Evaluación de los micromicetes asociados a la corteza de fresno en Buenos Aires (Argentina): su capacidad para degradar madera y tolerancia a metales pesados

Evaluation of micromycetes associated with green-ash bark in Buenos Aires (Argentina): their ability to degrade wood and tolerance to heavy metals

Liliana Evelin Navarro[1]*, Laura Levin[2] & Sonia Rosenfeldt[3]

1. Laboratorio de Micología, Fitopatología y Liquenología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Universidad de Buenos Aires, INMIBO-CONICET, Buenos Aires, Argentina.
2. Laboratorio de Micología Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Universidad de Buenos Aires, INMIBO-CONICET, Buenos Aires, Argentina.
3. Laboratorio de Sistemática y Biología Reproductiva en Plantas Superiores, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

*evelin2navarro@gmail.com

Citar este artículo
NAVARRO, L. E., L. LEVIN & S. ROSENFELDT. 2022. Evaluación de los micromicetes asociados a la corteza de fresno en Buenos Aires (Argentina): su capacidad para degradar madera y tolerancia a metales pesados. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 57: 671-685.

DOI: https://doi.org/10.31055/1851.2372.v57.n3.36749

Recibido: 18 Feb 2022
Aceptado: 19 Jul 2022
Publicado en línea: 19 Ago 2022
Publicado impreso: 30 Dic 2022
Editora: María Victoria Vignale

ISSN versión impresa 0373-580X
ISSN versión on-line 1851-2372

Summary

Background and aims: Environmental pollution can affect tree health and biodiversity of microorganisms, among them fungi, existing in the bark. *Fraxinus pennsylvanica* Marsh. is the most cultivated tree in Buenos Aires city. The purposes of this work were to screen the micromycetes present in green-ash wood and bark, to determine if the micromycetes most frequently associated with ash bark produce lignocellulolytic enzymes, to describe the anatomical changes they caused in wood and to evaluate their tolerance to Cu and Pb as indicators of environmental pollution.

M&M: Barks and wood were collected along an urban-periurban gradient. The decay caused *in vitro* in green-ash wood by the most frequently isolated micromycetes was evaluated, anatomical characters were described. The production of lignocellulolytic enzymes by these fungi and their tolerance to Cu and Pb was assessed.

Results: *Diplodia* sp., *Fusicoccum* sp. and *Sordaria* sp. were the most frequently found micromycetes in green-ash bark, whereas *Alternaria* sp., *Diplodia* sp. and *Phialophora* sp. were isolated from wood. None of them caused symptoms of soft rot. They colonized ash wood *in vitro* but neither important wood weight losses were detected (3-5% after 6 months) nor micro anatomical relevant changes. Cellulolytic activity was produced by all the assayed micromycetes. All of them were able to grow with the addition of 250 mg/Kg of Cu or 1000 mg/Kg of Pb.

Conclusions: The micromycetes most frequently isolated did not affect tree health. Their tolerance to high concentrations of heavy metals suggests their potential as biomonitors of environmental pollution.

Key words

Biomonitoring, contamination, green-ash, micromycetes.

Resumen

Introducción y objetivos: La contaminación ambiental podría afectar el estado sanitario del arbolado y la biodiversidad de microorganismos. *Fraxinus pennsylvanica* Marsh. es uno de los árboles más frecuentes en la Ciudad de Buenos Aires. Los objetivos del trabajo fueron: relevar los micromicetes presentes en la corteza y madera de fresno, determinar si los micromicetes hallados con mayor frecuencia en la corteza producen enzimas lignocelulolíticas, describir los principales cambios anatómicos generados en la madera, y evaluar su tolerancia a metales pesados (Cu y Pb).

M&M: Se recolectaron trozos de corteza y madera en un gradiente urbano-periurbano. Se evaluó el deterioro causado *in vitro* en la madera por los micromicetes aislados con mayor frecuencia. Se determinó la pérdida de peso, se analizaron los cambios anatómicos. Se determinó la producción de enzimas lignocelulolíticas y tolerancia al Cu y Pb.

Resultados: *Diplodia* sp., *Fusicoccum* sp. y *Sordaria* sp. fueron los micromicetes detectados con mayor frecuencia en corteza, mientras que *Alternaria* sp., *Diplodia* sp. y *Phialophora* sp. se aislaron de madera. Ninguno causó síntomas de pudrición blanda, ni pérdidas importantes en el peso seco de la madera (3-5% luego de 6 meses), ni cambios microanatómicos. Se detectó actividad celulolítica en todos los micromicetes evaluados. Todos fueron capaces de crecer en 250 mg/Kg de Cu o 1000 mg/Kg de Pb.

Conclusiones: Los micromicetes presentes en la corteza no afectarían el estado sanitario del arbolado. Su tolerancia a altas concentraciones de metales pesados sugiere potencialidad como biomonitores de contaminación ambiental.

Palabras clave

Biomonitoreo, contaminación, fresno, micromicetes.

Introducción

El fresno (*Fraxinus pennsylvanica* Marsh.) es uno de los árboles más frecuentes en el arbolado urbano y representa el 36% del total de árboles en la Ciudad de Buenos Aires (CABA) según el último censo de 2018 (https://data.buenosaires.gob.ar/dataset/arbolado-publico-lineal). En la década del '70 fue introducido en nuestro país debido a su rápido crecimiento y resistencia a enfermedades, frío y heladas (Filippini *et al.*, 2000). Recientes investigaciones consideran a la parte externa de la corteza como receptor pasivo de la contaminación ambiental, dado que entre sus grietas se deposita material particulado que inmoviliza sustancias gaseosas (Chrabąszcz & Mróz, 2017; Moreira *et al.*, 2018). La contaminación afecta también el estado sanitario del arbolado y, en consecuencia, a la biodiversidad de organismos que los utilizan para su reproducción, alimentación y/o refugio (Schwarze *et al.*, 2000). Entre ellos, los hongos asociados a la corteza y a la madera, que pueden manifestarse de manera endofítica y/o patogénica (Schwarze *et al.*, 2000; Świslowski *et al*., 2020). Cuando actúan como patógenos, secretan enzimas capaces de degradar la lignocelulosa que compone las paredes celulares vegetales (Stempien *et al.*, 2017) y cuando los hongos crecen como endófitos colonizan las plantas sin causar enfermedades produciendo compuestos activos que le otorgan protección contra patógenos y contra la herbivoría (Sánchez-Fernández *et al.*, 2013).

Alrededor del 10% de todas las especies fúngicas descritas pueden causar enfermedades en las plantas. Para ello, deben atravesar las paredes celulares vegetales, importante barrera que previene el ataque fúngico, y producir diversas enzimas que poseen la capacidad de degradar sus principales polisacáridos: celulosa, hemicelulosa y pectina (Glass *et al*., 2013; Kubicek *et al*., 2014). La deposición de lignina en las paredes celulares vegetales incrementa su resistencia y la degradación de este polímero aromático es un prerrequisito para la hidrólisis de los demás componentes de la biomasa vegetal, los cuales son la principal fuente de carbono y energía para los microorganismos (Janusz *et al*., 2017).

Los estudios de biomonitoreo en zonas arboladas se limitan en general a líquenes o musgos (Lijteroff *et al.*, 2009; Milićević *et al*., 2017; Moreira *et al.*, 2018). En Argentina, los líquenes *Usnea amblyoclada* (Carreras & Pignata, 2002) y *Ramalina celastri* (Pignata *et al.,* 2004) fueron utilizados para determinar la calidad del aire y la distribución de metales pesados en la provincia de Córdoba. Los musgos, como los líquenes, son más sensibles a la contaminación reciente y ofrecen escasa información acerca de la contaminación pasada. En cambio, la corteza, como biomonitor de contaminación, posibilita el seguimiento de una zona de estudio a largo plazo y permite identificar y mapear los contaminantes orgánicos e inorgánicos del aire (Chrabąszcz & Mróz, 2017; Alatou & Sahli, 2019; El-Khatib *et al.*, 2020). La corteza abarca todos los tejidos por fuera del cambium vascular. La muerte de las células por fuera de la peridermis lleva a distinguir entre corteza externa muerta de la interna viva. El floema funcional es la parte más interna de la corteza viva (Evert, 2006). La corteza externa absorbe pasivamente la contaminación del aire y la corteza interna podría absorber la contaminación a través del sistema vascular, directamente del suelo. El contenido natural de metales en el medio ambiente es relativamente bajo, pero emisiones excesivas de ellos hacia la atmósfera pueden derivar en su acumulación en algún eslabón de la cadena trófica (Kabata-Pendias, 2011). Además, estos metales poseen diferente capacidad para translocarse a través de la raíz hacia el vástago. Metales como el Co, Cr, Cu, y Pb, que son continuamente liberados al ambiente como resultado de distintas actividades industriales (Iskandar *et al.,* 2011), muestran menor movilidad en comparación a otros elementos como el Ti y Cd. En base a esto, se puede inferir que parte de estos elementos menos móviles presentes en la corteza del arbolado, puede provenir de la contaminación del aire (Chrabąszcz & Mróz, 2017). En trabajos previos, la corteza del fresno fue utilizada para detectar metales pesados (Catinon *et al*., 2009; 2012). Perelman *et al.* (2006) evaluaron la presencia de distintos metales pesados en la corteza de fresno a lo largo de un gradiente de urbanización en el Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA), demostrando que algunas

partículas asociadas a la corteza eran de origen antropogénico y/o geogénico.

Los hongos también pueden utilizarse para monitorear la contaminación ambiental por metales pesados (Lepšová, 1993). Los primeros trabajos con basidiomicetes, en áreas contaminadas, se limitaron a la recolección de basidiomas y la determinación de su contenido de metales pesados (Cuny *et al.*, 2001; Świslowski & Rajfur, 2018). Se conoce poco sobre el comportamiento de los hongos saprótrofos frente a la presencia de metales (Baldrian, 2010). Iskandar *et al*. (2011) determinaron la capacidad de *Aspergillus niger, Penicillium simplicissimum* y *Trichoderma asperellum* para captar Pb y Cu, en soluciones acuosas. Oladipo *et al.* (2018), aislaron micromicetes filamentosos, provenientes de minas de oro y piedras preciosas, y analizaron su tolerancia a diferentes concentraciones de metales pesados. Escasos trabajos de relevamiento de micromicetes presentes en corteza y madera se asocian al monitoreo de contaminación (Kowalski *et al*., 1998; Barengo *et al*., 2000). Existen en Argentina trabajos de relevamiento de micromicetes en árboles nativos de diferentes regiones (Sánchez *et al.*, 2018; Catania, 2021), pero sólo Robles (2014) caracterizó el biodeterioro de madera de *Platanus acerifolia* también introducido en el arbolado público de la Ciudad de Buenos Aires, en relación con los agentes etiológicos, los endófitos fúngicos y diferentes niveles de disturbio antrópico.

El presente trabajo tiene como objetivos: I) relevar los micromicetes presentes en la corteza y la madera de fresno; II) determinar si los micromicetes hallados con mayor frecuencia en la corteza, producen enzimas lignocelulolíticas; III) describir los principales cambios anatómicos que generan en la madera los micromicetes más frecuentes, a través de microscopia óptica y microscopia electrónica de barrido; IV) evaluar su tolerancia a la presencia de ciertos metales pesados (Cu y Pb) indicadores de contaminación ambiental.

Materiales y Métodos

Recolección de las muestras

Se recolectaron trozos de corteza y madera de 30 fresnos, a lo largo de un gradiente urbano-periurbano en el AMBA, durante los meses de junio y julio de 2016 y noviembre y diciembre de 2017. Las muestras colectadas correspondieron a dos sectores: a) Urbano (barrio de Constitución, Ciudad Autónoma de Buenos Aires -Coordenadas 34°37’16.1”S 58°23’09.0’’O-y barrio de Floresta, Ciudad Autónoma de Buenos Aires -Coordenadas 34°38’14.8”S 58°28’36.8”O). b) Periurbano (Ezeiza, Provincia de Buenos Aires -Coordenadas 34°46’45.1”S 58°32’17.8’’O).

Se seleccionaron aleatoriamente diez árboles en cada una de las zonas. En la zona urbana se muestrearon en ambas veredas. En el periurbano se trabajó en un área verde al costado del camino de acceso al predio. En todos los casos, los árboles no presentaban síntomas en su fuste y las muestras se extrajeron a la altura del pecho (1,3 m). Siguiendo los postulados de Koch (1882), se aislaron y determinaron los micromicetes presentes en las muestras de corteza y madera. Los micromicetes determinados se depositaron en la micoteca de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires (BAFCcult). Se seleccionaron cepas de tres micromicetes más representativos detectados en la corteza: *Diplodia* sp. (BAFCcult 4759), *Fusicoccum* sp. (BAFCcult 3914). y *Sordaria* sp. (BAFCcult 4761), los cuales fueron hallados en todas las zonas de estudio y en mayor proporción que el resto. Todos los aislamientos de un mismo género pertenecen a la misma especie. Estos hongos fueron utilizados para los ensayos de pérdida de peso, detección de enzimas ligninocelulolíticas y tolerancia a metales pesados.

Aislamientos y metodología

Para realizar los aislamientos se obtuvieron con martillo sacabocado rodajas de madera de 0,5-1 cm de espesor y 0,5 de diámetro y con cuchillo se extrajeron porciones de la corteza asociada (1 cm^2). Las muestras fueron subdivididas y esterilizadas superficialmente con alcohol 70% (30 s), hipoclorito de sodio 1:3 (1 min) y alcohol 50% (30 s). Se sembraron 4 discos de madera o 4 porciones de corteza por caja de Petri con medio Nobles (1965) y cloranfenicol (100 mg/1000 ml). Se incubó en oscuridad a 22°C durante 3-5 días. Las colonias desarrolladas se aislaron y se las cultivó en

medio agar malta (2%), a 22°C en oscuridad. Para la identificación se utilizaron caracteres morfológicos (von Arx, 1970; Carmichael *et al.*, 1980; Sutton 1980; Dennis, 1981). Se realizaron preparados montados en KOH al 3%, floxina y lactofenol. Se determinó la frecuencia de micromicetes presentes y la diversidad de cada área mediante el índice de diversidad de Simpson (1949).

Capacidad de degradación de la madera

Se evaluó la pérdida de peso *in vitro* siguiendo la metodología de Job & Wright (1986). Se inocularon 30 probetas de madera de fresno de 3 x 1 x 0,5 cm con cada uno de los hongos seleccionados (*Diplodia* sp., *Fusicoccum* sp. y *Sordaria* sp.) en medio malta (Nobles, 1965). Las probetas fueron incubadas en oscuridad a 28°C durante 6 meses y cada 2 meses se retiraron 10 de cada tratamiento. Se extrajo el micelio de la superficie; 8 probetas fueron utilizadas para determinar la pérdida de peso y 2 de ellas, para estudios anatómicos. Probetas sin inocular fueron utilizadas como controles.

Estudios anatómicos

Para los estudios de microscopía, las probetas se fijaron en FAA (formaldehído 10%, alcohol etílico 96° 50%, ácido acético glacial 5%, agua destilada 35%) y luego se cortaron en secciones transversales, longitudinales radiales y tangenciales de 15 µm de grosor con micrótomo de deslizamiento. Para microscopía óptica, las secciones se colorearon con Safranina-Fast Green y se montaron en medio sintético PYRM (Zarlavsky, 2014). Los cortes longitudinales radiales se tiñeron con lugol para determinar la presencia de gránulos de almidón. Para los estudios con microscopio electrónico de barrido (MEB), las secciones de las probetas se secaron a temperatura ambiente y metalizaron con oro-paladio durante 3 min. Las fotomicrografías fueron tomadas con el microscopio Philips XL30 del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia.

Relevamiento de la secreción de enzimas lignocelulolíticas

Los micromicetes se cultivaron durante 4 días a 28°C en placas de Petri con medio extracto de malta (2%) agarizado, al cual se le adicionó alternativamente: carboximetilcelulosa (CMC) 0,1% para determinar actividad celulolítica (endoglucanasa), revelada con el colorante Rojo Congo (Carder, 1986); ácido 2,2'- azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS) 0,5 mM para determinar actividad ligninolítica lacasa (Srinivasan *et al.*, 1995); Azure B 50 µM para evaluar actividad ligninolítica lignina-peroxidasa (Archibald, 1992) y $MnCl_2 4H_2O$ 1 mM para testear actividad ligninolítica Mn-peroxidasa (Steffen *et al.*, 2000). Como controles positivos se utilizaron *Trametes versicolor* (BAFCcult 4272) (Kuhar *et al*., 2015) y *Pycnoporus sanguineus* (BAFCcult 2126) (Levin *et al*., 2007). Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Tolerancia a metales pesados

Se cultivaron los micromicetes (*Diplodia* sp., *Fusicoccum* sp. y *Sordaria* sp.) en medio malta agarizado al 2%, al cual se le adicionó $SO_4Cu.5H_2O$ (0; 125; 250; 500 mg/Kg) o Pb $(C_2H_3O_2)_2$ (0; 125; 250; 500 y 1000 mg/Kg). Las placas se incubaron durante 13 días a 28°C en oscuridad. Se midió el radio de crecimiento y se determinó el índice de tolerancia al final del ensayo:

$$\textbf{Índice de Tolerancia} = \frac{\text{radio (mm) de crecimiento con metal adicionado}}{\text{radio (mm) de crecimiento sin adición de metal}}$$

La tolerancia fue valorada según el criterio establecido por Oladipo *et al*. (2018).

Análisis estadístico

Los resultados corresponden a tres réplicas con un error estándar menor al 5%. Para el análisis estadístico de los datos obtenidos, se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) al 5% de nivel de significancia, utilizando el programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2020).

Resultados

Biodiversidad de micromicetes en corteza y madera de fresno

En la Tabla 1, se registran los micromicetes detectados en las 3 zonas de estudio en corteza y madera. En el área del periurbano (localidad

Tabla 1. Frecuencia de micromicetes según las áreas muestreadas.

Micromicete	Urbano (Constitución)		Urbano (Floresta)		Periurbano	
	corteza	madera	corteza	madera	corteza	madera
Alternaria sp. (Pleosporaceae)	-	-	-	-	-	2
Chaetomium globosum (Chaetomiaceae)	-	-	2	-	1	-
Cladosporium sp. (Cladosporiaceae)	-	-	-	-	2	-
Colletotrichum sp. (Glomerellaceae)	-	-	-	-	1	-
Diplodia sp. (Botryosphaeriaceae)	3	-	4	2	3	-
Ellisembia sp. (Sordariomycetes)	-	-	-	-	1	-
Fusarium sp. (Nectriaceae)	2	-	1	-	1	-
Fusicoccum sp. (Botryosphaeriaceae)	4	-	3	-	3	-
Neurospora seminuda (Sordariaceae)	-	-	1	-	-	-
Neurospora tetrasperma (Sordariaceae)	-	-	1	-	-	-
Nigrospora sacchari (Apiosporaceae)	1	-	2	-	1	-
Phialophora sp. (Herpotrichiellaceae)	-	1	-	-	-	-
Phoma sp. (Didymellaceae)	1	-	1	-	1	-
Sordaria sp. (Sordariaceae)	4	-	6	-	-	-
Sporidesmium sp. (Sporidesmiaceae)	-	-	-	-	1	-

de Ezeiza) se encontró mayor diversidad de micromicetes (Índice de Simpson: 0,89), respecto a las zonas urbanas estudiadas: barrios de Constitución (0,81) y Floresta (0,82). *Diplodia* sp. y *Fusicoccum* sp. se encontraron en mayor frecuencia en corteza en todas las áreas relevadas y *Sordaria* sp. en ambas áreas urbanas. En madera se detectaron *Diplodia* sp. (Floresta), *Alternaria* sp. (Ezeiza) y *Phialophora* sp. (Constitución).

Capacidad de degradación de la madera

Las probetas, en todos los casos, se cubrieron superficialmente con micelio al mes de incubación. Sólo se observó desarrollo de estructuras reproductivas en dos de los tres micromicetes: conidiomas en *Diplodia* sp. y ascomas periteciales en *Sordaria* sp. (Fig. 1). Se determinó la pérdida de peso que osciló entre 3-5 % luego de 6 meses de ensayo. No se encontraron diferencias significativas entre las probetas inoculadas con los distintos hongos.

Estudios anatómicos

En todos los casos, se observó desarrollo de micelio a los 2 meses del inicio del ensayo, en comparación al control (Figs. 2A; 3A). Las hifas colonizaron el parénquima radial y los elementos de vaso (Figs. 2B-I; 3B-C, F). Además, se detectaron ascosporas, algunas en germinación, en el lumen de los elementos de vaso, en la madera colonizada por *Sordaria* sp. (Fig. 3C). Al cabo de 6 meses, no se detectaron

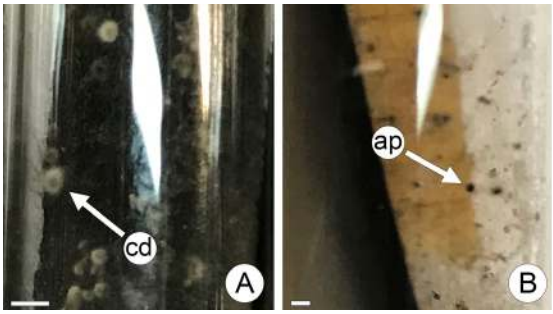

Fig. 1. Probetas de madera de fresno. **A**: Conidiomas de *Diplodia* sp. **B**: Ascomas periteciales de *Sordaria* sp. Abreviaturas= cd: conidioma; ap: ascoma peritecial. Escalas= A: 10 mm; B: 1 mm.

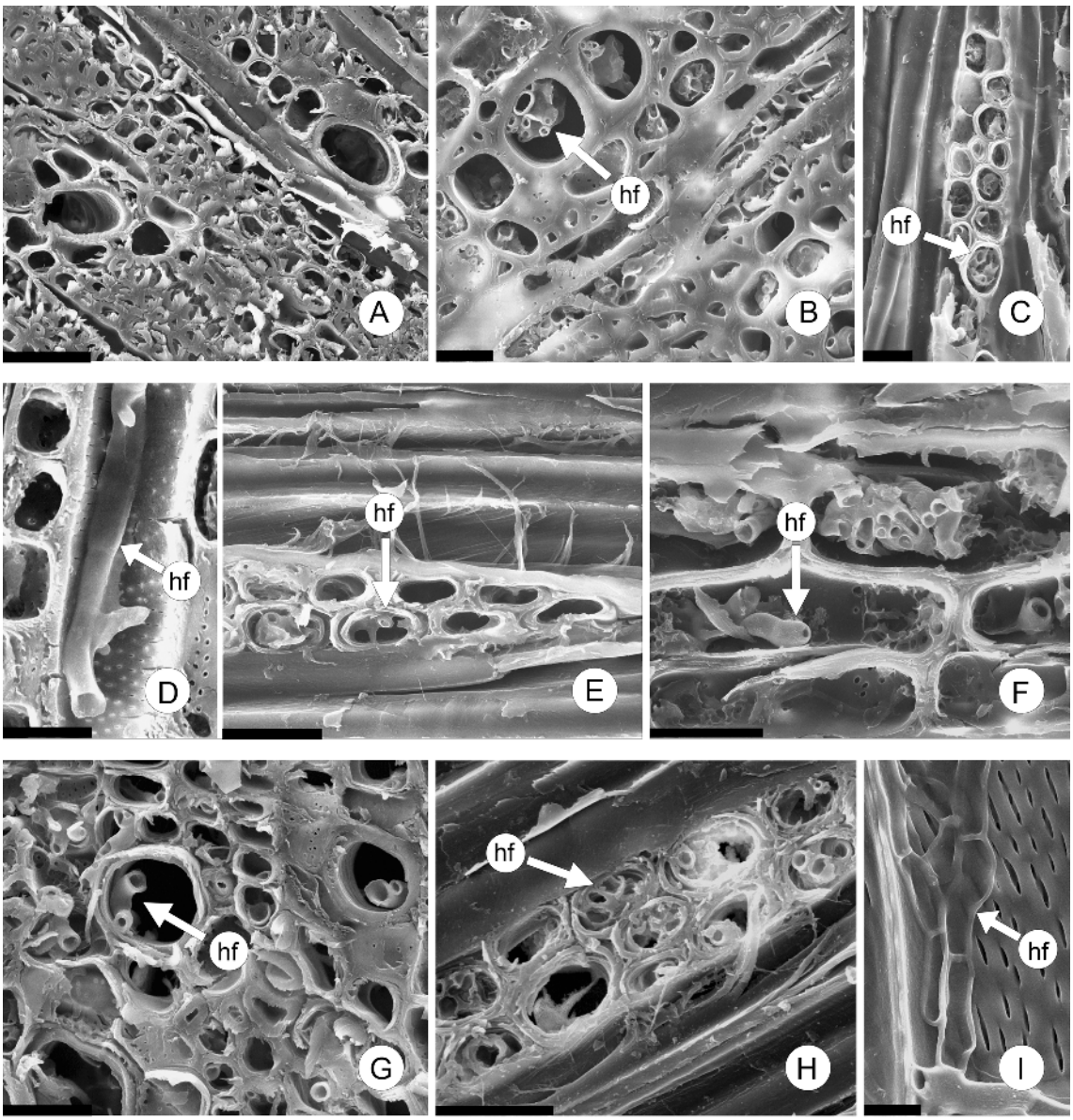

Fig. 2. Fotomicrografías del leño de *F. pennsylvanica* (MEB). **A**: Control (sin inocular). **B-D**: Probetas inoculadas con *Diplodia* sp. **B**: 2 meses, **C**: 4 meses, **D**: 6 meses. **E-F**: Probetas inoculadas con *Fusicoccum* sp. **E**: 2 meses, **F**: 4 meses. **G-I**: Probetas inoculadas con *Sordaria* sp. **G**: 2 meses, **H**: 4 meses, **I**: 6 meses. Abreviaturas= hf: hifa. Escalas= A: 50 µm; B, E-F, H: 20 µm; C-D, H: 25 µm; I: 10 µm.

cambios estructurales de relevancia. Se registró la presencia de gránulos de almidón (Fig. 3D-F).

Relevamiento de la secreción de enzimas lignocelulolíticas

Se detectó actividad celulolítica en todos los micromicetes. No se observó el halo de color verdoso, característico de la oxidación del compuesto ABTS (indicativo de actividad ligninolítica lacasa) en ningún tratamiento, pero sí se produjo un halo rojizo en las placas de *Fusicoccum* sp. No se observó halo de degradación

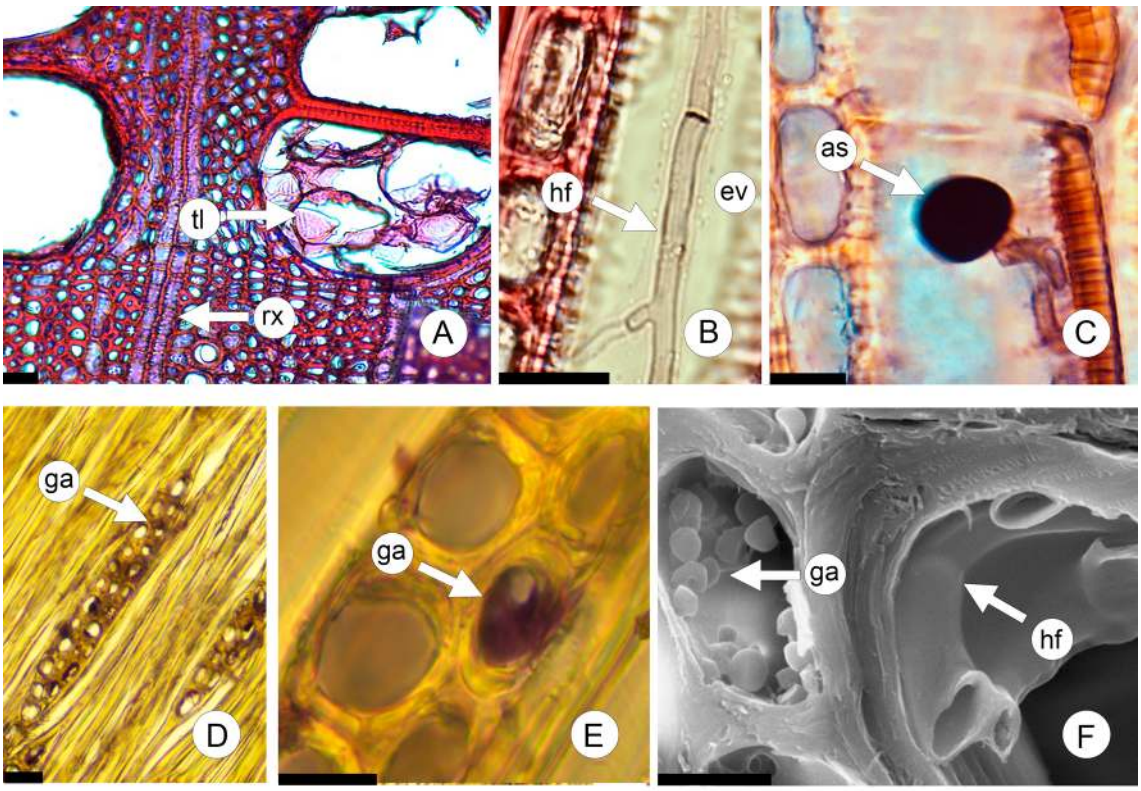

Fig. 3. Cortes del leño de *F. pennsylvanica* (MO). **A**: Control. **B:** Hifa de *Sordaria* sp. en elemento de vaso, **C**: Germinación de ascospora de *Sordaria* sp. en elemento de vaso. **D-F**: Gránulos de almidón en parénquima radial. Abreviaturas= as: ascospora; ev: elemento de vaso; ga: gránulos de almidón; hf: hifa; rx: radio xilemático; tl: tílide. Escalas= A, D: 30 µm; B-C: 20 µm; E-F: 10 µm.

en los cultivos con Azure B, pero sí un cambio de color hacia el verde-azulado en las placas de *Sordaria* sp. y *Fusicoccum* sp. No se observó actividad Mn-peroxidasa en ningún caso (Fig. 4).

Tolerancia a metales pesados

El agregado de 125 mg/Kg de Cu al medio de cultivo no afectó el crecimiento ni la pigmentación oscura del micelio de *Fusicoccum* sp., tampoco el crecimiento de *Sordaria* sp. aunque sí su pigmentación. En cambio, esta concentración de Cu afectó el crecimiento de *Diplodia* sp. (índice de tolerancia: 0,63), pero no modificó su pigmentación. Por otro lado, todos los micromicetes presentaron muy baja tolerancia a la presencia de concentraciones mayores de este metal, su crecimiento disminuyó en un medio con 250 mg/Kg (índices de tolerancia: 0,1-0,28) y sólo *Fusicoccum* sp. fue capaz de crecer en presencia de 500 mg/Kg (índice de tolerancia: 0,07). El agregado de 250 mg/Kg de Cu al medio de cultivo afectó también la melanización del micelio en *Diplodia* sp. y *Sordaria* sp.

Los micromicetes evaluados demostraron mayor tolerancia al Pb ya que concentraciones de este metal de hasta 500 mg/Kg no afectaron su crecimiento. Para una concentración de 1000 mg/Kg de Pb, los índices de tolerancia variaron entre muy bajo (*Fusicoccum* sp.: 0,17), bajo (*Sordaria* sp.: 0,55) y moderado (*Diplodia* sp.: 0,63) de acuerdo al criterio establecido por Oladipo *et al*. (2018) (Tabla 2 y Figs. 5-6.) Se observó una disminución notoria de la capacidad de melanización del micelio en todos los micromicetes con una concentración de 1000 mg/Kg de Pb (Fig. 6).

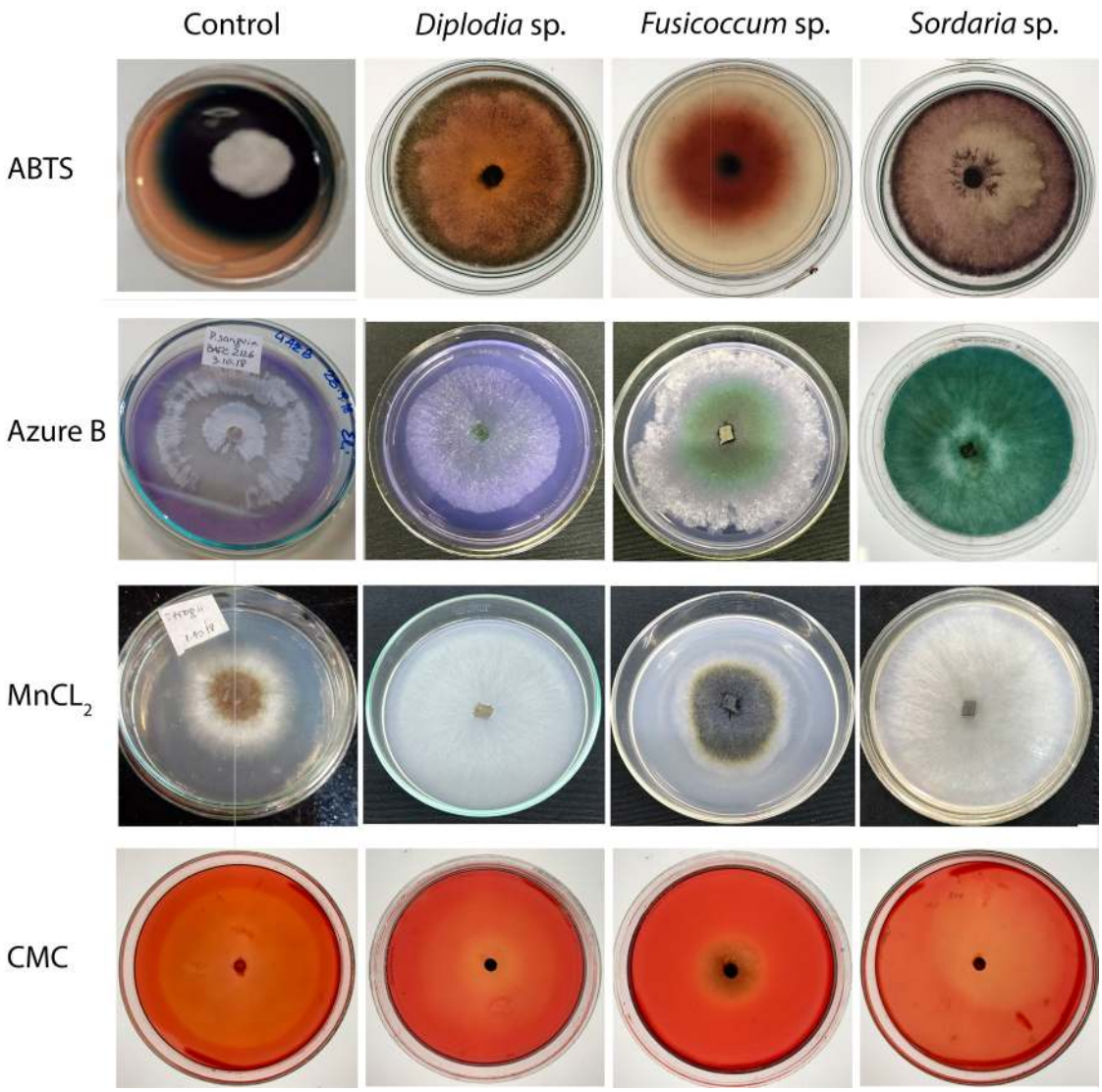

Fig. 4. Relevamiento en placa de actividades lignocelulolíticas.

Tabla 2. Tolerancia de micromicetes a diferentes concentraciones de Cu y Pb (mg/Kg): muy baja (0-0,39), baja (0,4-0,59), moderada (0,6-0,79). NT: no testeado.

Metal	Micromicete	Concentración (mg/Kg)				Tolerancia
		125	250	500	1000	
Pb	*Diplodia* sp.	1	1	1	0,63	Moderada
	Fusicoccum sp.	1	1	1	0,17	Muy baja
	Sordaria sp.	1	1	1	0,55	Baja
Cu	*Diplodia* sp.	0,63	0,1	-	NT	Muy baja
	Fusicoccum sp.	1	0,28	0,07	NT	Muy baja
	Sordaria sp.	1	0,16	-	NT	Muy baja

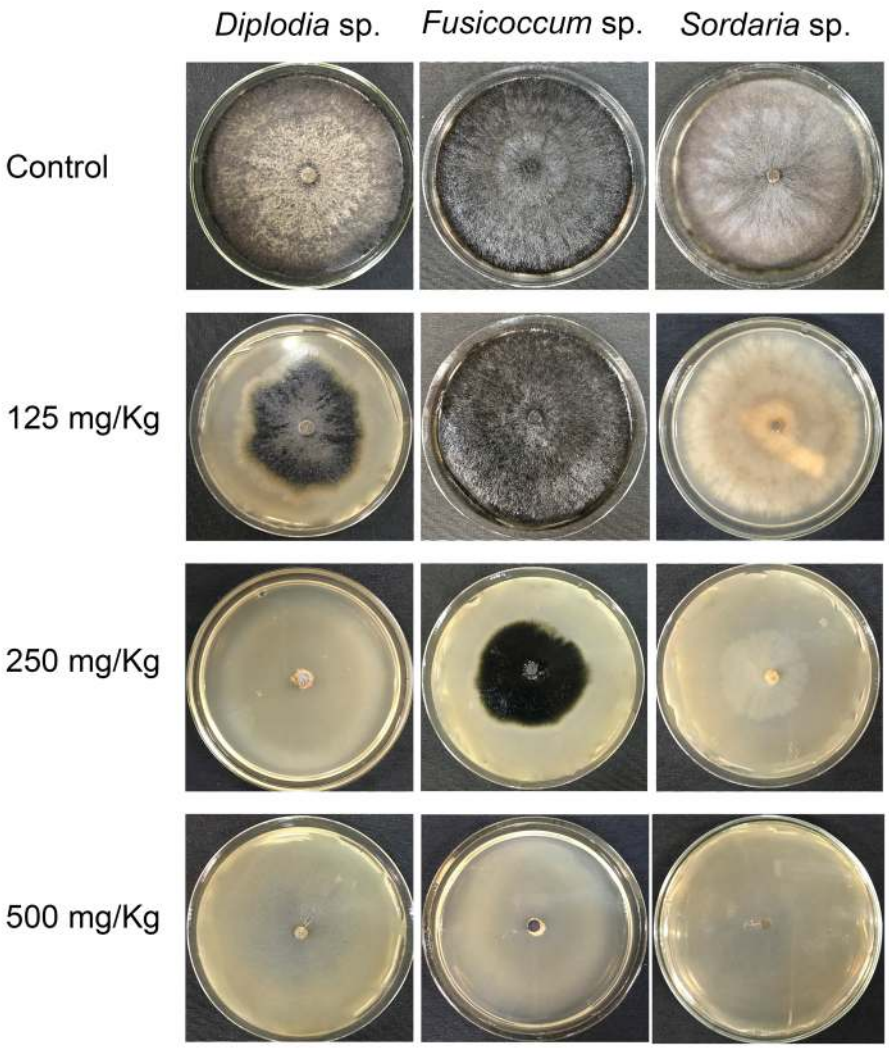

Fig. 5. Efecto de diferentes concentraciones de Cu (control; 125; 250 y 500 mg/Kg) sobre el aspecto de las colonias de *Diplodia* sp., *Fusicoccum* sp. y *Sordaria* sp. a los 13 días de incubación.

Discusión

Biodiversidad de micromicetes en la corteza y madera de fresno

En el periurbano (localidad de Ezeiza), se encontró una mayor diversidad de micromicetes, respecto a las zonas urbanas estudiadas. *Diplodia* sp. y *Fusicoccum* sp. (Botryosphaeriaceae) fueron aislados en mayor proporción en la corteza al igual que *Sordaria* sp. (Sordariaceae). Tanto *Diplodia* como *Fusicoccum* se detectaron en corteza de fresno en ambientes urbanos y periurbanos, probablemente con diferentes niveles de disturbio antrópico. El género *Botryosphaeria,* de distribución cosmopolita, presenta numerosas especies que pueden encontrarse como saprótrofos, endófitos o parásitos. Estas especies han sido objeto de estudio, como parásitos, debido a que afectan a numerosos cultivos comerciales provocando grandes pérdidas económicas. En Argentina, *Botryosphaeria* ha sido el responsable de la muerte de cultivares de vid, manzanos, perales, cítricos, arándanos y árboles de importancia en la industria maderera (Wright *et al.*, 2010; Rista *et al.*, 2011; https://www.sinavimo.

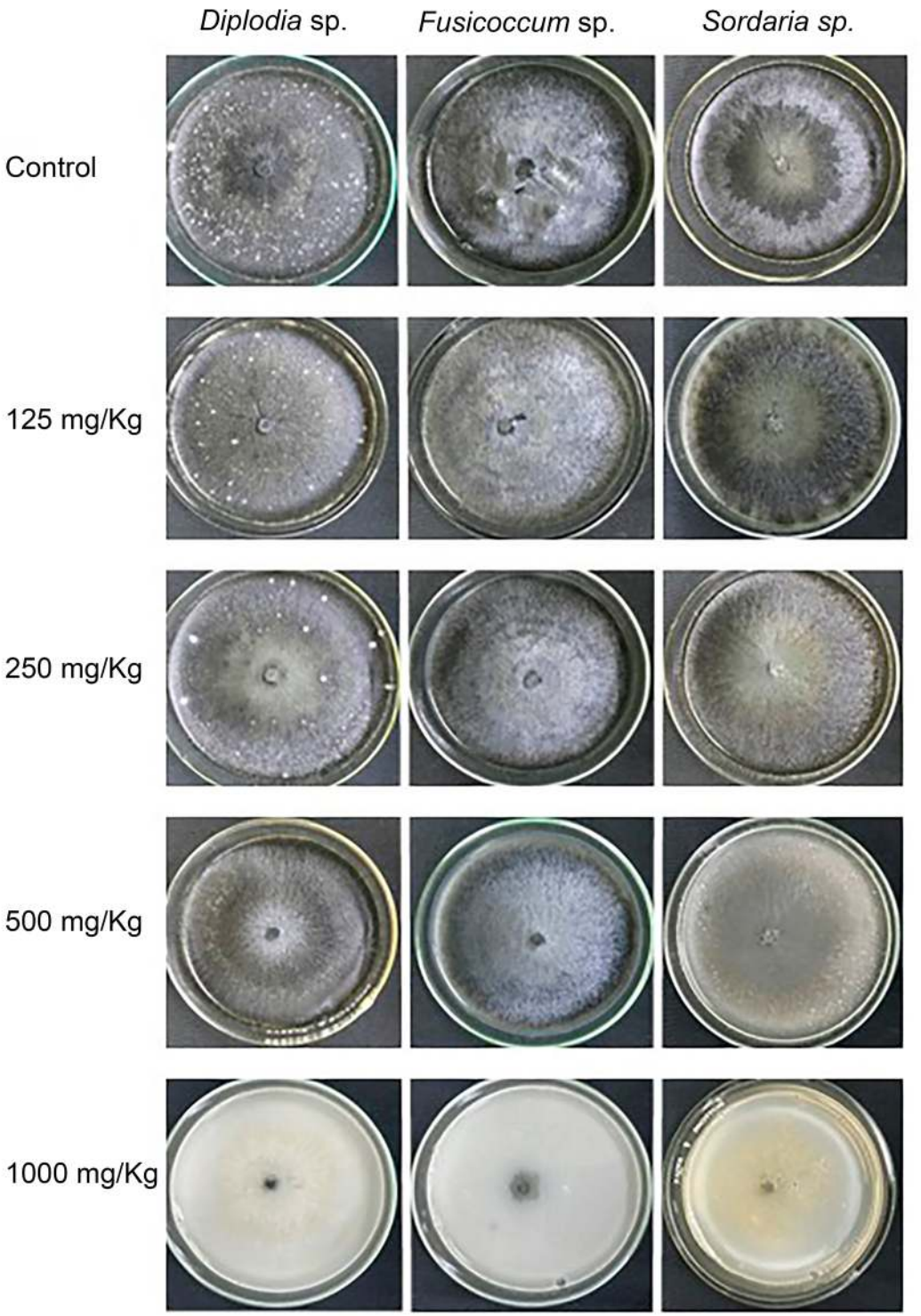

Fig. 6. Efecto de diferentes concentraciones de Pb (control; 125; 250; 500 y 1000 mg/Kg) sobre el aspecto de las colonias de *Diplodia* sp., *Fusicoccum* sp. y *Sordaria* sp. a los 13 días de incubación.

gob.ar/plaga/botryosphaeria-dothidea). El género *Sordaria* pertenece a los Sordariomycetes, hongos saprotróficos de amplia distribución (Dennis, 1981). Los estudios en este género se enfocan en procesos morfológicos (Teichert *et al.*, 2014), genéticos (Nowrousian *et al*., 2012) y en producción de enzimas con posibles aplicaciones biotecnológicas (Yang *et al.,* 2020).

Capacidad de degradación de la madera

De acuerdo al criterio de Findlay (1967), la madera resultó resistente al ataque por los hongos estudiados (pérdida de peso menor al 5 %). Los micromicetes colonizaron los elementos de vaso y el parénquima radial. Sin embargo, durante el período de ensayo no se observó una alteración ultraestructural de la madera. El crecimiento fúngico podría deberse al aprovechamiento de los gránulos de almidón, presentes en el parénquima radial, como fuente de carbono. Se ha comprobado la eficiente secreción de enzimas amilolíticas en otros miembros de la familia Botryosphaeriaceae como *Macrophomina phaseolina* (Fernandes *et al*., 2007).

Relevamiento de la secreción de enzimas lignocelulolíticas en placa

Las micrografías de la madera deteriorada por los micromicetes evaluados, las cuales no mostraron cambios estructurales relevantes, concuerdan con los resultados de los estudios sobre producción enzimática lignocelulolítica *in vitro*, en los cuáles se detectó escasa producción de estas enzimas. Tampoco se detectaron síntomas visibles de pudrición blanda en los árboles muestreados. Los micromicetes evaluados podrían estar actuando como endófitos, sin expresar su batería enzimática. Muchas de las especies de Botryosphaeriaceae se conocen como patógenos oportunistas con una fase latente endofítica y actividad patogénica en plantas sometidas a estrés ambiental (Slippers y Wingfield, 2007; Luo *et al*., 2019; Hrycan *et al*., 2020). En este trabajo, para los tres hongos evaluados, solo se evidenció actividad celulolìtica (endoglucanasa). En el medio con ABTS utilizado para relevar actividad ligninolítica lacasa no se observó la coloración verdosa que típicamente indica la oxidación de este compuesto, sin embargo, en las placas de *Fusicoccum* sp. se detectó una coloración rojiza, que podría atribuirse al dicatión del ABTS oxidado. Gramss (2017) reportó resultados similares asociados a actividad lacasa. También se observó un cambio de color del medio Azure B hacia el verde azulado aunque no se registró decoloración del mismo. Este cambio de coloración hacia el verde azulado, podría ser indicio de actividad peroxidasa (Archibald, 1992; Casciello *et al.,* 2017; Lakshmi *et al.,* 2017) en *Fusicoccum* sp. y *Sordaria* sp. Generalmente los Ascomycota se asocian a una pudrición blanda de la madera. La habilidad para degradar lignina es limitada en este grupo (Cragg *et al*., 2015). Sólo la alteran, facilitando así el acceso a la celulosa y hemicelulosas. Recientemente se identificó la primera peroxidasa decolorante de tintes en un Ascomycota (*Xylaria grammica*), pero aún no existen registros de actividad Mn-peroxidasa-enzima degradadora de la lignina- en hongos de esta división (Kimani *et al*., 2021). Cabe destacar que anteriormente Ishfaq *et al*. (2017) reportaron actividad lacasa en *Sordaria fimicola,* hongo no patogénico. Esteves *et al.* (2014) detectaron expresión de lacasas y celulasas en los 56 aislamientos de Botryosphaeriales que relevaron. La producción de enzimas lignocelulolíticas ha sido escasamente estudiada en este grupo hasta el presente (Esteves *et al.*, 2014).

Tolerancia a metales pesados

Todos los micromicetes evaluados fueron capaces de crecer con el agregado de 250 mg/Kg de Cu y también con 1000 mg/Kg de Pb en placas de extracto de malta agarizada. Sólo *Fusicoccum* sp. toleró 500 mg/Kg de Cu, mientras que *Diplodia* sp. se destacó por su mayor tolerancia al Pb. Una característica asociada a algunos órdenes dentro de Ascomycota es la producción de melanina, la cual se deposita en la pared celular o como polímero extracelular. Este pigmento puede actuar como fotoprotector, intercambiador catiónico, agente quelante, y posee actividades antioxidantes y antimicrobianas. Protege contra un amplio rango de agresiones tóxicas, tanto ambientales como producto de la respuesta inmune del hospedante durante la infección. Tiene además un papel importante en la virulencia de muchos hongos (Cordero & Casadevall, 2017). La melanina fúngica puede adsorber eficientemente distintos metales pesados como Pb y Zn (Fogarty & Tobin, 1996; Iskandar *et al.*, 2011). Los micromicetes

estudiados en este trabajo fueron capaces de crecer en presencia de distintas concentraciones de Pb y Cu, asociados a contaminación ambiental, pero sin embargo estos metales pesados afectaron la producción de melanina. Baldrian (2010) y Kumar *et al.* (2019) reportaron que los metales pesados pueden afectar el crecimiento, la reproducción y la producción enzimática en distintas especies fúngicas. Cabe destacar que todos los micromicetes evaluados resultaron tolerantes a concentraciones de Pb y Cu que exceden los límites globales de Cu y Pb permitidos en suelos (38,9 y 27 mg/Kg, respectivamente) (Kabata-Pendias, 2011).

Conclusiones

Los micromicetes hallados con mayor frecuencia en la corteza del fresno no afectarían el estado sanitario del arbolado, ya que no ocasionaron pérdidas de relevancia en el peso seco de su madera ni se detectaron cambios microanatómicos en las células del xilema secundario. Estos resultados concuerdan con la escasa producción de enzimas asociadas a la degradación de paredes celulares vegetales relevada *in vitro*. La tolerancia a altas concentraciones de Cu y Pb detectada en los aislamientos de *Diplodia* sp., *Fusicoccum* sp. y *Sordaria* sp. evaluados, sugiere su potencialidad como biomonitores de contaminación ambiental.

Contribución de los Autores

LN coleccionó el material de campo. Todos los autores diseñaron y realizaron la investigación, su interpretación y redacción del manuscrito.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET) (PIP 11220170100283 a LL) y Universidad de Buenos Aires (UBA) (UBACYT 2020020170100163 a LL) por el financiamiento recibido para la realización de este trabajo, y a la Dra. Eliana Melignani por su colaboración con el análisis estadístico.

Bibliografía

ALATOU, H. & L. SAHLI. 2019. Using tree leaves and barks collected from contaminated and uncontaminated areas as indicators of air metallic pollution. *Int. J. Phytoremediation*. 21: 985-997. https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1583723.

ARCHIBALD, F. S. 1992. A new assay for lignin-type peroxidases employing the dye azure B. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 3110-3116. https://doi.org/10.1128/aem.58.9.3110-3116.1992.

BALDRIAN, P. 2010. Effect of heavy metal on saprotrophic soil fungi. In: SHERAMETI, I. & A. VARMA (eds.). *Soil Heavy Metals. Soil Biology.* pp 263-279. Springer. Germany. https://doi.org/10.1007/978-3-642-02436-8_12.

BARENGO, N., T. N., SIEBER & O. HOLDENRIEDER. 2000. Diversity of endophytic mycobiota in leaves and twigs of pubescent birch (*Betula pubescens*). *Sydowia*. 52: 305-320.

CARDER, J. H. 1986. Detection and quantitation of cellulase by congo red staining of substrates in a cup-plate diffusion assay. *Anal. Biochem.* 153: 75-79. https://doi.org/10.1016/0003-2697(86)90063-1.

CARMICHAEL, J. W., W. BRYCE KENDRICK & I. L. CONNERS. 1980. *Genera of Hyphomycetes.* University of Alberta, Canada.

CARRERAS, H. A. & M. L. PIGNATA. 2002. Biomonitoring of heavy metals and air quality in Cordoba City, Argentina, using transplanted lichens. *Environ. Pollut.* 117: 77-87. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(01)00164-6.

CASCIELLO, C., F. TONIN, F. FERINI, E. FASOLI, F. MARINELLI, L. POLLEGIONI & E. ROSINI. 2017. A valuable peroxidase activity from the novel species *Nonomuraea gerenzanensis* growing on alkali lignin. *Biotechnol. Rep*. 13. https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.12.005.

CATANIA, M. V. 2021. Micromycetes on bark and wood of *Podocarpus parlatorei* (Podocarpaceae) from Argentina. *X. Chaetosphaeria* (Chaetosphaeriaceae, Ascomycota). *Bonpladia* 30: 107-118. http://dx.doi.org/10.30972/bon.3014670.

CATINON, M., S. AYRAULT, R. CLOCCHIATTI, O. BOUDOUMA, J. ASTA, M. TISSUT & P. RAVANEL. 2009. The anthropogenic atmospheric elements fraction: a new interpretation of elemental deposits on tree barks. *Atmos. Environ*. 43: 1124-1130. https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2008.11.004.

CATINON, M., S. AYRAULT, O. BOUDOUMA, J. ASTA, M. TISSUT & P. RAVANEL. 2012. Atmospheric element deposit on tree barks: The opposite effects of rain and transpiration. *Ecol. Indic.* 14: 170-177. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.07.013.

CHRABĄSZCZ, M. & L. MRÓZ. 2017. Tree bark, a valuable source of information on air quality. *Pol. J. Envirom Stud.* 26: 453-466. https://doi.org/10.15244/pjoes/65908.

CORDERO, R. J. & A. CASADEVALL. 2017. Functions of fungal melanin beyond virulence. *Fungal Biol. Rev*. 31: 99-112. https://doi.org/10.1016/j.fbr.2016.12.003.

CRAGG, S. M., G. T. BECKHAM, N. C. BRUCE, T. D. H. BUGG, D. L. DISTEL, P. DUPREE, A. G. ETXABE, B. S. GOODELL, J. JELLISON, J. E. Mc GEEHAN, S. J. Mc QUEEN-MASON, K. SCHNORR, P. H. WALTON, J. E. M. WATTS & M. ZIMMER. 2015. Lignocellulose degradation mechanisms across the Tree of Life. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 29: 108-119. https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2015.10.018.

CUNY, D., C. VAN HALUWYN & R. PESCH. 2001. Biomonitoring of trace elements in air and soil compartments along the major motorway in France. *Water Air Soil Pollut.* 125: 273-290. https://doi.org/10.1023/A:1005278900969

DENNIS, R. W. G. 1981. *British Ascomycetes*. Strauss & Cramer, Germany.

DI RIENZO, J. A., F. CASANOVES, M. G. BALZARINI, L. GONZALEZ, M. TABLADA & C. W. ROBLEDO. 2020. InfoStat. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en: http://www.infostat.com.ar.

EL-KHATIB, A. A., N. A. BARAKAT, N. A. YOUSSEF & N. A. SAMIR. 2020. Bioaccumulation of heavy metals air pollutants by urban trees. *Int. J. Phytoremediation*. 22: 210-222. https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1652883.

ESTEVES, A. C., M. SARAIVA, A. CORREIA & A. ALVES. 2014. Botryosphaeriales fungi produce extracellular enzymes with biotechnological potential. *Can. J. Microbiol*. 60: 332-342. https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0134.

EVERT, R. F. 2006. *Esau's Plant Anatomy. Meristems, cells, and tissues of the plant body.* 3rd Ed. Willey, Canada. https://doi.org/10.1002/0470047380.

FERNANDES, L. P., C. J. ULHOA, E. R. ASQUIERI & V. NEVES MONTEIRO. 2007. Produção de amilases pelo fungo *Macrophomina phaseolina*. *Revista Eletrônica de Farmácia* 4: 43-51. https://doi.org/10.5216/ref.v4i1.2120.

FILIPPINI, L. M., L. BUSTILLO, H. P. MORUZZI, G. INOMATA, J. A. FLORENTINO & M. A. LAUDANI. 2000. *El arbolado de la Ciudad de Buenos Aires: situación y estado actual, metodología para su estudio, pautas para su manejo racional*. Santísima Trinidad, Buenos Aires.

FINDLAY, W. P. K. 1967. Timber pests and diseases. Pergamon series of monographs on furniture and timber. Pergamon Press, United Kingdom. https://doi.org/10.1016/C2013-0-01899-3.

FOGARTY, R. V. & J. M. TOBIN. 1996. Fungal melanins and their interactions with metals. *Enzyme Microb. Technol*. 19: 311-317. https://doi.org/10.1016/0141-0229(96)00002-6.

GLASS, N. L., M. SCHMOLL, J. H. D. CATE & S. CORADETTI. 2013. Plant cell wall deconstruction by ascomycete fungi. *Annu. Rev. Microbiol.* 67: 477-498. https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092611-150044.

GRAMSS, G. 2017. Reappraising a controversy: Formation and role of the azodication ($ABTS^{2+}$) in the laccase-ABTS catalyzed breakdown of lignin. *Fermentation* 3: 27. https://doi.org/10.3390/fermentation3020027.

HRYCAN, J., M. P. HARTBOWEN, T. FORGE & J. R. ÚRBEZ-TORRES. 2020. Grapevine trunk disease fungi: their roles as latent pathogens and stress factors that favour disease development and symptom expression. *Phytopathol. Mediterr.* 59: 395-424. https://doi.org/10.14601/Phyto-11275.

ISHFAQ, M., N. MAHMOOD, I. A. NASIR & M. SALEEM. 2017. Biochemical and molecular analysis of laccase enzyme in saprobic fungus *Sordaria fimicola*. *Int. J. Agric. Biol.* 19: 204-210. https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0265.

ISKANDAR, N. L., N. A. I. M. ZAINUDIN & S. G. TAN. 2011. Tolerance and biosorption of copper (Cu) and lead (Pb) by filamentous fungi isolated from a freshwater ecosystem. *J. Environ. Sci.* 23: 824-830. https://doi.org/10.1016/S1001-0742(10)60475-5.

JANUSZ G., A. PAWLIK, J. SULEJ, U. ŚWIDERSKA-BUREK, A. JAROSZ-WILKOLAZKA & A. PASZCYŃSKY. 2017. Lignin degradation: microorganisms, enzymes involved, genomes

analyses and evolution. *FEMS Microbiol. Rev*. 41: 941-962. https://doi.org/10.1093/femsre/fux049.

JOB, D. J. & J. E. WRIGHT. 1986. Experimental wood-rot of *Salix humboldtiana* blocks by species of *Hymenochaete* (Aphyllophorales). *Mater. und Org.* 21: 301-310.

KABATA-PENDIAS, A. 2011. *Trace elements in soils and planta.* 4th ed. CRC Press, USA.

KIMANI, V., R. ULLRICH, E. BÜTTNER, R. HERZOG, H. KELLNER, N. JEHMLICH, M. HOFRICHTER & C. LIERS. 2021. First dye-decolorizing peroxidase from an ascomycetous fungus secreted by *Xylaria grammica*. *Biomolecules*. 11. https://doi.org/10.3390/biom11091391.

KOWALSKI, T. & M. GAJOSEK. 1998. Endophytic mycobiota in stems and branches of *Betula pendula* to a different degree affected by air pollution. *Austrian J. Mycol.* 7: 13-24.

KUBICEK, C. P., T. L. STARR & N. L. GLASS. 2014. Plant cell wall–degrading enzymes and their secretion in plant-pathogenic fungi. *Annual Rev. Phytopathol*. 52: 427-451. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-102313-045831.

KUHAR, F., V. CASTIGLIA & L. LEVIN. 2015. Enhancement of laccase production and malachite green decolorization by co-culturing *Ganoderma lucidum* and *Trametes versicolor* in solid-state fermentation. *International Biodeterior. Biodegrad.* 104: 238-243. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.06.017.

KUMAR, A., A. K. CHATURVEDI, K. YADAV, K. P. ARUNKUMAR, S. K. MALYAN, P. RAJA & A. N. YADAV. 2019. Fungal phytoremediation of heavy metal-contaminated resources: current scenario and future prospects. In: YADAY, A., S. SINGH, S. MISHRA & A. GUPTA (eds). *Recent Advancement in White Biotechnology through Fungi.* pp. 437-461. Springer, Germany. https://doi.org/10.1007/978-3-030-25506-0_18.

LAKSHMI, K. M. S., P. S. SOUMYA, A. SHAJI & P. NAMBISAM. 2017. *Lenzites elegans* KSG32: a novel white rot fungus for synthetic dye decolourization. *J. Bacteriol. Mycol: Open Access*. 5: 311-317. https://doi.org/10.15406/jbmoa.2017.05.00138 .

LEPŠOVÁ, A. 1993. Applicability of fungi to the monitoring of environmental pollution by heavy metals. In: MARKERT, B. (ed.). *Plants as Biomomitors.* pp. 365-378. VCH, Germany. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.16344.60165.

LEVIN L., L. VILLALBA, V. DA RE, F. FORCHIASSIN & L. PAPINUTTI. 2007. Comparative studies of loblolly pine biodegradation and enzyme production by Argentinean white rot fungi focused on biopulping processes. *Process Biochem.* 42: 995-1002. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.03.008.

LIJTEROFF, R., L. LIMA & B. PRIERI. 2009. Uso de líquenes como bioindicadores de contaminación atmosférica en la ciudad de San Luis, Argentina. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 25: 111-120.

LUO, Y., P. S. F. LICHTEMBERG, F. J. A. NIEDERHOLZER, D. M. LIGHTLE, D. G. FELTS & T. J. MICHAILIDES. 2019. Understanding the process of latent infection of canker-causing pathogens in stone fruit and nut crops in California. *Plant Dis.* 103: 2374-2384. https://doi.org/10.1094/PDIS-11-18-1963-RE.

MILIĆEVIĆ, T., M. A. UROŠEVIĆ, G. VUKOVIĆ, S. ŠKRIVANJ, D. RELIĆ, M. V. FRONTASYEVA & A. POPOVIĆ. 2017. Assessment of species-specific and temporal variations of major, trace and rare earth elements in vineyard ambient using moss bags. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 144: 208-215. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.06.028.

MOREIRA, T. C., L. F. AMATO-LOURENCO, G. T. DA SILVA, C. D. SALDIVA DE ANDRÉ, P. A. ANDRE, L. V. BARROZO, J. M. SINGER, P. H. N. SALDIVA, M. SAIKI & G. M. LOCOSSELLI. 2018. The use of tree barks to monitor traffic related air pollution: a case study in São Paulo–Brazil. *Front. Environ. Sci*. 6: 1-12. https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00072.

NOBLES, M. K. 1965. Identification of culture of wood-inhabiting Hymenomycetes. *Can. J. Bot.* 43: 1097-1139. https://doi.org/10.1139/b65-126.

NOWROUSIAN, M., I. TEICHERT, S. MASLOFF & U. KÜCK. 2012. Whole-genome sequencing of *Sordaria macrospora* mutants identifies developmental genes. *G3: Genes/ Genomes/ Genetics*. 2: 261-270. https://doi.org/10.1534/g3.111.001479.

OLADIPO, O. G., O. O. AWOTOYE, A. OLAYINKA, C. C. BEZUIDENHOUT & M. S. MABOETA. 2018. Heavy metal tolerance traits of filamentous fungi isolated from gold and gemstone mining sites. *Braz. J. Microbiol*. 49: 29-37. https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.06.003.

PERELMAN, P., M. A. CASTRO, L. E. NAVARRO, M. RECHI, M. ARRIAGA, S. LÓPEZ, M. MARTÍNEZ CARRETERO & A. FAGGI. 2006. Análisis multielemental de cortezas de fresno (*Fraxinus pennsylvanica*) a lo largo de un gradiente urbano-periurbano en la metrópolis de Buenos Aires. *Rev. Mus. Argent. Cienc. Nat*. 8: 231-236. https://doi.org/10.22179/REVMACN.8.323.

PIGNATA, M. L., C. M. GONZALEZ, E. D. WANNAZ, H. A. CARRERAS, G. L. GUDIÑO & M. S. MARTINEZ. 2004. Biomonitoring of air quality employing in situ *Ramalina celastri* in Argentina. *Int. J. Environ. Pollut*. 22: 409-429. https://doi.org/10.1504/IJEP.2004.005678.

RISTA, L. M., R. MAUMARY, N. F. GARIGLIO & J. C. FAVARO. 2011. *Botryosphaeria dothidea* (Moug.) afectando plantaciones de manzano y duraznero de la región centro-este de Santa Fe. *FAVE- Ciencia Agrarias* 10: 45-52. https://doi.org/10.14409/FA.V10I1/2.4136.

ROBLES C. A. 2014. *Biodeterioro* fúngico de madera en el arbolado urbano: prospección, histopatología y control biológico en plátanos (*Platanus acerifolia*). Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

SÁNCHEZ, R. M, C. C. CARMARÁN & M. V. BIANCHINOTTI 2018. *Ostreichnion* (Dothideomycetes, Ascomycota) en los bosques andino patagónicos (Argentina). *Darwiniana* 6: 47-57. https://www.jstor.org/stable/26852065.

SÁNCHEZ- FERNÁNDEZ R. E., B. L. SÁNCHEZ-ORTIZ, Y. K. M. SANDOVAL-ESPINOSA, Á. ULLOA-BENÍTEZ, B. ARMENDÁRIZ-GUILLÉN, M. C. GRACÍA-MÉNDEZ & M. L. MACÍAS-RUBALCAVA. 2013. Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *TIP* 16: 132-146. https://doi.org/10.1016/S1405-888X(13)72084-9.

SCHWARZE, F. W. M. R, J. ENGELS & C. MATTHECK. 2000. *Fungal Strategies of Wood Decay in Trees.* Springer-Verlag, Germany.

SISTEMA NACIONAL DE VIGILANCIA Y MONITOREO DE PLAGAS [online]. Disponible en: https://www.sinavimo.gob.ar/plaga/botryosphaeria-dothidea. [Acceso: 23 diciembre 2021].

SIMPSON, E. H. 1949. Measurement of diversity. *Nature* 163: 688-688. https://doi.org/10.1038/163688a0.

SLIPPERS, B., W. A. SMIT, P. W. CROUS, T. A. COUTINHO, B. D. WINGFIELD & M. J. WINGFIELD. 2007. Taxonomy, phylogeny and identification of *Botryosphaeriaceae* associated with pome and stone fruit trees in South Africa and other regions of the world. *Plant Pathol.* 56: 128-139. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01486.x

SRINIVASAN, C., T. M. D'SOUZA, K. BOOMINATHAN & C. A. REDDY. 1995. Demonstration of laccase in the white rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium* BKM-F1767. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 4274-4277. https://doi.org/10.1128/aem.61.12.4274-4277.1995.

STEFFEN, K. T., M. HOFRICHTER & A. HATAKKA. 2000. Mineralisation of ^{14}C-labelled synthetic lignin and ligninolytic enzyme activities of litter-decomposing basidiomycetous fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 54: 819-825. https://doi.org/10.1007/s002530000473

STEMPIEN E., M. L. GODDARD, K. WILHELM, C. TARNUS, C. BERTSCH & J. CHONG. 2017. Grapevine *Botryosphaeria* dieback fungi have specific aggressiveness factor repertory involved in wood decay and stilbene metabolization. *PLoS ONE* 12(12): e0188766. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188766.

SUTTON, B. C. 1980. *The Coelomycetes. Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervulli and Stromata.* CAB, United Kingdom.

ŚWISLOWSKI, P. & M. RAJFUR. 2018. Mushrooms as biomonitors of heavy metals contamination in forest areas. *Ecol. Chem. Eng. S.* 25: 557-568. https://doi.org/10.1515/eces-2018-0037.

ŚWISLOWSKI, P., J. KŘÍZ & M. RAJFUR. 2020. The use of bark in biomonitoring heavy metal pollution of forest areas on the example of selected areas in Poland. *Ecol. Chem. Eng. S*. 27: 195-210. https://doi.org/10.2478/eces-2020-0013.

TEICHERT, I., M. NOWROUSIAN, S. PÖGGELER & U. KÜCK. 2014. The filamentous fungus *Sordaria macrospora* as a genetic model to study fruiting body development. *Adv. Genet.* 87: 199-244. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800149-3.00004-4.

VON ARX, J. A. 1970. *The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture.* Verlag von Cramer, England.

WRIGHT, E. R., A. MANDOLESI, M. C. RIVERA & B. A. PÉREZ. 2010. *Neofusicoccum parvum*, blueberry pathogen in Argentina. *XXVIII International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People (IHC2010): International Symposium.* 926: 619-623. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.926.89.

YANG, X., C. GU & Y. LIN. 2020. A novel fungal laccase from *Sordaria macrospora* k-hell: expression, characterization, and application for lignin degradation. *Bioprocess Biosyst. Eng*. 43: 1133-1139. https://doi.org/10.1007/s00449-020-02309-5.

ZARLAVSKY, G. E. 2014. *Histología Vegetal: Técnicas Simples y Complejas*. Sociedad Argentina de Botánica. Argentina.