

Estado sanitario de las semillas de plantas aromáticas cultivadas en Almería

J. R. MONTOYA, J. M. GÓMEZ VÁZQUEZ, R. BLANCO PRIETO, J. TELLO

En Almería (sureste español) existen unas 30 ha de plantas aromáticas que se dedican a la exportación en fresco y en maceta. En este trabajo se analizó la microbiota fúngica asociada a las semillas de 14 especies de aromáticas. Se determinaron todos los géneros y/o especies fúngicas encontrados y se aislaron aquellos citados en la bibliografía como patógenos en aromáticas. Sólo en 4 especies de aromáticas fueron detectados *Alternaria alternata* y *Stemphylium botryosum* de entre los géneros citados en la bibliografía como patógenos en porcentajes de consideración: cilantro (*Coriandrum sativum*, L.), eneldo (*Anethum graveolens*, L.), menta (*Mentha piperita*) y perejil liso (*Petroselinum hortense*, L.). Se compararon dos métodos de inoculación sobre semilla: triturado del hongo y extracto crudo del hongo crecido en medio líquido. Se comparó estadísticamente la influencia de las inoculaciones primero sobre la germinación de las semillas y, segundo, sobre el vigor posterior de las plantas (peso medio seco). El extracto de *Alternaria* redujo significativamente la germinación respecto del testigo en cilantro y menta. El extracto de *Stemphylium* redujo significativamente la germinación en cilantro, eneldo y menta. El triturado de *Alternaria* redujo significativamente la germinación sólo en cilantro. El triturado de *Stemphylium* lo hizo para cilantro y menta. Se observaron efectos depresivos en el vigor y desarrollo posterior de alguna de las especies: el extracto de *Alternaria* redujo significativamente el desarrollo respecto del control en menta y perejil liso. El extracto de *Stemphylium* lo hizo sólo para el perejil liso. Tanto el triturado de *Alternaria* como el de *Stemphylium* redujeron el desarrollo en menta y perejil liso. En este trabajo se muestra como los extractos crudos de *A. alternata* y *S. botryosum* no son específicos de los hospedadores inoculados. También se demuestra como su actuación se ciñe a disminuir la germinación de las semillas y el vigor de las plantas, sin inducir un síndrome concreto de enfermedad.

J.R. MONTOYA, R. BLANCO PRIETO Y J. TELLO. Universidad de Almería. Dpto. de Producción Vegetal. Cañada de San Urbano. 04120 Almería.

J.M. GÓMEZ VÁZQUEZ. Centro de Investigación y Formación Agraria (CIFA). de La Mojonera. Almería.

Palabras clave. *Alternaria alternata*, *Stemphylium botryosum*, microbiota fúngica, toxinas, patógenos de semillas, germinación, *Coriandrum sativum*, *Anethum graveolens*, *Mentha piperita*, *Petroselinum hortense*.

INTRODUCCIÓN

Es conocido el hecho de que las semillas de las plantas pueden ser portadoras de inóculos patógenos. Esta vía ha difundido no pocas enfermedades en áreas del planeta

muy alejadas. Una parte importante del mercado internacional de semillas está regulado por normas muy estrictas y, para constatarlo así existe la Asociación Internacional para la Sanidad de Semillas (ISTA), que regula estas normativas y a la que perte-

necen numerosos países. Dicha asociación no cuenta entre sus cometidos con la normalización de las especies compendiadas en este trabajo.

En Almería existen unas 30 ha de plantas aromáticas repartidas por las comarcas del Levante y del Poniente, que se dedican a la exportación en fresco y en maceta. El cultivo se hace tanto al aire libre como bajo plástico y el riego es por goteo y aspersión. Además se hace cultivo hidropónico. Las semillas son importadas desde el extranjero y ante la eventualidad de introducción de nuevos patógenos se hizo este trabajo.

El interés de esta investigación radica en la determinación de la microbiota fúngica asociada a semillas de plantas aromáticas para así identificar posibles problemas causados por hongos asociados a las mismas. Esta información permitirá conocer los posibles problemas que aparezcan en los semilleros y en las explotaciones de estos cultivos existentes en Almería y además incrementará la información, escasa, sobre este aspecto de la Patología Vegetal.

Como objetivos principales de este trabajo se marcaron: Primero, la evaluación de la microbiota fúngica asociada a las semillas de las especies aromáticas utilizadas en este estudio; segundo, conocer la incidencia de algunos componentes de esta microbiota en la germinación de las semillas y en el vigor de las plantas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizó la microbiota fúngica de las semillas de 14 especies de plantas aromáticas: ajedrea (*Satureja hortensis*, L.), cebollino (*Allium schoenoprasum*, L.), cilantro (*Coriandrum sativum*, L.), eneldo (*Anethum graveolens*, L.), estragón (*Artemisia dracunculoides*, L.), mejorana (*Origanum majorana*, L.), melisa (*Melisa officinalis*, L.), menta (*Mentha piperita*), orégano (*Origanum vulgare*, L.), perejil liso y rizado (*Petroselinum hortense*, L.; *Petroselinum crispum*, L.), perifollo (*Anthriscus cerifolium*, L.), salvia

(*Salvia officinalis*, L.) y tomillo (*Thymus vulgaris*, L.).

Para la determinación de la microbiota fúngica se siguió el método del Ulster para análisis de semillas (MUSKETT y MALONE, 1941), utilizando medios de cultivo agarizados generales para análisis de hongos (PZA, patata – zanahoria – agar (VAN DER PLAATS – NITERINK, 1981) y específico para *Fusarium* (TELLO *et al.*, 1991). Por cada especie vegetal se analizaron un total de 800 semillas, 400 en PZA y 400 en medio específico para la microbiota fusárica, a razón de 10 semillas por placa de Petri. Las semillas fueron incubadas a 25°C-26°C y en oscuridad durante una semana para su posterior conteo y determinación de géneros y especies fúngicas al microscopio óptico.

Del total de la microbiota fúngica identificada en estos análisis sólo los géneros *Alternaria* y *Stemphylium* son citados en la bibliografía como patógenos en semillas de alguna de las especies de aromáticas analizadas (NEERGARD, 1988; RICHARDSON, 1990; AKESSON, 1985; GINDRAT, 1979; SNOWDON, 1991). Estas especies fueron escogidas para comprobar el poder patógeno de estos hongos mediante diferentes métodos de inoculación. Los hongos potencialmente patógenos encontrados, fueron aislados y conservados en medio PZA hasta su utilización en posteriores ensayos de patogenicidad.

Para el estudio y la evaluación de la incidencia de los presuntos patógenos aislados se compararon dos métodos de inoculación: 1) triturado del hongo y 2) el extracto crudo del hongo. El triturado del hongo se obtuvo a partir de 4 placas de PDA con el hongo a inocular, crecido a 25°C durante 10 días en cámara de cultivo, trituradas en 400 ml de agua. La unidad de inóculo por maceta fue de 100 ml del triturado obtenido. El extracto se obtuvo tras el cultivo en medio líquido del hongo correspondiente (200 ml de medio patata – dextrosa por matraz Erlenmeyer), en agitación continua (450 rpm) y durante 12 días; la incubación se hizo en

Cuadro 1.-Microbiota fúngica encontrada en las semillas de las especies aromáticas analizadas en medio PZA. Porcentaje de aislamientos sobre un total de 400 semillas analizadas por especie

Géneros fúngicos	Especie vegetal analizada													
	Ajedrea	Cebollino	Cilantro	Eneldo	Estragón	Mejorana	Melisa	Orégano	Perifollo	Menta	Perejil liso	Perejil rizado	Salvia	Tomillo
<i>Alternaria</i>	3	3	93	45	1	5	2	0,25	0,5	15	89	2	1,25	0,5
<i>Aspergillus</i>	3	1,5	4	0,25				3	1		6	7		
<i>Beauveria</i>								0,25						
<i>Cephalophora</i>														
<i>Cephalosporium</i>	3	5	72	25	0,25			2	1	1	3	2		
<i>Cladosporium</i>		0,25								2	67	6	5	0,25
<i>Dactylella</i>	0,5										4	1		
<i>Epicoccum</i>														
<i>Fusarium</i>						0,25								
<i>Hormonema</i>		7,5	9	6	1									
<i>Monocillium</i>						0,5				0,25		2		0,5
<i>Paecilomyces</i>												1		
<i>Penicillium</i>	25	85	4	2,5	20	2,5	4	3	78	0,25	15	17	15	7,5
<i>Rhizopus</i>		5			1	1	2		5		9	3	2	
<i>Stemphylium</i>	2,5	1	89	45	0,25	0,25			0,5	13	85	5	1,5	0,25
<i>Scopulariopsis</i>						0,25						2		
<i>Stachybotrys</i>							0,25					10		0,25
<i>Staphylotrichum</i>							0,25							0,25
<i>Trichoderma</i>														

una habitación con luz natural y temperaturas que oscilaron entre 20 y 25 °C. La filtración se hizo con papel Watman nº1. La unidad de inóculo fue de 150 ml del filtrado obtenido por maceta.

Las inoculaciones se realizaron sobre semillas, previamente desinfectadas con lejía comercial sin diluir (40 g cloro activo por litro) y limpiadas con lavados sucesivos en agua. Se desinfectaron con lejía las semillas de eneldo, perejil liso y menta, no así las de cilantro debido a las dificultades encontradas para su desinfección. Para el caso del cilantro se inoculó sobre semillas sin desinfectar. Las inoculaciones se realizaron en un invernadero de ambiente controlado, sembrando 25 semillas por maceta de 1 litro, con sustrato de vermiculita y fertirriego. El mismo número de semillas de cada especie sin inocular se utilizó como control.

Por cada tratamiento (inóculo triturado o extracto crudo del hongo), por cada especie vegetal y por cada especie fúngica se hicieron 4 repeticiones (una repetición consistía en una maceta de 1 l de capacidad con 25 semillas sembradas). Estas repeticiones se distribuyeron al azar en las mesetas del invernadero.

Se realizaron dos conteos de semillas germinadas, uno a la semana de la germinación de la primera semilla (en función de cada especie) y un segundo conteo y definitivo 15 días después. Finalizado el experimento, 45 días después de la siembra, se midió el peso fresco y seco de cada planta, calculándose el peso medio seco.

Los datos obtenidos fueron tratados estadísticamente mediante un programa informático donde se realizó: primero, un análisis de la varianza para ver si existían diferencias significativas entre la variable tratamientos (5 tratamientos diferentes), y entre la variable repeticiones (4 para cada tratamiento); segundo, una comparación de medias, tanto de germinación como de peso seco, entre los diferentes tratamientos. Se utilizó el programa estadístico STATGRAPHICS plus versión 4.0.

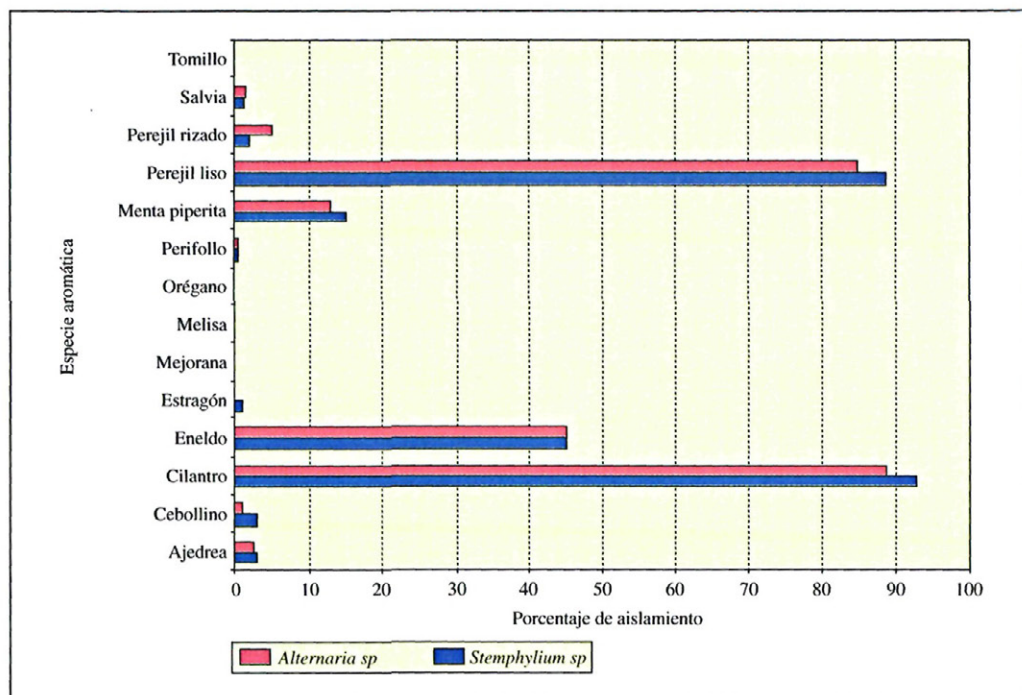


Fig. 1.—Porcentaje de aislamiento sobre medio PZA de *Alternaria* y *Stemphylium* en semillas de las especies aromáticas analizadas (400 semillas por especie).

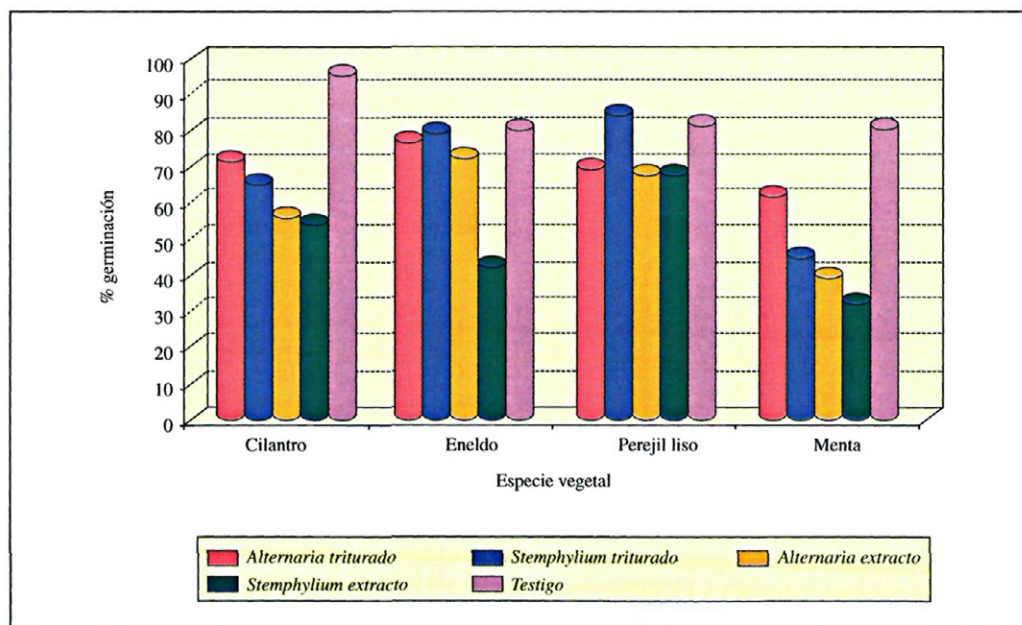


Fig. 2.—Diferencias en el porcentaje medio de germinación entre las especies aromáticas ensayadas que se inocularon con aislados de *Alternaria* y *Stemphylium* mediante dos métodos de inoculación: triturado del hongo y extracto crudo.

RESULTADOS

El cuadro 1 muestra los resultados de la microbiota fúngica encontrada para las diferentes semillas de aromáticas. La figura 1 detalla los resultados para *Alternaria* y *Stemphylium*. Estos dos géneros detectados están descritos en la bibliografía como patógenos en estas especies de aromáticas (NEERGARD, 1988; RICHARDSON, 1990; AKESSON, 1985; GINDRAT, 1979; SNOWDON, 1991). Una primera aproximación a la identificación de estos hongos mostró que se trataba de *Alternaria alternata* y *Stemphylium botryosum*. En los análisis con medio selectivo para hongos del género *Fusarium* la presencia de especies de *Fusaria* fue nula.

El análisis estadístico del porcentaje de germinación de las diferentes especies de aromáticas inoculadas (cilantro, eneldo, menta piperita y perejil liso) revela que existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P = 0,05$) (Fig. 2):

- Para el cilantro (*Coriandrum sativum*, L.): las semillas inoculadas con el extracto y triturado de *Alternaria* y *Stemphylium* presentaron una germinación significativamente menor que las testigos. Además, ésta reducción fue mayor en el caso del extracto de *Alternaria* respecto del triturado del mismo hongo y del extracto de *Stemphylium*. (Fig. 2 y 5).
- Eneldo (*Anethum graveolens*, L.): únicamente las semillas inoculadas con el extracto de *Stemphylium* presentaron una germinación significativamente menor que las testigo. (Fig. 2)
- Menta (*Mentha piperita*): tanto el extracto de *Alternaria* y de *Stemphylium* como el triturado de *Stemphylium* inhibieron significativamente la germinación de las semillas inoculadas con dichos hongos, no así el triturado de *Alternaria*. No existieron diferencias significativas entre los métodos de inoculación respecto del número de semillas germinadas. (Fig.2).

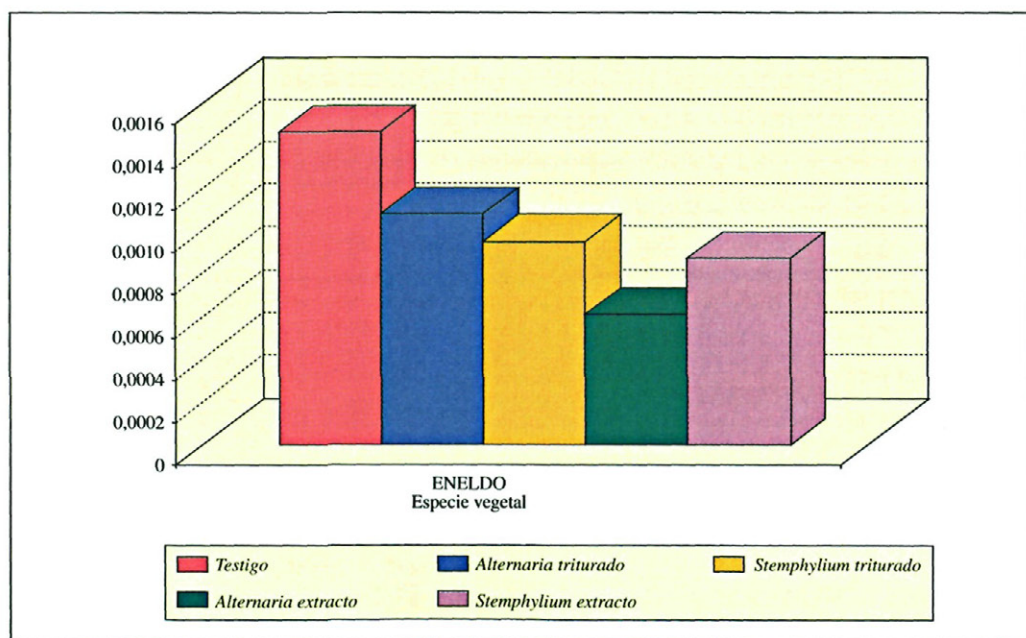


Fig. 3.—Diferencias en el peso seco medio para el eneldo inoculado con aislados de *Alternaria* y *Stemphylium* utilizando dos métodos de inoculación: triturado del hongo y extracto crudo.

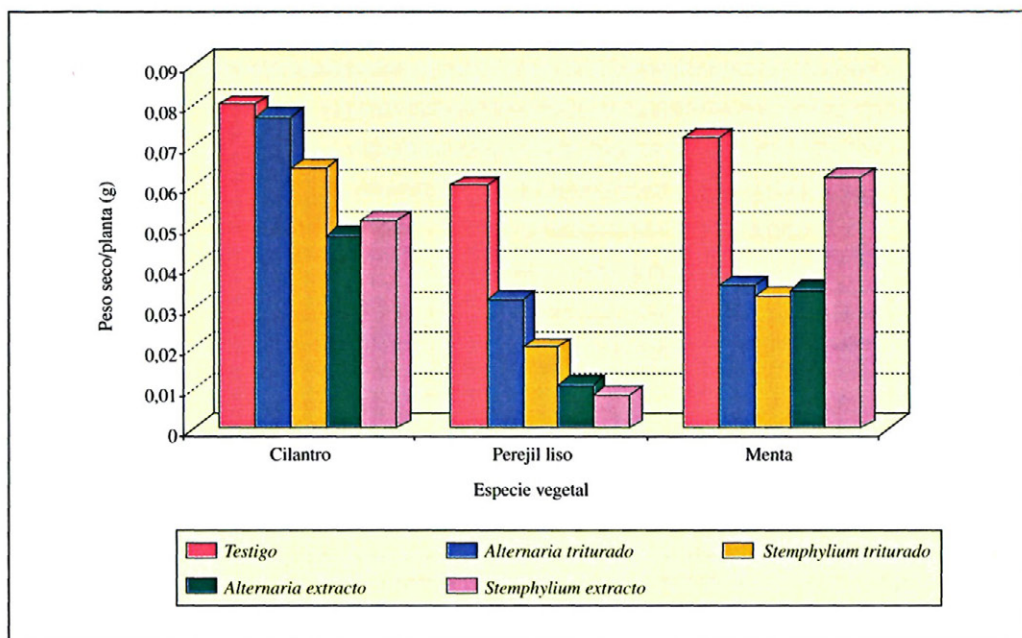


Fig. 4.—Diferencias en el peso seco medio para el cilantro, menta y perejil liso, inoculados con aislados de *Alternaria* y *Stemphylium* utilizando dos métodos de inoculación: triturado del hongo y extracto crudo.

- Perejil liso (*Petroselinum hortense*, L.): no hubo diferencias significativas entre tratamientos (Fig.2).

Respecto a la incidencia de las inoculaciones en el desarrollo posterior de las plántulas, el test estadístico reveló la presencia, en algunos casos, de diferencias significativas ($P = 0,05$) en el desarrollo de las mismas en el momento de finalizar el experimento (45 días después de las inoculaciones) con respecto a los testigos (Figs. 3 y 4):

- Cilantro (*Coriandrum sativum*, L.): No existieron diferencias significativas entre tratamientos. (Fig. 4).
- Eneldo (*Anethum graveolens*, L.): No hubo diferencias entre tratamientos. (Fig. 3).
- Menta (*Mentha piperita*): tanto el triturado de *Alternaria* y *Stemphylium* como el extracto de *Alternaria* redujeron sig-

nificativamente y con la misma intensidad el desarrollo post germinación de las plántulas respecto a los testigos. No sucedió así con el extracto de *Stemphylium* (Fig. 4).

- Perejil liso (*Petroselinum hortense*, L.): tanto los extractos y triturados de *Alternaria* y *Stemphylium*, redujeron significativamente, y dentro del mismo grupo estadístico, el desarrollo post germinación de las plántulas respecto de los testigos (Figs. 4 y 6).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Como principal conclusión de este estudio cabe destacar la notable sanidad fúngica de las semillas analizadas. Este hecho puede ser atribuido a las propiedades antimicóticas, asociadas usualmente a los aceites esenciales, que algunos autores han descrito poseen la mayoría de las plantas aromáticas (KISHORE *et al.*, 1988; WILSON

et al, 1997). La prueba de esta afirmación puede encontrarse en el hecho de no haber aislado ningún hongo del género *Fusarium* en las semillas.

Sólo en 4 especies de aromáticas fueron detectados *Alternaria alternata* y *Stemphylium botryosum* de entre los géneros citados en la bibliografía como patógenos en porcentajes de consideración. Debido a ello se inocularon sobre semillas *Alternaria alternata* y *Stemphylium botryosum* aislados en cuatro de las especies vegetales analizadas.

De las inoculaciones realizadas destacar que ambos métodos de inoculación inhibieron en gran medida la nascencia de las semillas de las especies ensayadas, siendo esta inhibición, por lo general, mayor al inocular con el método del extracto crudo.

El hecho de que especies del género *Alternaria* afecten a la germinación de las semillas de algunas especies ya ha sido citado anteriormente por algunos investigadores. Así, *Alternaria alternata* y *Stemphylium vesicarium* son dos especies que han sido citadas como patógenos en semillas afectando de manera significativa a semillas de caléndula (*Calendula officinalis*) (WU et al., 2001). Otros autores han citado la habilidad de *Alternaria padwickii*, para reducir significativamente el índice de germinación en semillas de arroz (ISLAM et al., 2000). De igual manera se ha demostrado como ACTG- toxinas A y B y bicicloalternarenes, aislados de un extracto crudo de *Alternaria alternata*, inhiben fuertemente la germinación y viabilidad de plántulas de algunas especies ornamentales (LIEBERMANN et al, 2000). Otros describen la fitotoxicidad del ácido tenuazo-

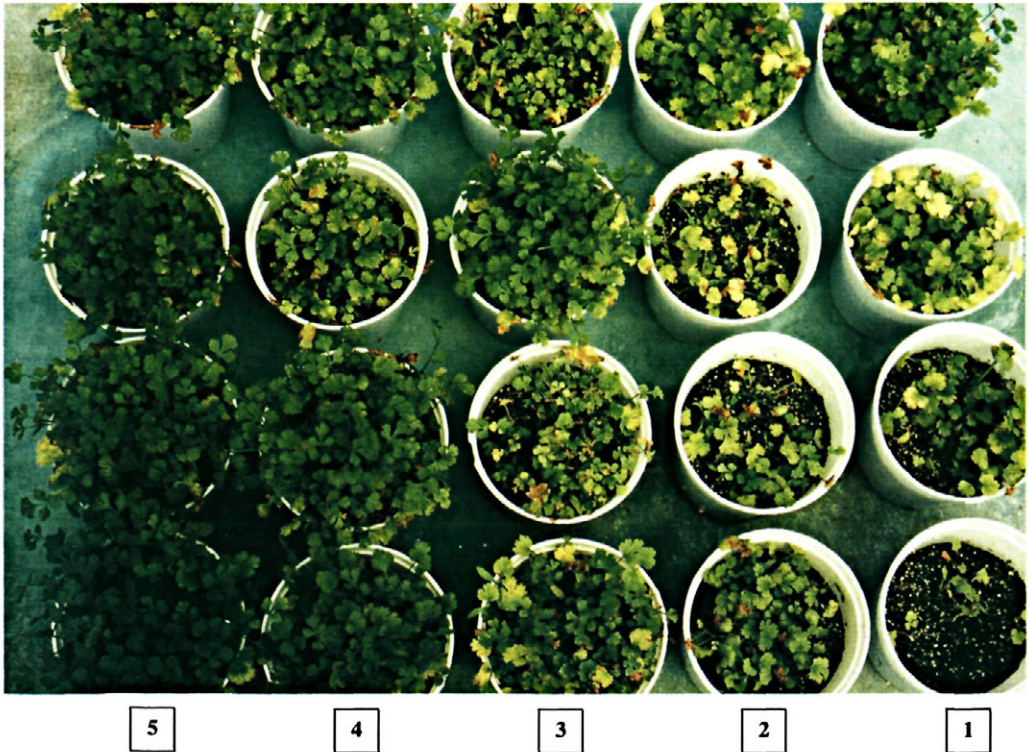


Fig. 5.-Ensayo de inoculación en cilantro: 1 = Extracto de *Stemphylium*, 2 = Extracto de *Alternaria*, 3 = Triturado de *Stemphylium*, 4 = Triturado de *Alternaria*, 5 = Testigo.

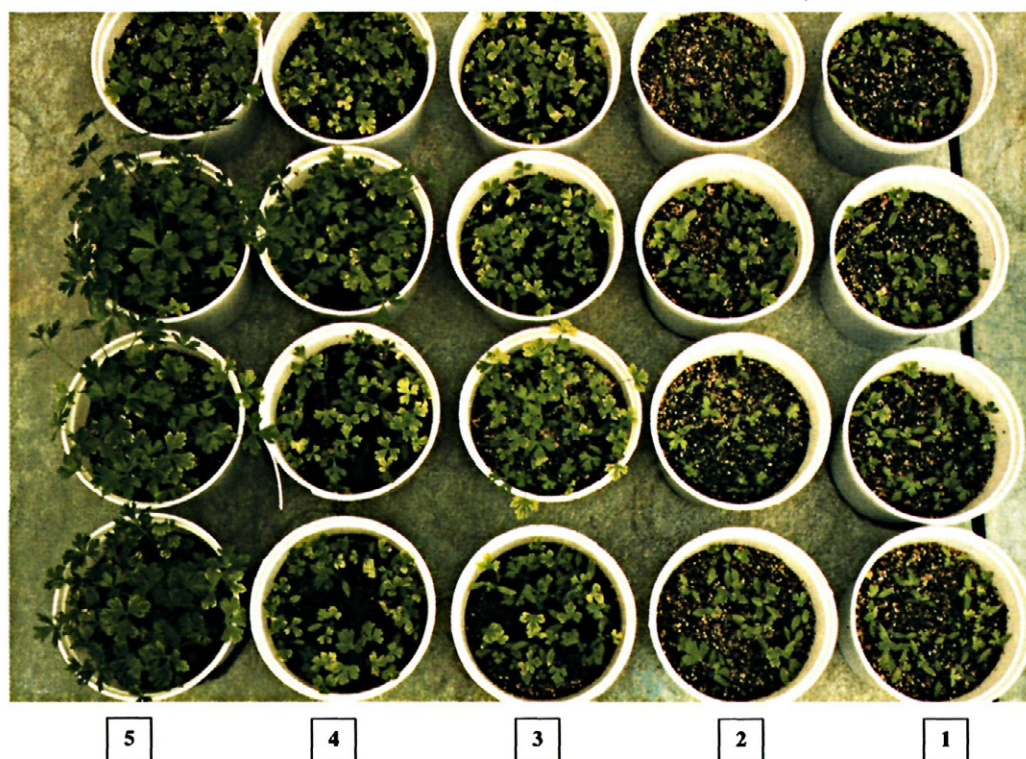


Fig. 6.-Ensayo de inoculación en perejil liso: 1 = Extracto de *Stemphylium*, 2 = Extracto de *Alternaria*, 3 = Triturado de *Stemphylium*, 4 = Triturado de *Alternaria*, 5 = Testigo.

nico, aislado mediante filtrado del hongo *Alternaria sesami*, como el causante en cultivos de sésamo (*Sesamum indicum*, L.) de la no nascencia de semillas y de la muerte plántulas (OJIAMBO *et al*, 2000; RAO y VIJAYALAKSHMI, 2000).

Otras muchas especies de *Alternaria* han sido descritas afectando a semillas y plántulas de diversos cultivos como: *Alternaria brassicae* en colza (*Brassica campestris* L. var. *toria*) y mostaza (*Brassica juncea*) (SHRESTHA *et al*, 2000); *Alternaria dauci* afectando a la germinación y supervivencia de plántulas en zanahoria (HERMANSEN *et al*, 1999); *Alternaria brassicae* y *Alternaria raphani* redujeron significativamente la germinación de semillas en algunas brasicas (RUDE *et al*, 1999); *Alternaria alternata* afectando a plántulas de cebada, sorgo y trigo (HASAN, 1999).

Parece pues demostrada la capacidad de estos hongos *Alternaria alternata* y *Stemphylium botryosum* para afectar a semillas y plántulas. Además, vemos como estos hongos utilizan la vía química para ejercer su patogeneidad mediante toxinas y análogos. Hemos comprobado en nuestros ensayos como el desarrollo de las plántulas también se vio afectado por los patógenos estudiados, deprimiendo su crecimiento. Este efecto depresivo se mostró más intenso cuando utilizamos los extractos de los hongos.

En nuestro estudio no identificamos qué toxinas estuvieron implicadas y cuál fue su papel en los resultados finales sin embargo otros investigadores citan numerosas toxinas implicadas en estos procesos como las aflatoxinas B-1 y G(1), diacetoxycirpenol y ácido tenuazónico (HASAN, 1999), alterna-

riol (AOH) y alternariol metil eter (Li y YOSHIZAWA, 2000), altenuene (ALT), Alvertoxin I (ATX-I) (Li *et al.*, 2001), todas ellas producidas por *Alternaria alternata* (HASAN, 1999; JOHNSON *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2001).

Los hongos patógenos con frecuencia producen fitotoxinas que afectan a sus principales hospedadores y sus cultivares, dichas toxinas son conocidas como toxinas específicas de hospedadores (HSTs) (PRINGLE y SCHEFFER, 1967). Algunos ejemplos son las SV – toxinas (SV-I y SV-II) aisladas de extractos de toxinas procedentes de *Stemphylium vesicarium* causante de la mancha marrón del peral europeo (*Pyrus communis* L.) (SINGH *et al.*, 2000; SINGH *et al.*, 1999); o las AM-toxinas aisladas de *Alternaria alternata*, causantes de la mancha rojiza del manzano (JOHNSON *et al.*, 2000). A veces estas toxinas no son tan específicas del conjunto patógeno – hospedador (MEHTA y BROGIN, 2000) como es el caso del efecto del extracto crudo de *Stemphylium solani* sobre cultivos industriales de algodón y de otras plantas no

hospedadoras como, *Phaseolus vulgaris*, *Vicia faba*, *Solanum tuberosum* o *Lycopersicon esculentum* entre otras. Similares descubrimientos han sido descritos para otros patógenos y sus hospedadores (KURO, *et al.*, 1970). Parece demostrado que dicha fitotoxicidad no sólo puede afectar a los hospedadores sino también a otras plantas no hospedadores normales de esos patógenos. De hecho en este trabajo se muestra como los extractos crudos de *Alternaria alternata* y *Stemphylium botryosum* no son específicos de los hospedadores inoculados. También se demuestra como su actuación se ciñe a disminuir la germinación de las semillas y el vigor de las plantas, sin inducir un síndrome concreto de enfermedad.

AGRADECIMIENTOS

A la empresa The Bungalow Nursery, S.A. y a su director D. Jaime Visquert González.

ABSTRACT

In Almeria (Spain), there are about 30 hectares of aromatic plants grown for marketing as fresh produce or as potted plants. This study analyses the fungal contaminants associated with the seeds of 14 species of aromatic plants. All the fungal genera and species found were determined and those known as aromatic plant pathogens, were isolated. Among those listed in the literature as pathogens, *Alternaria alternata* and *Stemphylium botryosum*, were present in significant percentages in only four species of aromatic plants: coriander (*Coriandrum sativum*, L.), dill (*Anethum graveolens*, L.), mint (*Mentha piperita*), and smooth parsley (*Petroselinum hortense*, L.). Two methods of seed inoculation were compared: triturated fungus and culture filtrate from fungus grown in liquid medium. The effect of the inoculations was observed first on seed germination and later on subsequent plant growth (average dry weight). These were compared statistically. The extract of *Alternaria* significantly reduced seed germination compared to the control in coriander and mint. The extract of *Stemphylium* significantly reduced germination in coriander, mint and dill. The triturated *Alternaria* significantly reduced germination on coriander. The triturated *Stemphylium* had the same effect on coriander and mint. Stress effects were observed in plant vigour and subsequent development in some species: the extract of *Alternaria* significantly reduced development relative to control in mint and smooth parsley. The extract of *Stemphylium* had the same effect only on smooth parsley. Both triturated, *Alternaria* or *Stemphylium*, significantly reduced development compared to control in mint and smooth parsley. In this study it is shown that the raw extracts of *A. alternata* and *S. botryosum* are not specific to the inoculated host. It was also shown that the fungi tested in this study tend to reduce seed germination and plant vigour, without inducing concrete symptoms of disease.

Key words: *Alternaria alternata*, *Stemphylium botryosum*, seed-borne pathogens, germination, fungal contaminants, toxins, coriander, *Coriandrum sativum*, dill, *Anethum graveolens*, mint, *Mentha piperita*, smooth parsley, *Petroselinum hortense*.

REFERENCIAS

- AKESSON, I. 1985. Plant protection year 1984. *Horticultura. Vaxtskyddsnotiser* **49**: 1-2, 6-8; 2 fig. See RPP 64, 1003.
- GINDRAT, D. 1979. *Alternata radicina*, an important disease of umbelliferous marketgarden crops. *Revue Suisse de Viticulture d'Arboriculture et d'Horticulture* **11** (6) 257-267.
- HASAN, Hah. 1999. Phytotoxicity fo pathogenic fungi and their mycotoxins to cereal seedling viability. *Mycopathologia*. **148** (3): 149-155.
- HERMANSEN, A., BRODAL, G. y BALVOLL, G. 1999. Hot water treatments of carrot seeds: effects on seed - borne fungi, germination, emergence and yield. *Seed Science & Technology*. **27** (2): 599-613.
- ISLAM, M. S. JAHAN, Q. S. A., BUNNARITH, K., VIANGKUM, S. y MERCA, S. D. 2000. Evaluation of Seed health of some rice varieties under different conditions. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*. **41** (4): 293-297.
- JOHNSON, R D., JOHNSON, L., ITOH, Y., KODAMA, M., OTANI, H. y KAHMOTO, K. 2000. Cloning and characterization of a cyclic peptide synthetase gene from *Alternaria alternata* apple pathotype whose product is involved in AM-toxin synthesis and pathogenicity. *Molecular Plant - Microbe Interactions*. **13** (7): 742-753.
- KISHORE, N., GUPTA, S. y DUBEY, N. K. 1988. Fungitoxic properties of essential oils of *Anethum graveolens* Linn and *Curcuma longa* Linn. *Indian Journal of Microbiology* **28** (3-4): 199-202.
- KUO, M. S., YODER, O. C. y SCHEFFER, R. P. 1970. Comparative specificity of the toxins of *Helminthosporium carbonum* and *Helminthosporium victoriae*. *Phytopathology*. **60**: 365-368.
- LI, F. Q. y YOSHIZAWA, T. 2000. *Alternaria* mycotoxins in weathered wheat from China. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*. **48** (7): 2920-2924.
- LI, F. Q., TOYAZAKI, N. y YOSHIZAWA, T. 2001. Production of *Alternaria* mycotoxins by *Alternaria alternata* isolated from weather-damaged wheat. *Journal of Food Protection*. **64** (4): 567-571.
- LIEBERMANN, B., NUSSBAUM, R. P. y GUNTHER, W. 2000. Bicycloalternarenes produced by the phytopathogenic fungus *Alternaria alternata*. *Phytochemistry*. **55** (8): 987-992.
- MEHTA, Y. R. y BROGIN, R. L. 2000. Phytotoxicity of a Culture Filtrate Produced by *Stemphylium solani* of Cotton. *Plant Disease* **84**: 838-842.
- MUSKETT, A. E. y MALONE, J. P. 1941. The Ulster method for the examination of flax seed for the presence of seed borne parasites. *Ann. Appl. Biol.* **28**: 8-13.
- NEERGARD, P. 1988. *Seed Pathology*. Vols. I y II. Ed. MacMillan. London.
- OJIAMBO, P. S., NARLA, R. D., AYIECHO, P. O. y MIBEY, R. K. 2000. Infection of sesame seed by *Alternaria sesami* (Kawamura) Mohanty and Behera and severity of *Alternaria* leaf spot in Kenya. *International Journal of Pest Management*. **46** (2): 121-124.
- PRINGLE, R. B. y SCHEFFER, R. P. 1967. Isolation of the host-specific toxin and a related substance with nonspecific toxicity from *Helminthosporium carbonum*. *Phytopathology* **57**: 1169-1172.
- RAO, N. R. y VIJAYALAKSHMI, M. 2000. Studies on *Alternaria sesami* pathogenic to sesame. *Microbiological Research*. **155** (2): 129-131.
- RICHARDSON, M. J. 1990. An annotated list of seed - Borne diseases. Fourth Edition. The International Seed Testing Association. Zürich, Switzerland.
- RUDE, S. V., DUCZEK, L. J. y SEIDLE, E. 1999. The effect of *Alternaria brassicae*, *Alternaria raphani* and *Alternaria alternata* on seed germination of Brassica rapa canola. *Seed Science & Technology*. **27** (2): 795-798.
- SHRESTHA, S. K., MATHUR, S. B. y MUNK, L. 2000. *Alternaria brassicae* in seeds of rapessed and mustard, its location in seeds, transmission from seeds to seedlings and control. *Seed Science & Technology*. **28** (1): 75-84.
- SINGH, P., PARK, P., BUGIANI, R., CAVANNI, P., NAKAJIMA, H., KODAMA, M., OTANI, H. y 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.
- SINGH P., BUGIANI, R., CAVANNI, P., NAKAJIMA, H., KODAMA, M., OTANI, H. y 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.
- SNOWDON, A. L. 1991. A colour Atlas of Post - Harvest diseases & disorder of Fruits & Vegetables. Ed: Wolfe Scientific Ltd. Vol II. Pág. 416.
- TELLO, J. C., VARES, F. y LACASA, A. 1991. Análisis de muestras. En manual de laboratorio. Diagnóstico de hongos, bacterias y nemátodos fitopatógenos. Pág. 39-72. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- VAN DER PLAATS - NITERINK, A. J. 1981. Monograph of the genus *Pythium*. *Stud in Mycol.*, **21**: 242 pp.
- WILSON, C. L., SOLAR, J. M., EL GHAOUTH, A. y WISNIEWSKI, M. L. 1997. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for Antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*, Vol **81**. N°2.
- WU, W. S., CHOU, H. H., LIN, S. M., WU y H. C. 2001. The effect of seed-borne pathogens on emergence of globe amaranth, Calendula and Tagetes and the methods of control. *Journal of Phytopathology*. **149** (2): 91-96.

(Recepción: 5 de julio de 2001)

(Aceptación: 18 de julio de 2001)