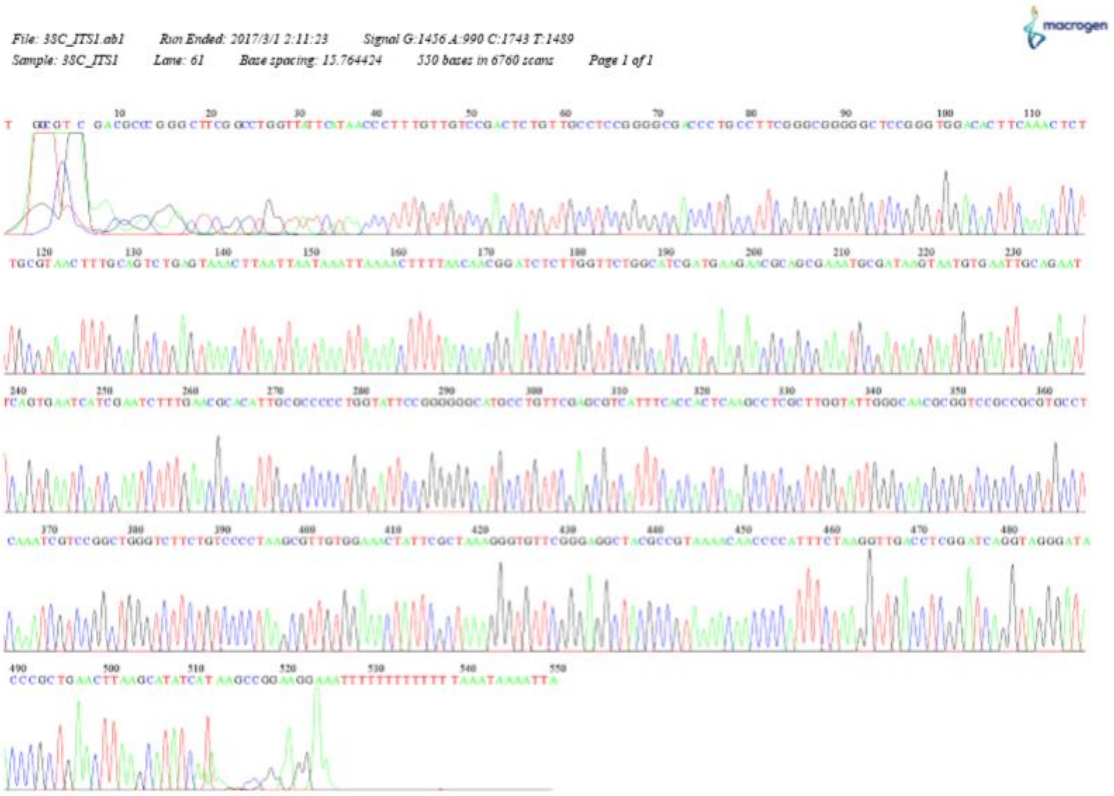
C. sp. 35ACT

GGGGGCTTTCGGACGCCCGGGCTTCGGCCTGGTTATTCATAACCCTTTGTTGTCCGACTCTGTTGCCTCCGGGGCG
ACCCTGCCTTCGGGCGGGGGCTCCGGGTGGACACTTCAAACTCTTGCGTAACTTTGCAGTCTGAGTAAACTTAATT
AATAAATTAAAACTTTTAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAAT
GTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCT
GTTCGAGCGTCATTTCACCACTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCAACGCGGTCCGCCGCGTGCCTCAAATCGTCCG
GCTGGGTCTTCTGTCCCCTAAGCGTTGTGGAAACTATTCGCTAAAGGGTGTTCGGGAGGCTACGCCGTAAAACAA
CCCCATTTCTAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGGCGGAGGAA



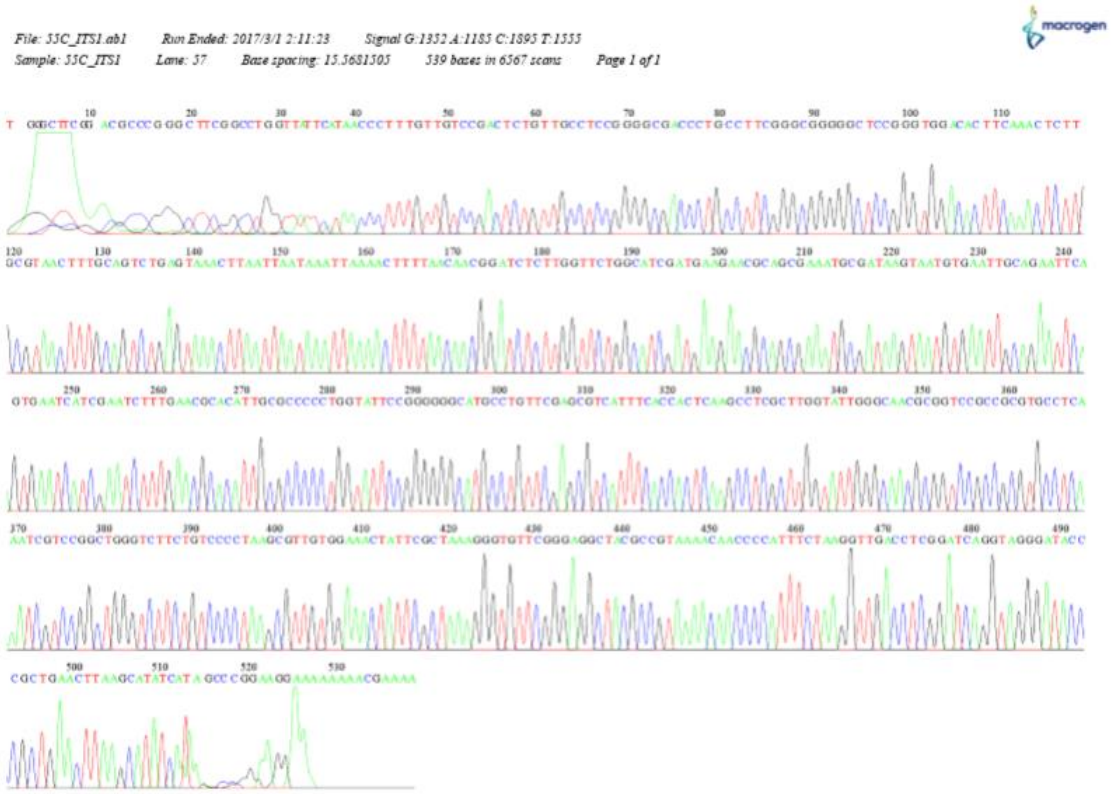
C. sp. 38ACT

TGGCGTCGACGCCCGGGCTTCGGCCTGGTTATTCATAACCCTTTGTTGTCCGACTCTGTTGCCTCCGGGGCGACCCT
GCCTTCGGGCGGGGGCTCCGGGTGGACACTTCAAACTCTTGCGTAACTTTGCAGTCTGAGTAAACTTAATTAATAA
ATTAAAACTTTTAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAA
TTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTTCG
AGCGTCATTTCACCACTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCAACGCGGTCCGCCGCGTGCCTCAAATCGTCCGGCTGG
GTCTTCTGTCCCCTAAGCGTTGTGGAAACTATTCGCTAAAGGGTGTTCGGGAGGCTACGCCGTAAAACAACCCCAT
TTCTAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAAGCCGGAAGGAAATTTTTTT
TTTTTTAAATAAAATTA



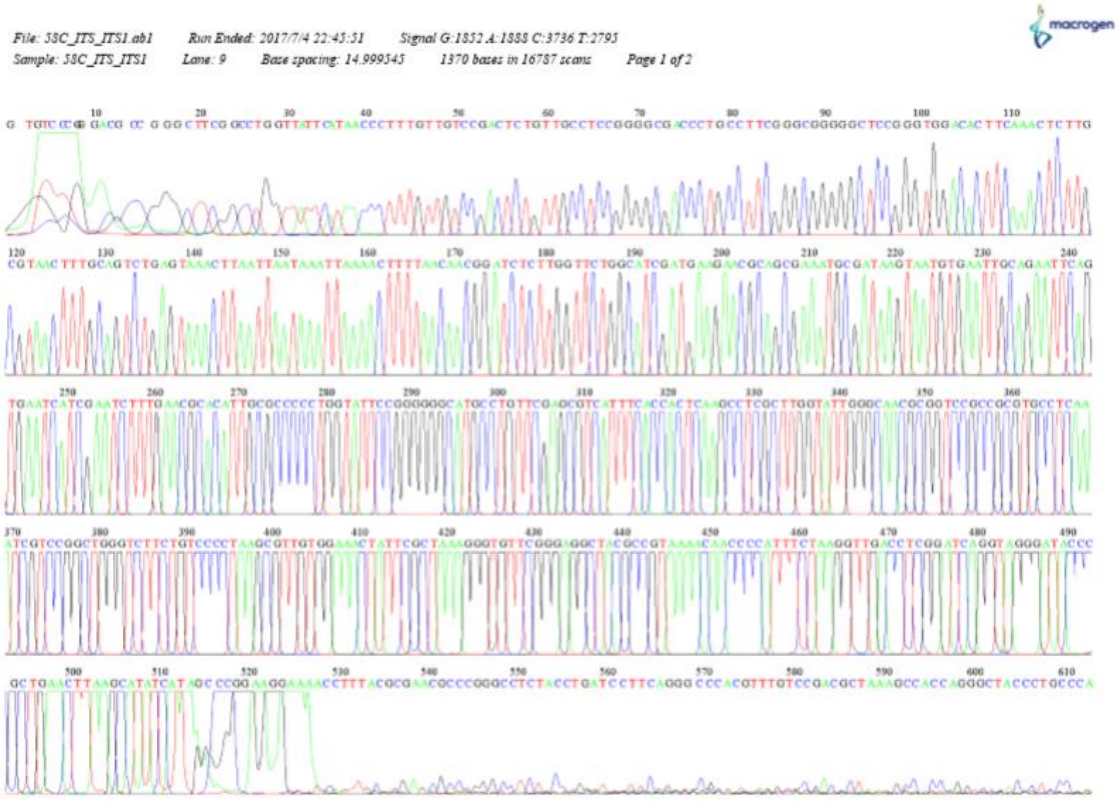
C. sp. 54ACT

TGGGCTTCGGACGCCCGGGCTTCGGCCTGGTTATTCATAACCCTTTGTTGTCCGACTCTGTTGCCTCCGGGGCGAC
CCTGCCTTCGGGCGGGGGCTCCGGGTGGACACTTCAAACTCTTGCGTAACTTTGCAGTCTGAGTAAACTTAATTAA
TAAATTAAAACTTTTAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGT
GAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGT
TCGAGCGTCATTTCACCACTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCAACGCGGTCCGCCGCGTGCCTCAAATCGTCCGGC
TGGGTCTTCTGTCCCCTAAGCGTTGTGGAAACTATTCGCTAAAGGGTGTTCGGGAGGCTACGCCGTAAAACAACCC
CATTTCTAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAGCCCGGAAGGAAAAAA
AACGAAAA



C. sp. 57ACT

GTGTCCCGGGACGCCGGGCTTCGGCCTGGTTATTCATAACCCTTTGTTGTCCGACTCTGTTGCCTCCGGGGCGACC
CTGCCTTCGGGCGGGGGCTCCGGGTGGACACTTCAAACTCTTGCGTAACTTTGCAGTCTGAGTAAACTTAATTAAT
AAATTAAAACTTTTAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTG
AATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTT
CGAGCGTCATTTCACCACTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCAACGCGGTCCGCCGCGTGCCTCAAATCGTCCGGCT
GGGTCTTCTGTCCCCTAAGCGTTGTGGAAACTATTCGCTAAAGGGTGTTCGGGAGGCTACGCCGTAAAACAACCCC
ATTTCTAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAGCCCGGAAGGAAAACCTT
TACGCGAACGCCCGGGCCTCTACCTGATCCTTCAGGGCCCACGTTTGTCCGACGCTAAAGCCACCAGGGCTACCCT
GCCCA

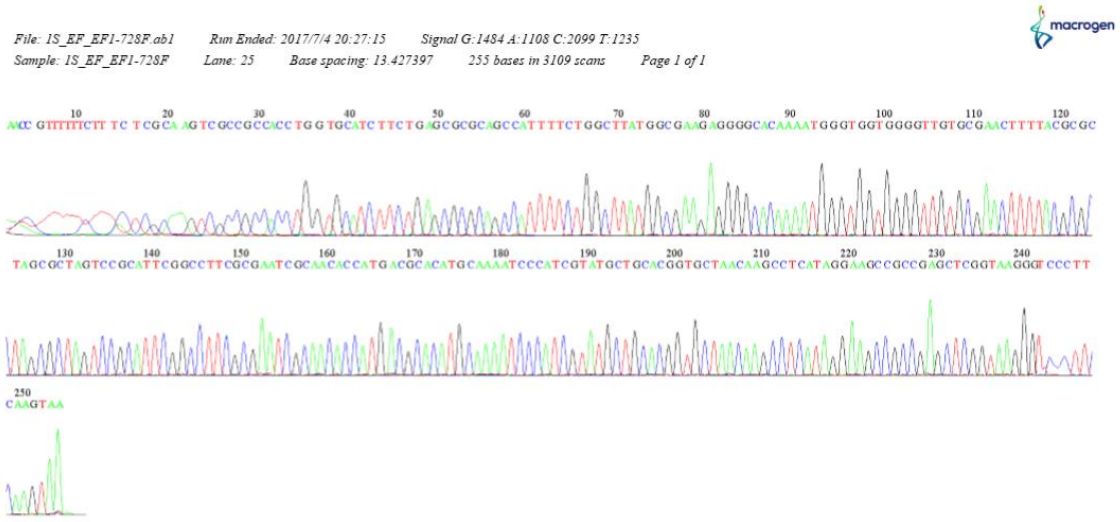


Géneros *Stemphylium* y *Pleospora*

Secuencias del factor de elongación 1-α:

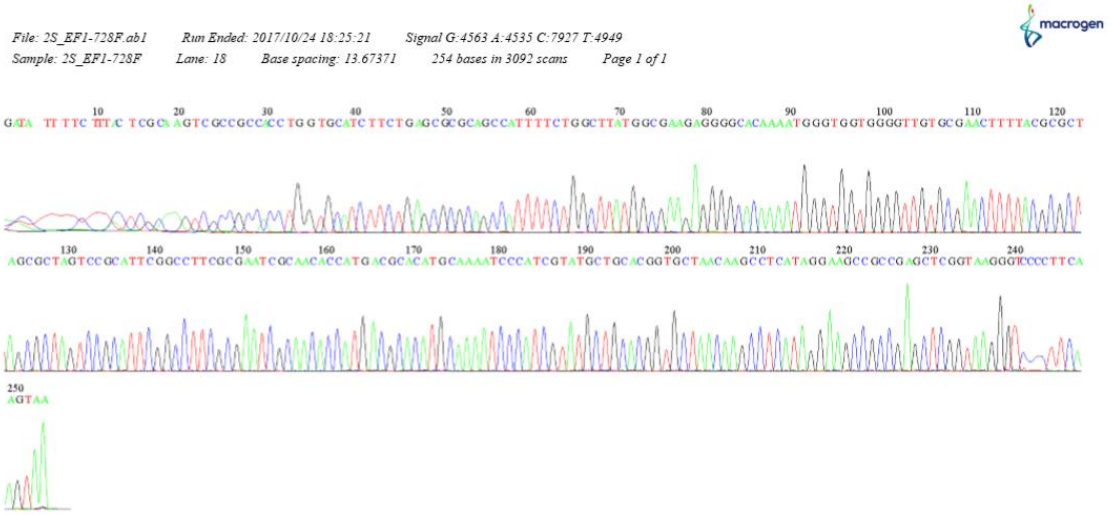
***P. alli* 1S**

AACCGTTTTTTCTTTCTCGCAAGTCGCCGCCACCTGGTGCATCTTCTGAGCGCGCAGCCATTTTCTGGCTTATGGCG
AAGAGGGGCACAAAATGGGTGGTGGGGTTGTGCGAACTTTTACGCGCTAGCGCTAGTCCGCATTCGGCCTTCGCG
AATCGCAACACCATGACGCACATGCAAAATCCCATCGTATGCTGCACGGTGCTAACAAGCCTCATAGGAAGCCGC
CGAGCTCGGTAAGGGTCCCTTCAAGTAA



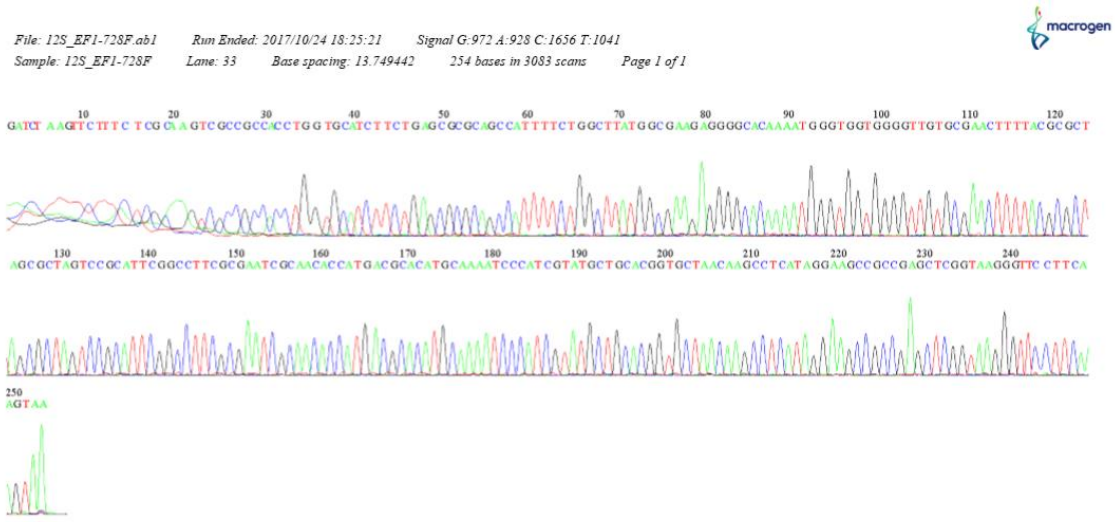
P. alli 2S

GATATTTTCTTTACTCGCAAGTCGCCGCCACCTGGTGCATCTTCTGAGCGCGCAGCCATTTTCTGGCTTATGGCGAA
GAGGGGCACAAAATGGGTGGTGGGGTTGTGCGAACTTTTACGCGCTAGCGCTAGTCCGCATTCGGCCTTCGCGAA
TCGCAACACCATGACGCACATGCAAAATCCCATCGTATGCTGCACGGTGCTAACAAGCCTCATAGGAAGCCGCCG
AGCTCGGTAAGGGTCCCCTTCAAGTAA



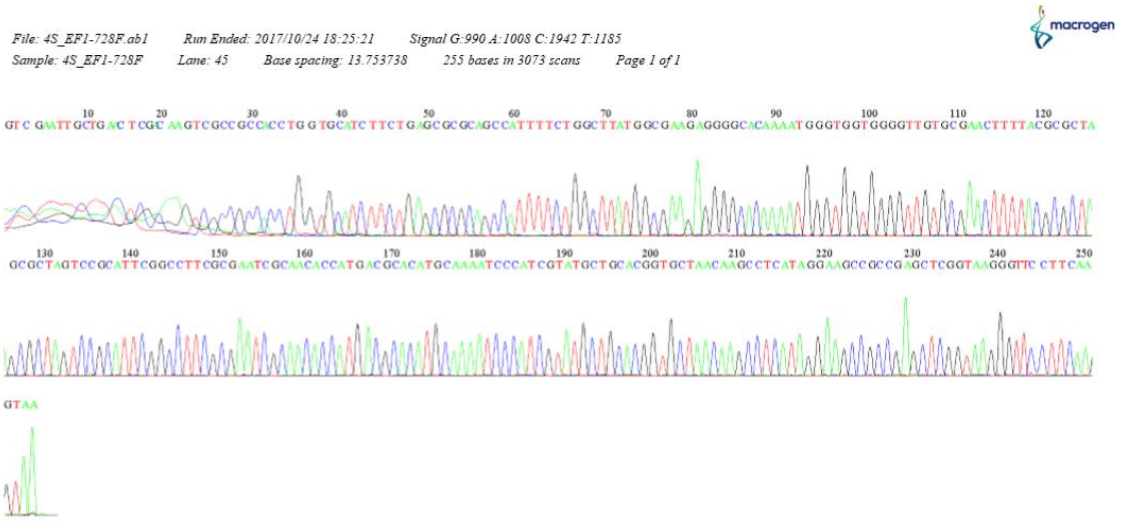
P. alli 3S

GATCTAAGTTCTTTCTCGCAAGTCGCCGCCACCTGGTGCATCTTCTGAGCGCGCAGCCATTTTCTGGCTTATGGCGA
AGAGGGGCACAAAATGGGTGGTGGGGTTGTGCGAACTTTTACGCGCTAGCGCTAGTCCGCATTCGGCCTTCGCGA
ATCGCAACACCATGACGCACATGCAAAATCCCATCGTATGCTGCACGGTGCTAACAAGCCTCATAGGAAGCCGCC
GAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGTAA



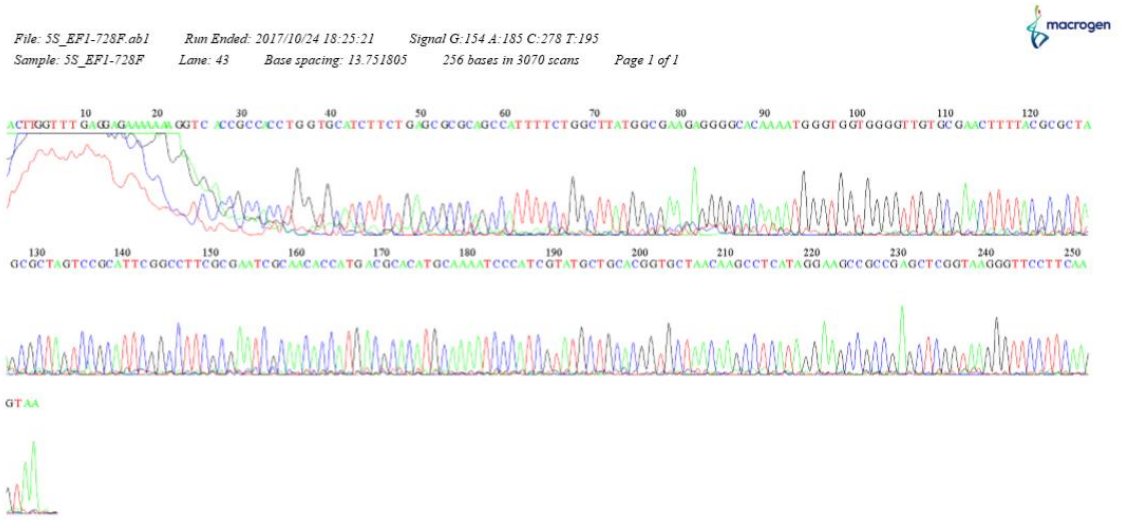
P. alli 4S

GTCGAATTGCTGAACTCGACAAGTCGCCGCCACCTGGTGCATCTTCTGAGCGCGCAGCCATTTTCTGGCTTATGGC
GAAGAGGGGCACAAAATGGGTGGTGGGGTTGTGCGAACTTTTACGCGCTAGCGCTAGTCCGCATTCGGCCTTCGC
GAATCGCAACACCATGACGCACATGCAAAATCCCATCGTATGCTGCACGGTGCTAACAAGCCTCATAGGAAGCCG
CCGAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGTAA



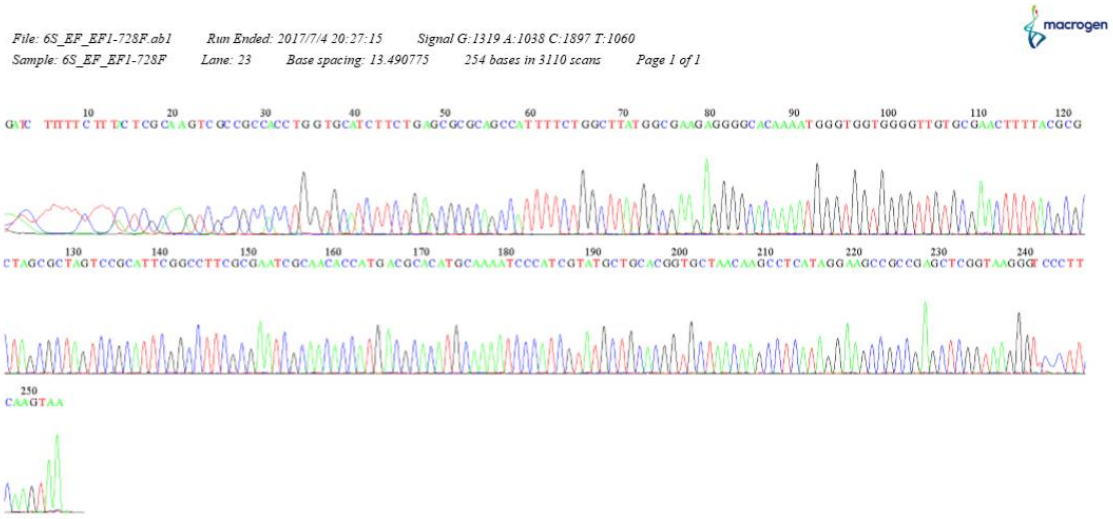
S. vesicarium 5S

ACTTGGTTTGAGGAGAAAAAAAGGTCACCGCCACCTGGTGCATCTTCTGAGCGCGCAGCCATTTTCTGGCTTATGG
CGAAGAGGGGCACAAAATGGGTGGTGGGGTTGTGCGAACTTTTACGCGCTAGCGCTAGTCCGCATTCGGCCTTCG
CGAATCGCAACACCATGACGCACATGCAAAATCCCATCGTATGCTGCACGGTGCTAACAAGCCTCATAGGAAGCC
GCCGAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGTAA



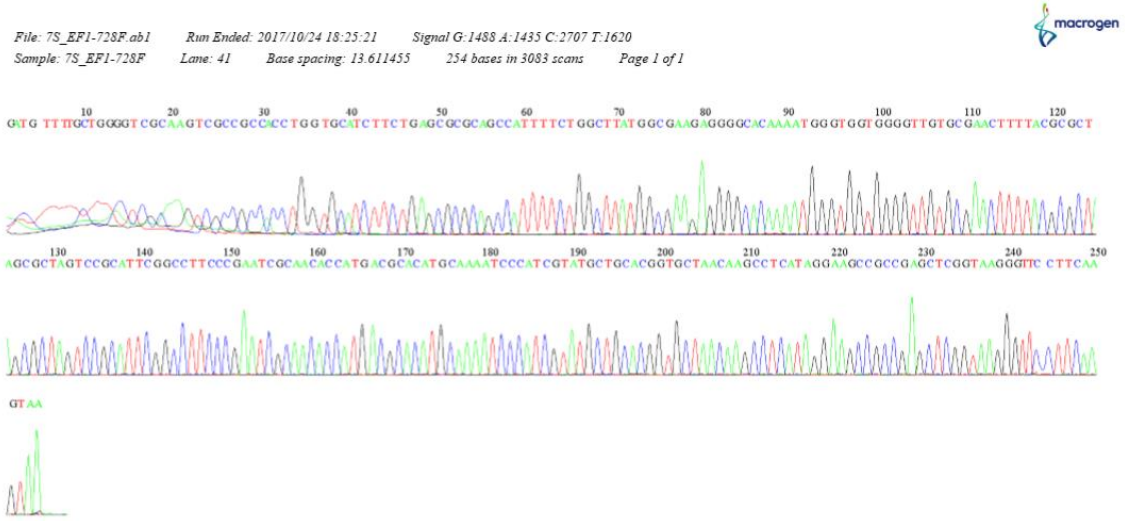
P. alli 6S

GATCTTTTTCTTTACTCGCAAGTCGCCGCCACCTGGTGCATCTTCTGAGCGCGCAGCCATTTTCTGGCTTATGGCGA
AGAGGGGCACAAAATGGGTGGTGGGGTTGTGCGAACTTTTACGCGCTAGCGCTAGTCCGCATTCGGCCTTCGCGA
ATCGCAACACCATGACGCACATGCAAAATCCCATCGTATGCTGCACGGTGCTAACAAGCCTCATAGGAAGCCGCC
GAGCTCGGTAAGGGTCCCTTCAAGTAA



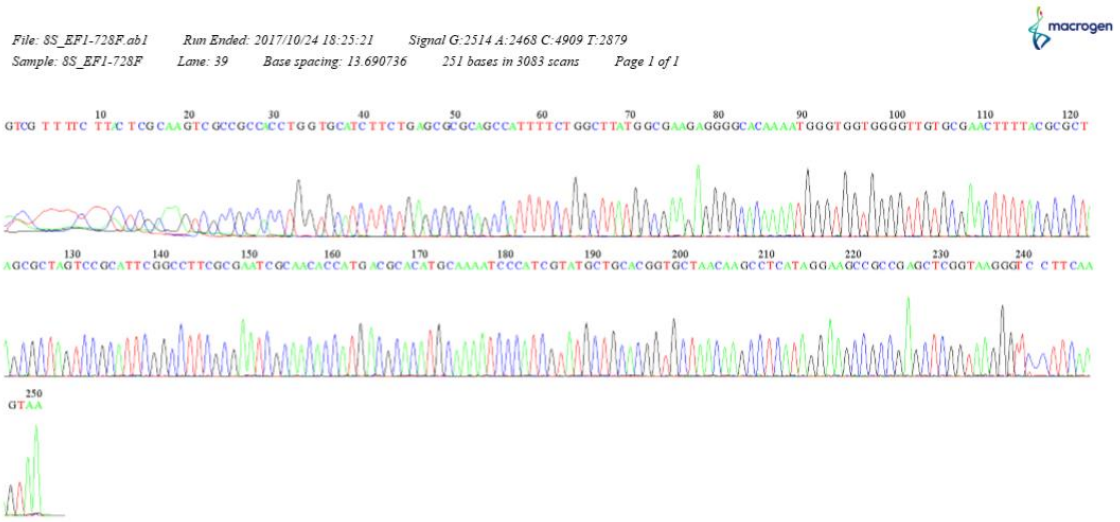
P. alli 7S

GATGTTTTGCTGGGGTCGCAAGTCGCCGCCACCTGGTGCATCTTCTGAGCGCGCAGCCATTTTCTGGCTTATGGCG
AAGAGGGGCACAAAATGGGTGGTGGGGTTGTGCGAACTTTTACGCGCTAGCGCTAGTCCGCATTCGGCCTTCCCG
AATCGCAACACCATGACGCACATGCAAAATCCCATCGTATGCTGCACGGTGCTAACAAGCCTCATAGGAAGCCGC
CGAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGTAA



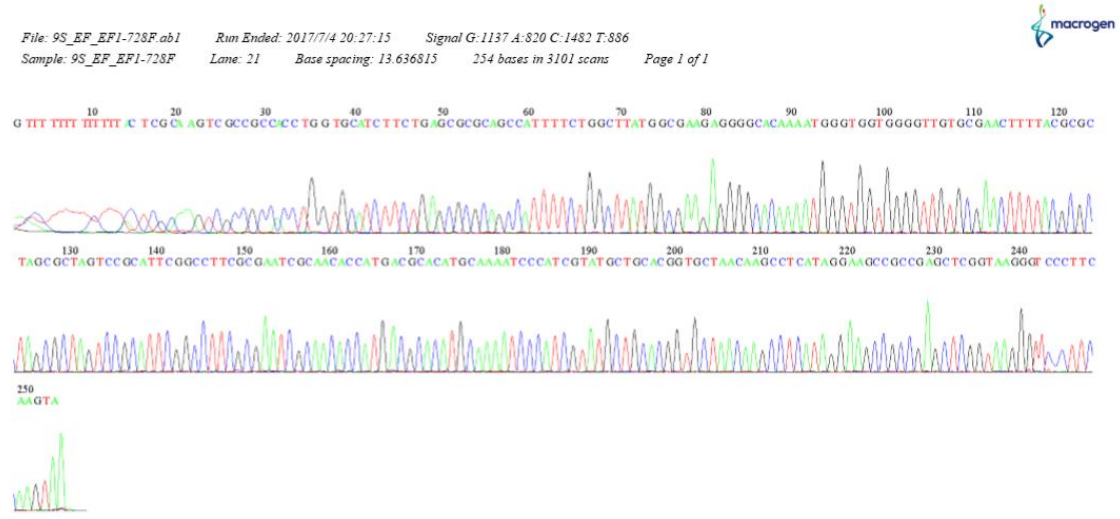
P. alli 8S

GTCGTTTTCTTACTCGCAAGTCGCCGCCACCTGGTGCATCTTCTGAGCGCGCAGCCATTTTCTGGCTTATGGCGAAG
AGGGGCACAAAATGGGTGGTGGGGTTGTGCGAACTTTTACGCGCTAGCGCTAGTCCGCATTCGGCCTTCGCGAAT
CGCAACACCATGACGCACATGCAAAATCCCATCGTATGCTGCACGGTGCTAACAAGCCTCATAGGAAGCCGCCGA
GCTCGGTAAGGGTCCTTCAAGTAA



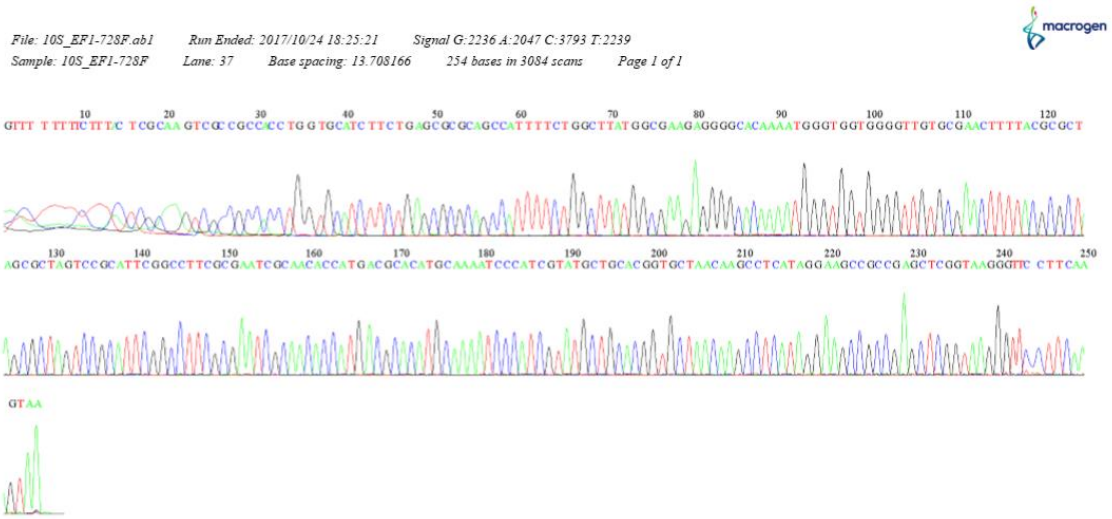
S. vesicarium 9S

GTTTTTTTTTTTTTACTCGCAAGTCGCCGCCACCTGGTGCATCTTCTGAGCGCGCAGCCATTTTCTGGCTTATGGCGA
AGAGGGGCACAAAATGGGTGGTGGGGTTGTGCGAACTTTTACGCGCTAGCGCTAGTCCGCATTCGGCCTTCGCGA
ATCGCAACACCATGACGCACATGCAAAATCCCATCGTATGCTGCACGGTGCTAACAAGCCTCATAGGAAGCCGCC
GAGCTCGGTAAGGGTCCCTTCAAGTA



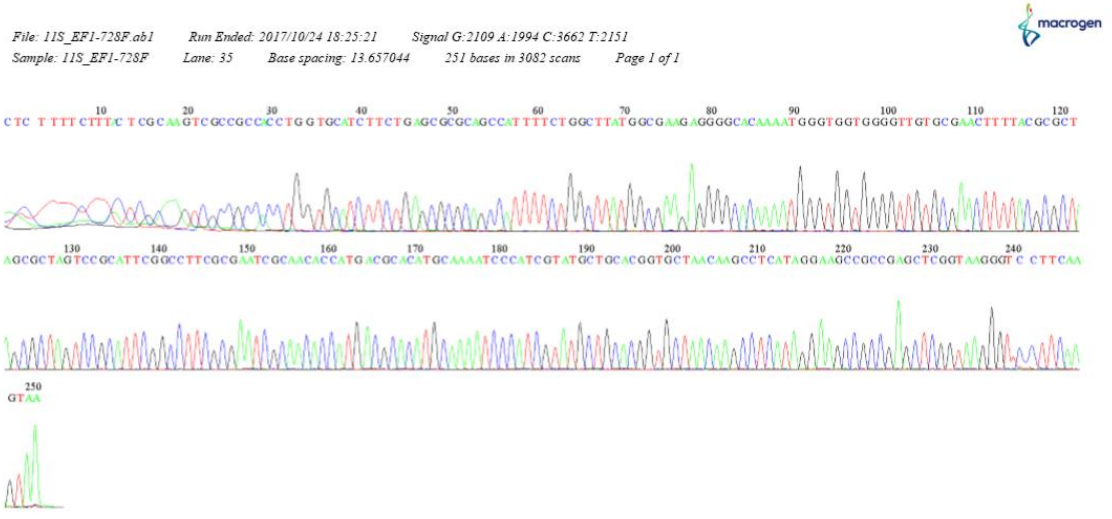
P. alli 10S

GTTTTTTTTCTTTACTCGCAAGTCGCCGCCACCTGGTGCATCTTCTGAGCGCGCAGCCATTTTCTGGCTTATGGCGA
AGAGGGGCACAAAATGGGTGGTGGGGTTGTGCGAACTTTTACGCGCTAGCGCTAGTCCGCATTCGGCCTTCGCGA
ATCGCAACACCATGACGCACATGCAAAATCCCATCGTATGCTGCACGGTGCTAACAAGCCTCATAGGAAGCCGCC
GAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGTAA



P. alli 11S

CTCTTTTCTTTACTCGCAAGTCGCCGCCACCTGGTGCATCTTCTGAGCGCGCAGCCATTTTCTGGCTTATGGCGAAG
AGGGGCACAAAATGGGTGGTGGGGTTGTGCGAACTTTTACGCGCTAGCGCTAGTCCGCATTCGGCCTTCGCGAAT
CGCAACACCATGACGCACATGCAAAATCCCATCGTATGCTGCACGGTGCTAACAAGCCTCATAGGAAGCCGCCGA
GCTCGGTAAGGGTCCTTCAAGTAA

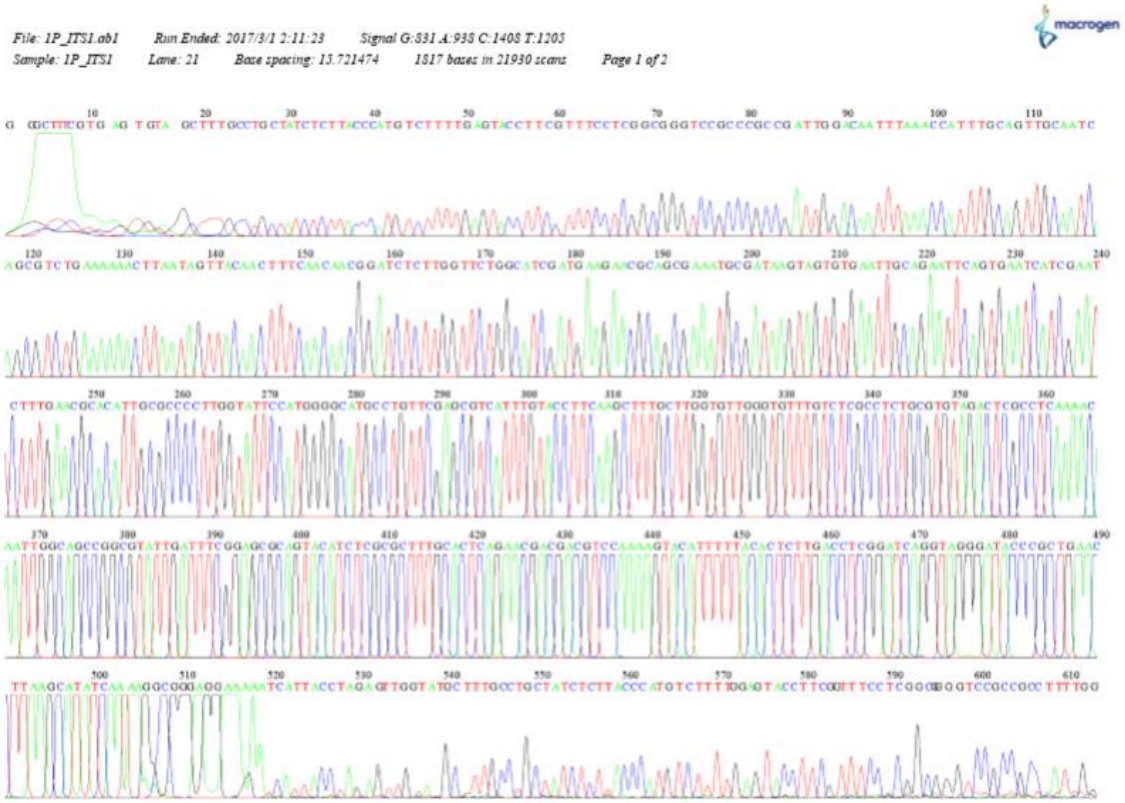


Género *Phoma*

Secuencias de ITS de los genes codificantes de ARNr:

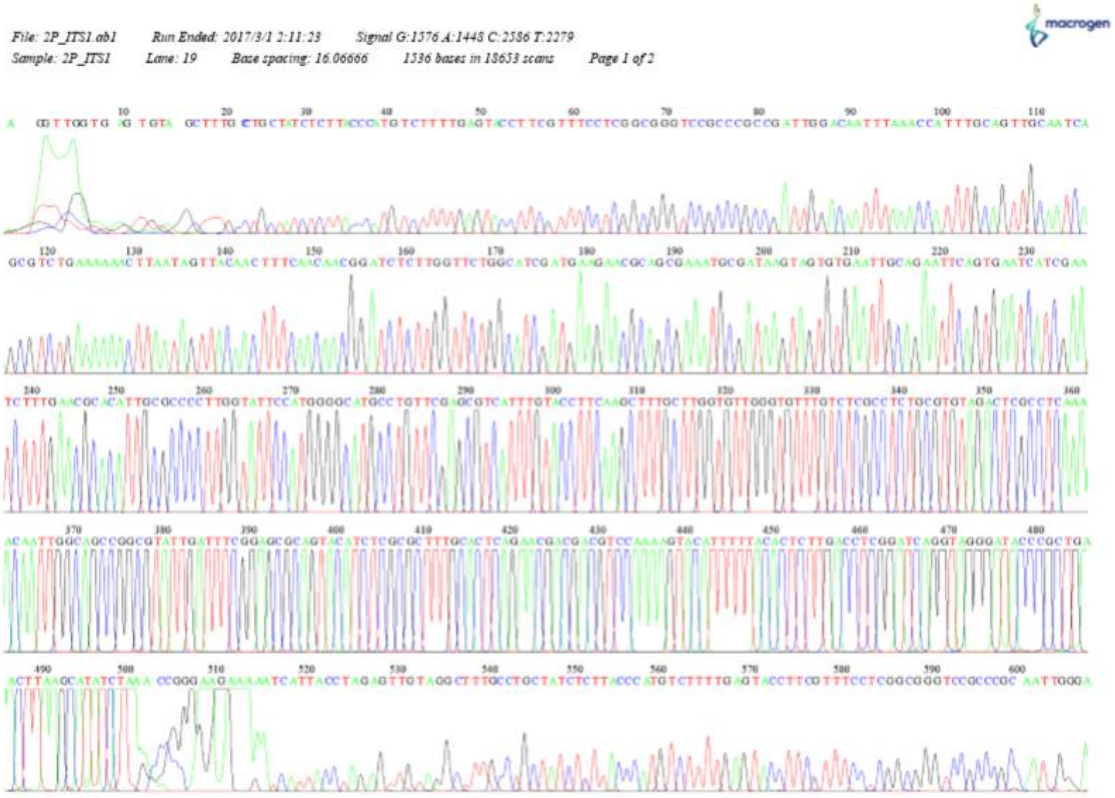
P. aliena **1P**

GGGCTTTCGTGAGTGTAGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTCCG
CCCGCCGATTGGACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAACTTTCAACA
ACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTG
AATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACCT
TCAAGCTTTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGCGT
ATTGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCAGAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTTACACTCTTG
ACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAAAGGCGGGAGGAAAAATCATTACCTAGAGTT
GGTATGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGGAGTACCTTCGGTTTCCTCGGCGGGGTCCGCCGCCTTTTG
G



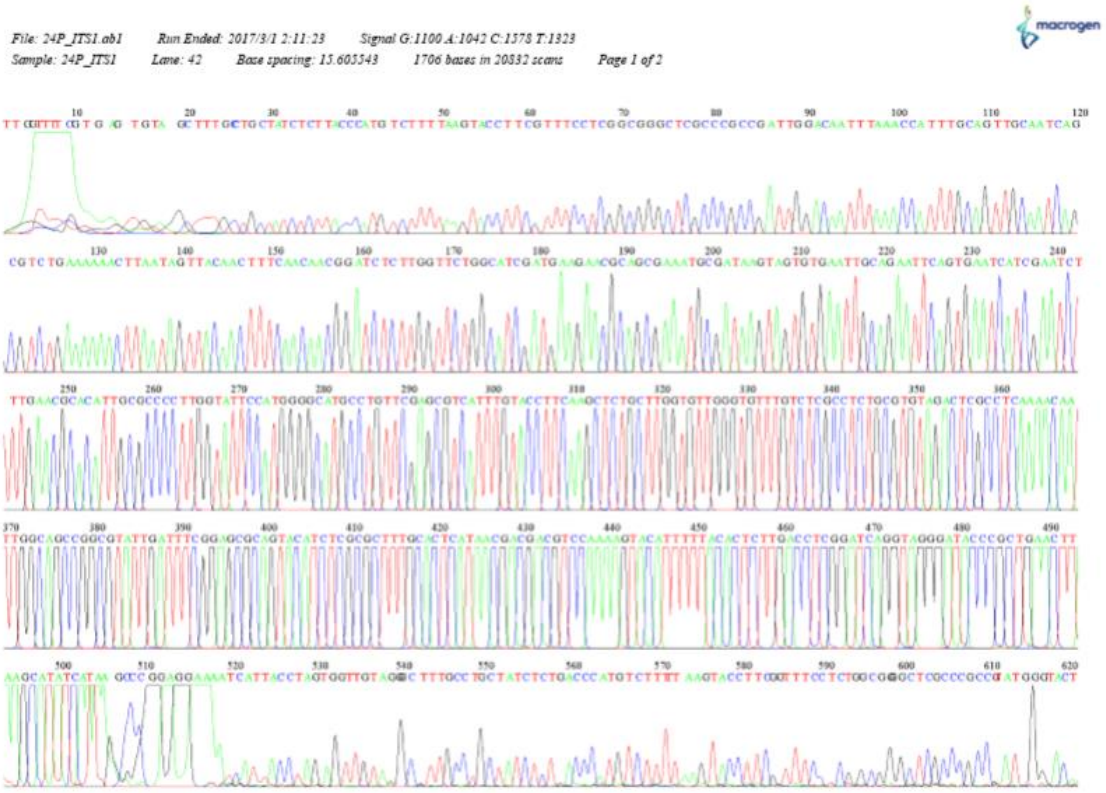
P. aliena 2P

AGGTTGGTGAGTGTAGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTCCGCC
CGCCGATTGGACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAACTTTCAACAAC
GGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGAA
TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACCTTC
AAGCTTTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGCGTAT
TGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCAGAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTTACACTCTTGAC
CTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCTAAACCGGGAAGAAAAATCATTACCTAGAGTTGTA
GGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTCCGCCCGCAATTGGGA



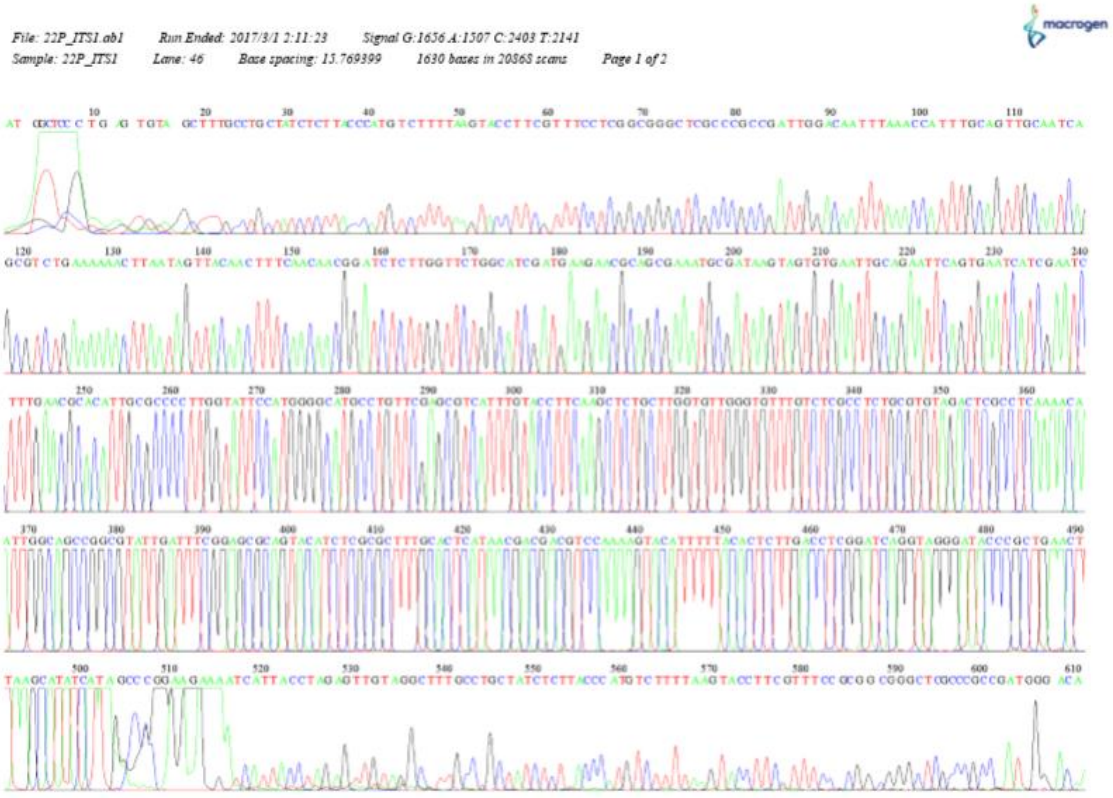
P. glomerata 3P

TTGGTTTTCGTGAGTGTAGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTAAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGCTCG
CCCGCCGATTGGACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAACTTTCAACA
ACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTG
AATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACCT
TCAAGCTCTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGCGT
ATTGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCATAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTTACACTCTTG
ACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAAGCCCGGAGGAAAATCATTACCTAGTGGTT
GTAGGGCTTTGCCTGCTATCTCTGACCCATGTCTTTTTAAGTACCTTCGGTTTCCTCTGGCGGGGCTCGCCCGCCGT
ATGGGTACT



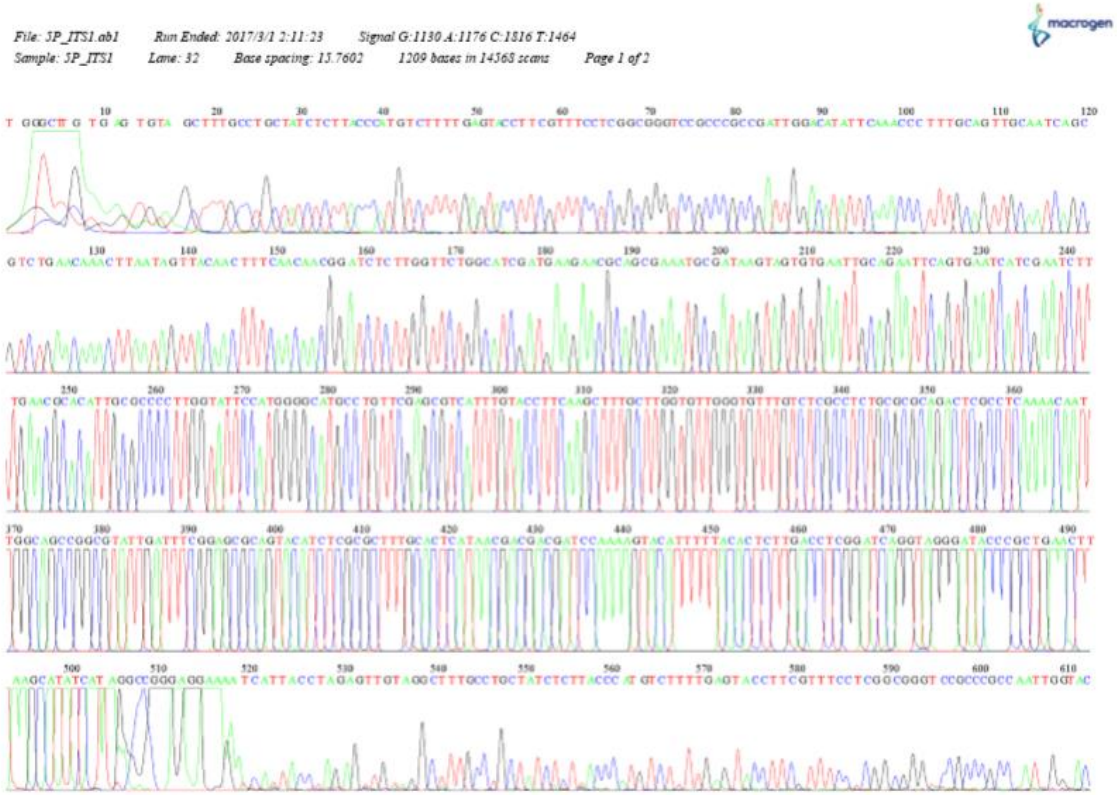
P. glomerata 4P

ATGGCTCCCTGAGTGTAGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTAAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGCTCGC
CCGCCGATTGGACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAACTTTCAACAA
CGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACCTT
CAAGCTCTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGCGTA
TTGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCATAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTTACACTCTTGA
CCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAGCCCGGAAGAAAATCATTACCTAGAGTTGTA
GGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTAAGTACCTTCGTTTCCGCGGCGGGCTCGCCCGCCGATGGGACA



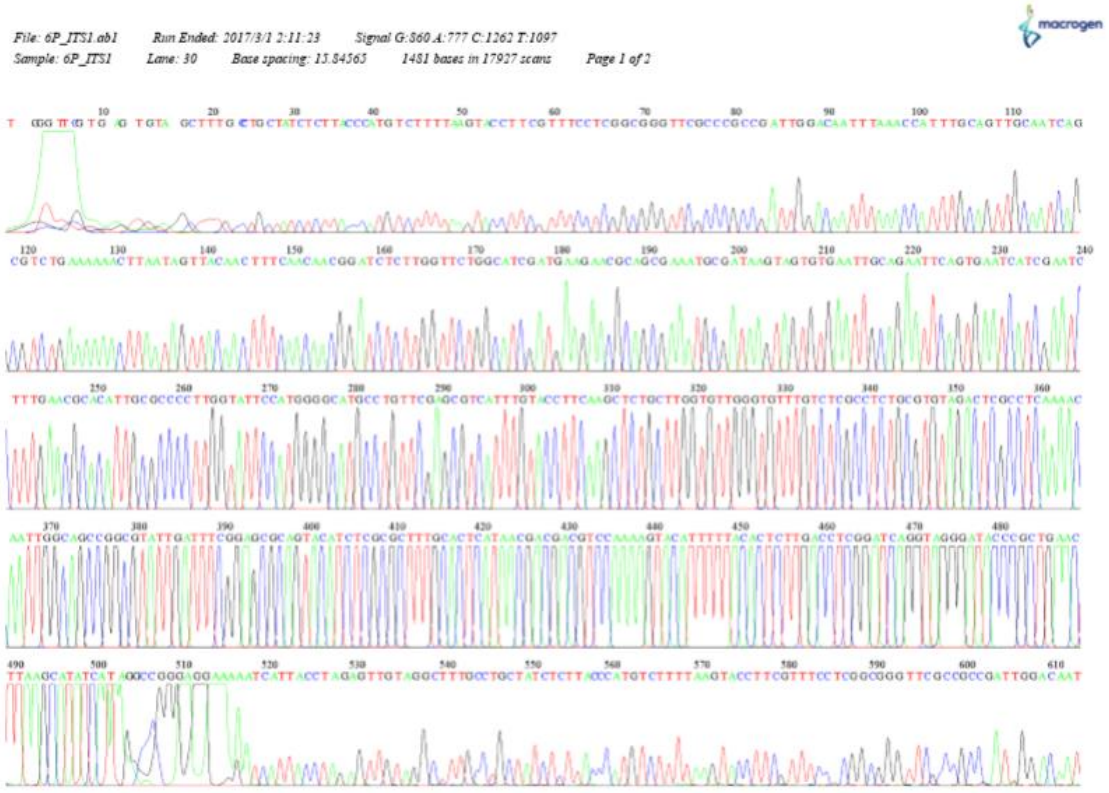
P. sp. 5P

TGGGCTTGTGAGTGTAGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTCCGC
CCGCCGATTGGACATATTCAAACCCTTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAACAAACTTAATAGTTACAACTTTCAACA
ACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTG
AATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACCT
TCAAGCTTTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGCGCAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGCGT
ATTGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCATAACGACGACGATCCAAAAGTACATTTTTACACTCTT
GACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAGGCCGGGAGGAAAATCATTACCTAGAGTT
GTAGGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTCCGCCCGCCAATTGGTA
C



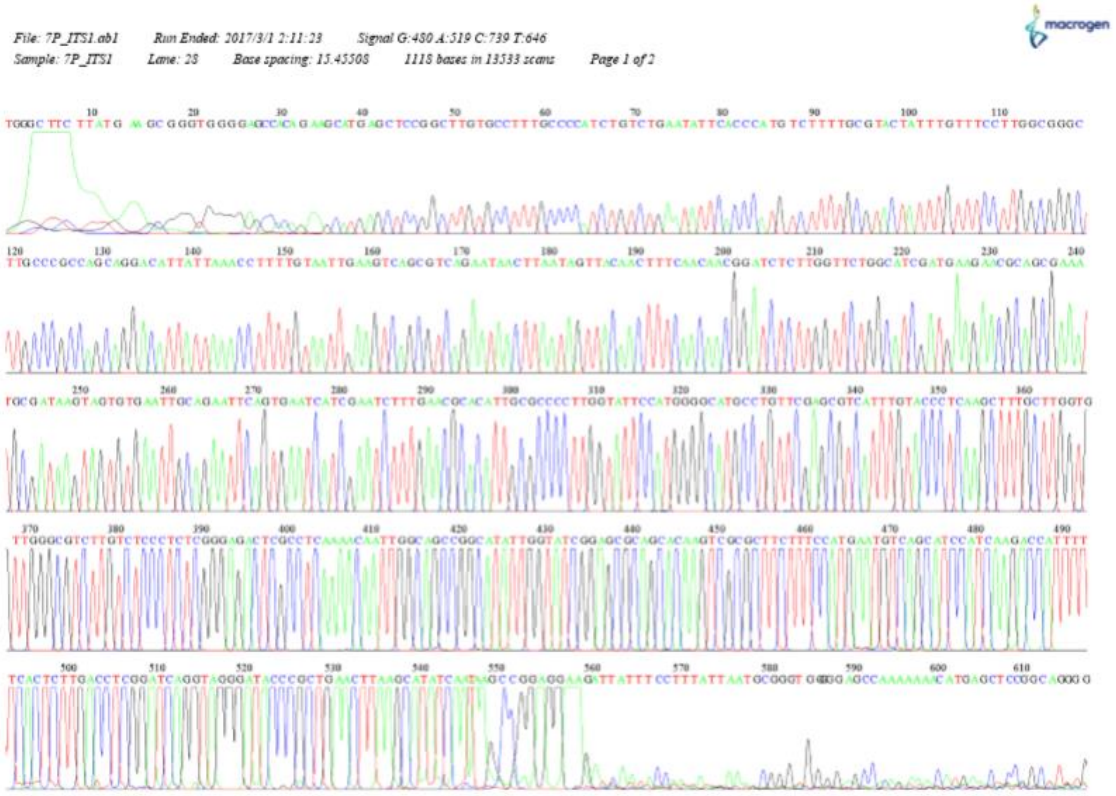
P. glomerata 6P

TGGGTTCGTGAGTGTAGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTAAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTTCGCC
CGCCGATTGGACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAACTTTCAACAAC
GGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGAA
TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACCTTC
AAGCTCTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGCGTAT
TGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCATAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTTACACTCTTGAC
CTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAGGCCGGGAGGAAAAATCATTACCTAGAGTTGT
AGGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTAAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTTCGCCGCCGATTGGACAAT



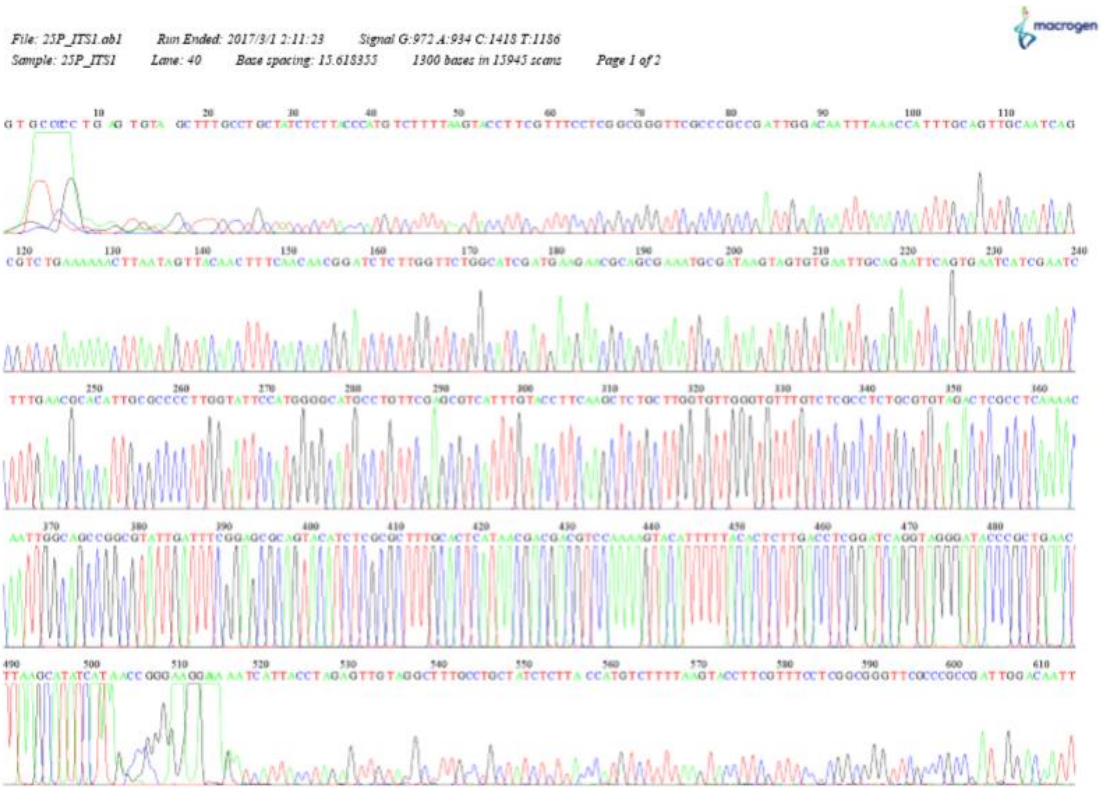
P. betae **7P**

TGGGCTTCTTATGAAGCGGGTGGGGAGCCACAGAAGCATGAGCTCCGGCTTGTGCCTTTGCCCCATCTGTCTGAA
TATTCACCCATGTCTTTTGCGTACTATTTGTTTCCTTGGCGGGCTTGCCCGCCAGCAGGACATTATTAAACCTTTTGT
AATTGAAGTCAGCGTCAGAATAACTTAATAGTTACAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAG
AACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGC
CCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACCCTCAAGCTTTGCTTGGTGTTGGGCGTCTTGT
CTCCCTCTCGGGAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGCATATTGGTATCGGAGCGCAGCACAAGTCGCGCT
TCTTTCCATGAATGTCAGCATCCATCAAGACCATTTTTCACTCTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAAC
TTAAGCATATCAATAAGCCGGAGGAAGATTATTTCCTTTATTAATGCGGGTGGGGGAGCCAAAAAAACATGAGCT
CCGGCAGGGG



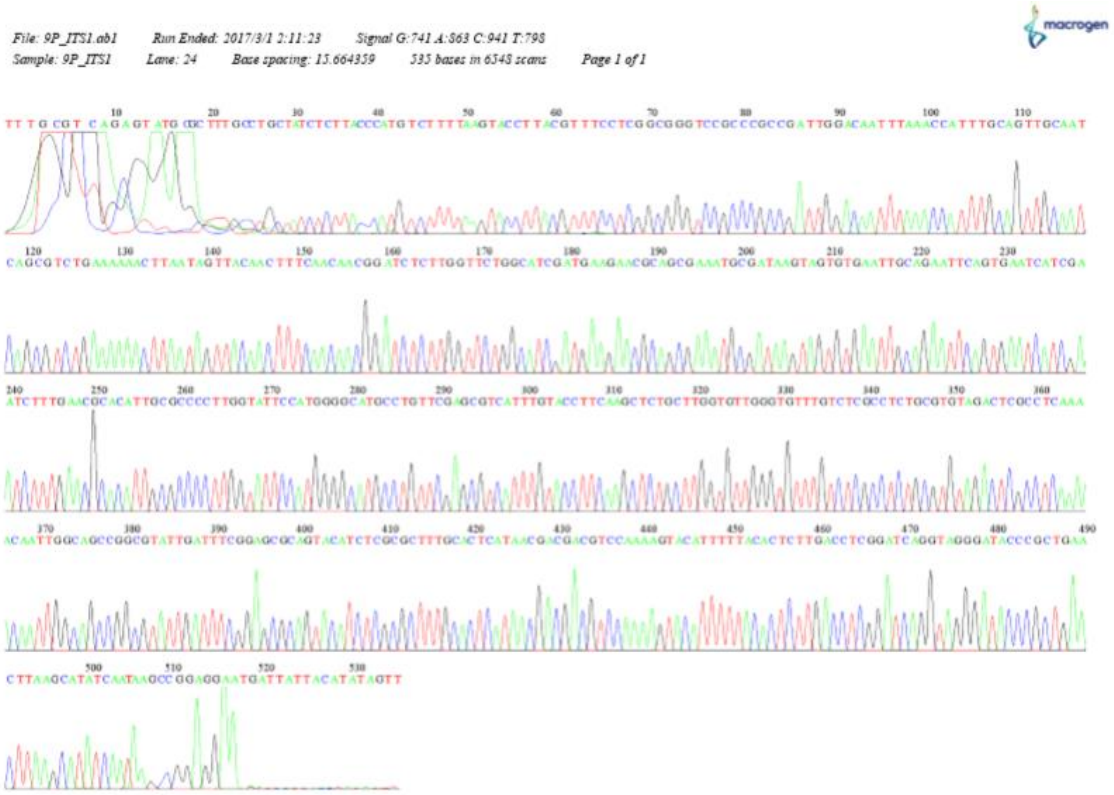
P. glomerata 8P

GTGCCCCCTGAGTGTAGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTAAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTTCGCC
CGCCGATTGGACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAACTTTCAACAAC
GGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGAA
TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACCTTC
AAGCTCTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGCGTAT
TGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCATAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTTACACTCTTGAC
CTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAACCGGGAAGGAAAAATCATTACCTAGAGTTGT
AGGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCATGTCTTTTAAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTTCGCCCGCCGATTGGACAAT
T



P. sp. 9P

TTTGCGTCAGAGTATGCGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTAAGTACCTTACGTTTCCTCGGCGGGTCCG
CCCGCCGATTGGACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAACTTTCAACA
ACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTG
AATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACCT
TCAAGCTCTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGCGT
ATTGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCATAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTTACACTCTTG
ACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCCGGAGGAATGATTATTACATATAGTT

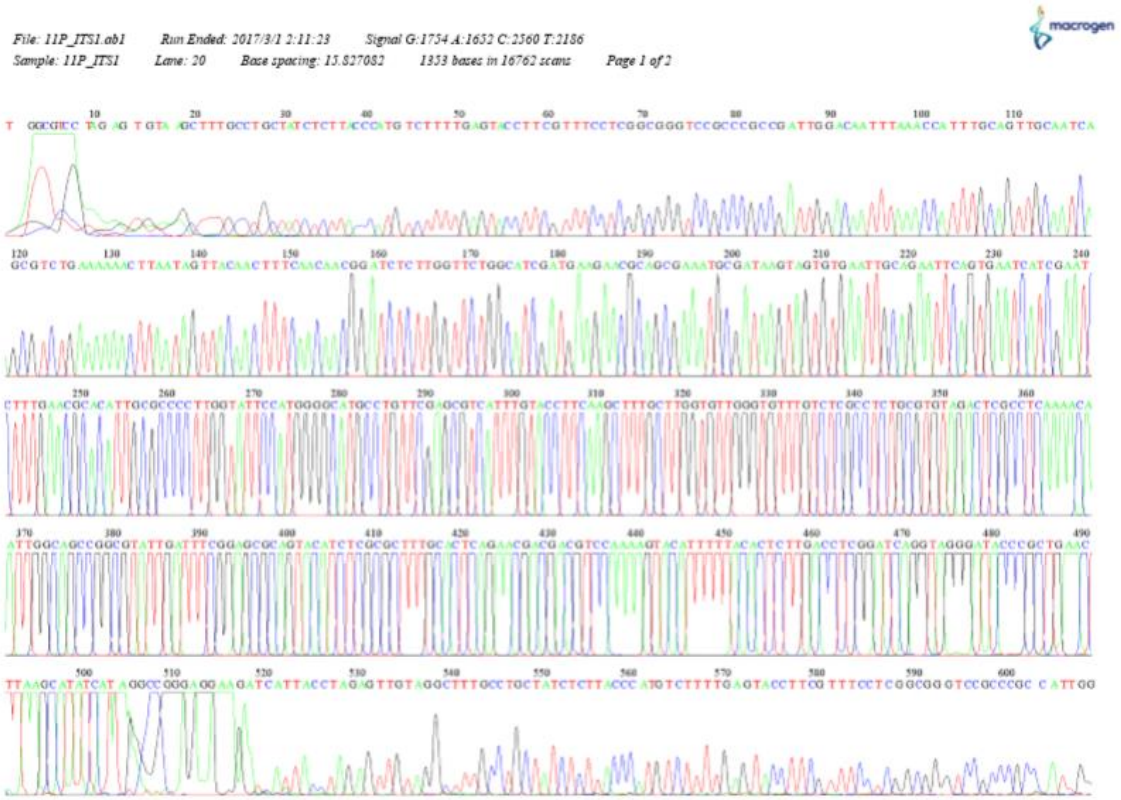


P. medicaginis **10P**

TGCGCTTCGTGGCGGTAGTGGGCTTTGCCCGCTACCTCTTAACCCATGTCTTTTGAGTACTTACGTTTCCTCGGCGG
GTTCGCCCGCCGACTGGACAAAATTAAACCCTTTGTAATTGAAATCAGCGTCTGAAAAACATAATAGTTACAACTTT
CAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATT
CAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTT
GTACCTTCAAGCTATGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTTTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCC
GGCGTATTGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCATAACGACGACGTCCAAAAGTACTTTTTACACT
CTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCCGGAGGAAAAATCTTTCCTACCC
TTTTTTAA

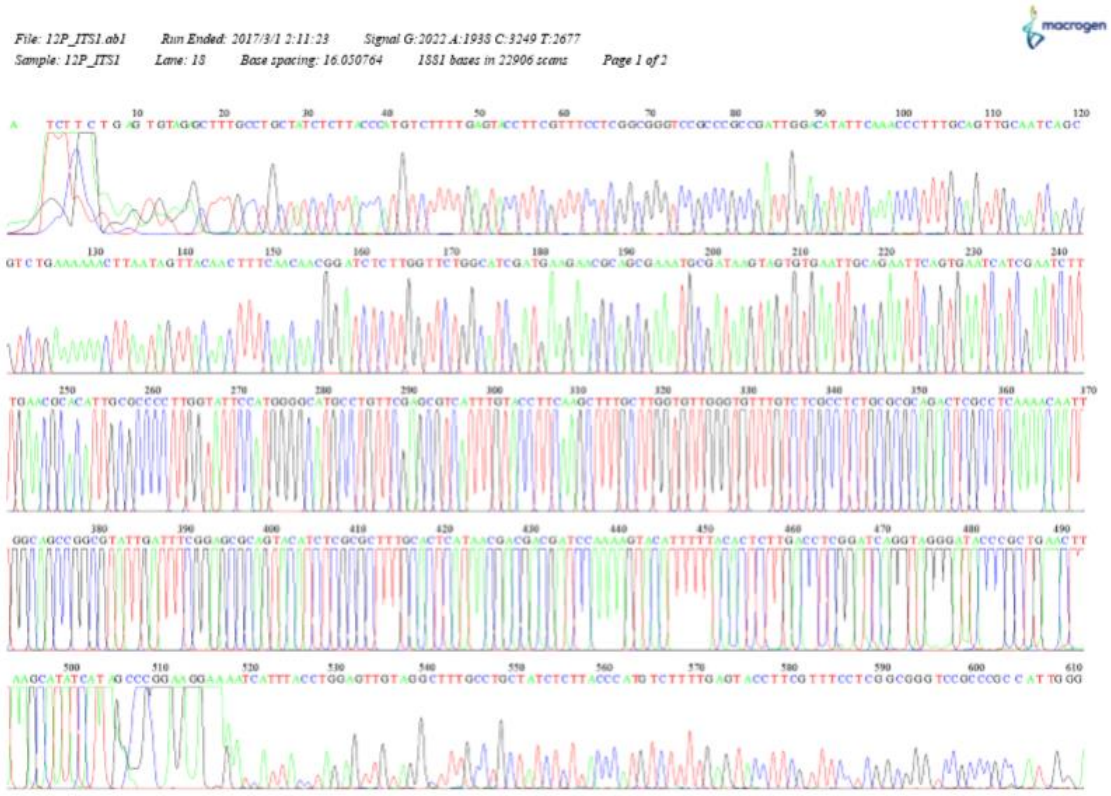
P. aliena **11P**

TGGCGTCCTAGAGTGTAAGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTCC
GCCCGCCGATTGGACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAACTTTCAAC
AACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGT
GAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACC
TTCAAGCTTTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGCG
TATTGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCAGAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTTACACTCTT
GACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAGGCCGGGAGGAAGATCATTACCTAGAGTT
GTAGGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTCCGCCCGCCATTGG



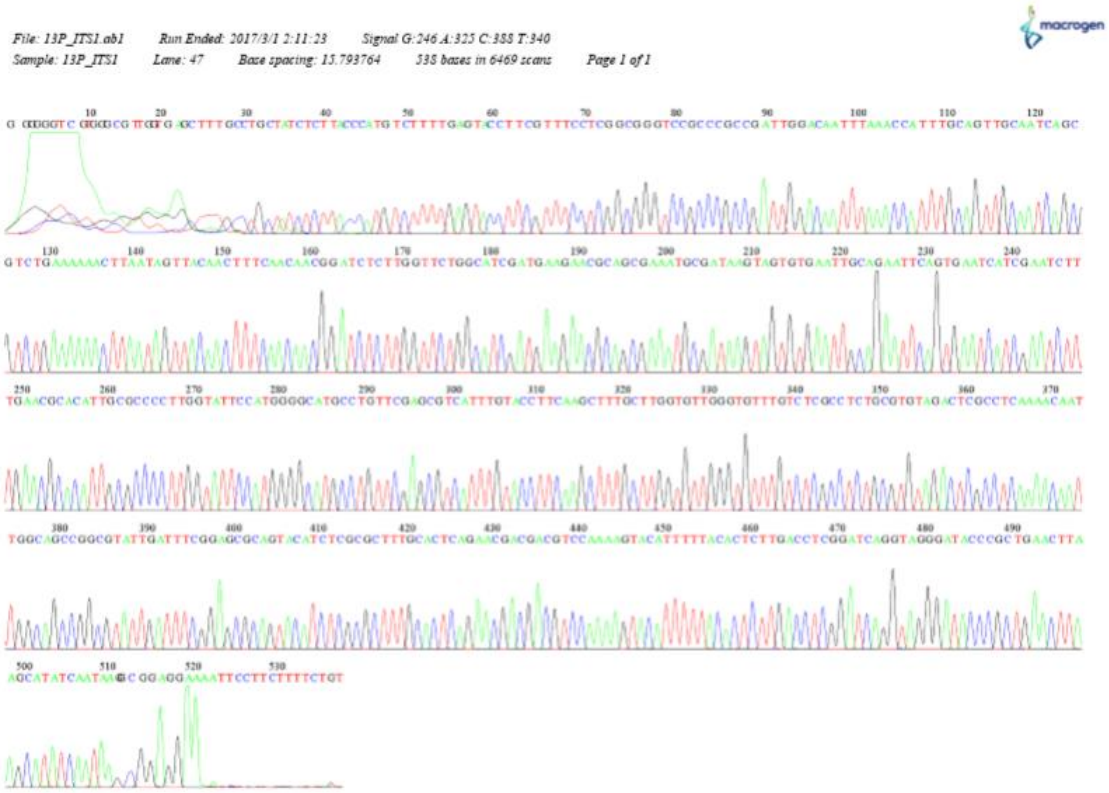
P. sp. 12P

ATCTTCTGAGTGTAGAGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTCCGCC
CGCCGATTGGACATATTCAAACCCTTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAACTTTCAACAA
CGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACCTT
CAAGCTTTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGCGCAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGCGTA
TTGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCATAACGACGACGATCCAAAAGTACATTTTTACACTCTTG
ACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAGCCCGGAAGGAAAATCATTTACCTGGAGTT
GTAGGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTCCGCCCGCCATTGGG



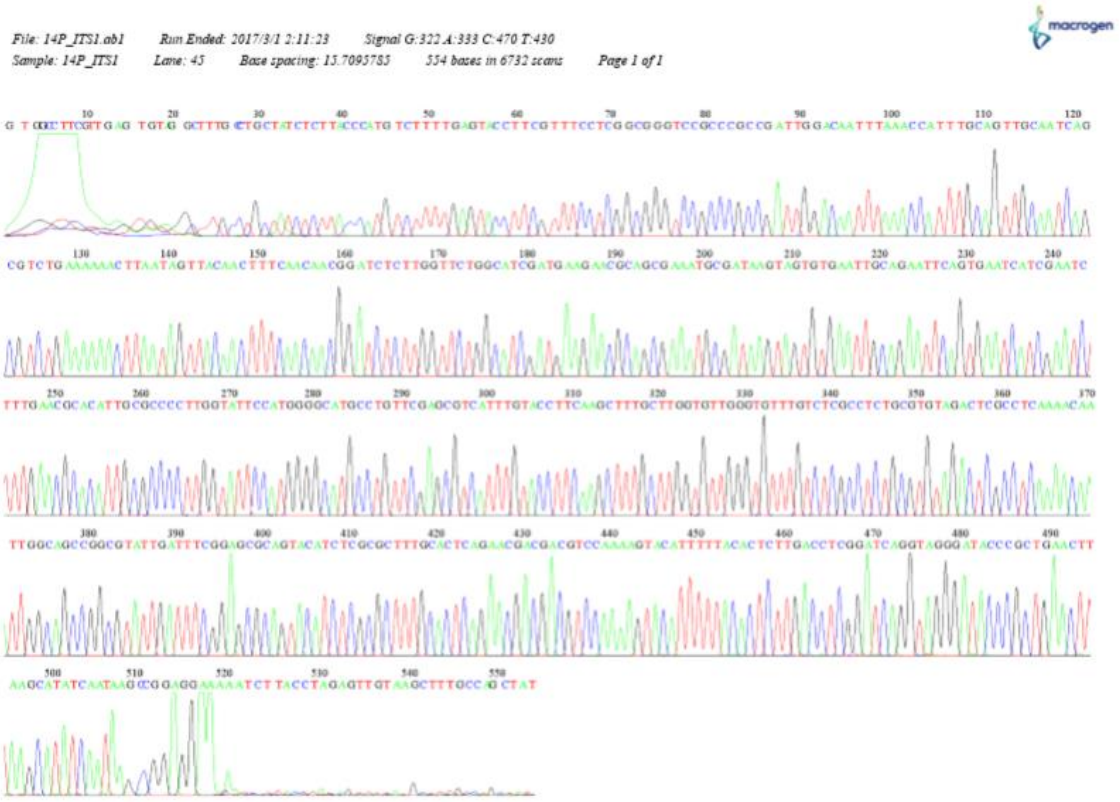
P. aliena **13P**

GGGGGGTCGTGGGCGTTGGTGAGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCG
GGTCCGCCCGCCGATTGGACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAACT
TTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAA
TTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATT
TGTACCTTCAAGCTTTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGC
CGGCGTATTGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCAGAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTTAC
ACTCTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGGCGGAGGAAAATTCCTTCTTT
TCTGT



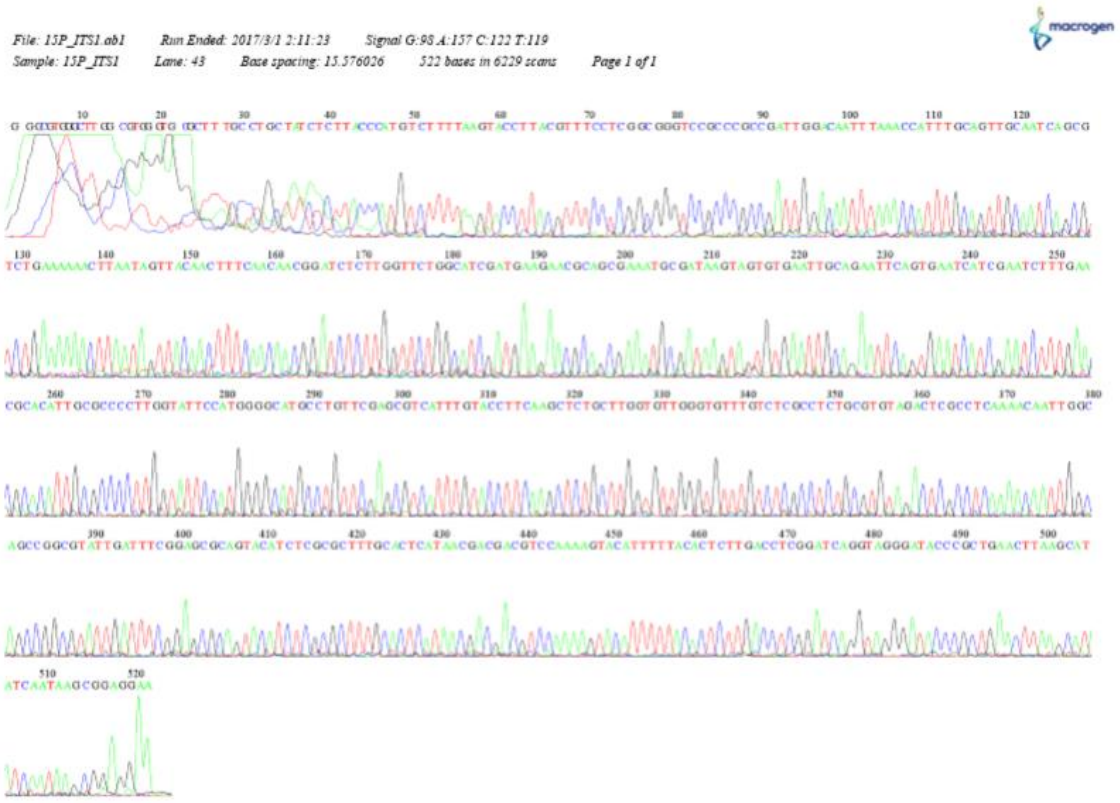
P. aliena **14P**

GTGGCCTTCGTTGAGTGTAGGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTC
CGCCCGCCGATTGGACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAACTTTCAA
CAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAG
TGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTAC
CTTCAAGCTTTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGC
GTATTGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCAGAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTTACACTCT
TGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCCGGAGGAAAAATCTTACCTAGAGT
TGTAAGCTTTGCCAGCTAT



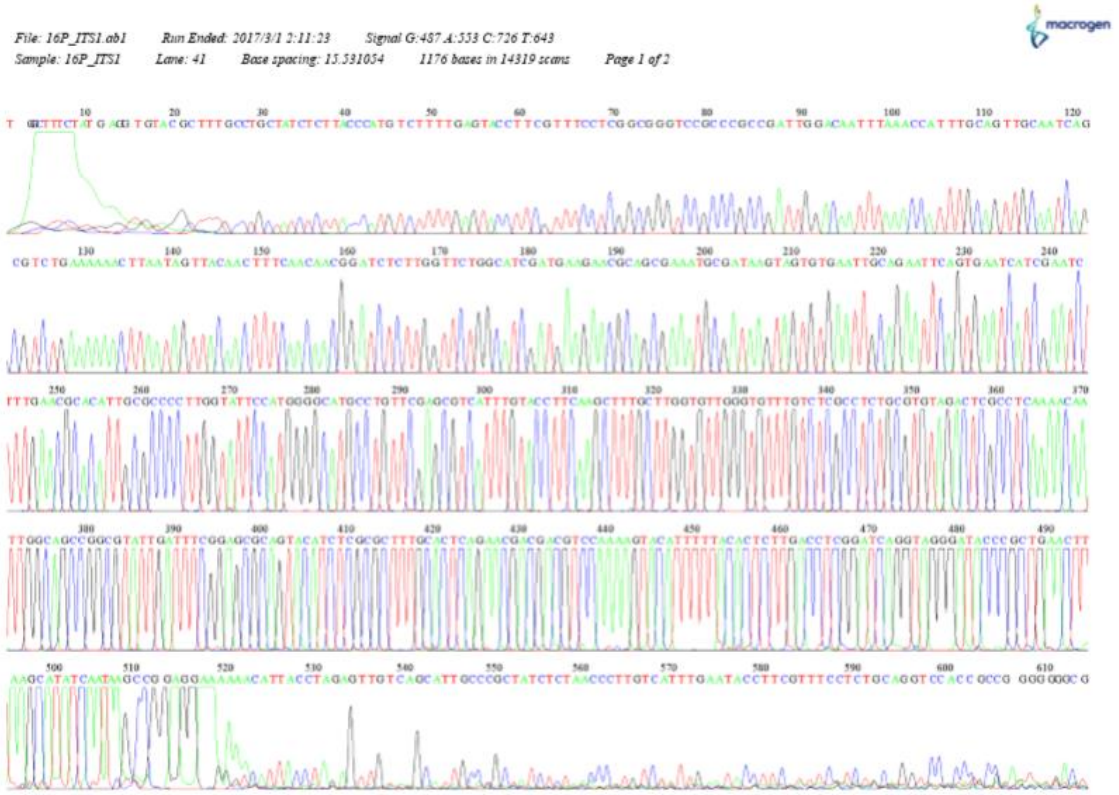
P. sp. 15P

GGGCGTGGGCTTGGCGTGGGTGCGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTAAGTACCTTACGTTTCCTCGGC
GGGTCCGCCCGCCGATTGGACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAAC
TTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGA
ATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCAT
TTGTACCTTCAAGCTCTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAG
CCGGCGTATTGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCATAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTTAC
ACTCTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA



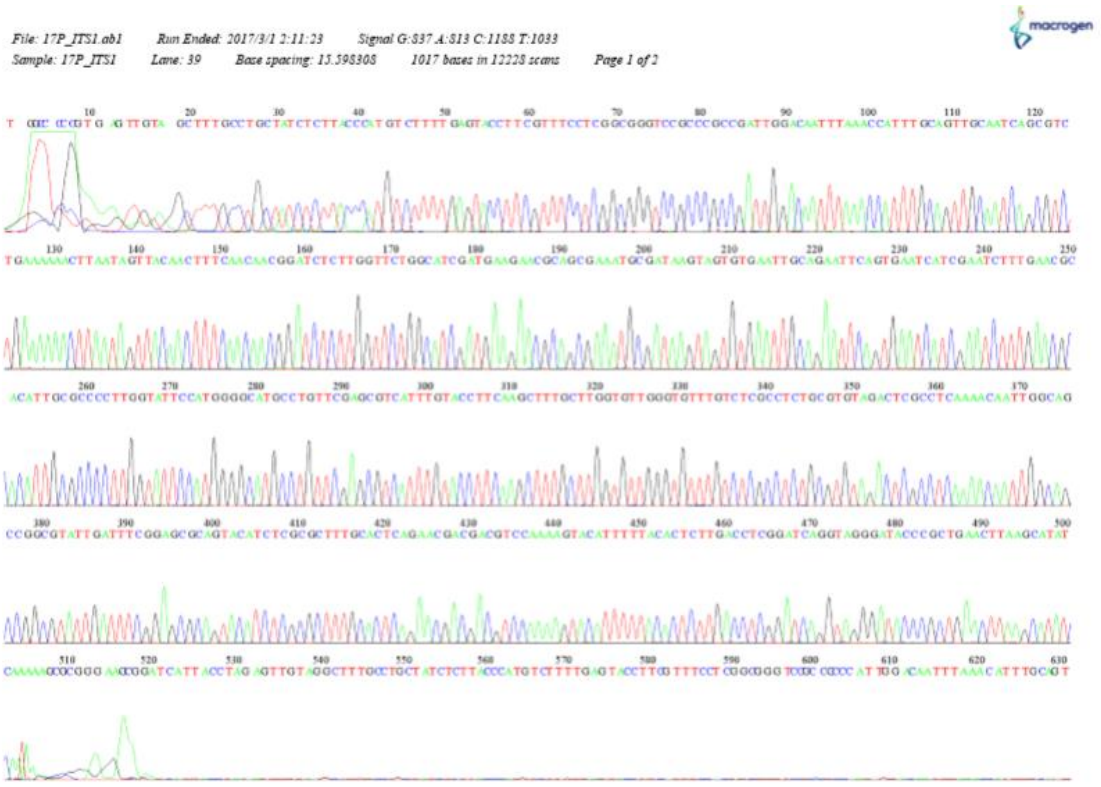
P. aliena 16P

TGGCTTTCTATGAGGTGTACGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTC
CGCCCGCCGATTGGACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAACTTTCAA
CAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAG
TGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTAC
CTTCAAGCTTTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGC
GTATTGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCAGAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTTACACTCT
TGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCCGGAGGAAAAAACATTACCTAGAG
TTGTCAGCATTGCCCGCTATCTCTAACCCTTGTCATTTGAATACCTTCGTTTCCTCTGCAGGTCCACCGCCGGGGGG
GCG



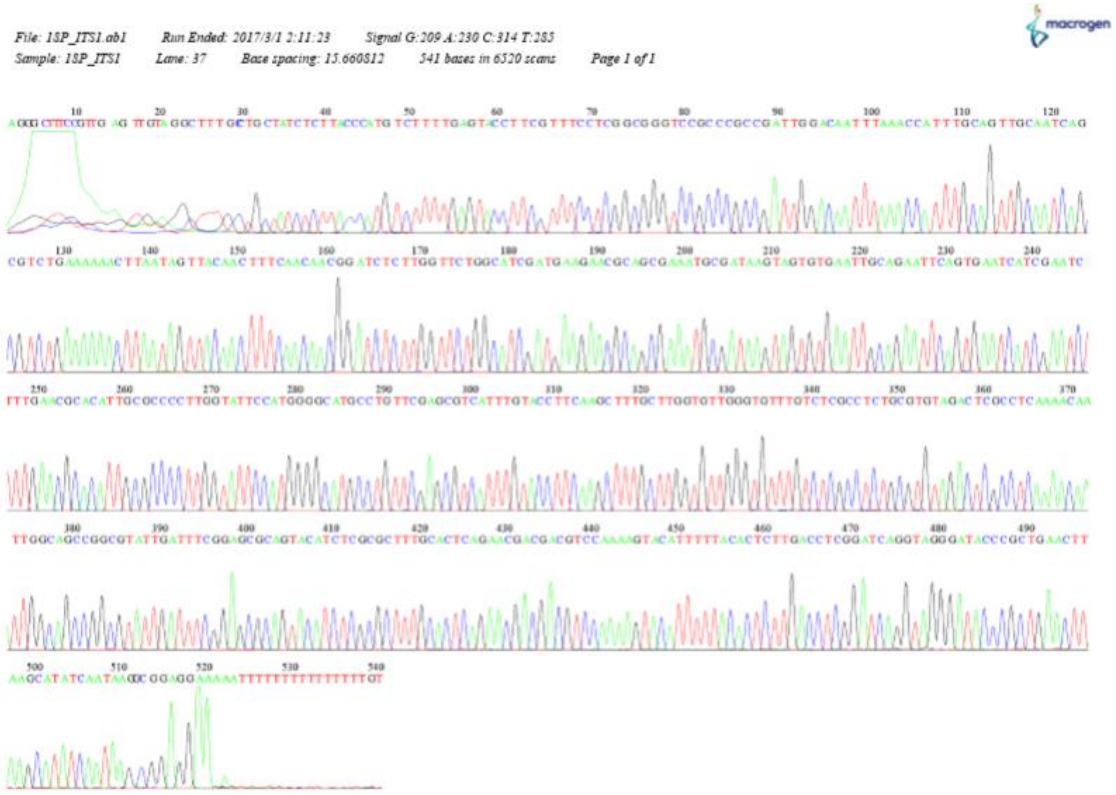
P. aliena **17P**

TGGCCCCCGTGAGTTGTAGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTCCG
CCCGCCGATTGGACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAACTTTCAACA
ACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTG
AATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACCT
TCAAGCTTTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGCGT
ATTGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCAGAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTTACACTCTTG
ACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAAAAGCGCGGGAAGCGGATCATTACCTAGAGT
TGTAGGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTCCGCCGCCCATTGGAC
AATTTAAACATTTGCAGT



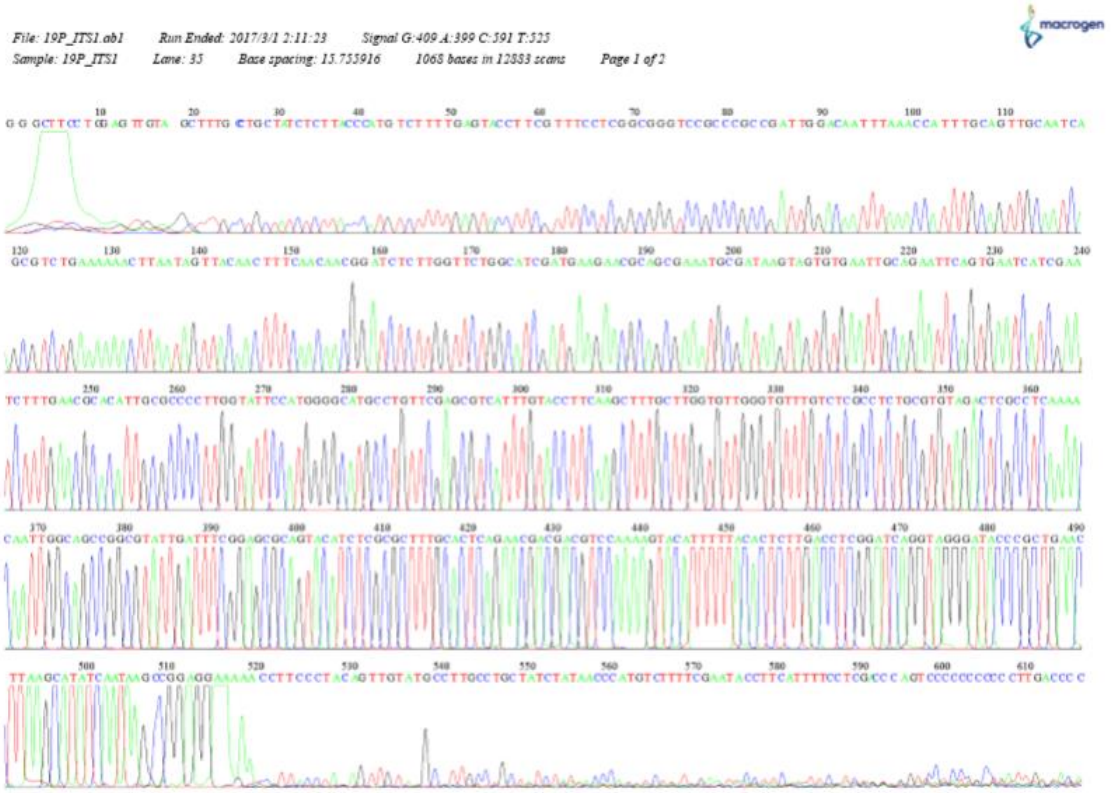
P. aliena **18P**

AGGGCTTTCCGTTGAGTTGTAGGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGG
GTCCGCCCGCCGATTGGACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAACTTT
CAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATT
CAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTT
GTACCTTCAAGCTTTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCC
GGCGTATTGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCAGAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTTACA
CTCTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGGCGGAGGAAAAATTTTTTTTTT
TTTTTGT



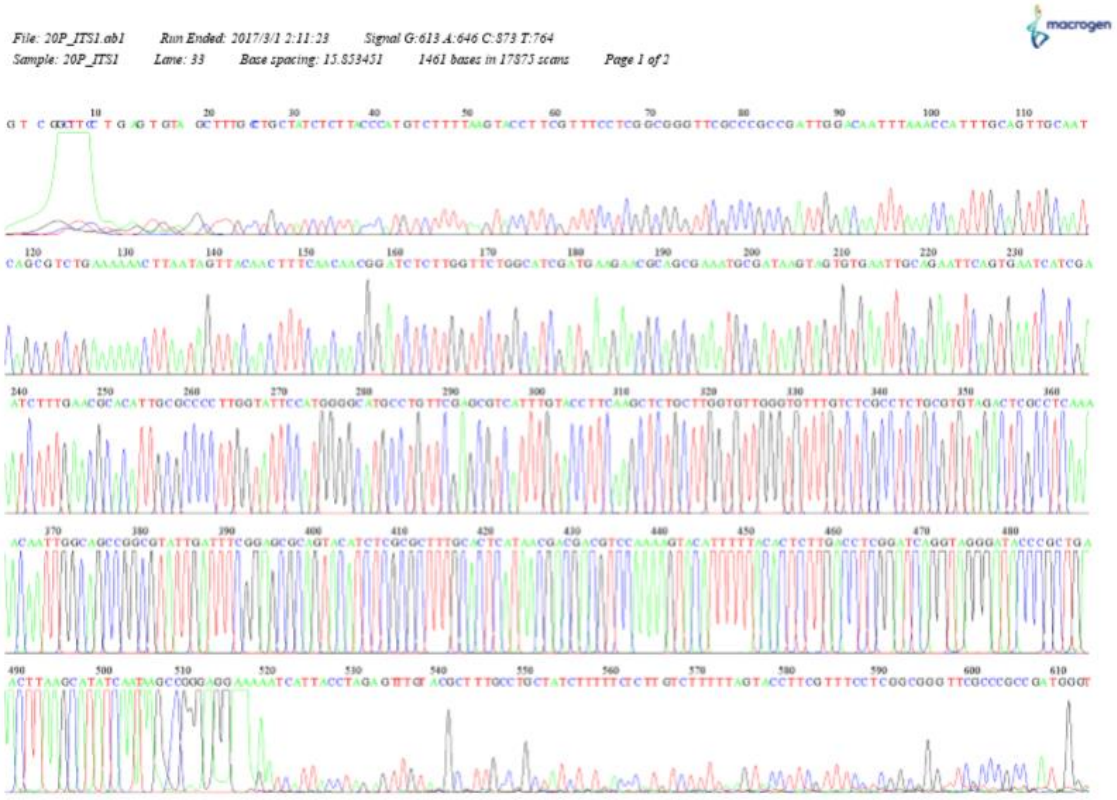
P. aliena **19P**

GGGCTTCCTGGAGTTGTAGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTCC
GCCCGCCGATTGGACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAACTTTCAAC
AACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGT
GAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACC
TTCAAGCTTTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGCG
TATTGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCAGAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTTACACTCTT
GACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCCGGAGGAAAAACCTTCCCTACAGTT
GTATGCCTTGCCTGCTATCTATAACCCATGTCTTTTCGAATACCTTCATTTTCCTCGACCCAGTCCCCCCCCCCCTTGA
CCCC



P. glomerata 20P

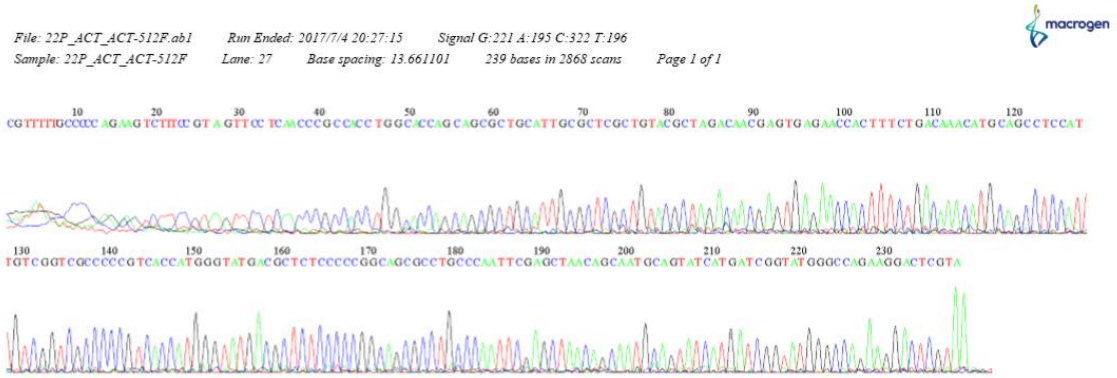
GTCGGCTTCCTGAGTGTAGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTTTTAAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTTCG
CCCGCCGATTGGACAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTACAACTTTCAACA
ACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTG
AATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACCT
TCAAGCTCTGCTTGGTGTTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGCGT
ATTGATTTCGGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCATAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTTACACTCTTG
ACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCCGGGAGGAAAAATCATTACCTAGAGT
TTGTACGCTTTGCCTGCTATCTTTTTCTCTTGTCTTTTTAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTTCGCCCGCCGATGGG
T



Secuencias de actina:

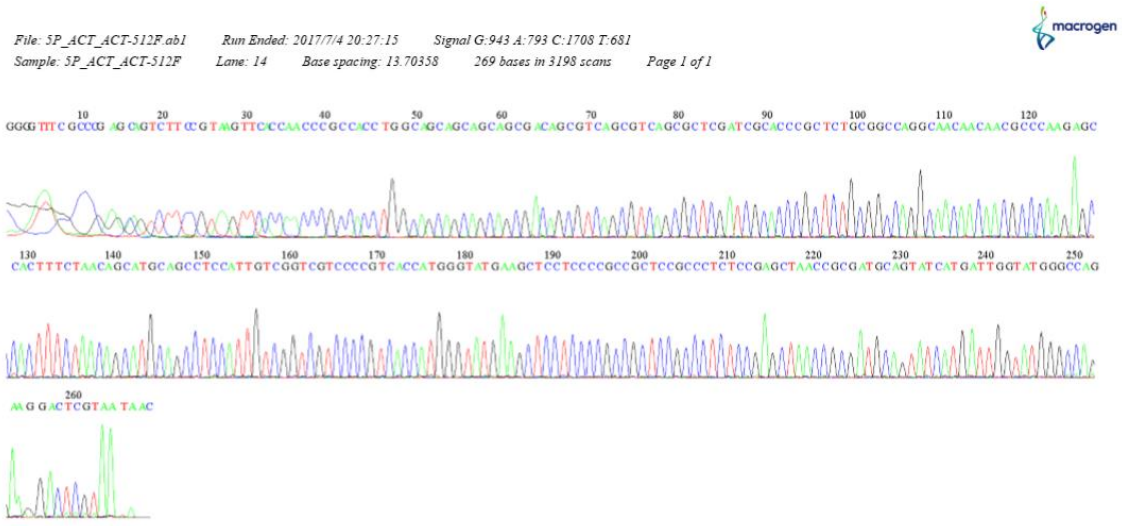
P. glomerata 4P

CGTTTTTGCCCCCAGAAGTCTTTCCGTAGTTCCTCAACCCGCCACCTGGCACCAGCAGCGCTGCATTGCGCTCGCTG
TACGCTAGACAACGAGTGAGAACCACTTTCTGACAAACATGCAGCCTCCATTGTCGGTCGCCCCCGTCACCATGGG
TATGACGCTCTCCCCCGGCAGCGCCTGCCCAATTCGAGCTAACAGCAATGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGA
AGGACTCGTA



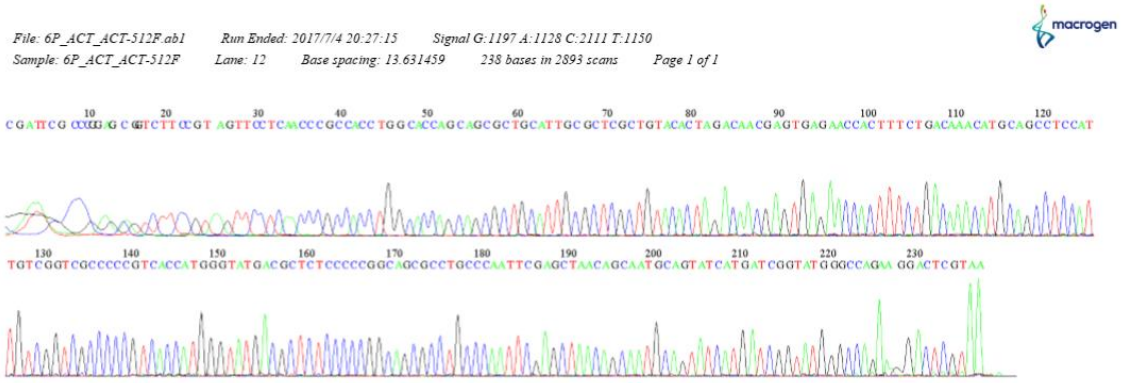
P. sp. 5P

GGGGTTTCGCCCGAGCAGTCTTCCGTAAGTTCACCAACCCGCCACCTGGCAGCAGCAGCAGCGACAGCGTCAGCG
TCAGCGCTCGATCGCACCCGCTCTGCGGCCAGGCAACAACAACGCCCAAGAGCCACTTTCTAACAGCATGCAGCC
TCCATTGTCGGTCGTCCCCGTCACCATGGGTATGAAGCTCCTCCCCGCCGCTCCGCCCTCTCCGAGCTAACCGCGAT
GCAGTATCATGATTGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAATAAC



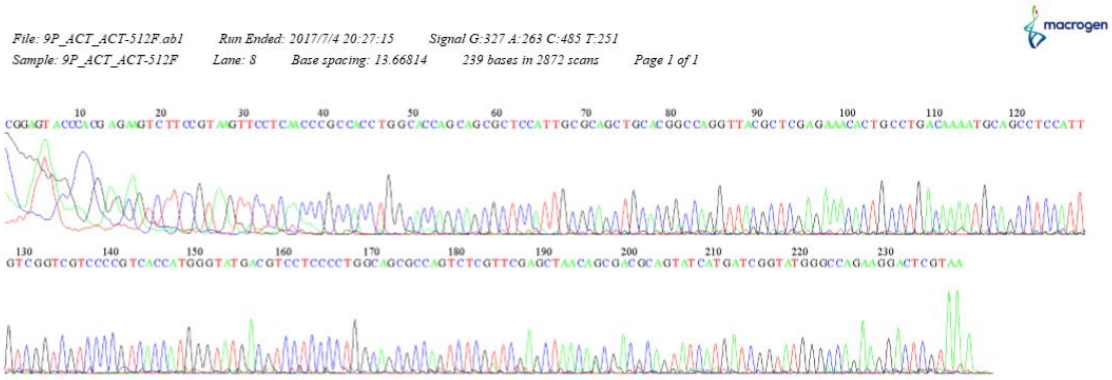
P. glomerata 6P

CGATTCGCCCGGAGCGGTCTTCCGTAGTTCCTCAACCCGCCACCTGGCACCAGCAGCGCTGCATTGCGCTCGCTGT
ACACTAGACAACGAGTGAGAACCACTTTCTGACAAACATGCAGCCTCCATTGTCGGTCGCCCCCGTCACCATGG
GTATGACGCTCTCCCCCGGCAGCGCCTGCCCAATTCGAGCTAACAGCAATGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCA
GAAGGACTCGTAA



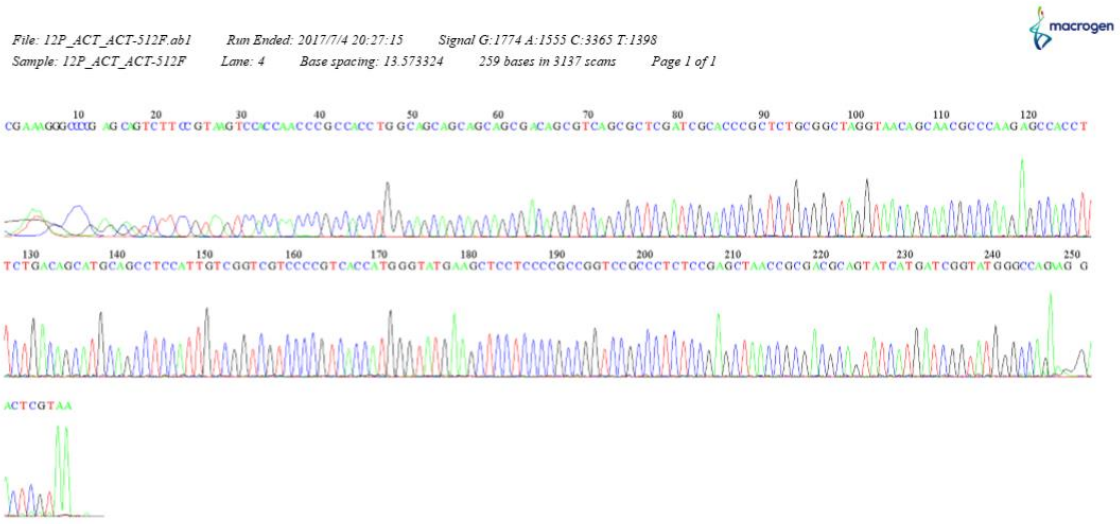
P. sp. 9P

CGGAGTACCCACGAGAAGTCTTCCGTAAGTTCCTCAACCCGCCACCTGGCACCAGCAGCGCTCCATTGCGCAGCTG
CACGGCCAGGTTACGCTCGAGAAACACTGCCTGACAAAATGCAGCCTCCATTGTCGGTCGTCCCCGTCACCATGGG
TATGACGTCCTCCCCTGGCAGCGCCAGTCTCGTTCGAGCTAACAGCGACGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAG
AAGGACTCGTAA



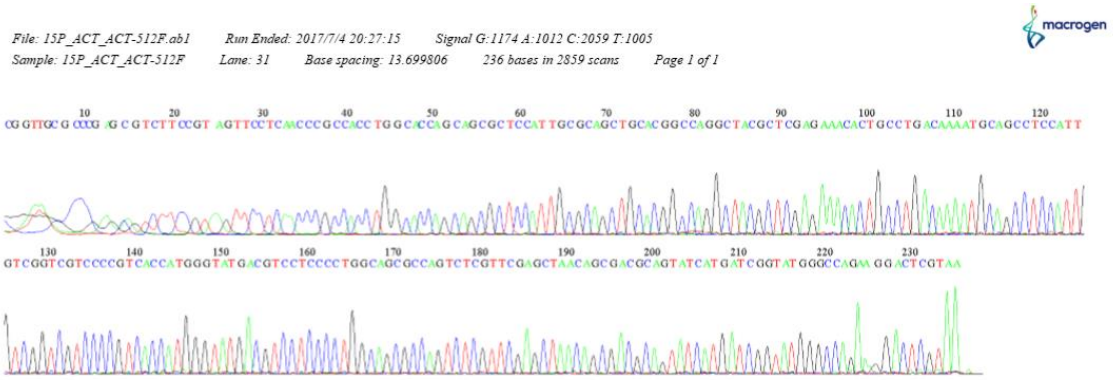
P. sp. 12P

CGAAAGGGCCCCGAGCAGTCTTCCGTAAGTCCACCAACCCGCCACCTGGCAGCAGCAGCAGCGACAGCGTCAGC
GCTCGATCGCACCCGCTCTGCGGCTAGGTAACAGCAACGCCCAAGAGCCACCTTCTGACAGCATGCAGCCTCCATT
GTCGGTCGTCCCCGTCACCATGGGTATGAAGCTCCTCCCCGCCGGTCCGCCCTCTCCGAGCTAACCGCGACGCAGT
ATCATGATCGGTATGGGCCAGAAGGACTCGTAA



P. sp. 15P

CGGTTGCGCCCGAGCGTCTTCCGTAGTTCCTCAACCCGCCACCTGGCACCAGCAGCGCTCCATTGCGCAGCTGCAC
GGCCAGGCTACGCTCGAGAAACACTGCCTGACAAAATGCAGCCTCCATTGTCGGTCGTCCCCGTCACCATGGGT
ATGACGTCCTCCCCTGGCAGCGCCAGTCTCGTTCGAGCTAACAGCGACGCAGTATCATGATCGGTATGGGCCAGA
AGGACTCGTAA



Datos climatológicos

La información sobre los resúmenes mensuales de los parámetros meteorológicos pertenecientes a la zona Centro (Contralmirante Guerrico) se encuentra disponible en las siguientes direcciones electrónicas:

Año 2014:

http://sipan.inta.gob.ar/agrometeorologia/met/met/resumen/2014/completo_2014.pdf

Año 2015:

http://sipan.inta.gob.ar/agrometeorologia/met/met/resumen/2015/completo_2015.pdf

Año 2016:

http://sipan.inta.gob.ar/agrometeorologia/met/met/resumen/2016/completo_2016.pdf

Año 2017:

http://sipan.inta.gob.ar/agrometeorologia/met/met/resumen/2017/completo_2017.pdf

La información sobre los resúmenes mensuales de los parámetros meteorológicos pertenecientes a la zona Este (Villa Regina) se encuentra disponible en las siguientes direcciones electrónicas:

Año 2014:

http://sipan.inta.gob.ar/agrometeorologia/met/40/resumen/2014/completo_2014.pdf

Año 2015:

http://sipan.inta.gob.ar/agrometeorologia/met/40/resumen/2015/completo_2015.pdf

Año 2016:

http://sipan.inta.gob.ar/agrometeorologia/met/40/resumen/2016/completo_2016.pdf

Año 2017:

http://sipan.inta.gob.ar/agrometeorologia/met/40/resumen/2017/completo_2017.pdf