



**INSTITUTO LATINOAMERICANO DE CIENCIAS DE LA  
VIDA Y DE LA NATURALEZA (ILACVN)  
CIENCIAS BIOLÓGICAS – ECOLOGÍA Y BIODIVERSIDAD**

**EFEECTO DE BORDE EN HONGOS DE UN BOSQUE ATLÁNTICO SEMIDECIDUO**

**DIANA CAROLINA DUQUE CASTAÑO**

Foz do Iguaçu  
2016



**INSTITUTO LATINOAMERICANO DE CIENCIAS DE LA  
VIDA Y DE LA NATURALEZA (ILACVN)  
CIENCIAS BIOLÓGICAS – ECOLOGÍA Y BIODIVERSIDAD**

## **EFEECTO DE BORDE EN HONGOS DE UN BOSQUE ATLÁNTICO SEMIDECIDUO**

**DIANA CAROLINA DUQUE CASTAÑO**

Trabajo de Conclusión de Curso II presentado al Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y de la Naturaleza de la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana como requisito parcial para la obtención del título de grado en Ciencias Biológicas – Ecología y Biodiversidad.

Orientadora: Profa. Dra. Rafaella Costa Bonugli Santos

Co-orientador: Prof. Dr. Cleto Kaveski Peres

Foz do Iguaçu  
2016

DIANA CAROLINA DUQUE CASTAÑO

**EFFECTO DE BORDE EN HONGOS DE UN BOSQUE ATLÁNTICO SEMIDECIDUO**

Trabajo de Conclusión de Curso presentado al Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y de la Naturaleza de la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana como requisito parcial para la obtención del título de grado en Ciencias Biológicas – Ecología y Biodiversidad.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Profesora Dra. Rafaella Costa Bonugli  
UNILA

---

Profesor Dr. Hermes J. Schmitz  
UNILA

---

Profesor Michel Rodrigo Zambrano Passarini  
UNILA

Foz do Iguaçu, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a mi familia, especialmente a mis padres, por la inspiración y el imperecedero apoyo. Viejos, ustedes son mi motor.

A mis orientadores, por ayudar a formular, ejecutar, dar forma y hacer crecer este proyecto. Profesores Rafaella y Cleto, quedo inmensamente agradecida.

Al equipo del DELABEN, competentes, atentos y con una enorme calidez humana, no se imaginan lo agradecida que quedo con ustedes.

A todos los que de alguna u otra forma ayudaron a concretar esta faena.

A los miembros de la banca, por aceptar la invitación.

Gracias a mis colegas de curso de todos los rincones del continente, por los momentos de alegría y compartir un poco de lo que son, del lugar del que vienen y de lo que los mueve.

A los profesores, por las enseñanzas invaluable y por dejarme ver un poco de lo inspirador y lo decepcionante de esa difícil labor. Un agradecimiento especial a esos profesores que ven en todos y cada uno de sus estudiantes una oportunidad, pocos pero valiosos, mi actitud hacia ustedes refleja cuánto los aprecio, pero supongo que todos necesitan, en algún punto, que se verbalice el reconocimiento: gracias totales.

A la UNILA, este lugar tan particular, tan difícil de definir, que sin lugar a dudas impactó profundamente mi camino.

*“...As green plants and  
animals disappear one by one  
from the face of the globe,  
some of the fungi will always be  
present to dispose of the last  
remains.”*

Bernard Ogilvie Dodge (1939)

DUQUE CASTAÑO, Diana Carolina. **Efecto de borde en hongos de un Bosque Atlántico Semidecidual**. 2016. 52 páginas. Trabajo de Conclusión de Curso (Graduación en Ciencias Biológicas–Ecología y Biodiversidad) – Universidad Federal de Integración Latinoamericana, Foz do Iguaçu, 2016.

## RESUMEN

Los bordes forestales, naturales y antrópicos, se caracterizan por flujos alterados de materia y energía, con efectos de extensión variable en dirección al interior de la floresta. El borde afecta de forma directa e indirectamente a los organismos tanto a nivel de individuo como de comunidad. El entendimiento de los efectos que el borde genera sobre las comunidades de hongos, organismos con un papel fundamental en el ciclo de carbono y otros nutrientes, es limitado. A pesar del conocimiento del efecto que el borde tiene sobre factores bióticos y abióticos que influyen a los hongos, existen pocos estudios, desarrollados sólo en determinadas formaciones forestales, evidenciando efectos algunas veces contrarios del borde sobre las mismas comunidades de estos organismos descomponedores. Este estudio evaluó el efecto de un borde artificial en un bosque estacional semidecidual, sobre la riqueza y composición de hongos de la materia vegetal en descomposición y de los hongos con potencial ligninolítico, aislados a través de técnica dependiente de cultivo. Se evidenció un efecto negativo del borde sobre la riqueza y neutro sobre la composición en la comunidad de hongos. Los hongos con potencial ligninolítico, constituyeron una mayor proporción de la comunidad total de hongos en el interior forestal.

Palabras clave: ciclo de carbono, guayacol, hojarasca, ligninolítico, método dependiente de cultivo

DUQUE CASTAÑO, Diana Carolina. **Efeito de borda em fungos da Mata Atlântica Semidecidual**. 2016. 52 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas – Ecologia e Biodiversidade) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2016.

## RESUMO

As bordas das florestas, naturais e antrópicas, são caracterizadas por fluxos alterados da matéria e energia, com efeitos de extensão variável na direção do interior da floresta. As bordas afetam direta e indiretamente aos organismos, tanto no nível individual como da comunidade. O conhecimento dos efeitos que a borda gera sobre as comunidades de fungos, organismos com um papel chave no ciclo do carbono e outros nutrientes, é limitado. Embora se conheça o efeito que a borda tem sobre fatores bióticos e abióticos que influenciam os fungos, existem poucos estudos, desenvolvidos apenas em determinadas formações florestais, que evidenciam efeitos algumas vezes contrários, da borda, sobre as comunidades desses organismos decompositores. O presente estudo avaliou o efeito de uma borda artificial, em uma floresta estacional semidecidual, na riqueza e composição de fungos da decomposição de matéria vegetal bem como de fungos como potencial ligninolítico, isolados através de técnica dependente de cultivo. Foi evidenciado um efeito negativo da borda sobre a riqueza e neutro sobre a composição da comunidade de fungos. Os fungos com potencial ligninolítico constituíram uma proporção maior da comunidade fúngica no interior da floresta.

Palavras-chave: ciclo do carbono, guaiacol, ligninolítico, método dependente de cultivo, serapilheira.

## SUMARIO

<b>1 INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>6</b>
<b>2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>9</b>
2.1 CICLADO DE NUTRIENTES Y HONGOS DESCOMPONEDORES .....	9
2.2 LIGNINA Y HONGOS LIGNINOLÍTICOS .....	10
2.3 LOS HONGOS Y EL EFECTO DE BORDE.....	13
2.4 EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD DE HONGOS SAPRÓFITOS .....	16
2.4.1 Medios generales para el cultivo de hongos: Agar Extracto de Malta.....	17
2.4.2 Uso de Guayacol como Sustrato Selectivo para Hongos Ligninolíticos.....	18
2.4.3 Conservación de Hongos Filamentosos .....	19
2.4.4 Caracterización Taxonómica de Hongos Filamentosos .....	20
2.5 PARQUE NACIONAL DO IGUAÇU .....	22
<b>3 OBJETIVO</b> .....	<b>23</b>
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>24</b>
4.1 LUGAR DE ESTUDIO Y RECOLECCIÓN DE MUESTRAS .....	24
4.2 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS .....	25
4.3 AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN .....	26
4.4 PRESERVACIÓN.....	27
4.5 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA .....	27
4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	28
<b>5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>30</b>
5.1 HONGOS AISLADOS DE LA MATERIA VEGETAL EN DESCOMPOSICIÓN DEL BORDE Y DEL INTERIOR FORESTAL.....	30
5.2 HONGOS CON POTENCIAL LIGNINOLÍTICO .....	33
<b>7 CONCLUSIÓN</b> .....	<b>39</b>
<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>40</b>
<b>ANEXO I- Tabla de aislados</b> .....	<b>50</b>

## 1 INTRODUCCIÓN

Los ecotonos representan zonas de transición abruptas entre comunidades diversas, como es el caso de bordes entre bosques y formaciones vegetales abiertas (ŁUCZAJ; SADOWSKA, 1997). Estos bordes, se distinguen por flujos alterados de energía y materiales entre los ambientes adyacentes, que son influenciados por el nivel de contraste entre los alrededores y la estructura de la vegetación del borde en sí (HARPER et al., 2005). Los flujos de energía incluyen luz solar y vientos, los flujos de materiales comprenden materiales abióticos y bióticos (CROCKATT, 2012).

El efecto de borde es el conjunto de cambios estructurales en poblaciones y comunidades que se da en los ecotonos (LEVIN et al., 2009). Una de las tendencias asociadas al efecto de borda es el incremento en la riqueza, en razón de la presencia de especies de cada una de las comunidades adyacentes (ODUM; BARRETT, 1971). Sin embargo, esta visión ha sido criticada ya que, operacionalmente, el contraste entre dos hábitats depende de la respuesta o reconocimiento de la transición de ambientes por parte de los organismos en estudio (WIENS, 1969) y de características poblacionales que pueden ser influenciadas por la biología y ecología de los organismos (WIENS, 1976).

El estudio del efecto de borda en organismos como los hongos, que cumplen un rol central en el ciclo del carbono en los bosques, es esencial para comprender la dinámica de funciones ecosistémicas en estos ecotonos (CROCKATT, 2012).

Los hongos son organismos eucariontes, que se reproducen por esporas de forma sexual y asexual (ALEXOPOULOS, 1996, ARIAS; PIÑEROS, 2008), todos son heterotróficos y absorbentes (ULLOA, 1991) y constituyen un grupo hiperdiverso, con un número global de especies estimado de 1,5 a 3,3 millones (HAWKSWORTH, 2012). Sólo 70 000 especies de hongos han sido descritas, es decir, menos del 5% de la estimativa más conservadora (MONKAI et al., 2012). Los hongos cumplen un papel crucial en el ciclo de nutrientes de los ecosistemas, establecen asociaciones simbióticas con plantas e interacciones con insectos (PAULUS et al.,

2006), además poseen un vasto potencial para investigación biotecnológica (ZHIGIANG, 2005, KAVANAGH, 2011).

En su papel central en el ciclado de nutrientes y carbono, los hongos participan en la descomposición de materia en la hojarasca y el suelo (KJØLLER; STRUWE; 1982). La descomposición implica un complejo conjunto de procesos que incluye agentes físicos, químicos y biológicos, actuando sobre una amplia variedad de sustratos orgánicos que son modificados constantemente (LUNGHINI et al., 2013). Existe gran variedad de hongos y otros microorganismos capaces de catabolizar celulosa y hemicelulosa (DÁVILA; VÁZQUEZ-DUHALT, 2006). Después de la celulosa, la lignina es el segundo compuesto de carbono más abundante en la biosfera (BAUTISTA; PALACIO, 2005, JOUANIN; LAPIERRE, 2012) y al ser un heteropolímero recalcitrante sólo consigue ser mineralizado (transformado hasta dióxido de carbono y agua) en forma limitada por algunas bacterias y extensivamente por algunos hongos (KIRK; FARRELL, 1987). Se presume que la degradación selectiva les permite a los hongos tener acceso a la celulosa y hemicelulosa, las cuales finalmente representan su fuente de carbono y energía (HAVE; TEUNISSEN, 2001). Los hongos ligninolíticos, en su mayoría Basidiomicetos, secretan enzimas extracelulares que son esenciales para la transformación inicial de la lignina y permiten su posterior mineralización (KIRK; FARRELL, 1987, DÁVILA; VÁZQUEZ-DUHALT, 2006). La dinámica de la descomposición de hojas de especies particulares y la comunidad de descomponedores asociada, ha sido ampliamente estudiada (HEILMANN-CLAUSEN; CHRISTENSEN, 2003, MONKAI et al., 2012). No obstante, la materia no se descompone de forma segregada en los ecosistemas y debido a efectos no aditivos, los patrones de descomposición no siempre son predecibles a partir de la dinámica de una sola especie. Debido a esto, estudiar la descomposición de la hojarasca como conjunto, se presenta como una temática relevante (GARTNER; CARDON, 2004).

Se conoce que el microclima y la deposición de compuestos como el nitrógeno tienen efectos sobre los hongos (PROGAR et al., 2000, LILLESKOV et al., 2002, KAUSERUD et al., 2010, VICENT; BASSIMBA; INTRIGLIOLO, 2011), no obstante, el conocimiento sobre el efecto de borde en los hongos es escaso (ŁUCZAJ; SADOWSKA, 1997). La limitada evidencia disponible muestra que las respuestas de la riqueza de especies de hongos a los bordes pueden ser negativas (KJØLLER;

STRUWE, 1982, ŁUCZAJ; SADOWSKA, 1997), positivas (RUETE; SNÄLL; JÖNSSON, 2016) y neutras (SAARI, 1993), con los efectos siendo modificados de acuerdo al rango de características del borde evaluadas (CROCKATT, 2012).

La diversidad de hongos en ambientes naturales es poco conocida en Brasil (FORZZA et al., 2010) y publicaciones sobre estudios realizados en el Bosque Estacional Semideciduo son escasas (WRIGHT; WRIGHT, 2005). Además, entre los pocos estudios conducidos sobre el efecto de borda en hongos, hasta el momento no se reporta ninguno realizado en esta formación forestal (CROCKATT, 2012).

La Mata Atlántica, un bioma de bosque neotropical presente en Brasil, Paraguay y Argentina, es considerada uno de los más importantes *hotspots* de biodiversidad mundial, debido a su elevada riqueza y endemismos (MYERS et al., 2000). Este bioma fue reducido a menos del 16% de su extensión original y la mayor parte de remanentes corresponde a fragmentos pequeños, aislados, alterados y sin ninguna protección efectiva (SILVA; TABARELLI, 2000, DI BITETTI; PLACCI; DIETZ, 2003, RIBEIRO et al., 2009). El *Parque Nacional do Iguaçu* (PNI) constituye el fragmento de Bosque Estacional Semideciduo, una de las formaciones de Mata Atlántica (RIZZINI, 1963, VELOSO; RANGEL FILHO; LIMA, 1991), más grande de la región Sur de Brasil (IBAMA, 2000). En este sentido, este estudio constituye uno de los primeros esfuerzos por evaluar la riqueza y composición de la comunidad de hongos en el PNI, el primero en estudiar el efecto de borda sobre estos organismos en el Bosque Estacional Semideciduo y también, el primero en estudiar el efecto de borda sobre hongos con potencial para degradar compuestos recalcitrantes como la lignina.

## 2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 CICLADO DE NUTRIENTES Y HONGOS DESCOMPONEDORES

La descomposición de la hojarasca, que representa la mayor fuente de carbono orgánico en los suelos forestales, es un proceso complejo que implica mineralización y transformación de materia orgánica (NOVARA et al., 2015). La descomposición de la hojarasca es un paso clave en el ciclado de nutrientes, ya que la mayor parte del carbono derivado de la biomasa es mineralizado en ella, haciendo necesario entender el proceso y los microorganismos involucrados (VOŘÍŠKOVÁ; BALDRIAN, 2013).

Hongos descomponedores de madera son ampliamente usados para caracterizar el grado de perturbación en bosques boreales, pero pocos estudios han sido publicados sobre su repuesta al efecto de borde (CROCKATT, 2012). Los hongos indicadores de bosques antiguos son, de forma general, altamente especializados respecto a las especies de árboles, diámetro y tipo de decaimiento; la forma en la que el proceso de decaimiento inicia e incluso a especies predecesoras de hongos. Además, algunos hongos parecen dispersarse pobremente (SIITONEN; LEHTINEN; SIITONEN, 2005).

La descomposición bioquímica de la hojarasca es un proceso que inicialmente involucra la pérdida de compuestos poco recalcitrantes como oligosacáridos, ácidos orgánicos, hemicelulosas y celulosas, seguido de la degradación de los compuestos recalcitrantes restantes como lignina y suberina (BERG; JOHANSSON; MEENTEMEYER, 2000). La calidad del material varía a lo largo de la descomposición y esto es acompañado por los organismos asociados (DILLY et al., 2001), observándose un proceso de sucesión de microorganismos descomponedores que refleja la variedad de capacidades catabólicas que son requeridas para completar el proceso de descomposición de la hojarasca (VOŘÍŠKOVÁ; BALDRIAN, 2013). Este proceso lleva teóricamente a dos escenarios: la formación de nuevos hábitats y un potencial incremento de la diversidad de hongos o la creación de un ambiente más homogéneo con una potencial disminución de la

diversidad, ambos escenarios han sido reportados tanto para hojas como para madera (MELILLO et al., 1989, DICKIE et al., 2012). Sin embargo, el panorama sobre el desarrollo de la comunidad de hongos en la hojarasca es bastante desconocido aún (VOŘÍŠKOVÁ; BALDRIAN, 2013).

La descomposición del material vegetal no se limita a lo que sucede en la capa de hojarasca, en el caso de las hojas de las plantas, por ejemplo, el proceso de descomposición inicia tan pronto como la hoja es formada, ya que los hongos de la filósfera, establecidos en el interior de la hoja, tienen la ventaja del acceso a los nutrientes en las hojas vivas y más tarde, después de la senescencia, a la biomasa de la hoja muerta (STONE, 1987).

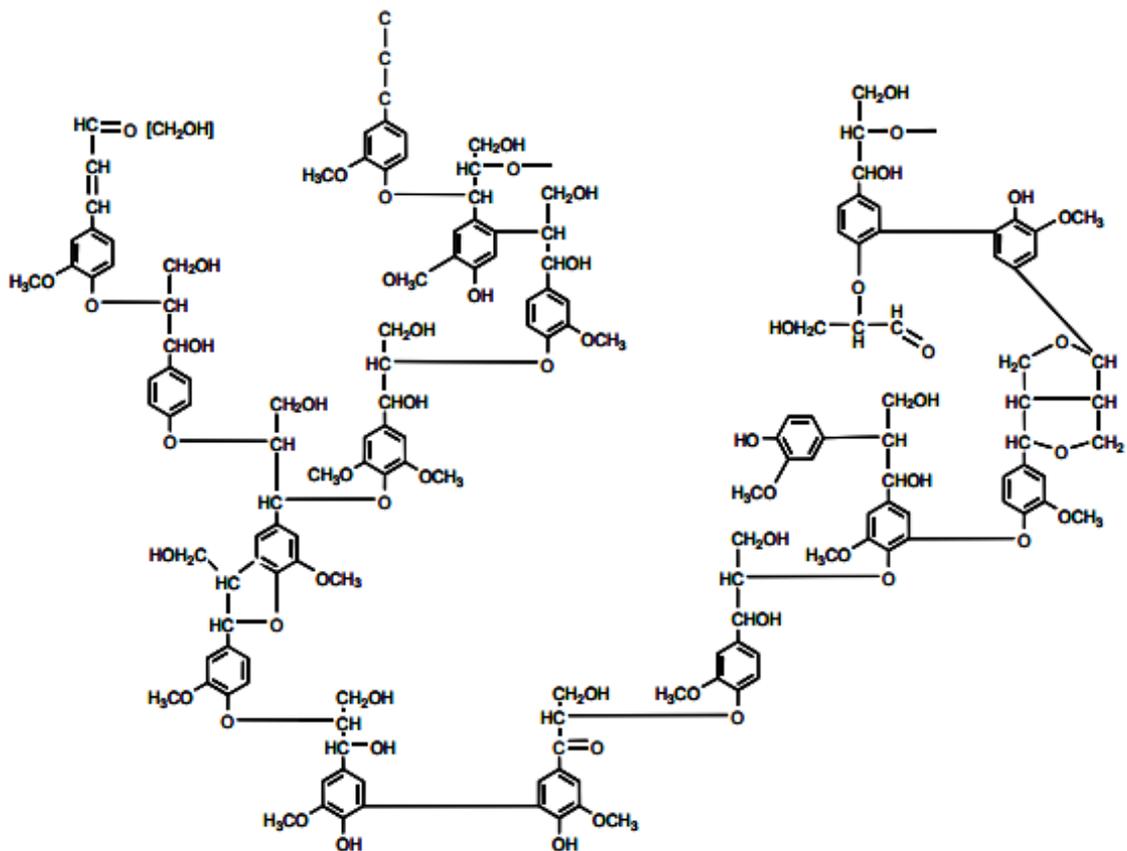
## 2.2 LIGNINA Y HONGOS LIGNINOLÍTICOS

La lignina es el material aromático renovable más abundante del mundo (KIRK; FARRELL, 1987). La lignina es degradada por un menor número de microorganismos que otros grandes polímeros como la celulosa (DÁVILA; VÁZQUEZ-DUHALT, 2006). La degradación de la lignina es central en el ciclo de carbono del planeta pues el segundo compuesto más abundante, tras la celulosa y, tal vez más significativo, ya que la lignina protege físicamente la mayor parte de la celulosa y hemicelulosa del mundo de la hidrólisis enzimática (KIRK; FARRELL, 1987).

La lignina es un polímero heterogéneo que ocurre en tejidos leñosos y vasculares. Es formada por una reacción de polimerización al azar de alcohol p-cumarílico, 3-(4-hidroxifenil) propen-1-ol, radicales, y sus derivados metoxi-sustituidos (KIRK; FARRELL, 1987, HAVE; TEUNISSEN, 2001). La copolimerización por radicales libres de estos alcoholes, iniciada por peroxidasas vegetales, da lugar al polímero de lignina, químicamente heterogéneo, amorfo, ópticamente inactivo, y altamente ramificado (Figura 1).

Los hongos que degradan lignina son clasificados de acuerdo con el modo de ataque a la molécula de lignina durante el proceso de degradación como: hongos de la pudrición blanda (*soft-rot fungi*), hongos de la pudrición marrón (*brown-*

*rot fungi*) y hongos de la pudrición blanca (*white-rot fungi*) (ARORA; SHARMA, 2010). Los hongos de la pudrición blanca están entre los mejores degradadores de lignina, nombrados de esta forma por el proceso específico de blanqueamiento que ocurre durante la degradación fúngica de la madera (HAVE; TEUNISSEN, 2001). La lignina forma una matriz alrededor de la celulosa en las paredes celulares, este conjunto es llamado holocelulosa. Los hongos de la pudrición blanca son los únicos organismos conocidos que pueden mineralizar la lignina, es decir, degradarla completamente a agua y dióxido de carbono. Sin embargo, la lignina no puede ser degradada como única fuente de carbono y energía (DÁVILA; VÁZQUEZ-DUHALT, 2006). La degradación de la lignina, les permite a los hongos de la pudrición blanca acceder a la celulosa, su fuente de carbono y energía, siendo este, presumiblemente, el real propósito de la degradación de lignina por parte de los hongos (HAVE; TEUNISSEN, 2001).



**Figura 1.** Estructura Parcial de la lignina. Fuente: Dávila y Vázquez-Duhalt (2006).

La naturaleza compleja de la lignina requiere un conjunto de enzimas oxidativas para su completa degradación, siendo las principales la lignina peroxidasa (LiP), la manganeso peroxidasa (MnP) y la lacasa, con variaciones en sus características relacionadas con la fuente microbiana (NILADEVI, 2009). A parte de estas tres enzimas existe una enorme variedad de enzimas que se cree actúan en la degradación de la lignina, como la veratril alcohol oxidasa (BOURBONNAIS; PAICE, 1988), la aril alcohol deshidrogenasa, la quinona oxidoreductasa, la reductasa aromática ácida, la valinato hidroxilasa dioxigenasa y la catalasa (LEISOLA; FIETCHER, 1985), pero estas enzimas son consideradas de menor importancia pues actuarían como mediadoras de la degradación de lignina por la producción del peróxido de hidrógeno requerido por la peroxidasa (NILADEVI, 2009).

La lignina peroxidasa (LiP), una glicoproteína descubierta en 1983 en *Phanerochaete chrysosporium*, es una de las enzimas más importantes involucradas en la degradación de la lignina (SCHMIDT et al., 1990). Otras lignina peroxidases han sido posteriormente encontradas en varios organismos como hongos de la pudrición marrón, hongos de la pudrición blanda y bacterias filamentosas (NILADEVI, 2009). Por su alto potencial redox, las LiPs consiguen oxidar compuestos fenólicos y no fenólicos como los del sistema ligninolítico, usando radicales libres para romper la cadena lateral propílica de las estructuras de lignina (SCHOEMAKER et al., 1985). Las LiPs tienen la inusual habilidad de romper las unidades no fenólicas recalcitrantes que comprenden aproximadamente el 90% de la lignina (GLENN et al., 1983). Esta hemi-peroxidasa posee el mecanismo clásico de la catálisis por peroxidases para el que requiere peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ); la enzima es oxidada por el  $H_2O_2$  y genera un compuesto con deficiencia de electrones. Este compuesto deficiente de electrones puede oxidar un compuesto y ser reducido a un segundo compuesto con deficiencia de un electrón. La oxidación posterior de otra molécula por el segundo compuesto, devuelve la peroxidasa a su estado inicial (NILADEVI, 2009).

La manganeso peroxidasa (MnP) es también una hemi-peroxidasa que requiere  $H_2O_2$  para su actividad, el potencial redox de la MnP es menor que el de la LiP, normalmente no oxida compuestos no fenólicos de la lignina y muestra una fuerte preferencia por Mn (II) como sustrato para reducción (GLENN; GOLD, 1985).

La lacasa es una polifenol oxidasa que debe su nombre a que fue descubierta, hace más de un siglo, en el árbol japonés de la laca: *Rhus vernicifera* (YOSHIDA, 1883) y que cataliza la oxidación de cuatro moléculas concomitantemente (PIONTEK; ANTORINI; CHOINOWSKI, 2002). Esta enzima contiene átomos de cobre y se encuentra ampliamente distribuida en las plantas superiores, diversas clases de hongos y algunas bacterias (GIANFREDA; XU; BOLLAG, 1999). La lacasa fúngica (bencendiol: oxígeno oxidorreductasa, E.C. 1.10.3.2) es una fenol oxidasa extracelular producida por el micelio de basidiomicetos, ascomicetos y deuteromicetos (BOLLAG; LEONOWICZ, 1984). Los mejores productores de esta enzima son los hongos ligninolíticos (LEONOWICZ et al., 2001). Diferenciándose de la LiP y la MnP en que no requieren H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para oxidar sus sustratos (NILADEVI, 2009), las lacasas pueden oxidar una variedad de compuestos aromáticos (*p*-difenoles) y se caracterizan por poseer 3 centros catalíticos: un centro T1, mononuclear, se encarga de la oxidación del sustrato, mientras que dos centros T2 y T3, forman un centro trinuclear, el cual se encarga de reducir el oxígeno molecular a agua (ALCALDE; BULTER, 2003, ARIAS et al., 2003). La lacasa oxida un amplio espectro de compuestos fenólicos y aminas aromáticas utilizando el oxígeno molecular como aceptor de electrones, reduciéndolo a agua (GIANFREDA; XU; BOLLAG, 1999). A través de la utilización de ciertos compuestos redox, la lacasa puede ser capaz de ampliar su espectro de sustratos, logrando así la oxidación de porciones no fenólicas de la lignina (CAMBRIA et al., 2008). Algunos trabajos sugieren la presencia de isoenzimas de lacasa de respuesta diferencial ante iones metálicos. Yaver et al. (1995), han reportado dos isoenzimas correspondientes a lacasa, de unos 63 kDa, una de expresión constitutiva y la otra de expresión inducible, es decir, una expresada de forma constante y otra expresada sólo bajo la presencia de un sustrato particular.

### 2.3 LOS HONGOS Y EL EFECTO DE BORDE

A pesar del papel clave de los hongos en los ecosistemas forestales por su papel en el ciclado de nutrientes, como ingenieros de ecosistemas de madera muerta y como fitopatógenos, existe un vacío en el conocimiento de cómo estos organismos responden a los bordes, que constituye a su vez, una brecha en el

conocimiento de la función ecosistémica de los bosques (MURCIA, 1995). El conocimiento de los factores que regulan la actividad fúngica y de factores bióticos y abióticos del borde pueden dar claves para la comprensión de la influencia de esta zona sobre los hongos (CROCKATT, 2012).

Los ecotonos constituidos por el borde de florestas y formaciones vegetales abiertas, se caracterizan, de forma general, por una mayor radiación solar y viento, respecto al interior del bosque (HARPER et al., 2005). Estas condiciones resultan en mayor temperatura, aire más seco y suelo con mayor fluctuación de temperatura y humedad en el borde respecto al interior (YOUNG; MITCHELL, 1994). La deposición de materiales es mayor en los bordes de los bosques debido a su fisionomía, lo que resulta en muchos bordes forestales excediendo cargas críticas de nitrógeno y de deposición de acidificantes (SCHRIJVER et al., 2007). Estos efectos del borde que influyen directamente los organismos, nombrados como efectos de borde directos o primarios, probablemente influyen a los hongos tanto a nivel de individuo como de comunidad (LINDENMAYER; FISCHER, 2013).

Los efectos de borde de la radiación solar pueden alcanzar 10 m a 20 m desde el borde hacia el interior forestal, mientras que los efectos de borde de la humedad y la temperatura alcanzan típicamente los 50 m y se sabe que ambos influyen los hongos (MATLACK, 1993, YOUNG; MITCHELL, 1994). En este sentido, la distribución de algunos hongos puede estar influenciada por la radiación solar (NEWSHAM et al., 1997), generar impactos en la protección contra patógenos de las plantas y en procesos como la tasa y la ruta de descomposición de la hojarasca (OSONO, 2006). La exposición solar está relacionada de forma positiva con la conversión de ergosterol a vitamina D<sub>2</sub> (ROBERTS; TEICHERT; MCHUGH, 2008) y la producción de cuerpos de fructificación en algunos hongos patogénicos y saprófitos (JENNINGS; LYSEK, 1996, KÜES; LIU, 2000). La temperatura y la humedad regulan procesos autoecológicos como la tasa de descomposición, fases del ciclo de vida como la producción de cuerpos de fructificación (KAUSERUD et al., 2010), extensión del micelio, liberación y germinación de esporas (VICENT; BASSIMBA; INTRIGLIOLO, 2011). Interacciones interespecíficas como competencia entre hongos también pueden ser afectadas por la temperatura y la humedad (MCCRACKEN, 1970). Las fluctuaciones microclimáticas aumentadas en el borde también pueden significar que

el borde es más adecuado para especies que se adapten rápidamente a ambientes cambiantes (LANDESMAN; DIGHTON, 2011).

Se ha reconocido que la eutrofización por deposición de nitrógeno en el borde tiene un enorme impacto sobre los hongos, al punto de ser un factor importante en la pérdida de hongos micorrízicos en Europa (ARNOLDS, 1991). Además, el nitrógeno puede alterar la tasa de descomposición de madera y hojas y cambiar la composición de las comunidades (LILLESKOV; FAHEY; LOVETT, 2001).

Debido a que los vientos son generalmente más fuertes en el borde forestal, las esporas de los hongos podrían viajar más lejos que en los interiores del bosque, lo que podría influenciar su genética de poblaciones (SLATKIN, 1987). Adicionalmente la vegetación del borde podría actuar como un filtro para especies que dispersan a largas distancias aumentando su establecimiento en el borde más que en el interior del bosque (CROCKATT, 2012).

Además de los efectos primarios del borde, los posibles mecanismos y resultados de efectos secundarios de borda, mediados a través del efecto de la borda sobre otros organismos, son: i) calidad y cantidad de recursos alterados como un efecto directo del borde, como en el caso de mayor almacenamiento de carbono en las raíces aumentando la colonización y riqueza de hongos ectomicorrízicos (TURNER et al., 2009); ii) cambios indirectos en la calidad y cantidad del recurso, por cambios en otros organismos, como el efecto de borda alterando la tasa y trayectoria de la descomposición de restos leñosos y por ende la sucesión de saprófitos (RAYNER; BODDY, 1988); iii) distribución y comportamiento alterado de otros organismos con los que los hongos tienen contacto directo, como el aumento de la humedad aumentando la movilidad y actividad de depredación de algunos invertebrados micófagos como Collembola (KANEDA; KANEKO, 2011).

La profundidad del efecto de borde para hongos patógenos, micorrízicos, saprófitos y algunos no definidos se ha reportado variando de 0 m a 3 m hasta 150 m, siendo su alcance influenciado por las variables usadas en su determinación. (CROCKATT, 2012).

Se debe tener presente que el efecto de borde es influenciado además por una serie de factores espaciales y temporales. Los factores espaciales incluyen el aspecto del borde (CHEN; FRANKLIN; SPIES, 1995), la orientación relativa respecto a la dirección prevalente del viento (WUYTS et al., 2009), el clima regional (HARPER et al., 2005) y la matriz hábitat (CHEN; FRANKLIN; SPIES, 1995). Los factores temporales incluyen cambios diarios y estacionales y alteraciones del borde a lo largo del tiempo (SIITONEN; LEHTINEN; SIITONEN, 2005, CROCKATT, 2012).

A pesar de que la mayoría de los estudios se realizan en una dirección desde el ecotono, estudios mostrando un doble efecto de borde son un argumento de peso para la realización de más estudios a través del ecotono, no sólo en una dirección (ŁUCZAJ; SADOWSKA, 1997).

## 2.4 EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD DE HONGOS

En la evaluación de la diversidad de hongos, los abordajes dependientes de cultivo son típicamente selectivos porque sólo una fracción de los taxones crece bajo las condiciones usadas para el aislamiento (COSTA; PEIXOTO; GUSAMÃO, 2015). Métodos independientes de cultivo como técnicas de secuenciación de nueva generación, son usadas para el estudio de la composición de la comunidad de hongos durante el proceso de sucesión en la descomposición (VOŘÍŠKOVÁ; BALDRIAN, 2013), aunque se pueden presentar alteraciones en la riqueza y abundancia debido a los métodos para extracción de ADN y otras técnicas moleculares (ANDERSON; CAIRNEY, 2004). Además, como los organismos no son aislados ni preservados para uso posterior, los métodos independientes de cultivo, representan una desventaja para la realización de estudios taxonómicos, fisiológicos, genéticos y biotecnológicos (COSTA; PEIXOTO; GUSAMÃO, 2015).

Para el aislamiento y cuantificación de hongos saprofitos pueden ser usados métodos con abordaje directo e indirecto (BOOTH, 1971). En el método directo se detecta la presencia de hongos en su estado vegetativo pudiendo llevar a la

subestimación de la diversidad en los sustratos, ya que los cuerpos de fructificación de los hongos pueden no estar presentes en el tiempo del estudio, al no depender de estas estructuras, el método indirecto puede potencialmente registrar una mayor riqueza de hongos (PAULUS; GADEK; HYDE, 2003).

Comprender los factores que influyen las ensamblajes de hongos es esencial para diseñar estrategias eficientes de muestreo (LODGE; CANTRELL, 1995). Estos factores pueden incluir competencia por los recursos, el estado nutricional del sustrato y condiciones climáticas y microclimáticas. Evidencia empírica también sugiere que algunos hongos saprofitos están restringidos a ciertos hospederos y en alguna medida a ciertos tejidos. Algunos estudios también han mostrado diferencias en las abundancias de especies entre sustratos (PAULUS et al., 2006).

Estudios realizados en *litterbags* con mezclas de hojarasca han reportado que el material de diferentes especies y las variaciones en la calidad del recurso afectan la tasa de descomposición y el ciclado de nutrientes (CHAPMAN et al., 2013). Se ha formulado que la explotación preferencial de material de alta calidad por los descomponedores lleva a una alta disponibilidad de nutrientes y permite la transferencia de nutrientes por difusión pasiva y/o a través de las hifas, a hojarasca de baja calidad, que a su vez se descompone más rápido en la mezcla (ŁUCZAJ; SADOWSKA, 1997). Sin embargo, la comprensión de cómo la estructura de la comunidad afecta la función ecosistémica continúa siendo un desafío por el limitado poder predictivo que se tiene sobre esta relación (FUKAMI et al., 2010, MCGUIRE et al., 2012).

#### 2.4.1 Medios generales para el cultivo de hongos: Agar Extracto de Malta

Los medios de cultivo constituyen sustratos naturales o artificiales empleados en el cultivo de microorganismos como hongos. Existe gran variedad de medios para atender las exigencias nutricionales de las diferentes especies, pero de forma general los medios pueden ser clasificados en: naturales, semi-sintéticos y sintéticos. Los medios naturales son constituidos por materiales naturales de composición desconocida como

extracto de levadura, avena, maíz, entre otros. Los medios semi-sintéticos son constituidos por materiales de composición conocida y materiales de composición desconocida, como Agar Papa Dextrosa, Agar Extracto de Carne Dextrosa, entre otros. Los medios sintéticos son constituidos de materiales de constitución conocida como los medios líquidos de Czapek, Armstrong y Toshinai. Los medios también pueden ser clasificados en función de la gama de microorganismos cuyas exigencias consigan atender, como medios generales; utilizados por una amplia gama de hongos para su crecimiento y reproducción y medios selectivos; sustratos específicos para el crecimiento y reproducción de algunos hongos (MENEZES; ASSIS, 2004).

Elementos esenciales, presentes en cualquier medio de cultivo son: fuente de carbono, fuente de nitrógeno, iones fosfato y sulfato y iones metálicos (MADIGAN et al., 2010). El Agar Extracto de Malta es un medio natural general, contiene una alta concentración de maltosa y otros sacáridos como fuentes de energía. Dextrina y glicerina constituyen la fuente de carbono, peptona es la fuente de nitrógeno. Posee un pH ácido, por lo que promueve el crecimiento de levaduras y hongos mientras restringe el crecimiento bacteriano, a este medio también pueden ser agregados agentes selectivos de crecimiento (MENEZES; ASSIS, 2004).

#### 2.4.2 Uso de Guayacol como Sustrato Selectivo para Hongos Ligninolíticos

Los hongos de la pudrición blanca, son capaces, de forma amplia, de degradar y mineralizar aeróbicamente la lignina, un heteropolímero recalcitrante (KIRK; FARRELL, 1987), a través de enzimas extracelulares como la lacasa (DÁVILA; VÁZQUEZ-DUHALT, 2006). Las lacasas son enzimas degradadoras de lignina con gran potencial de aplicación industrial (NILADEVI, 2009) y una alternativa promisoría para procesos biotecnológicos con aplicaciones ambientales como el blanqueo de la pulpa de papel (BOURBONNAIS et al., 1995), la decoloración de colorantes textiles (RODRIGUEZ; PICKARD; VAZQUEZ-DUHALT, 1999) y la oxidación de hidrocarburos polinucleoaromáticos (PICKARD, 1999). Un compuesto capaz de desencadenar la producción de enzimas capaces de metabolizarlo es denominado inductor (LEWIN;

LÓPEZ, 1993), varios compuestos han sido utilizados como inductores de la producción de lacasa, los mejores resultados se han obtenido con sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) y guayacol, este último un fenol derivado de la benzina, utilizado a una concentración de 1 mM (D'SOUZA et al., 2006). La adición de estos compuestos al medio de cultivo, se presenta como una alternativa para seleccionar hongos productores de lacasa con capacidad de descomponer lignina (OKINO et al., 2000). Adicionalmente, la presencia de guayacol en el medio puede ser usada como indicador de la presencia de fenol-oxidasas, una vez que la formación de un compuesto de color marrón (tetraguayacoquinona), indica la acción de estas encimas durante la reacción ligninolítica (MORAIS, 2015).

#### 2.4.3 Conservación de Hongos Filamentosos

La conservación de aislados propios dentro de una colección es necesaria para su uso en la confirmación de resultados, estudios futuros y para ser usados como referencia (KOLKOWSKI; SMITH, 1995). La conservación de especímenes vivos es de especial interés en estudios ecológicos, en los que se guardan especímenes con fines comparativos y para trabajos futuros, recomendándose su depósito en colecciones públicas de microorganismos para su libre acceso (SMITH; ONIONS, 1983).

Las colecciones de microorganismos han tomado importancia tras el Convenio sobre la Diversidad Biológica, pues aseguran la conservación de la biodiversidad microbiana fuera de su hábitat natural (GLOWKA, 1996).

El mantenimiento de cultivos de una colección implica mantenerlos viables, puros y sin cambios genéticos (GRAÇA; BÄRLOCHER; GESSNER, 2005). Esto puede alcanzarse mediante la reducción o incluso suspensión del metabolismo fúngico. No existen métodos universalmente aplicables para todos los microorganismos y como regla general se deben emplear métodos que permitan la conservación del micelio no esporulado (KOLKOWSKI; SMITH, 1995). Para todas las formas de conservación, se deben usar cultivos saludables, vigorosos y preferiblemente en fases tempranas o intermediarias de crecimiento (GRAÇA; BÄRLOCHER; GESSNER, 2005).

El método de conservación a metabolismo reducido en agua desionizada (Proceso de Castellani) fue usado por primera vez por Castellani para hongos patogénicos humanos, fue adoptado con éxito para otros grupos de hongos como deuteromicetos, zigomicetos y ascomicetos, con viabilidad de los cultivos variando de 2 a 5 años, siendo “moderados” los resultados en cuanto a la estabilidad genética de las muestras (CASTELLANI, 1939). Este método presenta la ventaja de evitar el desarrollo de ácaros y es de fácil realización, pero logra una subsistencia corta de los cultivos cuando es comparado con otras técnicas (RODRIGUES; LÍRIO; LACAZ, 1992, GRAÇA; BÄRLOCHER; GESSNER, 2005).

El metabolismo reducido de los hongos durante el almacenamiento, se debe probablemente a las bajas concentraciones de nutrientes en el medio y la restringida disponibilidad de oxígeno en condiciones de sumersión (GRAÇA; BÄRLOCHER; GESSNER, 2005). Algunas de las ventajas de este proceso es que requiere es que los equipos son económicos, los cultivos requieren poco espacio para su almacenamiento, la morfología y la capacidad de esporulación son usualmente bien preservadas y la transferencia a medio fresco es generalmente suficiente para reactivar el cultivo (CAPRILES et al., 1989, RODRIGUES; LÍRIO; LACAZ, 1992). Algunas de las desventajas incluyen el riesgo de cambio genético y/o contaminación durante el almacenamiento (GRAÇA; BÄRLOCHER; GESSNER, 2005).

La técnica de criopreservación en glicerol al 20% permite el almacenamiento de aislados por largos periodos de tiempo (GRAÇA; BÄRLOCHER; GESSNER, 2005). Para evitar que durante la criopreservación se generen daños a los tejidos y células, por el choque térmico de la ultracongelación, se usan crioprotectores como el glicerol (PAUL; TIWARI; JADHAV, 2015).

#### 2.4.4 Caracterización Taxonómica de Hongos Filamentosos

En la evaluación de la diversidad de hongos aislados, los estudios morfológicos consisten en la caracterización del crecimiento del micelio, color, contenido celular (AL-HINDI; AL-NAJADA; MOHAMED, 2011). Se usan caracteres

macroscópicos como el crecimiento de la colonia del hongo, tamaño, color, textura, forma, color inverso, exudados, y el borde de la colonia (SHANAKHT; SHAHID; ALI, 2014). Para la caracterización microscópica de los aislados fúngicos se preparan láminas y microcultivos, estos últimos siendo idóneos para la identificación de estructuras fúngicas al permitir visualizar al microscopio el micelio en su conjunto, ambos preparados pueden ser teñidos con colorantes como azul de lactofenol (MENEZES; ASSIS, 2004). Las características encontradas son utilizadas en llaves de identificación (DOMSCH; WALTER; TRAUTE-HEIDI, 1980).

La clasificación de los hongos, se ha basado históricamente en características morfológicas (GUARRO; GENÉ; STCHIGEL, 1999). Debido a que el estado sexual del hongo, denominado teleomorfo y sus estados asexuales, denominados anamorfos (HENNEBERT; WERESUB, 1977), se desarrollan generalmente en diferentes tiempos y sustratos, se suele disponer de los caracteres de uno solo de sus estados para la identificación (GUARRO; GENÉ; STCHIGEL, 1999). Un factor que dificulta aún más la identificación de los hongos aislados, es que muchas veces sólo se cuenta con la fase vegetativa, es decir, hifas (ausencia de esporulación) y a pesar que las características de estas, como pigmentación, forma y presencia o ausencia de septos, den una idea de su identidad, otras características como el tipo de conidios y la conidiogénesis (proceso de formación de los conidios) se requieren para una identificación morfológica más exacta (COLE; SAMSON, 1979).

Aunque los datos morfológicos posean un papel de gran importancia en la taxonomía de los hongos filamentosos, el uso adicional de datos moleculares se ha vuelto cada vez más común (GUARRO; GENÉ; STCHIGEL, 1999). La información derivada de ácidos nucleicos presenta alta sensibilidad y especificidad, pudiendo ser empleada en la clasificación de linajes microbianos en diversos niveles taxonómicos, desde el establecimiento de relaciones infraespecíficas hasta supragenéricas (STACKEBRANDT; LIESACK, 1993).

## **2.5 PARQUE NACIONAL DO IGUAÇU**

El Parque Nacional do Iguazu (PNI), se localiza en la región oeste del estado de Paraná, comprendido entre 25°05' y 25°41' de latitud sur y 53°40' a 54°38' de longitud oeste, tiene una superficie de 185.262,5 hectáreas y 420 km de perímetro (IBAMA, 2000). El PNI es una unidad de conservación brasilera, administrada por el Instituto Chico Mendes de Conservación de la Biodiversidad (ICMbio), fue declarada Patrimonio de la Humanidad por la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO) por poseer fenómenos naturales superlativos y de excepcional belleza natural, las cataratas del Iguazú, además de contener hábitats naturales importantes para la conservación *in situ* de la diversidad biológica (UNESCO, 2016).

El clima, según la clasificación de Köppen, es Cfa- climática subtropical húmedo mesotérmico, con veranos calientes y heladas poco frecuentes (CAVIGLIONE et. al., 2000). Existen en el parque tres formaciones vegetales: Bosque Estacional Semidecíduo, sub-formaciones montana y sub-montana; Bosque Mixto Ombrófilo, sub-formación montana; Formaciones Pioneras de Influencia Pluvial (IBAMA 2000). Se reconocen en el parque cuatro grandes grupos de suelos: Latosol Rojo, Tierra Roja, Suelos Hidromórficos y Suelos Litólicos (EMBRAPA, 1981). Los latosoles en la región del PNI, de tres tipos, son muy profundos, formados a partir de rocas eruptivas básicas, tienen coloración rojiza, son muy porosos, muy friables y acentuadamente drenados. La tierra roja tiene algunas características en común con los latosoles rojos además de ser arcillosa y bien drenada. Los suelos hidromórficos son suelos de tierras inundables, tierras bajas y fondos de valles, tienen el manto freático a baja profundidad y están permanente o estacionalmente saturados de agua, siendo de color blanco o amarillo (IBAMA 2000).

La diversidad de hongos en el parque es prácticamente desconocida, en un estudio realizado por Wright y Wright (2005) en el Parque Nacional de Iguazú, homólogo argentino del PNI, fueron encontrados alrededor de 375 especies. En este mismo estudio se hace referencia a la carencia de información sobre microhongos, uno de los objetivos del presente estudio.

### 3 OBJETIVO

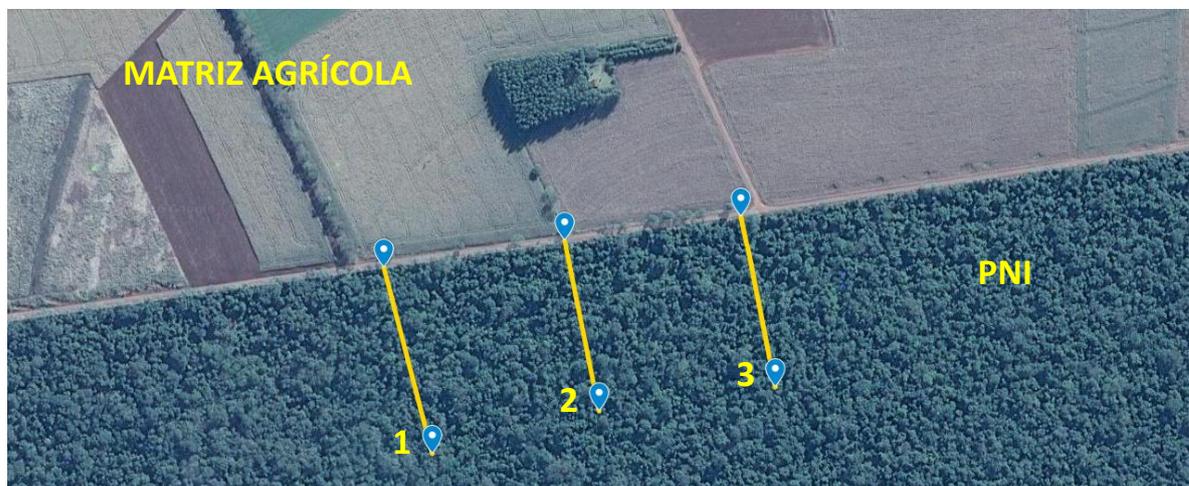
El objetivo general de este estudio es evaluar el efecto de borde en la riqueza y composición de hongos y hongos potencialmente descomponedores de lignina en un Bosque Atlántico Semideciduo. Para tal fin, se establecen los siguientes objetivos específicos:

- i. Preservar y caracterizar los hongos aislados de la materia vegetal en descomposición del borde y del interior del bosque.
- ii. Determinar y comparar la riqueza y la composición de la comunidad de hongos del borde y del interior.
- iii. Determinar y comparar la riqueza de hongos con potencial ligninolítico.

## 4 METODOLOGÍA

### 4.1 LUGAR DE ESTUDIO Y RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Los tres senderos de 200 m, separados entre sí por 200 m, están ubicados perpendicularmente en la región Oeste del *Parque Nacional do Iguacu*, a lo largo de la vía antigua de Guarapuava (Figura 2) (sendero 1 de 25°32'42.5"S y 54°24'58.1"W a 25°32'49.5"S y 54°24'56.1"W; sendero 2 de 25°32'41.5"S y 54°24'50.6"W a 25°32'47.9"S y 54°24'49.2"W; sendero 3 de 25°32'40.6"S y 54°24'43.3"W a 25°32'47.0"S y 54°24'41.9"W), en una región con bosque estacional semidecíduo formación submontana (altitud entre 251 m y 284 m) y suelo de tipo latosol rojo (IBAMA, 2000). El lugar, un borde artificial, está separado de la matriz agrícola por una carretera con un ancho de entre 6 m y 7 m. Las colectas fueron realizadas en el mes de agosto de 2016, durante el invierno.



**Figura 2.** Ubicación de los senderos (1, 2 y 3) en los que se realizó el estudio, en la región Oeste del *Parque Nacional do Iguacu* (PNI), un borde forestal artificial.

En cada sendero fueron establecidas dos áreas de muestreo, con una distancia desde el borde de la carretera de 8 m (Borde) y 108 m (Interior). En cada áreas se delimitó un radio de 5 m y fueron colectadas, al azar y excluyendo la zona del sendero, 5 submuestras de hojarasca. Cada submuestra consistió en la hojarasca colectada en parcelas circulares de 100 cm de perímetro (aproximadamente 31,83 cm

de diámetro). El total de la hojarasca colectado en las 5 submuestras de cada área se depositó en un saco estéril y fue homogenizado. Los sacos fueron sellados, rotulados, transportados, almacenados a 4 °C y procesados en el laboratorio.

La cobertura de dosel, pH, temperatura y humedad, fueron determinados tanto en el borde como en el interior de cada sendero (Tabla 1). Para todos los senderos el borde tuvo mayor temperatura y menor humedad que el interior, la cobertura de dosel en el borde fue mayor, respecto al interior, en los senderos 2 y 3.

La cobertura de dosel de cada punto fue determinada como la cobertura media de cada uno de los sitios donde se colectaron submuestras, mediante registro fotográfico y tratamiento de las imágenes con uso del *software "Imagen Processing and Analysis in Java"* (ABRÀMOFF; MAGALHÃES; RAM, 2004). El pH fue determinado en el laboratorio con una muestra compuesta de suelo del borde y del interior tomada el día de las colectas de material vegetal, utilizando pHmetro digital TECNOPON modelo PA210. La temperatura y humedad fueron determinadas mediante termohigrómetro digital J-Prolab 1566-1 SH-122, durante la toma de muestras del material vegetal.

**Tabla 1.** Temperatura, Humedad, Cobertura de Dosel y pH determinados para cada punto de colecta de muestras en el borde y el interior de cada sendero.

Sendero	Borde				Interior			
	Temperatura (°C)	Humedad (%)	Cobertura Media de Dosel (%)	pH medio del suelo	Temperatura (°C)	Humedad (%)	Cobertura Media de Dosel (%)	pH medio del suelo
1	28.1	60	88	5,93	24	83	90	5,39
2	28,5	58	95		27	75	90	
3	33,5	30	96		30,8	48	91	

## 4.2 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Con el fin de remover partículas de suelo y otros organismos que se encontraran en la superficie del material, se aplicó a las muestras un proceso de desinfección superficial (PAULUS et al., 2003); aproximadamente 20 g de hojarasca

de cada punto se lavaron tres veces con 400 mL de agua destilada estéril, agitando por 2 minutos en frascos estériles.

A seguir, se aplicó el método de filtración de partículas (BILLS; POLISHOOK, 1994, COSTA; PEIXOTO; GUSAMÃO, 2015); el material de cada punto fue homogenizado usando una licuadora industrial a alta velocidad en 400 mL de agua destilada por aproximadamente 2 minutos. Aproximadamente 600 mL de agua fueron aplicados para lavar la suspensión de partículas a través de 5 tamices de acero inoxidable, con tamaños de malla de 600  $\mu\text{m}$ , 450  $\mu\text{m}$ , 300  $\mu\text{m}$ , 150  $\mu\text{m}$  y 75 $\mu\text{m}$ , esterilizados en estufa. Las partículas retenidas en el último tamiz fueron suspendidas en 40 mL de agua destilada esterilizada para realizar cuatro diluciones seriadas. Alícuotas de 100 $\mu\text{L}$  de las diluciones  $10^{-2}$  y  $10^{-4}$  fueron transferidas y homogenizadas con la ayuda de un asa de Drigalsky por triplicado en placas de Petri conteniendo medio de cultivo.

Para determinar el medio de cultivo y las diluciones que serían utilizadas en el estudio fue realizado un piloto en el que muestras de materia vegetal de la región del parque fueron preparadas siguiendo el método de desinfección superficial y filtración de partículas y alícuotas de 100 $\mu\text{L}$  de diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$  fueron inoculadas en placas de Petri con Agar Extracto de Malta y Agar Papa Dextrosa. El crecimiento de colonias fue mayor en el medio en el Agar Extracto de Malta por lo que fue elegido este medio, además fueron elegidas las diluciones que permitían un mejor aislamiento de colonias.

#### 4.3 AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN

Para el aislamiento de los hongos se utilizaron simultáneamente Agar Extracto de Malta 2% (MA) y Agar Extracto de Malta 2% con Guayacol (MA+G), este último como medio indicador de hongos con potencial ligninolítico. Como medida adicional para impedir el crecimiento de bacterias, todos los medios fueron preparados con 100 mg/L de cloranfenicol. El cloranfenicol es un antibiótico resistente a temperaturas de esterilización en autoclave, que inhibe la síntesis proteica de bacterias (MADIGAN et al., 2010). Ya que el guayacol es sensible a la temperatura, se adicionó en cabina de seguridad al medio estéril, fundido y tibio, en una

concentración de 1mM. Las placas fueron incubadas a 28 °C después de ser transferida la suspensión de partículas. El crecimiento de los hongos fue observado diariamente por aproximadamente 30 días y una vez verificada la presencia de hifas, estas fueron transferidas a placas de Petri conteniendo sus respectivos medios para purificación y preservación de las muestras (COSTA; PEIXOTO; GUSAMÃO, 2015).

#### 4.4 PRESERVACIÓN

Cada aislado fue preservado usando dos métodos: conservación a metabolismo reducido en agua desionizada conocida como “proceso de Castellani” y criopreservación en glicerol al 20%. Para ambas técnicas se tomaron en torno a 6 fragmentos cuadrados de aproximadamente 0.5 cm de lado del cultivo axénico en el medio MA o MA+G y se depositaron en microtubos con agua desionizada, para el proceso de Castellani y con una solución acuosa de glicerol al 20% v/v, para la criopreservación. Los microtubos del proceso de Castellani fueron almacenados a 4 °C, los microtubos criopreservados fueron almacenados a -80 °C. Todos los preservados fueron conservados en la colección micológica de la Universidad Federal de Integración Latinoamericana.

#### 4.5 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

Los cultivos axénicos fueron utilizados para la caracterización de los morfotipos (COSTA; PEIXOTO; GUSAMÃO, 2015). La morfología de los hongos fue examinada macroscópicamente por observación de características de la colonia, como forma, color, textura y borde (HERRERA; ULLOA, 2013). La caracterización microscópica, se realizó mediante la preparación de láminas coloreadas con azul de metileno e imágenes capturadas en el microscopio Axio Lab.A1, objetivo 40X/0,65  $\infty$ /0,17, con captura mediante sistema Axiocam 105 color, 60N-C 2/3” 0,5X y software ZEN 2012 (blue edition). Todas las imágenes fueron guardadas para el mantenimiento de la colección micológica de la Universidad Federal de Integración Latinoamericana.

## 4.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se determinó la riqueza y abundancia de hongos aislados en cada borde e interior, así como la riqueza de hongos ligninolíticos y el porcentaje que estos representan dentro de la comunidad. El efecto de borda sobre la riqueza de hongos y de la riqueza de hongos con potencial ligninolítico, se evaluó mediante análisis comparativo de la rarefacción basada en individuos del borde y el interior (KRAKER; COBAR, 2011). La evaluación del efecto de borda en la composición de hongos, se realizó por escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) (GOTELLI; ELLISON, 2011), usando el entorno y lenguaje para gráficos y computación estadística R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2009). Se realizó un análisis comparativo del porcentaje de hongos con potencial ligninolítico del borde y de interior.

Los conteos de riqueza de especies son sensibles al número de individuos muestreados (GOTELLI; COLWELL, 2011). Debido a la pérdida de información que provoca el uso de medidas ampliamente utilizadas como índices de diversidad, pues combinan variables como la riqueza de especies y la abundancia relativa en un “solo estadístico” que no permite asegurar el efecto relativo de una u otra, un mismo valor para un índice puede ser resultado de distintas combinaciones de estas variables, por lo que no son idóneas para realizar comparaciones en la riqueza de especies entre sitios con diferencias en el tamaño de muestra (KRAKER; CÓBAR, 2011). El método de rarefacción fue propuesto para comparar el número de especies cuando las muestras difieren en tamaño (GOTELLI; COLWELL, 2011), pues estima la riqueza de especies en función de tamaños de muestra más pequeños (GOTELLI; ENTSMINGER, 2011).

La rarefacción es considerada un método de interpolación, ya que calcula el número esperado de especies de cada muestra, si todas fueran reducidas a un tamaño estándar, mediante sub-muestreos conservando la proporción advertida entre las especies (GOTELLI; ENTSMINGER, 2011). Presenta ventaja frente a modelos de extrapolación, que al ser usados cuando solamente una pequeña proporción de la comunidad ha sido muestreado produce grandes errores (COLWELL; CODDINGTON, 1994) y presenta desventaja al desaprovechar información, ya que

toma como medida general para todas las muestras el tamaño de muestra más pequeño (MORENO, 2011), además de no distinguir entre patrones de riqueza distintos, ante tamaños de muestra muy pequeños, ya que todas las curvas convergen en abundancias bajas (GOTELLI; COLWELL, 2011).

Para la exploración de una eventual ordenación en la composición de la comunidad de hongos entre las unidades de muestreo del borde y del interior, se usó el escalamiento multidimensional no métrico (NMDS). El objetivo del NMDS es generar un gráfico en el que objetos diferentes son posicionados de forma distante en el espacio de ordenación, mientras objetos similares son posicionados próximos. Al ser basado en rangos, sólo el orden de clasificación de las distancias o disimilitudes originales se mantiene, una ventaja del NMDS frente a otras técnicas de ordenación es que, al estar basada en rangos de distancias, tiende a linealizar la relación entre las distancias ambientales y las distancias biológicas, una desventaja de la técnica es la dificultad para alcanzar una solución estable única.

El NMDS, inicia con la generación de una matriz de disimilitud, en este estudio se utilizó para generarla el índice de similitud de Morisita-Horn, seguidamente, se asignan los sitios (unidades de muestreo) a una configuración inicial aleatoria en un espacio n-dimensional (dónde n corresponde al número de especies). Se calculan las distancias sobre este nuevo espacio geométrico y se calcula una segunda matriz de distancia. Seguidamente se comparan las matrices de distancia (la original y la creada a partir del espacio n-dimensional) y se determina la bondad del ajuste entre ellas como (estrés). A partir de la configuración inicial, se reasignan los sitios (unidades de muestreo) para reducir las distancias con la matriz original y se repite este proceso de manera iterativa hasta que se consigue una solución óptima en dónde la matriz de distancias generada en el espacio n-dimensional es muy parecida a la matriz de distancias original (lo que minimiza el estrés) (GOTELLI; ELLISON, 2011).

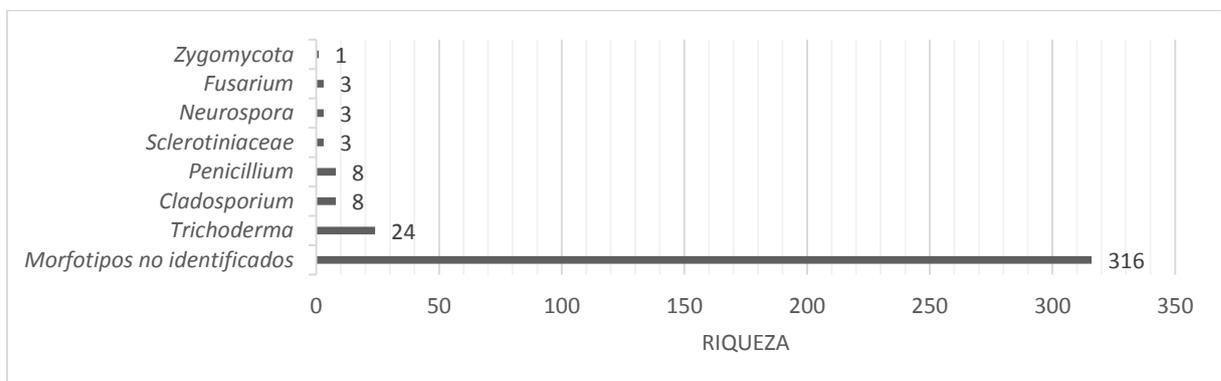
## 5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 HONGOS AISLADOS DE LA MATERIA VEGETAL EN DESCOMPOSICIÓN DEL BORDE Y DEL INTERIOR FORESTAL

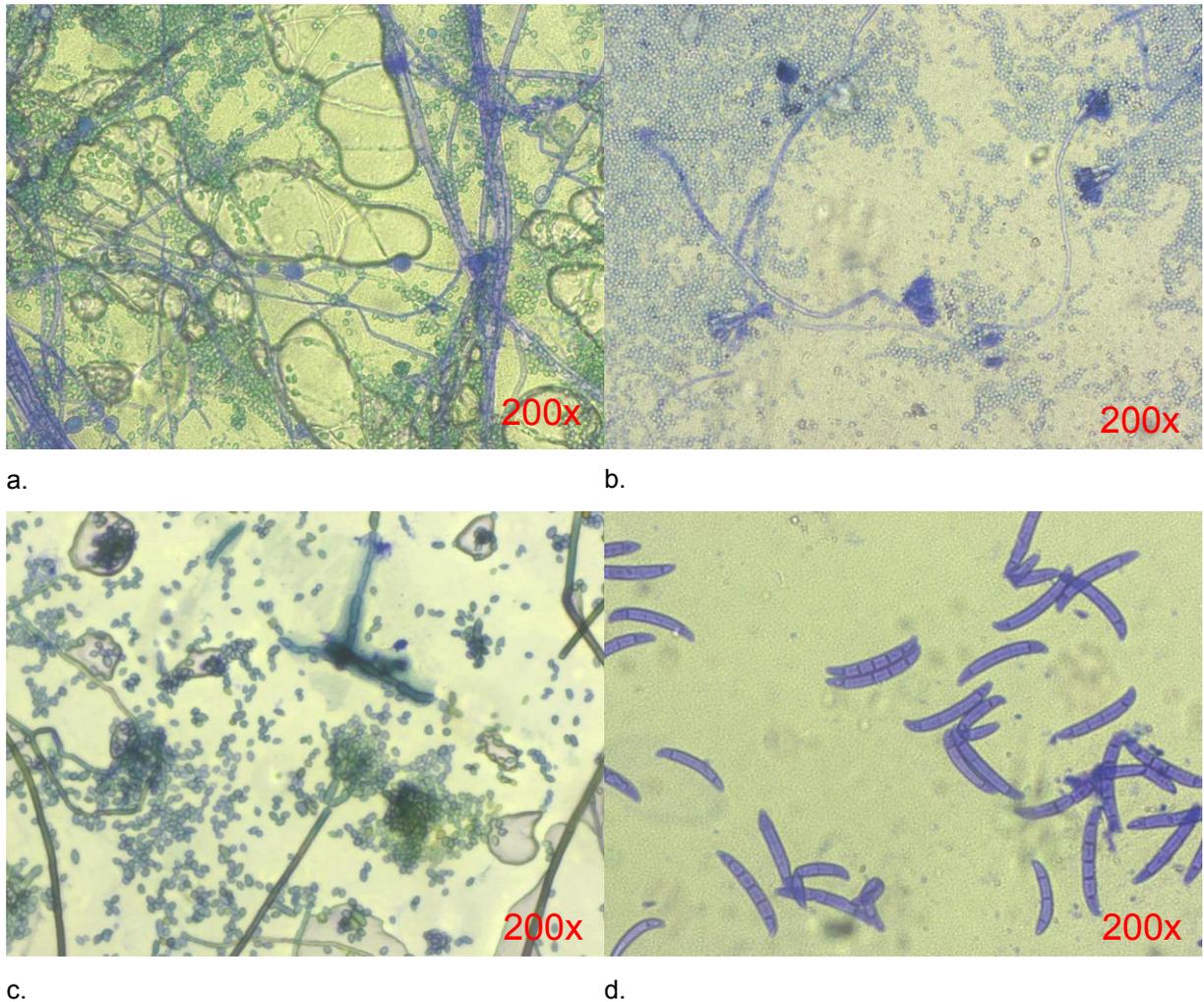
Fueron aislados y preservados 366 morfotipos (ANEXO I); 55,5% presentes exclusivamente en el interior, 39,1% presentes exclusivamente en el borde y 5,4% presentes tanto en el borde como en el interior (Figura 3). No pudieron ser identificados 316 morfotipos (86,3%), pues estos no presentaron estructuras utilizadas en la identificación microscópica. Utilizando caracteres morfológicos macroscópicos y microscópicos, 46 morfotipos fueron identificadas a nivel de género (*Trichoderma*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium* y *Neurospora*), tres fueron identificadas a nivel de familia (*Sclerotiniaceae*) y una a nivel de división (*Zygomycota*) (Figura 4 y 5).



**Figura 3.** Morfotipos de hongos exclusivos del borde, del interior del bosque y de encontrados en ambos locales.

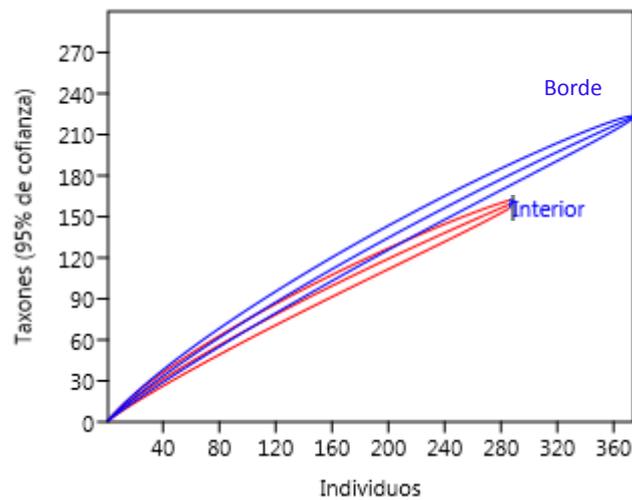


**Figura 4.** Riqueza de hongos identificados a nivel de género (*Trichoderma*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium* y *Neurospora*), familia (*Sclerotiniaceae*), división (*Zycomycota*) y de morfotipos no identificados.



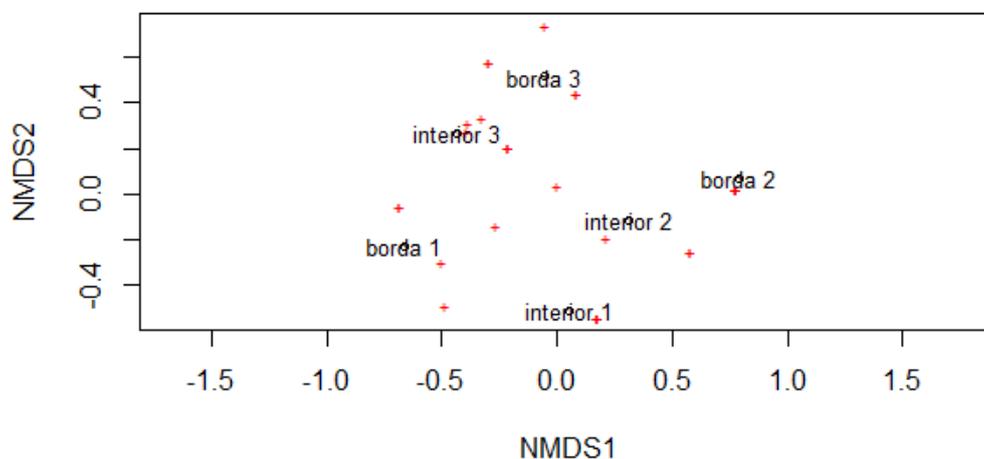
**Figura 5.** Algunos aspectos morfológicos usados en la identificación: a. Conidias y Clamidiosporas de *Trichoderma*, b. Conidioforos y conidias de *Penicillium*, c. Hifas vegetativas, conidióforos y conidios pigmentados de *Cladosporium*, d. Macroconidios de *Fusarium*.

Por medio del método de rarefacción, usado para análisis comparativo de riquezas en los que sólo se dispone del listado de especies y sus abundancias, para una muestra estándar de 295 individuos, no hay superposición de los intervalos de confianza de 95% del borde y del interior, en la curva de rarefacción, por lo tanto, la diferencia en la riqueza de morfotipos es significativa con 163 morfotipos en el borde y 185 morfotipos en el interior (Figura 6).



**Figura 6.** Comparación de la riqueza morfológica de hongos en el borde y el interior forestal mediante rarefacción individual.

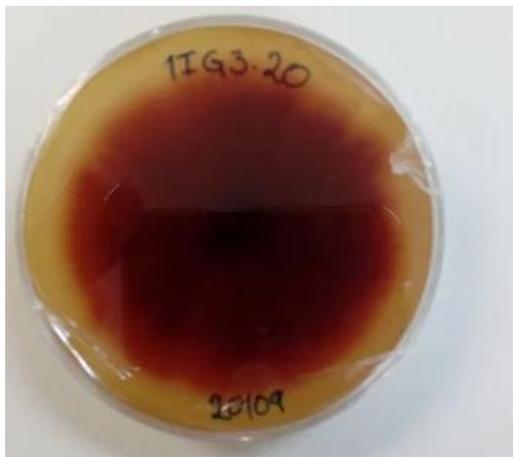
Con el fin de analizar los cambios de composición entre puntos de colecta del borde y el interior, se utilizó el escalamiento multidimensional no métrico (NMDS), un análisis indirecto de gradiente, que colapsa la información de múltiples dimensiones, como comunidades y lugares, en pocas dimensiones, buscando representar, lo más fielmente posible, la disimilitud entre los objetos en el espacio. Al ser un abordaje basado en rangos, la distancia relativa entre los objetos es más informativa que los valores numéricos asignados, en esa medida, no es posible establecer una tendencia marcada en las distancias entre los puntos ubicados en el borde y el interior (Figura 7).



**Figura 7.** NMDS evidenciando la heterogeneidad de las comunidades de hongos (no existe agrupamiento entre comunidades del borde y del interior).

## 5.2 HONGOS CON POTENCIAL LIGNINOLÍTICO

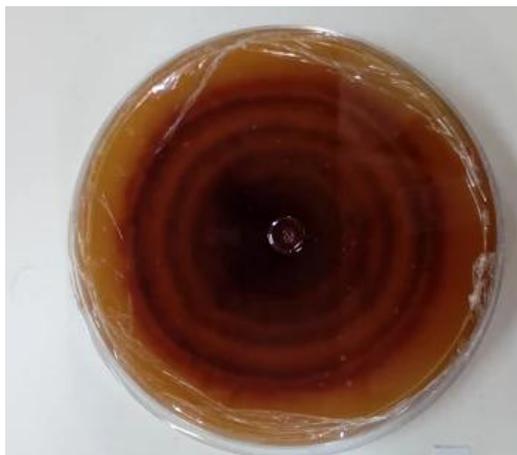
Fueron identificadas 69 morfotipos (19% de los aislados) como potenciales degradadores de lignina por reacción positiva con el guayacol (Figura 8). Fueron encontrados 48 morfotipos exclusivos del interior y 21 exclusivos del borde. Entre las especies de potenciales ligninolíticos se hallaron una especie de *Trichoderma* y una especie de *Fusarium*, siendo la mayoría de los morfotipos no identificados (97% de los morfotipos potencialmente degradadores de lignina).



a



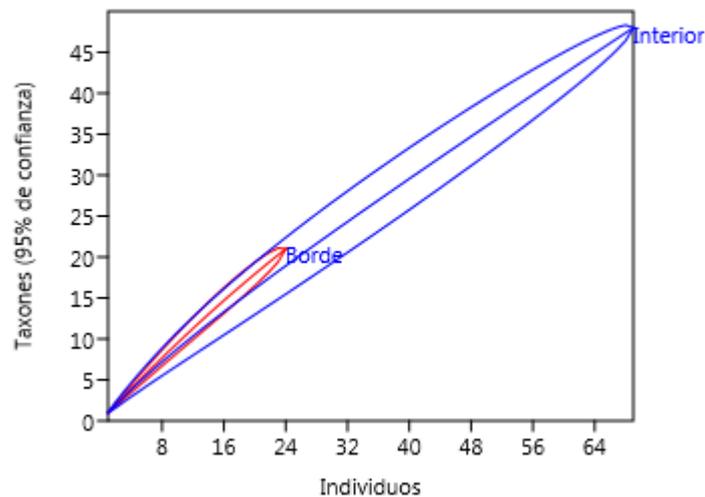
b



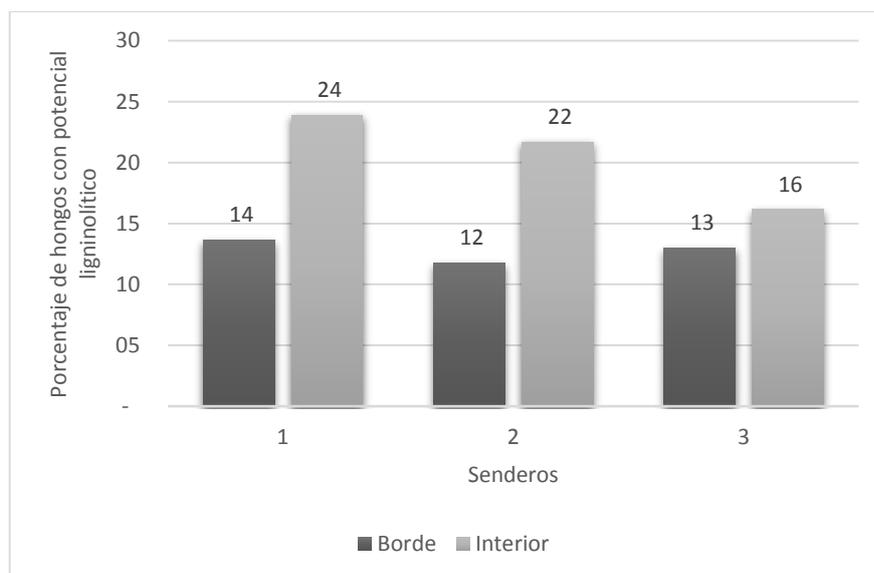
c

**Figura 8.** Verso de placas de hongos reactivos al guayacol: a) Morfotipo no identificado reactivo desde etapas iniciales de crecimiento, b) Hongo del género *Fusarium* reactivo en etapas avanzadas de crecimiento, c) Morfotipo no identificado con patrón de reacción en anillos (alternado durante el crecimiento)

No existe diferencia significativa de hongos con potencial ligninolítico entre el borde y el interior; para una muestra estándar de 24 individuos, hay superposición de los intervalos de confianza de 95% en la curva de rarefacción (Figura 9), por otro lado, el porcentaje que representan los morfotipos con potencial ligninolítico dentro de la comunidad total aislada en cada punto, es mayor en el interior que en el borde (Figura 10).



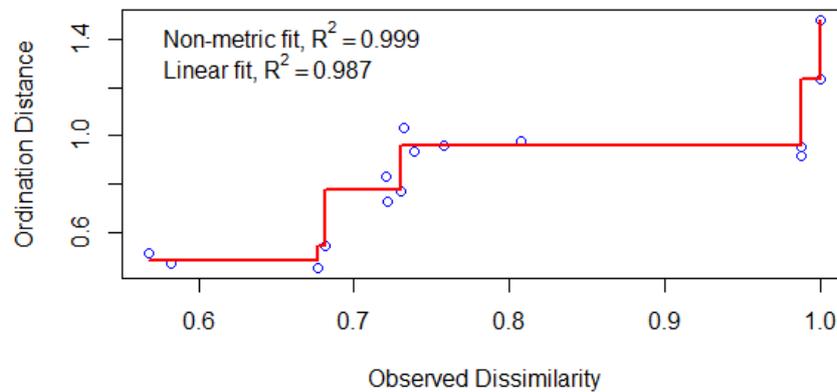
**Figura 9.** Comparación de la riqueza morfológica de hongos con potencial ligninolítico en el borde y el interior forestal mediante rarefacción individual.



**Figura 10.** Porcentaje de morfotipos con potencial ligninolítico (respecto al total de morfotipos de cada punto).

El método de rarefacción permitió establecer que la riqueza de morfotipos de hongos es significativamente mayor en el interior forestal pero que la comunidad de hongos con potencial ligninolítico, pequeña cuando comparada con el total de la comunidad de hongos, no presenta diferencias significativas de riqueza entre el borde y el interior.

En este estudio, la baja dispersión de los puntos de la línea en el *plot* de estrés, sugiere que las diferencias originales se conservan bien en el número reducido de dimensiones (Figura 10) y que no existe una ordenación entre las comunidades de hongos del borde y del interior (Figura 7).



**Figura 10.** Medida de bondad del ajuste para el NMDS como *plot* de estrés.

Los 366 morfotipos encontrados con el método de aislamiento indirecto, superan los cerca de 330 registros de taxones específicos e infraespecíficos reportados en el Catálogo de hongos del Parque Nacional de Iguazú (Argentina) por Wright y Wright (2005), siendo que establecer un análisis comparativo entre estos registros se dificulta debido a la disparidad de las metodologías y el esfuerzo de muestreo (aislamiento indirecto de hongos en tres senderos de un área vs recopilación de los todos los registros, principalmente de macromicetos, en todas las colecciones disponibles) y que significa un avance en el registro de microhongos en esta unidad de conservación, cuya riqueza apenas ha sido explorada.

El borde artificial mostró tener un efecto negativo sobre la riqueza de especies de hongos en la hojarasca en este bosque semidecídulo y un efecto neutro sobre la composición de la comunidad de hongos. Aunque la comparación cuantitativa

con otros estudios de efecto de borde sobre comunidades de hongos no es viable debido a la amplia gama de parámetros que se estudian y la metodología usada (comparar muestras en sitios definidos *a priori* como borde e interior,) efectos negativos y neutros del borde ya fueron registrados para estudios con hongos patógenos en bosques templados deciduos (ICHIHARA; YAMAJI, 2009), con micorrizas en bosques templados húmedos y bosques boreales (EDMONDS et al., 2000; KJØLLER et al., 2012), con saprofitos en bosques boreales (SNÄLL; JONSSON, 2001) y otros estudios con hongos no específicos, como hongos del suelo y hongos macroscópicos en bosques boreales y bosques templados deciduos (KAGEYAMA et al., 2008; ŁUCZAJ; SADOWSKA, 1997; MALMIVAARA-LÄMSÄ et al., 2008; SAARI, 1993), constituyendo uno de los primeros análisis del efecto de borde sobre la riqueza y composición para un bosque subtropical semideciduo.

El borde artificial estudiado, presente algunas de las características abióticas descritas de forma general para estas zonas de transición (CROCKATT, 2012); mayor temperatura y menor humedad, respecto al interior forestal. La cobertura media del dosel no presentó una tendencia marcada entre borde e interior, aunque se debe considerar lo limitada de esta medida para determinar la incidencia solar, principalmente en el borde, donde la formación abierta adyacente, hace que se pueda subestimar la radiación solar total que incide. La mayor deposición de nutrientes como nitrógeno y la acidificación del suelo, son efectos asociados a los bordes forestales (CROCKATT, 2012), sin embargo, en este estudio, el pH del borde fue ligeramente menor que el pH del interior, siendo que no fueron determinadas las variaciones en nutrientes para ambos lugares. Ambos valores de pH se encuentran dentro del rango óptimo de 4 a 6 (KAVANAGH, 2011; DIEMER, 1996); lo suficientemente bajo para no afectar el desarrollo de los hongos por solubilización de metales y lo suficientemente alto para no afectar los sistemas enzimáticos (COCHRANE, 1963).

Los hongos géneros identificados (*Trichoderma*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium* y *Neurospora*), son ubicuos, abarcando especies comúnmente identificadas en muestras de suelo y de materia vegetal (MAYEA; NOVO; VALINO, 1991, GIRI et al., 2005), la limitación en la identificación en la mayoría de los morfotipos que no desarrollan características morfológicas importantes para su identificación en el medio utilizado (Agar Extracto de Malta), puede ser mejorada con

el uso de medios que induzcan su desarrollo (MIER; TORIELLO; ULLOA, 2002). Llevando en consideración que la certeza taxonómica en estudios con microorganismos requiere de abordajes de taxonomía polifásica, donde son integradas al análisis características moleculares (RODRIGUES, 2010). Entre los morfotipos no identificados, muchos mostraron algunas características de hongos del filo Basidiomycota, que en las condiciones de cultivo usadas no desarrollaron estructuras sexuales, sólo crecimiento vegetativo, siendo necesarias condiciones de cultivo diferenciadas para la estimulación de la esporulación o la implementación de análisis moleculares (MADIGAN et al., 2010).

En la lignina, la escisión del grupo funcional OH unido a la cadena lateral alifática, la ruptura de la cadena lateral de alquilo, el éter de arilo y el enlace entre los anillos aromáticos, forman una mezcla de fenol, guayacol, syringol y catecoles (FANG, 2016). El guayacol es usado como sustrato e inductor de enzimas ligninolíticas, como lacasa, cuya presencia es determinada por métodos colorimétricos (DEAN et al., 2013). Al adicionar guayacol al medio, la presencia de enzimas ligninolíticas, es detectada por el desarrollo de color (tonos marrones a rojizos) y aunque como fue mencionado constituye un método económico y rápido de detectar producción de enzimas con potencial ligninolítico, la coloración puede ser enmascarada por el color del verso del micelio o la producción de metabolitos secundarios. Por esta razón este método se debe considerar una aproximación y métodos fotométricos cualitativos y cuantitativos son requeridos para verificar y cuantificar la actividad enzimática (DEAN et al., 2013). Fueron observados patrones diversos de reacción con guayacol en los morfotipos aislados, algunos reaccionaron en etapas tempranas de crecimiento, otros en etapas avanzadas y otros en patrones alternados, estos patrones diferenciales puede guardar relación con la expresión de isoenzimas constitutivas e inducidas de lacasa (YAVER et al.1995), sin embargo, ensayos enzimáticos son requeridos para evaluar esta hipótesis.

El método de rarefacción determinó que no existe una diferencia significativa en la riqueza de hongos con potencial ligninolítico entre el borde y el interior. Cuando se examinó la proporción de la riqueza que representan los hongos con potencial ligninolítico, en el total de la comunidad, se encontró que constituyen un mayor porcentaje en el borde que en el interior. Al ser estos hongos los principales

descomponedores de lignina en la materia vegetal en descomposición, esta diferencia podría tener implicaciones en el ciclado de carbono del bosque, sin embargo, para la evaluación de este efecto en el ciclado de carbono se requiere de ensayos en los que se cuantifique el nivel de expresión enzimática en los diferentes ambientes.

La mayoría de los hongos ligninolíticos aislados en el presente trabajo pertenece al grupo de morfotipos no identificados, al este grupo posiblemente englobar hongos del filo Basidiomycota, entre los que se encuentran los mayores descomponedores de lignina, es esperado que estas especies estén asociados principalmente al grupo conocido como “hongos de la pudrición blanca” (HAVE; TEUNISSEN, 2001).

## 7 CONCLUSIÓN

Este estudio evidenció un efecto de borde negativo sobre la riqueza y neutro sobre la composición de los hongos de la materia vegetal en descomposición en un bosque atlántico semideciduo (límitrofe con una matriz agrícola). Puso de manifiesto además, que no existe diferencia significativa sobre la riqueza de hongos con potencial ligninolítico entre el borde y el interior forestal estudiado, aunque estos constituyan una mayor proporción de la comunidad de hongos en el interior respecto al borde forestal.

Los hongos aislados durante este trabajo se encuentran preservados en la colección y constituyen una de las primeras colecciones de hongos de esta formación forestal y del PNI, lo que posibilita la realización de estudios en diferentes áreas de la microbiología, ecología microbiana y biotecnología. La posterior identificación molecular de los aislados posibilitará aumentar el entendimiento sobre la diversidad de hongos de este ambiente.

## REFERENCIAS

- ABRÀMOFF, Michael D.; MAGALHÃES, Paulo J.; RAM, Sunanda J. Image processing with ImageJ. **Biophotonics international**, v. 11, n. 7, p. 36-42, 2004.
- ALCALDE, Miguel; BULTER, Thomas. Colorimetric assays for screening laccases. **Directed Enzyme Evolution: Screening and Selection Methods**, p. 193-201, 2003.
- ALEXOPOULOS, Constantine John et al. **Introductory mycology**. John Wiley and Sons, 1996.
- AL-HINDI, Rashad R.; AL-NAJADA, Ahmed R.; MOHAMED, Saleh A. Isolation and identification of some fruit spoilage fungi: Screening of plant cell wall degrading enzymes. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 4, p. 443-448, 2011.
- ANDERSON, Ian C.; CAIRNEY, John. Diversity and ecology of soil fungal communities: increased understanding through the application of molecular techniques. **Environmental Microbiology**, v. 6, n. 8, p. 769-779, 2004.
- ARIAS, Edna Lorena; PIÑEROS, Paula Andrea. **Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelos de los páramos de Guasca y Cruz Verde**. Bogotá, D.C. Trabajo de grado en Microbiología Industrial, Pontificia Universidad Javeriana, 2008.
- ARIAS, M. Enriqueta et al. Kraft pulp biobleaching and mediated oxidation of a nonphenolic substrate by laccase from *Streptomyces cyaneus* CECT 3335. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 4, p. 1953-1958, 2003.
- ARNOLDS, Eef. Decline of ectomycorrhizal fungi in Europe. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 35, n. 2-3, p. 209-244, 1991.
- ARORA, Daljit Singh; SHARMA, Rakesh Kumar. Ligninolytic fungal laccases and their biotechnological applications. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 160, n. 6, p. 1760-1788, 2010.
- BAUTISTA, Francisco; PALACIO, Álvaro Gerardo. **Caracterización y manejo de los suelos de la Península de Yucatán: implicaciones agropecuarias, forestales y ambientales**. Instituto Nacional de Ecología, 2005.
- BERG, Björn; JOHANSSON, Maj-Britt; MEENTEMEYER, Vernon. Litter decomposition in a transect of Norway spruce forests: substrate quality and climate control. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 30, n. 7, p. 1136-1147, 2000.
- BILLS, Gerald F.; POLISHOOK, Jon D. Abundance and diversity of microfungi in leaf litter of a lowland rain forest in Costa Rica. **Mycologia**, p. 187-198, 1994.
- BOLLAG, Jean-Marc; LEONOWICZ, Andrzej. Comparative studies of extracellular fungal laccases. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 48, n. 4, p. 849-854, 1984.
- BOOTH, C. **Methods in microbiology. Vol. 4**. London: Academic Press, 1971.

BOURBONNAIS, Robert et al. Lignin oxidation by laccase isozymes from *Trametes versicolor* and role of the mediator 2, 2'-azinobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonate) in kraft lignin depolymerization. **Applied and environmental microbiology**, v. 61, n. 5, p. 1876-1880, 1995.

BOURBONNAIS, Robert; PAICE, Michael G. Veratryl alcohol oxidases from the lignin-degrading basidiomycete *Pleurotus sajor-caju*. **Biochemical journal**, v. 255, n. 2, p. 445-450, 1988.

CALLEGARI-JACQUES, Sidia M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2003.

CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 42, n. 225, p. 65-72, 1939.

CAVIGLIONE, João Henrique et al. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina : IAPAR, 2000.

CHAPMAN, Samantha K. et al. Leaf litter mixtures alter microbial community development: mechanisms for non-additive effects in litter decomposition. **PLoS One**, v. 8, n. 4, p. e62671, 2013.

CHEN, Jiquan; FRANKLIN, Jerry F.; SPIES, Thomas A. Growing-season microclimatic gradients from clearcut edges into old-growth douglas-fir forests. **Ecological Applications**, v. 5, n. 1, p. 74-86, 1995.

COCHRANE, Vincent W. et al. **Physiology of fungi**. John Wiley & Sons Inc.1963.

COLE, Garry; SAMSON, Robert. **Patterns of development in conidial fungi**. Pitman Publishing Ltd., 1979.

COLWELL, Robert K.; CODDINGTON, Jonathan A. Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 345, n. 1311, p. 101-118, 1994.

COSTA, Larissa Correa; PEIXOTO, Paulo Enrique Cardoso; GUSMÃO, Luís. Effects of storage conditions and culture media on the saprobic fungi diversity in tropical leaf litter. **MYCOSPHERE**, v. 6, n. 1, p. 43-52, 2015.

CROCKATT, Martha E. Are there edge effects on forest fungi and if so do they matter? **Fungal Biology Reviews**, v. 26, n. 2, p. 94-101, 2012.

DÁVILA, G.; VÁZQUEZ-DUHALT, R. Enzimas ligninolíticas fúngicas para fines ambientales. **Mensaje bioquímico**, v. 30, n. 1, p. 29-55, 2006.

DEAN, Jacob C. et al. Ultraviolet spectroscopy of fundamental lignin subunits: Guaiacol, 4-methylguaiacol, syringol, and 4-methylsyringol. **The Journal of chemical physics**, v. 139, n. 14, p. 144313, 2013.

DI BITETTI, M. S.; PLACCI, G.; DIETZ, L. A. **Uma visão de biodiversidade para a ecorregião Florestas do Alto Paraná–bioma Mata Atlântica: planejando a paisagem de conservação da biodiversidade e estabelecendo prioridades para**

**ações de conservação.** Washington, DC: World Wildlife Fund, 2003.

DICKIE, Ian A. et al. Do assembly history effects attenuate from species to ecosystem properties? A field test with wood-inhabiting fungi. **Ecology Letters**, v. 15, n. 2, p. 133-141, 2012.

DIEMER, Matthias. Microclimatic convergence of high-elevation tropical páramo and temperate-zone alpine environments. **Journal of Vegetation Science**, v. 7, n. 6, p. 821-830, 1996.

DILLY, Oliver et al. Shifts in physiological capabilities of the microbiota during the decomposition of leaf litter in a black alder (*Alnus glutinosa* (Gaertn.) L.) forest. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 7, p. 921-930, 2001.

DOMSCH, Klaus Heinz; WALTER, Gams; TRAUTE-HEIDI, Anderson. **Compendium of soil fungi. Volume 2.** Academic Press (London) Ltda., 1980.

D'SOUZA, Donna Trella et al. Enhanced production of laccase by a marine fungus during treatment of colored effluents and synthetic dyes. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 38, n. 3, p. 504-511, 2006.

EDMONDS, Robert L. et al. Influence of forest harvesting on soil organisms and decomposition in western Washington. In: **Proceedings of the California Forest Soils Council Conference on Forest Soils Biology and Forest Management.** 2000. p. 53-72.

EMBRAPA. **Levantamento de Reconhecimento de Solos do Estado do Paraná. Mapa 1:600.000.** Curitiba, 1981.

FANG, Zhen. **Production of Biofuels and Chemicals from Lignin.** 2016. Tese de Doutorado. Tohoku University, Japan.

FORZZA, Rafaela Campostrini et al. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil-Vol. 1.** JBRJ, 2010.

FUKAMI, Tadashi et al. Assembly history dictates ecosystem functioning: evidence from wood decomposer communities. **Ecology Letters**, v. 13, n. 6, p. 675-684, 2010.

GARTNER, Tracy B.; CARDON, Zoe G. Decomposition dynamics in mixed-species leaf litter. **Oikos**, v. 104, n. 2, p. 230-246, 2004.

GIANFREDA, Liliana; XU, Feng; BOLLAG, Jean-Marc. Laccases: a useful group of oxidoreductive enzymes. **Bioremediation Journal**, v. 3, n. 1, p. 1-26, 1999.

GIRI, Bhoopander et al. Microbial diversity in soils. In: **Microorganisms in soils: Roles in Genesis and functions.** Springer Berlin Heidelberg, 2005. p. 19-55.

GLENN, Jeffrey K. et al. An extracellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-requiring enzyme preparation involved in lignin biodegradation by the white rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 114, n. 3, p. 1077-1083, 1983.

GLENN, Jeffrey K.; GOLD, Michael H. Purification and characterization of an extracellular Mn (II)-dependent peroxidase from the lignin-degrading basidiomycete, *Phanerochaete chrysosporium*. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 242, n. 2, p. 329-341, 1985.

GLOWKA, Lyle. The Convention on Biological Diversity and Microbial Diversity: Issues of Interest to the Microbial Scientist and Microbial Culture Collections. **Biopolicy**, v. 1, n. 2, p. 13-34, 1996.

GOTELLI, Nicholas J.; COLWELL, Robert K. Estimating species richness. **Biological diversity: frontiers in measurement and assessment**, v. 12, p. 39-54, 2011.

GOTELLI, Nicholas J.; ELLISON, Aaron M. **Princípios de estatística em ecologia**. Porto Alegre: Artmed, 2011.

GOTELLI, Nicholas J.; ENTSMINGER, G. L. **EcoSim: Null models software for ecology**. 2011.

GRAÇA, Manuel; BÄRLOCHER, Felix; GESSNER, Mark. (Ed.). **Methods to study litter decomposition: a practical guide**. Springer Science & Business Media, 2005.

GUARRO, Josep; GENÉ, Josepa; STCHIGEL, Alberto M. Developments in fungal taxonomy. **Clinical microbiology reviews**, v. 12, n. 3, p. 454-500, 1999.

HARPER, Karen A. et al. Edge influence on forest structure and composition in fragmented landscapes. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 768-782, 2005.

HAVE, Rimko; TEUNISSEN, Pauline. Oxidative mechanisms involved in lignin degradation by white-rot fungi. **Chemical Reviews**, v. 101, n. 11, p. 3397-3414, 2001.

HAWKSWORTH, David. Global species numbers of fungi: are tropical studies and molecular approaches contributing to a more robust estimate? **Biodiversity and Conservation**, v. 21, n. 9, p. 2425-2433, 2012.

HEILMANN-CLAUSEN, Jacob; CHRISTENSEN, Morten. Fungal diversity on decaying beech logs—implications for sustainable forestry. **Biodiversity & Conservation**, v. 12, n. 5, p. 953-973, 2003.

HENNEBERT, Grégoire L.; WERESUB, L. K. Terms for states and forms of fungi, their names and types. **Mycotaxon**, 1977.

HERRERA, Teófilo; ULLOA, Miguel. **El reino de los hongos: micología básica y aplicada**. México D.F.: Fondo de cultura económica de España, 2013.

ICHIHARA, Yu; YAMAJI, Keiko. Effect of light conditions on the resistance of current-year *Fagus crenata* seedlings against fungal pathogens causing damping-off in a natural beech forest: fungus isolation and histological and chemical resistance. **Journal of chemical ecology**, v. 35, n. 9, p. 1077-1085, 2009.

JENNINGS, David Harry; LYSEK, Gernot. **Fungal biology: understanding the fungal lifestyle**. Bios Scientific Publishers Ltd, 1996.

JOUANIN, Lise; LAPIERRE, Catherine. **Lignins: biosynthesis, biodegradation and bioengineering**. Academic Press, 2012.

KAGEYAMA, Stacie A. et al. Fungal and bacterial communities across meadow-forest ecotones in the western Cascades of Oregon. **Canadian journal of forest research**, v. 38, n. 5, p. 1053-1060, 2008.

KANEDA, Satoshi; KANEKO, Nobuhiro. Influence of Collembola on nitrogen mineralization varies with soil moisture content. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 57, n. 1, p. 40-49, 2011.

KAUSERUD, Håvard et al. Climate change and spring-fruiting fungi. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 277, n. 1685, p. 1169-1177, 2010.

KAVANAGH, Kevin (Ed.). **Fungi: biology and applications**. John Wiley & Sons, 2011.

KIMURA, Motoo. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of molecular evolution**, v. 16, n. 2, p. 111-120, 1980.

KIRK, T. Kent; FARRELL, Roberta L. Enzymatic "combustion": the microbial degradation of lignin. **Annual Reviews in Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 465-501, 1987.

KJØLLER, Annelise; STRUWE, Sten. Microfungi in ecosystems: fungal occurrence and activity in litter and soil. **Oikos**, p. 391-422, 1982.

KJØLLER, Rasmus et al. Dramatic changes in ectomycorrhizal community composition, root tip abundance and mycelial production along a stand-scale nitrogen deposition gradient. **New phytologist**, v. 194, n. 1, p. 278-286, 2012.

KOLKOWSKI, Jacqueline A.; SMITH, David. Cryopreservation and freeze-drying of fungi. **Cryopreservation and freeze-drying protocols**, p. 49-61, 1995.

KRAKER, C.; CÓBAR, A. J. Uso de rarefacción para comparación de la riqueza de especies: el caso de las aves de sotobosque en la zona de influencia del Parque Nacional Laguna Lachuá, Guatemala. **Naturaleza y Desarrollo**, v. 9, n. 1, p. 62-70, 2011.

KÜES, U.; LIU, Y. Fruiting body production in basidiomycetes. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 54, n. 2, p. 141-152, 2000.

LANDESMAN, William J.; DIGHTON, John. Shifts in microbial biomass and the bacteria: fungi ratio occur under field conditions within 3 h after rainfall. **Microbial ecology**, v. 62, n. 1, p. 228-236, 2011.

LEISOLA, Matti.; FIECHTER, Armin. New trends in lignin biodegradation. **Advances in biotechnological processes (USA)**, 1985.

LEONOWICZ, Andrzej et al. Fungal laccase: properties and activity on lignin. **Journal of basic microbiology**, v. 41, n. 3-4, p. 185-227, 2001.

- LEVIN, Simon A. et al. (Ed.). **The Princeton guide to ecology**. Princeton University Press, 2009.
- LEWIN, Benjamin; LÓPEZ, Andrés Aguilera. **Genes. Volumen 1**. Reverte, 1993.
- LILLESKOV, E. A.; FAHEY, T. J.; LOVETT, G. M. Ectomycorrhizal fungal aboveground community change over an atmospheric nitrogen deposition gradient. **Ecological Applications**, v. 11, n. 2, p. 397-410, 2001.
- LILLESKOV, Erik A. et al. Belowground ectomycorrhizal fungal community change over a nitrogen deposition gradient in Alaska. **Ecology**, v. 83, n. 1, p. 104-115, 2002.
- LINDENMAYER, David B.; FISCHER, Joern. **Habitat fragmentation and landscape change: an ecological and conservation synthesis**. Island Press, 2013.
- LODGE, D. Jean; CANTRELL, Sharon. Fungal communities in wet tropical forests: variation in time and space. **Canadian Journal of Botany**, v. 73, n. S1, p. 1391-1398, 1995.
- ŁUCZAJ, Łukasz; SADOWSKA, Barbara. Edge effect in different groups of organisms: vascular plant, bryophyte and fungi species richness across a forest-grassland border. **Folia Geobotanica & Phytotaxonomica**, v. 32, n. 4, p. 343-353, 1997.
- LUNGHINI, Dario et al. Fungal diversity of saprotrophic litter fungi in a Mediterranean maquis environment. **Mycologia**, v. 105, n. 6, p. 1499-1515, 2013.
- MADIGAN, Michael T. et al. **Microbiologia de Brock-12ª Edição**. Artmed Editora, 2010.
- MALMIVAARA-LÄMSÄ, Minna et al. Edge effects and trampling in boreal urban forest fragments—impacts on the soil microbial community. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 7, p. 1612-1621, 2008.
- MATLACK, Glenn R. Microenvironment variation within and among forest edge sites in the eastern United States. **Biological conservation**, v. 66, n. 3, p. 185-194, 1993.
- MAYEA, S.; NOVO, R.; VALIÑO, A. **Introducción a la microbiología del suelo**. Editorial Pueblo y Educación, La Habana, 1982.
- MCCRACKEN, F. I. Spore production of *Hericium erinaceus*. **Phytopathology**, v. 60, n. 11, p. 1639-1641, 1970.
- MCGUIRE, Krista L. et al. Fungal community composition in neotropical rain forests: the influence of tree diversity and precipitation. **Microbial ecology**, v. 63, n. 4, p. 804-812, 2012.
- MELILLO, Jerry M. et al. Carbon and nitrogen dynamics along the decay continuum: plant litter to soil organic matter. In: **Ecology of Arable Land—Perspectives and Challenges**. Springer Netherlands, 1989. p. 53-62.
- MENEZES, Maria; ASSIS, Sayonara. **Guia prático para fungos fitopatogênicos 2. ed. rev. e ampl.** Recife: UFRPE, 2004.

MIER, Teresa; TORIELLO, Conchita; ULLOA, Miguel. **Hongos microscópicos saprobios y parásitos**. UNAM, 2002.

Ministério do Meio Ambiente. Plano de Manejo Parque Nacional do Iguaçu. Brasília, D.F.: IBAMA, 2000

MONKAI, J. et al. Fungi on decaying leaves of *Magnolia liliifera* and *Cinnamomum iners* show litter fungi to be hyperdiverse. **Mycosphere**, v. 4, n. 2, p. 292-301, 2012.

MORAIS, Priscila Atique de. **Produção de enzimas lignocelulósicas por fermentação em estado sólido por espécimes do gênero *Trichoderma* para sacarificação do bagaço de cana de açúcar tratado com micro-ondas**. 108. f, Tese (Doutorado em Microbiologia). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Campus São José de Rio Preto, Rio Preto, 2015.

MURCIA, Carolina. Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. **Trends in ecology & evolution**, v. 10, n. 2, p. 58-62, 1995.

MYERS, Norman et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.

NEWSHAM, Kevin et al. Ultraviolet-B radiation influences the abundance and distribution of phylloplane fungi on pedunculate oak (*Quercus rohur*). **New Phytologist**, v. 136, n. 2, p. 287-297, 1997.

NILADEVI, K. N. Ligninolytic enzymes. In: **Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation**. Springer Netherlands, 2009. p. 397-414.

NOVARA, Agata et al. Litter contribution to soil organic carbon in the processes of agriculture abandon. **Solid Earth**, v. 6, n. 2, p. 425, 2015.

ODUM, Eugene Pleasants; BARRETT, Gary W. **Fundamentals of ecology**. Philadelphia: Saunders, 1971.

OKINO, Luci Kimie et al. Ligninolytic activity of tropical rainforest basidiomycetes. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 16, n. 8-9, p. 889-893, 2000.

OSONO, Takashi. Role of phyllosphere fungi of forest trees in the development of decomposer fungal communities and decomposition processes of leaf litter. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 8, p. 701-716, 2006.

PAUL, Jai Shankar; TIWARI, K. L.; JADHAV, S. K. Long Term Preservation of Commercial Important Fungi in Glycerol at 4 °C. **International Journal of Biological Chemistry**, v. 9, n. 2, p. 79-85, 2015.

PAULUS, Barbara C. et al. Diversity and distribution of saprobic microfungi in leaf litter of an Australian tropical rainforest. **Mycological research**, v. 110, n. 12, p. 1441-1454, 2006.

PAULUS, Barbara; GADEK, Paul; HYDE K. Estimation of microfungi diversity in tropical rainforest leaf litter using particle filtration: the effects of leaf storage and surface treatment. **Mycological research**, v. 107, n. 06, p. 748-756, 2003.

PICKARD, Michael A. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism by white rot fungi and oxidation by *Coriopsis gallica* UAMH 8260 laccase. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 9, p. 3805-3809, 1999.

PIONTEK, Klaus; ANTORINI, Matteo; CHOINOWSKI, Thomas. Crystal structure of a laccase from the fungus *Trametes versicolor* at 1.90-Å resolution containing a full complement of coppers. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 40, p. 37663-37669, 2002.

PROGAR, Robert. et al. Respiration from coarse woody debris as affected by moisture and saprotroph functional diversity in Western Oregon. **Oecologia**, v. 124, n. 3, p. 426-431, 2000.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2009. <http://www.R-project.org>.

RAEDER, U.; BRODA, P. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. **Letters in Applied Microbiology**, v. 1, n. 1, p. 17-20, 1985.

RAYNER, Alan; BODDY, Lynne. **Fungal decomposition of wood. Its biology and ecology**. John Wiley & Sons Ltd., 1988.

RIBEIRO, Milton Cezar et al. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological conservation**, v. 142, n. 6, p. 1141-1153, 2009.

RIZZINI, Carlos Toledo. **Nota prévia sobre a divisão fitogeográfica do Brasil**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Conselho Nacional de Geografia, 1963.

ROBERTS, John S.; TEICHERT, Arnaud; MCHUGH, Tara H. Vitamin D2 formation from post-harvest UV-B treatment of mushrooms (*Agaricus bisporus*) and retention during storage. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 12, p. 4541-4544, 2008.

RODRIGUES, Anderson Messias. **Taxonomia polifásica e características proteômicas do complexo *Sporothrix schenckii***. 2010.

RODRIGUES, Elaine G.; LÍRIO, Vanda S.; LACAZ, C. da S. Preservação de fungos e actinomicetos de interesse médico em água destilada. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 34, n. 2, p. 159-165, 1992.

RODRIGUEZ, Elizabeth; PICKARD, Michael A.; VAZQUEZ-DUHALT, Rafael. Industrial dye decolorization by laccases from ligninolytic fungi. **Current microbiology**, v. 38, n. 1, p. 27-32, 1999.

RUETE, Alejandro; SNÄLL, Tord; JÖNSSON, Mari. Dynamic anthropogenic edge effects on the distribution and diversity of fungi in fragmented old-growth forests. **Ecological Applications**, v. 5, n. 26, p. 1475-1485, 2016.

SAARI, Veli. Collection products of transmission-line corridors and their utilization possibilities. **Aquilo, Series Botanica**, v. 31, p. 47-54, 1993.

SCHMIDT, Brigitte et al. Lignin peroxidases are oligomannose type glycoproteins. **Journal of biotechnology**, v. 13, n. 2-3, p. 223-228, 1990.

SCHOEMAKER, H. E. et al. On the mechanism of enzymatic lignin breakdown. **FEBS letters**, v. 183, n. 1, p. 7-12, 1985.

SCHRIJVER, A. de et al. On the importance of incorporating forest edge deposition for evaluating exceedance of critical pollutant loads. **Applied Vegetation Science**, v. 10, n. 2, p. 293-298, 2007.

SHANAKHT, Hina; SHAHID, Ahmad Ali; ALI, Shinawar Waseem. CHARACTERIZATION OF FUNGAL MICROBIOTA ON RICE GRAINS FROM LOCAL MARKETS OF LAHORE. **Journal of Hygienic Engineering and Design**, v. 9, p. 35-40, 2014.

SIITONEN, Paula; LEHTINEN, Antti; SIITONEN, Mikko. Effects of Forest Edges on the Distribution, Abundance, and Regional Persistence of Wood-Rotting Fungi. **Conservation Biology**, v. 19, n. 1, p. 250-260, 2005.

SILVA, José Maria Cardoso; TABARELLI, Marcelo. Tree species impoverishment and the future flora of the Atlantic forest of northeast Brazil. **Nature**, v. 404, n. 6773, p. 72-74, 2000.

SLATKIN, Montgomery. Gene flow and the geographic structure of natural populations. **Science**, v. 236, n. 4803, p. 787-792, 1987.

SMITH, David; ONIONS, Agnes. **The preservation and maintenance of living fungi**. Commonwealth Agricultural Bureaux, 1983.

SNÄLL, Tord; JONSSON, Bengt Gunnar. Edge effects on six polyporous fungi used as old-growth indicators in Swedish boreal forest. **Ecological bulletins**, p. 255-262, 2001.

STACKEBRANDT, Erko.; LIESACK, Werner. Nucleic acids and classification. **Handbook of new bacterial systematics**, p. 152-189, 1993.

STONE, Jeffrey K. Initiation and development of latent infections by *Rhodocline parkeri* on Douglas-fir. **Canadian Journal of Botany**, v. 65, n. 12, p. 2614-2621, 1987.

THOMPSON, Julie D.; HIGGINS, Desmond G.; GIBSON, Toby J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic acids research**, v. 22, n. 22, p. 4673-4680, 1994.

ULLOA, Miguel. **Diccionario ilustrado de micología**. 1991.

UNESCO World Heritage Centre. **World Heritage List-Iguaçu National Park**. 2016. Disponible en <<http://whc.unesco.org/en/list/355>>

VELOSO, Henrique Pimenta; RANGEL FILHO, Antonio Lourenço Rosa; LIMA, Jorge Carlos Alves. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. Ministério da Economia, Fazenda e Planejamento, Fundação Instituto

Brasileiro de Geografia e Estatística, Diretoria de Geociências, Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais, 1991.

VICENT, A.; BASSIMBA, D. D. M.; INTRIGLIOLO, D. S. Effects of temperature, water regime and irrigation system on the release of ascospores of *Mycosphaerella nawae*, causal agent of circular leaf spot of persimmon. **Plant Pathology**, v. 60, n. 5, p. 890-908, 2011.

VOŘÍŠKOVÁ, Jana; BALDRIAN, Petr. Fungal community on decomposing leaf litter undergoes rapid successional changes. **The ISME journal**, v. 7, n. 3, p. 477-486, 2013.

WHITE, Thomas J. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. **PCR protocols: a guide to methods and applications**, v. 18, n. 1, p. 315-322, 1990.

WIENS, John A. An approach to the study of ecological relationships among grassland birds. **Ornithological monographs**, n. 8, p. 1-93, 1969.

WIENS, John A. Population responses to patchy environments. **Annual review of ecology and systematics**, p. 81-120, 1976.

WRIGHT, Jorge E.; WRIGHT, Alicia M. Checklist of the mycobiota of Iguazú national park (Misiones, Argentina). **Bol. Soc. Argent. Bot**, v. 40, n. 1-2, p. 23-44, 2005.

WUYTS, Karen et al. Gradual forest edges can mitigate edge effects on throughfall deposition if their size and shape are well considered. **Forest Ecology and Management**, v. 257, n. 2, p. 679-687, 2009.

YAVER, Debbie S. et al. Purification, characterization, molecular cloning, and expression of two laccase genes from the white rot basidiomycete *Trametes villosa*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 3, p. 834-841, 1996.

YOSHIDA, Hikorokuro. LXIII.—chemistry of lacquer (Urushi). Part I. communication from the chemical society of Tokyo. **Journal of the Chemical Society, Transactions**, v. 43, p. 472-486, 1883.

YOUNG, Andrew; MITCHELL, Neil. Microclimate and vegetation edge effects in a fragmented podocarp-broadleaf forest in New Zealand. **Biological Conservation**, v. 67, n. 1, p. 63-72, 1994.

ZHIGIANG, A. **Handbook of Industrial Mycology—Marcel Dekker**. New York, p. 1-45, 2005.

## ANEXO I- Tabla de aislados

Sendero	Punto	Medio	Dilución	Replica	Código	Frecuencia (>1)	Reacción al guayacol	Morfoespecie	Código morfoespecie	Identificación
1	BORDE	MA	-2	1	1B1.1			AS	1	sp. 16
1	BORDE	MA	-2	1	1B1.2			KD	1	<i>Trichoderma</i> sp. 5
1	BORDE	MA	-2	1	1B1.3			KX	1	<i>Trichoderma</i> sp. 3
1	BORDE	MA	-2	2	1B2.1			INVIABLE		
1	BORDE	MA	-2	2	1B2.2			INVIABLE		
1	BORDE	MA	-2	2	1B2.3			AS	5	sp. 16
1	BORDE	MA	-2	2	1B2.4			AS	4	sp. 16
1	BORDE	MA	-2	2	1B2.5			JX	2	<i>Trichoderma</i> sp. 12
1	BORDE	MA	-2	2	1B2.6			AS	3	sp. 16
1	BORDE	MA	-2	3	1B3.1			INVIABLE		
1	BORDE	MA	-2	3	1B3.2			INVIABLE		
1	BORDE	MA	-2	3	1B3.3			JR	7	<i>Trichoderma</i> sp. 3
1	BORDE	MA	-2	3	1B3.4			KR	1	<i>Trichoderma</i> sp. 20
1	BORDE	MA	-4	5	1B5.1			GA	1	sp. 144
1	BORDE	MA	-4	5	1B5.2			INVIABLE		
1	BORDE	MA	-4	6	1B6.1			IP	1	sp. 209
1	BORDE	MA	-4	6	1B6.2			DV	2	sp. 92
1	BORDE	MA	-4	6	1B6.3			HI	1	sp. 179
1	BORDE	MA	-4	6	1B6.4			CQ	2	sp. 62
1	BORDE	MAG	-2	1	1BG1.1	4		KA	1	<i>Trichoderma</i> sp. 3
1	BORDE	MAG	-2	2	1BG2.1			MO	1	sp. 275
1	BORDE	MAG	-2	2	1BG2.10			INVIABLE		
1	BORDE	MAG	-2	2	1BG2.11			CS	4	sp. 64
1	BORDE	MAG	-2	2	1BG2.12			AY	1	sp. 22
2	BORDE	MAG	-2	2	2BG2.2		+	AD	1	<i>Fusarium</i> sp. 2
2	BORDE	MAG	-2	2	2BG2.3		+	AD	2	<i>Fusarium</i> sp. 2
1	BORDE	MAG	-2	2	1BG2.4			INVIABLE		
1	BORDE	MAG	-2	2	1BG2.5			HR	1	sp. 186
1	BORDE	MAG	-2	2	1BG2.6			ER	1	sp. 110
1	BORDE	MAG	-2	2	1BG2.7			BX	1	sp. 46
1	BORDE	MAG	-2	2	1BG2.8			MI	1	sp. 269
1	BORDE	MAG	-2	2	1BG2.11			AY	1	sp. 362
1	BORDE	MAG	-2	2	1BG2.9			KG	1	<i>Trichoderma</i> sp. 15
1	BORDE	MAG	-4	4	1BG4.1			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-2	3	2I3.7		+	EK	1	sp. 103
1	INTERIOR	MA	-2	1	1I1.1			JY	2	<i>Trichoderma</i> sp. 13
1	INTERIOR	MA	-2	1	1I1.10			BL	1	sp. 36
1	INTERIOR	MA	-2	1	1I1.11	13		OG	1	sp. 328

1	INTERIOR	MA	-2	1	111.2			DB	1	sp. 73
1	INTERIOR	MA	-2	1	111.3		2	DR	1	sp. 87
1	INTERIOR	MA	-2	1	111.4		2	NP	1	sp. 311
1	INTERIOR	MA	-2	1	111.5		2	NK	1	sp. 306
1	INTERIOR	MA	-2	1	111.6		9	U	7	<i>Cladosporium</i> sp. 1
1	INTERIOR	MA	-2	1	111.7			INVIABLE		
1	INTERIOR	MA	-2	1	111.8			INVIABLE		
1	INTERIOR	MA	-2	1	111.9			LU	1	sp. 255
1	INTERIOR	MA	-2	2	112.1			CS	1	sp. 64
1	INTERIOR	MA	-2	2	112.2			AV	3	sp. 19
1	INTERIOR	MA	-2	2	112.3			BC	1	sp. 27
1	INTERIOR	MA	-2	2	112.4			AV	2	sp. 19
1	INTERIOR	MA	-2	2	112.5			AV	1	sp. 19
1	INTERIOR	MA	-2	5	113.1			HW	1	sp. 191
1	INTERIOR	MA	-2	5	113.2			INVIABLE		
1	INTERIOR	MA	-2	5	113.3			AL	3	<i>Trichoderma</i> sp. 3
1	INTERIOR	MA	-2	5	113.4			AL	1	<i>Trichoderma</i> sp. 3
1	INTERIOR	MA	-2	5	113.5			AL	2	<i>Trichoderma</i> sp. 3
1	INTERIOR	MA	-4	4	114.1			OT	1	sp. 341
1	INTERIOR	MA	-4	4	114.2			IA	1	sp. 194
1	INTERIOR	MA	-4	4	114.3			INVIABLE		
1	INTERIOR	MA	-4	5	115.1			INVIABLE		
1	INTERIOR	MA	-4	5	115.2			NF	1	sp. 301
1	INTERIOR	MA	-4	6	116.1			FP	1	sp. 132
1	INTERIOR	MA	-4	6	116.2			GH	1	sp. 151
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.1			NA	1	sp. 286
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.1 0			LX	1	sp. 258
1	INTERIOR	MAG	-2	2	1IG2.2		+	EL	1	sp. 104
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.1 2			INVIABLE		
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.1 3			MB	1	sp. 262
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.1 4			INVIABLE		
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.1 5			MM	1	sp. 273
2	BORDE	MAG	-2	2	2BG2. 1		+	EN	1	sp. 106
3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.6		6 +	EO	1	sp. 107
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.1 8			PJ	1	<i>Penicillium</i> sp. 9
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.1 9			GD	2	sp. 147
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.2			NU	1	sp. 316
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.2 0			HT	1	sp. 188
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.3			LW	1	sp. 257
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.3		+	EW	1	sp. 115
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.5			DW	1	<i>Cladosporium</i> sp. 5
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.6			OV	1	sp. 342

3	BORDE	MAG	-4	6	3BG6.3		+	FA	1	sp. 120
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.8			KZ	1	sp. 239
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.9			INVIABLE		
1	INTERIOR	MAG	-2	2	1IG2.1			PH	1	sp. 351
1	INTERIOR	MAG	-2	2	1IG2.10			INVIABLE		
1	INTERIOR	MAG	-2	2	1IG2.11			CU	1	<i>Trichoderma</i> sp. 10
1	INTERIOR	MAG	-2	2	1IG2.12			CU	2	<i>Trichoderma</i> sp. 10
3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.1	11	+	FM	1	sp. 129
2	INTERIOR	MAG	-4	6	2IG6.6		+	AP	1	sp. 13
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.9		+	GC	1	sp. 146
1	INTERIOR	MAG	-2	2	1IG2.5			DX	2	<i>Cladosporium</i> sp. 6
1	INTERIOR	MAG	-2	2	1IG2.6			CQ	1	sp. 62
1	INTERIOR	MAG	-2	2	1IG2.7			DI	1	sp. 78
1	INTERIOR	MAG	-2	2	1IG2.8			EM	1	sp. 105
1	INTERIOR	MAG	-2	2	1IG2.9			MY	1	sp. 285
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.1			MH	1	sp. 268
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.10			INVIABLE		
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.17		+	GC	2	sp. 146
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.12			OW	1	sp. 343
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.13			FU	1	sp. 137
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.6		+	GF	1	sp. 149
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.15			INVIABLE		
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.16			DO	1	sp. 84
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.17			MK	1	sp. 271
2	INTERIOR	MAG	-2	1	2IG1.10		+	AR	1	sp. 15
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.19			GD	1	sp. 147
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.2			INVIABLE		
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.5		+	GM	1	sp. 156
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.21			EX	1	sp. 116
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.15		+	GN	1	sp. 157
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1.5		+	GU	1	sp. 164
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.4			HV	1	sp. 190
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.5			NE	1	sp. 300
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.6			INVIABLE		
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.7			OQ	1	sp. 344
1	BORDE	MAG	-2	2	1BG2.2	2	+	GW	1	sp. 166
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.18		+	GY	1	sp. 168
1	INTERIOR	MAG	-4	4	1IG4.1			AO	2	sp. 12
1	INTERIOR	MAG	-4	4	1IG4.2			NY	1	sp. 320
1	INTERIOR	MAG	-4	5	1IG5.1			INVIABLE		
1	INTERIOR	MAG	-4	6	1IG6.1			FN	1	sp. 130
1	INTERIOR	MAG	-4	6	1IG6.2			INVIABLE		

2	BORDE	MA	-2	1	2B1.1			KL	1	<i>Trichoderma</i> sp. 6
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.1 0			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.1 1			LP	1	<i>Trichoderma</i> sp. 26
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.1 2			FE	1	<i>Penicillium</i> sp. 2
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.1 3			JW	3	<i>Trichoderma</i> sp. 11
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.1 4			CT	1	sp. 65
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.1 5			CT	2	sp. 65
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.1 6			MU	1	sp. 281
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.1 7			BL	2	sp. 36
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.1 8			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.1 9			AM	1	sp. 10
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.2			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.2 0			KW	1	<i>Trichoderma</i> sp. 24
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.2 1			JW	1	<i>Trichoderma</i> sp. 11
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.2 2			FI	1	sp. 125
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.2 3			IM	1	sp. 206
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.3			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.4			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.5			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.6			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.7			JW	2	<i>Trichoderma</i> sp. 11
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.8			GI	1	sp. 152
2	BORDE	MA	-2	1	2B1.9			NJ	1	sp. 305
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.1			ET	1	sp. 112
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.1 0			CL	1	<i>Cladosporium</i> sp. 4
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.1 1			FK	1	sp. 127
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.1 2			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.1 3			BK	1	sp. 35
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.1 4			CY	1	sp. 69
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.1 5			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.1 6			EP	1	sp. 108
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.1 7			FH	1	sp. 124
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.1 8			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.1 9			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.2	2		EV	1	sp. 114
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.2 0			Q	1	sp. 338
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.2 1			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.2 2			HL	1	sp. 182
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.2 3			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.2 4			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.2 5			JJ	1	sp. 230
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.3			U	4	<i>Cladosporium</i> sp. 1
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.4			INVIABLE		

2	BORDE	MA	-2	2	2B2.5			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.6			M	2	sp. 261
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.7			M	1	sp. 261
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.8			JQ	1	sp. 237
2	BORDE	MA	-2	2	2B2.9			ML	1	sp. 272
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.1			HN	1	sp. 184
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.1 0			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.1 1			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.1 2			KB	2	<i>Trichoderma</i> sp. 14
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.1 3			GX	1	sp. 167
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.1 4			KB	1	<i>Trichoderma</i> sp. 14
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.1 5			EU	1	sp. 113
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.1 6			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.1 7			FT	1	sp. 136
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.2			JO	1	sp. 235
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.3			BN	1	sp. 38
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.4			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.5			EA	1	<i>Cladosporium</i> sp. 8
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.6			GZ	1	sp. 169
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.7			L	1	sp. 240
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.8			GG	1	sp. 150
2	BORDE	MA	-2	3	2B3.9			I	1	<i>Fusarium</i> sp. 1
2	BORDE	MA	-4	4	2B4.1			E	1	sp. 94
2	BORDE	MA	-4	4	2B4.2			OZ	1	sp. 345
2	BORDE	MA	-4	5	2B5.1			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-4	5	2B5.2			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-4	5	2B5.3			INVIABLE		
2	BORDE	MA	-4	5	2B5.4	3		INVIABLE		
2	BORDE	MA	-4	6	2B6.1			PI	1	sp. 352
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1. 1			DS	1	sp. 89
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1. 10			O	1	sp. 322
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1. 11			BE	1	sp. 29
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1. 12			INVIABLE		
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1. 13			INVIABLE		
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1. 14			BM	1	sp. 37
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1. 15			J	1	sp. 220
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1. 16			INVIABLE		
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1. 17			O	2	sp. 322
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1. 18			INVIABLE		
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1. 19			JY	1	<i>Trichoderma</i> sp. 13
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1. 2			H	1	sp. 170
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1. 20			KP	1	<i>Trichoderma</i> sp. 18
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1. 21			S	4	sp. 339

2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1.22			HH	1	sp. 178
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1.3			LY	1	sp. 259
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1.4					
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.16		+	HA	1	sp. 171
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1.6					
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1.7			K	1	sp. 238
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1.8			O	4	sp. 322
2	BORDE	MAG	-2	1	2BG1.9			O	3	sp. 322
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.11		+	HB	1	sp. 172
2	BORDE	MAG	-2	2	2BG2.10			GL	1	sp. 155
3	INTERIOR	MAG	-2	1	3IG1.9		+	HD	1	sp. 174
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.8		+	HE	1	sp. 175
2	BORDE	MAG	-2	2	2BG2.4			DS	2	sp. 89
2	BORDE	MAG	-2	2	2BG2.5			V	2	<i>Cladosporium</i> sp. 2
2	BORDE	MAG	-2	2	2BG2.6			INVIABLE		
2	BORDE	MAG	-2	2	2BG2.7			INVIABLE		
2	BORDE	MAG	-2	2	2BG2.8			INVIABLE		
2	BORDE	MAG	-2	2	2BG2.9			INVIABLE		
3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.14		+	HG	1	sp. 177
3	INTERIOR	MA	-4	5	3I5.8		+	HQ	1	sp. 185
2	BORDE	MAG	-2	3	2BG3.11			T	3	<i>Penicillium</i> sp. 2
2	BORDE	MAG	-2	3	2BG3.12			INVIABLE		
2	BORDE	MAG	-2	3	2BG3.13			FZ	1	sp. 142
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.9		+	IB	1	sp. 195
2	BORDE	MAG	-2	3	2BG3.3			INVIABLE		
2	BORDE	MAG	-2	3	2BG3.4			CG	1	sp. 55
2	BORDE	MAG	-2	3	2BG3.5			PG	1	sp. 353
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.10		+	IC	1	sp. 196
2	BORDE	MAG	-2	3	2BG3.7			INVIABLE		
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.10		+	ID	1	sp. 197
2	BORDE	MAG	-2	3	2BG3.9			INVIABLE		
2	BORDE	MAG	-4	4	2BG4.1			U	10	<i>Cladosporium</i> sp. 1
2	INTERIOR	MA	-2	1	2I1.1			U	2	<i>Cladosporium</i> sp. 1
2	INTERIOR	MA	-2	1	2I1.2			CB	1	<i>Neurospora</i> sp. 1
2	INTERIOR	MA	-2	1	2I1.3			EY	1	sp. 117
2	INTERIOR	MA	-2	1	2I1.4			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-2	1	2I1.5			AN	1	sp. 11
2	INTERIOR	MA	-2	2	2I2.1			KC	2	<i>Trichoderma</i> sp. 3
2	INTERIOR	MA	-2	2	2I2.10			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-2	2	2I2.11			LR	1	<i>Penicillium</i> sp. 7
2	INTERIOR	MA	-2	2	2I2.12			BZ	1	sp. 48
2	INTERIOR	MA	-2	2	2I2.13			DW	2	<i>Cladosporium</i> sp. 5

2	INTERIOR	MA	-2	2	212.14			DR	2	sp. 88
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.15			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.16			JZ	2	<i>Trichoderma</i> sp. 3
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.17			CK	1	<i>Cladosporium</i> sp. 3
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.18			HF	1	sp. 176
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.19			BV	1	<i>Penicillium</i> sp. 1
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.2			GP	1	sp. 159
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.20			EB	1	<i>Cladosporium</i> sp. 4
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.21			HC	1	sp. 173
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.22			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.23			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.24			S	3	sp. 339
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.25			DT	2	sp. 90
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.26			BJ	1	sp. 34
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.27			AU	1	sp. 18
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.28			MT	1	Sclerotiniaceae sp. 2
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.29			DT	1	sp. 90
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.3			AO	1	sp. 12
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.30			CS	3	sp. 64
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.4			OD	1	sp. 325
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.5			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.6			AU	2	sp. 18
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.7			U	5	<i>Cladosporium</i> sp. 1
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.8			KG	1	<i>Trichoderma</i> sp. 15
2	INTERIOR	MA	-2	2	212.9			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.1			FB	1	sp. 121
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.10			MW	1	sp. 283
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.11			A	1	sp. 1
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.12			JU	1	<i>Trichoderma</i> sp. 3
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.13			G	1	sp. 143
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.14			C	1	sp. 49
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.15			B	3	sp. 24
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.16			OF	1	sp. 327
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.17			FQ	1	sp. 133
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.18			A	4	sp. 1
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.19			A	2	sp. 1
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.2			NN	1	sp. 309
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.20			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.21			B	1	sp. 24
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.22			B	4	sp. 24
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.23			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-2	3	213.24			B	2	sp. 24

2	INTERIOR	MA	-2	3	2I3.25			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-2	3	2I3.26			JU	2	<i>Trichoderma</i> sp. 3
2	INTERIOR	MA	-2	3	2I3.27			A	3	sp. 1
2	BORDE	MA	-2	3	2I3.28			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-2	3	2I3.3			JA	1	sp. 221
2	INTERIOR	MA	-2	3	2I3.4			GT	1	sp. 163
2	INTERIOR	MA	-2	3	2I3.5			U	3	<i>Cladosporium</i> sp. 1
2	INTERIOR	MA	-2	3	2I3.6			GE	2	sp. 148
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.10		+	IF	1	sp. 199
2	INTERIOR	MA	-2	3	2I3.8			P	1	sp. 337
2	INTERIOR	MA	-2	3	2I3.9			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-4	4	2I4.1			NC	1	sp. 288
2	INTERIOR	MA	-4	4	2I4.2			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-4	4	2I4.3			AG	1	sp. 5
2	INTERIOR	MA	-4	4	2I4.4	2		BR	1	sp. 42
2	INTERIOR	MA	-4	5	2I5.1			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-4	5	2I5.10			LO	1	<i>Penicillium</i> sp. 6
2	INTERIOR	MA	-4	5	2I5.11			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-4	5	2I5.12			DY	1	<i>Cladosporium</i> sp. 7
2	INTERIOR	MA	-4	5	2I5.2			F	1	sp. 119
2	INTERIOR	MA	-4	5	2I5.3			FU	2	sp. 137
2	INTERIOR	MA	-4	5	2I5.4			D	1	sp. 71
2	INTERIOR	MA	-4	5	2I5.5			CA	1	sp. 50
2	INTERIOR	MA	-4	5	2I5.6			EZ	1	sp. 118
2	INTERIOR	MA	-4	5	2I5.7			U	6	<i>Cladosporium</i> sp. 1
2	INTERIOR	MA	-4	5	2I5.8			INVIABLE		
2	INTERIOR	MA	-4	5	2I5.9			DU	2	sp. 91
2	INTERIOR	MA	-4	6	2I6.1			INVIABLE		
2	INTERIOR	MAG	-4	5	2IG5.1		+	IG	1	sp. 200
2	INTERIOR	MA	-4	6	2I6.3			MX	1	sp. 284
2	INTERIOR	MA	-4	6	2I6.4			U	1	<i>Cladosporium</i> sp. 1
2	INTERIOR	MA	-4	6	2I6.5			GO	1	sp. 158
2	INTERIOR	MA	-4	6	2I6.6			AK	1	sp. 9
2	INTERIOR	MA	-4	6	2I6.7			AK	2	sp. 9
2	INTERIOR	MA	-4	6	2I6.8			AJ	1	sp. 8
2	INTERIOR	MA	-4	6	2I6.9			MF	1	sp. 266
2	INTERIOR	MAG	-2	1	2IG1.1			AB	1	<i>Trichoderma</i> sp. 1
1	INTERIOR	MAG	-2	2	1IG2.4		+	IL	1	sp. 205
2	INTERIOR	MAG	-2	1	2IG1.2			X	2	<i>Trichoderma</i> sp. 2
2	INTERIOR	MAG	-2	1	2IG1.3			KF	1	<i>Trichoderma</i> sp. 3
2	INTERIOR	MAG	-2	1	2IG1.4			INVIABLE		
2	INTERIOR	MAG	-2	1	2IG1.5			AB	2	<i>Trichoderma</i> sp. 1

2	INTERIOR	MAG	-2	1	2IG1.6			JV	3	<i>Trichoderma</i> sp. 1
2	INTERIOR	MAG	-2	1	2IG1.7			MN	1	sp. 274
2	INTERIOR	MAG	-2	1	2IG1.8			JS	2	<i>Trichoderma</i> sp. 3
2	INTERIOR	MAG	-2	1	2IG1.9			JV	1	<i>Trichoderma</i> sp. 1
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.1			INVIABLE		
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.10		+	IT	1	sp. 213
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.11			INVIABLE		
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.12			DQ	2	sp. 86
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.13			INVIABLE		
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.11		+	JC	1	sp. 223
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.15			INVIABLE		
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.16			IZ	1	sp. 219
3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.10		+	JI	1	sp. 229
3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.5	5	+	JL	1	sp. 232
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.19			KE	2	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.7		+	JM	1	sp. 233
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.20			IV	1	sp. 215
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.22		+	JP	1	sp. 236
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.4			BB	1	sp. 26
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.5			MS	2	sp. 280
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.6			INVIABLE		
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.17		+	LE	1	sp. 243
2	INTERIOR	MAG	-4	5	2IG5.4		+	LF	1	sp. 244
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.9			MS	1	sp. 280
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.1			MR	2	sp. 279
2	BORDE	MAG	-2	3	2BG3.10		+	LM	1	sp. 251
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.11			DZ	2	sp. 93
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.12			INVIABLE		
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.13			GE	1	sp. 148
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.14			INVIABLE		
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.13		+	MD	1	sp. 264
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.16			IH	1	sp. 201
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.15		+	MJ	1	sp. 270
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.18			GQ	1	sp. 160
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.19			INVIABLE		
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.2			DY	2	<i>Cladosporium</i> sp. 7
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.20			GB	1	sp. 145
1	BORDE	MAG	-2	2	1BG2.3		+	MP	1	sp. 276
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.4		+	NB	1	sp. 287
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.23			IX	1	sp. 217
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.24			NO	1	sp. 310
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.3			N	1	<i>Fusarium</i> sp. 3

2	BORDE	MAG	-2	3	2BG3.8		+	AE		1	sp. 3
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.2		+	BF		1	sp. 30
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.8		+	NG		1	sp. 302
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.7			JB		1	sp. 222
2	BORDE	MAG	-2	3	2BG3.1		+	NH		1	sp. 303
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.9			MR		1	sp. 279
2	INTERIOR	MAG	-4	4	2IG4.1			NZ		1	sp. 321
2	INTERIOR	MAG	-4	4	2IG4.2			AC		1	sp. 2
2	INTERIOR	MAG	-4	4	2IG4.3			IJ		1	sp. 202
2	INTERIOR	MAG	-4	4	2IG4.4			GV		1	sp. 165
2	INTERIOR	MAG	-4	4	2IG4.5			INVIABLE			
2	INTERIOR	MAG	-4	4	2IG4.6			INVIABLE			
2	INTERIOR	MAG	-4	4	2IG4.7			INVIABLE			
2	INTERIOR	MAG	-4	4	2IG4.8			INVIABLE			
2	INTERIOR	MAG	-4	4	2IG4.9			AC		2	sp. 2
2	BORDE	MAG	-2	3	2BG3.6		+	NI		1	sp. 304
2	INTERIOR	MAG	-4	5	2IG5.2			MV		1	sp. 282
2	INTERIOR	MAG	-4	5	2IG5.3			INVIABLE			
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.16		+	NQ		1	sp. 312
2	INTERIOR	MAG	-4	5	2IG5.5			CD		1	sp. 52
2	INTERIOR	MAG	-4	5	2IG5.6			JF		1	sp. 226
2	INTERIOR	MAG	-4	5	2IG5.7			INVIABLE			
2	INTERIOR	MAG	-4	5	2IG5.8			HJ		1	sp. 180
2	INTERIOR	MAG	-4	5	2IG5.9			INVIABLE			
2	INTERIOR	MAG	-4	6	2IG6.1			LI		1	sp. 247
2	INTERIOR	MAG	-4	6	2IG6.2			PA		1	sp. 354
2	INTERIOR	MAG	-4	6	2IG6.3			EA		2	<i>Cladosporium</i> sp. 8
2	INTERIOR	MAG	-4	6	2IG6.4			T		1	<i>Penicillium</i> sp. 2
2	INTERIOR	MAG	-4	6	2IG6.5			FG		1	<i>Penicillium</i> sp. 4
1	INTERIOR	MAG	-2	2	1IG2.3		+	NR		1	sp. 313
2	INTERIOR	MAG	-4	6	2IG6.7			V		1	<i>Cladosporium</i> sp. 2
2	INTERIOR	MAG	-4	6	2IG6.8			T		2	<i>Penicillium</i> sp. 2
3	BORDE	MA	-2	1	3B1.1	7		CJ		3	<i>Cladosporium</i> sp. 3
3	BORDE	MA	-2	1	3B1.10			LC		1	sp. 241
3	BORDE	MA	-2	1	3B1.2	2		OH		1	sp. 329
3	BORDE	MA	-2	1	3B1.3	3		BT		1	sp. 44
3	BORDE	MA	-2	1	3B1.4			BS		1	sp. 43
3	BORDE	MA	-2	1	3B1.5	3		LS		1	sp. 253
3	BORDE	MA	-2	1	3B1.6			HP		1	<i>Neurospora</i> sp. 2
3	BORDE	MA	-2	1	3B1.7			LC		2	sp. 241
3	BORDE	MA	-2	1	3B1.8			HX		1	sp. 192
3	BORDE	MA	-2	1	3B1.9			INVIABLE			

3	BORDE	MA	-2	2	3B2.1	2		JS	4	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	BORDE	MA	-2	2	3B2.2	2		KE	1	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	BORDE	MA	-2	2	3B2.3	3		JS	3	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	BORDE	MA	-2	2	3B2.4			JT	1	<i>Trichoderma</i> sp. 4
3	BORDE	MA	-2	2	3B2.5			AZ	1	sp. 23
3	BORDE	MA	-2	2	3B2.4			AZ	1	Zygomycota
3	BORDE	MA	-2	2	3B2.6			KC	1	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	BORDE	MA	-2	2	3B2.7	2		OP	1	sp. 336
3	BORDE	MA	-2	2	3B2.8			KN	1	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	BORDE	MA	-2	3	3B3.1	6		OK	1	sp. 332
3	BORDE	MA	-2	3	3B3.1 0			AL	4	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	BORDE	MA	-2	3	3B3.1 1	4		JR	6	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	BORDE	MA	-2	3	3B3.1 1			LT	1	sp. 254
3	BORDE	MA	-2	3	3B3.2	4		AW	2	sp. 20
3	BORDE	MA	-2	3	3B3.3	8		JT	4	<i>Trichoderma</i> sp. 4
3	BORDE	MA	-2	3	3B3.4			MZ	1	Sclerotiniaceae sp. 3
3	BORDE	MA	-2	3	3B3.5			LN	1	sp. 252
3	BORDE	MA	-2	3	3B3.6			AW	1	sp. 20
3	BORDE	MA	-2	3	3B3.7			KD	2	<i>Trichoderma</i> sp. 5
3	BORDE	MA	-2	3	3B3.8			INVIABLE		
3	BORDE	MA	-2	3	3B3.9			INVIABLE		
3	BORDE	MA	-4	4	3B4.1			IK	1	sp. 204
3	BORDE	MA	-4	4	3B4.2	6		CJ	2	<i>Cladosporium</i> sp. 3
3	BORDE	MA	-4	4	3B4.3	4		CJ	1	<i>Cladosporium</i> sp. 3
3	BORDE	MA	-4	4	3B4.4	6		CR	2	sp. 63
3	BORDE	MA	-4	4	3B4.5			OU	1	sp. 346
3	BORDE	MA	-4	4	3B4.6			CR	1	sp. 63
3	BORDE	MA	-4	4	3B4.7			GB	2	sp. 145
3	BORDE	MA	-4	4	3B4.8			NM	1	sp. 308
3	BORDE	MA	-4	5	3B5.1			OR	1	sp. 347
3	BORDE	MA	-4	5	3B5.2			DJ	1	sp. 79
3	BORDE	MA	-4	5	3B5.3			U	8	<i>Cladosporium</i> sp. 1
3	BORDE	MA	-4	5	3B5.4			AT	3	sp. 17
3	BORDE	MA	-4	5	3B5.5	3		U	9	<i>Cladosporium</i> sp. 1
3	BORDE	MA	-4	5	3B5.6			EI	1	sp. 101
3	BORDE	MA	-4	6	3B6.1			FR	1	sp. 134
3	BORDE	MA	-4	6	3B6.2			FW	1	sp. 139
3	BORDE	MAG	-2	1	3BG1. 1	2		JR	3	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	BORDE	MAG	-2	1	3BG1. 10			KF	2	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	BORDE	MAG	-2	1	3BG1. 11			KJ	1	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	BORDE	MAG	-2	1	3BG1. 12	2		OI	1	sp. 330
3	BORDE	MAG	-2	1	3BG1. 2			BG	1	sp. 31
3	BORDE	MAG	-2	1	3BG1. 3	2		JH	1	sp. 228
3	BORDE	MAG	-2	1	3BG1. 4			INVIABLE		

3	BORDE	MAG	-2	1	3BG1.5			JT		2	<i>Trichoderma</i> sp. 4
3	BORDE	MAG	-2	1	3BG1.6			X		1	<i>Trichoderma</i> sp. 2
3	BORDE	MAG	-2	1	3BG1.7			W		1	sp. 340
3	BORDE	MAG	-2	1	3BG1.8			W		2	sp. 340
3	BORDE	MAG	-2	1	3BG1.9			JR		2	<i>Trichoderma</i> sp. 3
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.14		+	NS		1	sp. 314
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.10			JG		1	sp. 227
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.11			HS		1	sp. 187
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.12			IQ		1	sp. 210
3	INTERIOR	MAG	-4	5	3IG5.1	2	+	NW		1	sp. 318
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.14			MG		1	sp. 267
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.21		+	NX		1	sp. 319
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.8		+	OJ		1	sp. 331
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.17			PD		1	sp. 355
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.18			PC		1	sp. 356
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.2			EC		2	sp. 95
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.3			DM		1	sp. 82
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.4			AX		1	sp. 21
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.5			IO		1	sp. 208
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.6			OA		1	sp. 323
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.1	2	+	BO		1	sp. 39
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.8			LH		1	sp. 246
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.9			CS		2	sp. 64
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.1	14		AT		2	sp. 17
2	BORDE	MAG	-2	3	2BG3.2		+	AF		1	sp. 4
3	BORDE	MAG	-2	2	3BG2.7		+	BP		1	sp. 40
2	INTERIOR	MA	-4	6	2I6.2		+	BQ		1	sp. 41
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.11			LZ		1	sp. 260
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.12			KK		1	<i>Trichoderma</i> sp. 5
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.12			ND		1	sp. 299
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.13			INVARIABLE			
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.14			HZ		1	sp. 193
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.15			BD		1	sp. 28
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.16			INVARIABLE			
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.17			II			sp. 363
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.18			DX		1	<i>Cladosporium</i> sp. 6
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.19	3		LG		1	sp. 245
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.2	3		CN		1	sp. 59
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.20			LK		1	sp. 249
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.3	4		JZ		1	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.4	7		AT		1	sp. 17
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.5	5		CZ		1	sp. 70

3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.6			HO	1	<i>Neurospora</i> sp. 3
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.7			FV	1	sp. 138
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3.8			CN	2	sp. 60
1	INTERIOR	MAG	-2	1	1IG1.7		+	BW	1	sp. 45
3	BORDE	MAG	-4	5	3BG5.1			FO	1	sp. 131
3	BORDE	MAG	-4	6	3BG6.1			DP	1	sp. 85
3	BORDE	MAG	-4	6	3BG6.2			FX	1	sp. 140
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.7		+	CC	1	sp. 51
3	BORDE	MAG	-4	6	3BG6.4			FJ	1	sp. 126
3	BORDE	MAG	-4	6	3BG6.5			JE	1	sp. 225
3	INTERIOR	MA	-2	1	3I1.1	2		BI	1	sp. 33
3	INTERIOR	MA	-2	1	3I1.2	2		BH	1	sp. 32
3	INTERIOR	MA	-2	1	3I1.3			KU	1	<i>Trichoderma</i> sp. 22
3	INTERIOR	MA	-2	1	3I1.4			INVIABLE		
3	INTERIOR	MA	-2	1	3I1.5			CF	1	sp. 54
3	INTERIOR	MA	-2	1	3I1.6			OB	1	<i>Trichoderma</i> sp. 28
3	INTERIOR	MA	-2	1	3I1.7			JX	1	<i>Trichoderma</i> sp. 12
3	INTERIOR	MA	-2	2	3I2.1	4		KY	1	<i>Trichoderma</i> sp. 7
3	INTERIOR	MA	-2	2	3I2.2	4		INVIABLE		
3	INTERIOR	MA	-2	2	3I2.3	7		JS	1	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	INTERIOR	MA	-2	2	3I2.4			ON	1	sp. 334
3	INTERIOR	MA	-2	2	3I2.5			INVIABLE		
3	INTERIOR	MA	-2	2	3I2.6			OC	1	sp. 324
3	INTERIOR	MA	-2	2	3I2.7			LB	2	<i>Trichoderma</i> sp. 25
3	INTERIOR	MA	-2	2	3I2.8			INVIABLE		
3	INTERIOR	MA	-2	3	3I3.1	12		KA	2	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	INTERIOR	MA	-2	3	3I3.2	3		INVIABLE		
3	INTERIOR	MA	-2	3	3I3.3	15		CI	1	sp. 57
3	INTERIOR	MA	-2	3	3I3.4			KS	1	<i>Trichoderma</i> sp. 21
3	INTERIOR	MA	-2	3	3I3.5			INVIABLE		
3	INTERIOR	MA	-2	3	3I3.6			INVIABLE		
3	INTERIOR	MA	-2	3	3I3.7			KV	1	<i>Trichoderma</i> sp. 23
3	INTERIOR	MA	-2	3	3I3.8			LQ	1	<i>Trichoderma</i> sp. 27
3	INTERIOR	MA	-2	3	3I3.9			INVIABLE		
3	INTERIOR	MA	-4	4	3I4.1			ES	1	sp. 111
3	INTERIOR	MA	-4	4	3I4.2			EQ	1	sp. 109
3	INTERIOR	MA	-4	4	3I4.3			INVIABLE		
3	INTERIOR	MA	-4	4	3I4.4			PB	1	sp. 357
3	INTERIOR	MA	-4	5	3I5.1			DU	1	sp. 91
3	INTERIOR	MA	-4	5	3I5.2			OO	1	sp. 335
3	INTERIOR	MA	-4	5	3I5.3			DV	1	sp. 92
3	INTERIOR	MA	-4	5	3I5.4			EF	2	sp. 98

3	INTERIOR	MA	-4	5	3I5.5			EF	1	sp. 98
3	INTERIOR	MA	-4	5	3I5.6			LA	1	<i>Penicillium</i> sp. 5
3	INTERIOR	MA	-4	5	3I5.7			OE	1	sp. 326
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.2 2		+	CH	1	sp. 56
3	INTERIOR	MA	-4	6	3I6.1			ME	1	sp. 265
3	INTERIOR	MA	-4	6	3I6.2			OM	1	<i>Penicillium</i> sp. 6
3	INTERIOR	MA	-4	6	3I6.3			IN	1	sp. 207
3	INTERIOR	MAG	-2	1	3IG1.1			GS	1	sp. 162
3	INTERIOR	MAG	-2	1	3IG1.1 0			INVIABLE		
3	INTERIOR	MAG	-2	1	3IG1.2			KI	1	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	INTERIOR	MAG	-2	1	3IG1.3			INVIABLE		
3	INTERIOR	MAG	-2	1	3IG1.4			INVIABLE		
3	INTERIOR	MAG	-2	1	3IG1.5			KO	1	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	INTERIOR	MAG	-2	1	3IG1.6			FJ	2	sp. 126
3	INTERIOR	MAG	-2	1	3IG1.7			CO	2	sp. 61
3	INTERIOR	MAG	-2	1	3IG1.8			CO	1	sp. 61
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.1 4		+	AH	1	sp. 6
3	INTERIOR	MAG	-2	2	3IG2.1	2		KT	1	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	INTERIOR	MAG	-2	2	3IG2.1 0			EC	1	sp. 95
3	INTERIOR	MAG	-2	2	3IG2.1 1			PE	1	sp. 358
3	INTERIOR	MAG	-2	2	3IG2.1 2			FC	1	sp. 122
3	INTERIOR	MA	-2	2	3IG2.1 3			INVIABLE		
3	INTERIOR	MA	-2	2	3IG2.1 4	2		INVIABLE		
3	INTERIOR	MAG	-2	2	3IG2.1 5			OL	1	sp. 333
3	INTERIOR	MAG	-2	2	3IG2.2	2		GK	1	sp. 154
3	INTERIOR	MA	-2	2	3IG2.3	2		INVIABLE		
3	INTERIOR	MA	-2	2	3IG2.4	2		INVIABLE		
3	INTERIOR	MAG	-2	2	3IG2.5	3		DQ	3	sp. 86
3	INTERIOR	MAG	-2	2	3IG2.6	2		JN	1	sp. 234
3	INTERIOR	MAG	-2	2	3IG2.7			LD	1	sp. 242
3	INTERIOR	MAG	-2	2	3IG2.8			JU	3	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	INTERIOR	MAG	-2	2	3IG2.9			JU	4	<i>Trichoderma</i> sp. 3
3	BORDE	MAG	-2	3	3BG3. 11		+	CX	1	sp. 68
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.1 7		+	AI	1	sp. 7
3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.1 1			FF	1	<i>Penicillium</i> sp. 3
3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.1 2			LD	2	sp. 242
3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.1 3			MQ	1	sp. 278
1	INTERIOR	MAG	-2	3	1IG3.2 0		+	DA	1	sp. 72
3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.1 5			HK	1	sp. 181
3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.1 6			IU	1	sp. 214
3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.1 7			INVIABLE		
3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.2	2		FL	1	sp. 128

3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.3	2		EJ	1	sp. 102
3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.4	2		FD	1	sp. 123
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.3		+	DC	1	sp. 74
2	INTERIOR	MAG	-2	3	2IG3.4		+	DE	1	sp. 75
1	BORDE	MAG	-4	6	1BG6.1		+	DF	1	sp. 76
3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.8			DZ	1	sp. 93
3	INTERIOR	MAG	-2	3	3IG3.9			JK	1	sp. 231
3	INTERIOR	MAG	-4	4	3IG4.1			CP	3	Sclerotiniaceae sp. 1
2	INTERIOR	MAG	-2	2	2IG2.18		+	EE	1	sp. 97
3	INTERIOR	MAG	-4	4	3IG4.3			CP	2	Sclerotiniaceae sp. 1
3	INTERIOR	MAG	-4	4	3IG4.4			CP	1	Sclerotiniaceae sp. 1
3	INTERIOR	MAG	-4	4	3IG4.2		+	KQ	1	<i>Trichoderma</i> sp. 19
3	INTERIOR	MAG	-4	5	3IG5.2	2		ED	1	sp. 96
3	INTERIOR	MAG	-4	5	3IG5.3	3		ED	2	sp. 96
3	INTERIOR	MAG	-4	5	3IG5.4			INVIABLE		
3	INTERIOR	MAG	-4	5	3IG5.5			CM	2	sp. 58
3	INTERIOR	MAG	-4	5	3IG5.6			CM	1	sp. 58
3	INTERIOR	MAG	-4	5	3IG5.7			CM	3	sp. 58
3	INTERIOR	MAG	-4	5	3IG5.8			INVIABLE		
3	INTERIOR	MAG	-4	6	3IG6.1			NV	1	sp. 317
3	INTERIOR	MAG	-4	6	3IG6.2			PL	1	sp. 359
4	INTERIOR	MA	-2	1	4I1.1			Y	2	<i>Trichoderma</i> sp. 8
4	INTERIOR	MAG	-2	2	4I1.2			IS	1	sp. 212
4	INTERIOR	MAG	-2	2	4I1.3			INVIABLE		
4	INTERIOR	MAG	-2	2	4I1.4			Y	1	<i>Trichoderma</i> sp. 8
4	INTERIOR	MA	-2	1	4I1.5			GJ	1	sp. 153
4	INTERIOR	MA	-2	2	4I2.1			INVIABLE		
4	INTERIOR	MA	-2	2	4I2.10			LB	1	<i>Trichoderma</i> sp. 25
4	INTERIOR	MA	-2	2	4I2.11			X	3	<i>Trichoderma</i> sp. 2
4	INTERIOR	MA	-2	2	4I2.12			INVIABLE		
4	INTERIOR	MA	-2	2	4I2.13			AQ	1	sp. 14
4	INTERIOR	MA	-2	2	4I2.14			LV	1	sp. 256
4	INTERIOR	MA	-2	2	4I2.15			NL	1	sp. 307
4	INTERIOR	MA	-2	2	4I2.2			INVIABLE		
4	INTERIOR	MA	-2	2	4I2.3			INVIABLE		
4	INTERIOR	MA	-2	2	4I2.4			BY	1	sp. 47
4	INTERIOR	MA	-2	2	4I2.5			GA	2	sp. 144
4	INTERIOR	MA	-2	2	4I2.6			AA	1	<i>Trichoderma</i> sp. 9
4	INTERIOR	MA	-2	2	4I2.7			HM	1	sp. 183
4	INTERIOR	MA	-2	2	4I2.8			S	2	sp. 339
4	INTERIOR	MA	-2	2	4I2.9			AA	2	<i>Trichoderma</i> sp. 9
4	INTERIOR	MA	-2	3	4I3.1			LA	2	<i>Penicillium</i> sp. 5

4	INTERIOR	MA	-2	3	4I3.2			KM	1	<i>Trichoderma</i> sp. 17
4	INTERIOR	MA	-2	3	4I3.3			EB	2	<i>Cladosporium</i> sp. 4
4	INTERIOR	MA	-2	3	4I3.4			INVIABLE		
4	INTERIOR	MA	-2	3	4I3.5			AS	2	sp. 16
4	INTERIOR	MA	-2	3	4I3.6			INVIABLE		
4	INTERIOR	MA	-2	3	4I3.7			INVIABLE		
4	INTERIOR	MA	-2	3	4I3.8			INVIABLE		
4	INTERIOR	MA	-2	3	4I3.9			KH	1	<i>Trichoderma</i> sp. 16
4	INTERIOR	MA	-4	4	4I4.1			LJ	1	sp. 248
4	INTERIOR	MA	-4	4	4I4.2			FS	1	sp. 135
4	INTERIOR	MA	-4	4	4I4.3			MC	1	sp. 263
4	INTERIOR	MA	-4	4	4I4.4			OY	1	sp. 348
4	INTERIOR	MA	-4	5	4I5.1			Z	3	<i>Fusarium</i> sp. 4
4	INTERIOR	MA	-4	5	4I5.2			Z	2	<i>Fusarium</i> sp. 4
4	INTERIOR	MA	-4	5	4I5.3			DN	1	sp. 83
4	INTERIOR	MA	-4	5	4I5.4			Z	1	<i>Fusarium</i> sp. 4
4	INTERIOR	MA	-4	6	4I6.1			PF	1	sp. 360
4	INTERIOR	MA	-4	6	4I6.2			EH	1	sp. 100
4	INTERIOR	MAG	-2	1	4IG1.1	3		BA	1	sp. 25
4	INTERIOR	MAG	-2	1	4IG1.2	2	+	EE	2	sp. 97
4	INTERIOR	MAG	-2	1	4IG1.3			INVIABLE		
4	INTERIOR	MAG	-2	1	4IG1.4			INVIABLE		
4	INTERIOR	MAG	-2	1	4IG1.5			JR	5	<i>Trichoderma</i> sp. 3
4	INTERIOR	MAG	-2	1	4IG1.6			HU	1	sp. 189
4	INTERIOR	MAG	-2	1	4IG1.7			JR	4	<i>Trichoderma</i> sp. 3
4	INTERIOR	MAG	-2	1	4IG1.8			GR	1	sp. 161
4	INTERIOR	MAG	-2	1	4IG1.9			INVIABLE		
4	INTERIOR	MAG	-2	2	4IG2.1	6		KZ	2	sp. 239
4	INTERIOR	MAG	-2	2	4IG2.2			JD	1	sp. 224
4	INTERIOR	MAG	-2	2	4IG2.3			DL	1	sp. 81
4	INTERIOR	MAG	-2	2	4IG2.4		+	IR	1	sp. 211
4	INTERIOR	MAG	-2	2	4IG2.5			GA	3	sp. 144
4	INTERIOR	MAG	-2	2	4IG2.6			JR	1	<i>Trichoderma</i> sp. 3
4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.1			IW	1	sp. 216
4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.1 0			S	5	sp. 339
4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.1 1		+	CV	1	sp. 66
4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.1 2			INVIABLE		
4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.1 3			INVIABLE		
4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.1 4		+	IY	1	sp. 218
4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.1 5			DQ	1	sp. 86
4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.1 6			S	1	sp. 339
4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.1 7			JT	3	<i>Trichoderma</i> sp. 4

4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.2		+	AR	2	sp. 15
4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.3			JV	2	<i>Trichoderma</i> sp. 1
4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.4		+	CE	1	sp. 53
4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.5			OX	1	sp. 349
4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.6			LL	1	sp. 250
4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.7			OS	1	sp. 350
4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.8			BU	1	<i>Penicillium</i> sp. 1
4	INTERIOR	MAG	-2	3	4IG3.9		+	IE	1	sp. 198
4	INTERIOR	MAG	-4	4	4IG4.1			DH	1	sp. 77
4	INTERIOR	MAG	-4	4	4IG4.2			MA	1	<i>Penicillium</i> sp. 8
4	INTERIOR	MAG	-4	4	4IG4.3		+	PK	1	sp. 361
4	INTERIOR	MAG	-4	5	4IG5.1			NT	1	sp. 315
4	INTERIOR	MAG	-4	5	4IG5.2		+	CW	1	sp. 67
4	INTERIOR	MAG	-4	5	4IG5.3			AX	2	sp. 21
4	INTERIOR	MAG	-4	5	4IG5.4		+	FY	1	sp. 141