

Estudio de la degradación de *Typha latifolia* L. en bañados de desborde fluvial

LIC. ALAN SANTIAGO TARDA

Directores:
Dra. Nora Gómez y Dr. Mario Saparrat

Trabajo de tesis para optar por el título de
Doctor en Ciencias Naturales

**Facultad de Ciencias Naturales y Museo
Universidad Nacional de La Plata
2023**



**UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA**


**Facultad de Ciencias
Naturales y Museo**

Agradecimientos

Quiero agradecer a mis directores Nora y Mario, por el acompañamiento brindado, las oportunidades de aprender, la dedicación y el tiempo dado durante todos estos años de tesis doctoral.

A mis compañeros de laboratorio por la contención y el aprendizaje, a Joaco y Belu por ayudarme en las actividades realizadas en la tesis. A Ro, Mechi y Pau por las charlas y el apoyo en todo momento. A Deli por la ayuda que me brindo siempre. A Agos y Mica, por la buena energía con la que renuevan el laboratorio.

A Palito y Hernán Benítez por la ayuda durante los muestreos. A Jorge y Maxi por los análisis y la colaboración brindada. A todos los demás compañeros del ILPLA que siempre brindaron la buena predisposición, el compañerismo, las charlas y las juntadas que permitieron hacer más llevadero el doctorado. A Sebastián por las charlas en los congresos y la ayuda en la identificación de los hongos.

A mi familia que siempre me apoyo. Mis padres, Carlos y Flor, que siempre me acompañaron y me sostuvieron a lo largo de estos años. A mis hermanos, Fabi y Sole, mis sobrinos Pedro y Viki. A la tía Alicia con quien hicimos las bolsas para la tesis. A la tía Andrea que además de ayudarme con el diseño me acompañó durante esta etapa.

A Julio, por el compañerismo, el aguante siempre, los viajes y el compartir juntos. A mis amigos de la facu Erasmo, Ger, Adri, Pancho, Euge, Ailu, Andre, Flor, Maru, Vicky y Lau. A mis amigos del colegio Nahue, Marcos, Mau, Laure, Pablo, Juli, Her y Bel. También quiero agradecer a Puchi, que me acompañó en todo momento por todo el amor brindado.

A los jurados, por su tiempo dedicado y por los aportes, correcciones y sugerencias que enriquecieron la tesis e hicieron que sea una mejor versión. También quiero agradecer a todo el personal de la secretaria de posgrado de la facultad de Ciencias Naturales y Museo. Por último, quiero agradecer a la educación pública, la Universidad Nacional de La Plata y la Facultad de Ciencias Naturales y Museo por la formación de grado y posgrado. Al CONICET por la beca que me permitió realizar esta tesis doctoral y todos los proyectos que financiaron a la misma.

Resumen	1
1. Introducción al estudio de los hongos asociados a la descomposición de restos foliares de <i>T. latifolia</i> L. en bañados de desborde fluvial.....	7
1.1. Los hongos acuáticos del subreino Dikarya	7
1.2. Bañados de desborde fluvial y sus macrófitas.....	11
1.3. Estado de arte sobre el estudio de los hongos acuáticos del subreino Dikarya en el Cono Sur de Sudamérica	15
1.4. La influencia de la calidad del agua sobre el proceso de descomposición del material vegetal	19
1.5. Marco conceptual	20
1.6. Hipótesis, predicciones y objetivos	22
2. Esporulación de hongos acuáticos asociados a restos foliares de <i>T. latifolia</i> L. (Typhaceae) en descomposición en bañados de desborde fluvial de la llanura pampeana con diferentes calidades del agua como consecuencia de los usos del suelo.....	24
2.1. Introducción	24
2.2. Hipótesis y objetivos	26
2.3. Materiales y Métodos	26
2.3.1. Área de estudio	26
2.3.2. Análisis fisicoquímicos del agua de los bañados.....	33
2.3.3. Diseño del ensayo	33
2.3.4. Ensayo de esporulación <i>in-vitro</i> , riqueza y diversidad de hongos acuáticos.....	34
2.3.5. Pérdida de masa de los restos foliares de <i>T. latifolia</i>	36
2.3.6. Análisis estadísticos.....	36
2.4. Resultados	37
2.4.1. Datos meteorológicos	37
2.4.2. Características fisicoquímicas del agua.....	38
2.4.3. Tasa de esporulación, riqueza y diversidad de los hongos que colonizan restos foliares de <i>T. latifolia</i>	40
2.4.4. Pérdida de masa de restos foliares de <i>T. latifolia</i>	41
2.5. Discusión	50
3. Análisis comparativo de la tasa de descomposición y de la microbiota en material foliar de <i>T. latifolia</i> L. en dos bañados de desborde fluvial de la llanura pampeana con diferente calidad del agua	54
3.1. Introducción	54
3.2. Hipótesis y objetivos	58
3.3. Materiales y Métodos	59

3.3.1. Método de muestreo y estimación de descomposición del material vegetal	59
3.3.2. Análisis fisicoquímico del agua	61
3.3.3. Análisis elemental de C, N y P del material vegetal	61
3.3.4. Caracterización físicoquímica de la matriz polimérica del material vegetal a través de FT-IR	62
3.3.5. Análisis de los componentes del color digital del material foliar	63
3.3.6. Tasa de esporulación, abundancia, riqueza y diversidad de los hongos acuáticos asociados al material foliar de <i>T. latifolia</i>	64
3.3.7. Actividad β -glucosidasa	64
3.3.8. Análisis estadísticos	64
3.4. Resultados	65
3.4.1. Análisis fisicoquímico del agua	65
3.4.2. Tasa de descomposición de los restos foliares de <i>T. latifolia</i>	70
3.4.3. Composición de macronutrientes de los restos foliares de <i>T. latifolia</i>	71
3.4.4. Caracterización físicoquímica de la matriz polimérica de los restos foliares de <i>T. latifolia</i>	74
3.4.5. Análisis del color digital de la matriz polimérica de los restos foliares de <i>T. latifolia</i> durante su incubación	78
3.4.6. Tasa de esporulación y análisis del ensamble de hongos acuáticos	81
3.4.7. Actividad enzimática	88
3. 5. Discusión	89
4. Efecto de la exposición aguda del glifosato y el tebuconazole sobre la esporulación de hongos acuáticos asociados a los restos foliares de <i>T. latifolia</i> : bioensayo <i>in-vitro</i>	96
4.1. Introducción	96
4.2. Hipótesis y objetivos	99
4.3. Materiales y Métodos	99
4.3.1. Preparación del sustrato y tasa de esporulación	99
4.3.2. Análisis de parámetros fisicoquímicos	102
4.3.3. Cuantificación analítica del glifosato, AMPA y tebuconazole	102
4.3.4. Análisis estadísticos	102
4.4. Resultados	103
4.4.1. Restos foliares de <i>T. latifolia</i> expuestos a glifosato	103
4.4.2. Restos foliares de <i>T. latifolia</i> expuestos a tebuconazole	106
4.5. Discusión	109
5. Conclusiones y perspectivas futuras	113
6. Bibliografía	116
7. Anexos	136

Resumen

Los hongos son microorganismos que cumplen un rol clave en los procesos de descomposición de la materia orgánica en los ecosistemas acuáticos. En esta tesis se estudió la micobiota de bañados de desborde fluvial localizados en la ecorregión pampeana. Estos ecosistemas fluviales tienen un gran desarrollo de macrófitas, entre las cuales se encuentra a *Typha latifolia* L., planta acuática característica de estos ambientes. Las plantas del género *Typha* forman densas comunidades y aportan gran cantidad de materia orgánica a los arroyos, siendo degradada por los microorganismos heterotróficos como los hongos y las bacterias. El objetivo general de esta tesis fue analizar la estructura y función de la micobiota que coloniza a *T. latifolia* y que contribuye a la descomposición de tejidos vegetales expuestos a diferente calidad del agua en bañados de desborde fluvial de arroyos pampeanos.

En el Capítulo 1, se describieron los hongos acuáticos, Ingoldianos, aerocuáticos y facultativos. Se caracterizó a la planta *T. latifolia*, ya que sus restos foliares fueron empleados como sustrato para la colonización fúngica. Además, se realizó una síntesis de los antecedentes sobre estudios de hongos acuáticos en el Cono Sur de Sudamérica. También, se abordó como la calidad del agua afecta a la degradación del material vegetal y a los microorganismos involucrados en este proceso. Por último, se mencionan el marco conceptual, hipótesis y objetivos de la presente tesis doctoral.

En el Capítulo 2 se realizó un experimento *in-situ*, con restos foliares senescentes de *T. latifolia* como sustrato de colonización para los hongos acuáticos. El material vegetal fue sumergido durante 40 días en 2 bañados de desborde fluvial de los arroyos Cajaravillas y Chubichaminí con buena calidad del agua, y en otros 2 bañados de los arroyos Carnaval y Del Gato con calidad opuesta. Este experimento se reiteró 4 veces durante el verano y hasta el invierno del año 2018. La finalidad de este estudio fue analizar la tasa de esporulación, la riqueza, la diversidad y la composición de los ensambles de hongos acuáticos que colonizan y degradan restos foliares de *T. latifolia* expuestos al agua de bañados de desborde fluvial bajo condiciones ambientales contrastantes de la calidad del agua y de variaciones estacionales de temperatura. Los

resultados de la calidad del agua mostraron que los bañados de desborde fluvial Cajaravillas y Chubichaminí tuvieron mayores valores de conductividad, de sólidos totales disueltos y porcentaje de saturación de oxígeno. En cambio, los bañados de los arroyos del Gato y Carnaval mostraron mayores concentraciones de nutrientes y DBO₅, así como de turbidez. En relación a la tasa de esporulación fue significativamente mayor en el mes de julio con respecto a enero y febrero. En relación a la riqueza y diversidad, el bañado Del Gato tuvo mayores valores de estas variables. También la diversidad fue más alta en febrero en relación al mes de mayo. Los resultados de las correlaciones de las variables biológicas con los datos fisicoquímicos, evidenciaron que la tasa de esporulación tuvo una correlación negativa con la temperatura y con carga de materia orgánica total. En relación a la diversidad, se observó que se correlacionó de forma positiva con la concentración de nitrógeno del agua. Por último, se observaron diferentes taxa que caracterizaron los ensambles de hongos acuáticos, ya que ciertos hongos Ingoldianos se vincularon a mayores concentraciones de oxígeno disuelto, pH y menor concentración de nutrientes, mientras que gran parte de los hongos facultativos se relacionaron a mayores concentraciones de nutrientes.

El segundo experimento *in-situ* fue tratado en el Capítulo 3, con el propósito de describir la descomposición de restos foliares de *T. latifolia* en 2 bañados de desborde fluvial con calidad de agua contrastante, analizando la dinámica de la composición elemental y de la matriz polimérica del sustrato durante el proceso, así como los ensambles de hongos que colonizan el sustrato durante todo el proceso y los niveles de la actividad de β -glucosidasa. Para ello, se colocaron bolsas (con un tamaño de poro de 1 μ m) con una masa seca constante de fragmentos de hojas de *T. latifolia* durante 216 días, en el otoño del 2019 y hasta fines de la primavera siguiente, en los bañados de desborde fluvial de los arroyos Chubichaminí y Del Gato. Los restos foliares fueron colectados periódicamente. Los resultados revelaron que la descomposición fue mayor en el bañado del arroyo Chubichaminí, donde se encontró una pérdida de masa de 60% al final del ensayo. Con respecto a la composición de nutrientes elementales de los restos foliares, se evidenció un enriquecimiento en fósforo en el material incubado en el bañado del arroyo Del Gato hacia el final del proceso. En relación con los polímeros componentes de la pared celular, como celulosa, hemicelulosa y lignina, se

evidenciaron (analizados a través de espectroscopía infrarroja transformada de Fourier) cambios en sus cantidades relativas al final del ensayo en ambos bañados de desborde fluvial. Estas variaciones demuestran la transformación del material vegetal durante los 216 días. Con respecto a los hongos que colonizaron los restos foliares de *T. latifolia*, se encontraron mayores tasas de esporulación en el bañado del arroyo Chubichaminí durante el proceso de descomposición. Por último, se observó un mayor nivel de actividad de la enzima β -glucosidasa en los restos vegetales incubados en el bañado del arroyo Chubichaminí. En relación a la categoría ecológica de los hongos acuáticos identificados, se encontró un mayor número de hongos Ingoldianos en los restos foliares incubados en el bañado Chubichaminí. En cambio, un mayor número de hongos facultativos fueron registrados en el bañado del arroyo Del Gato.

En el Capítulo 4, se realizó un bioensayo *in-vitro*, con el objetivo de analizar el efecto de la exposición aguda del glifosato y del tebuconazole sobre la tasa de esporulación de los hongos acuáticos. Para ello se emplearon restos foliares de *T. latifolia* previamente incubados en el bañado de desborde fluvial del arroyo Chubichaminí. El material foliar fue expuesto a tres concentraciones de glifosato y una de tebuconazole. Los resultados obtenidos mostraron que el glifosato tanto a bajas como a altas concentraciones no afectó la tasa de esporulación de forma significativa, en cambio el tebuconazole redujo esta variable significativamente. Con respecto a los taxa encontrados, ellos respondieron diferencialmente a la exposición aguda al glifosato y al tebuconazole, demostrando que algunos taxa activan su tasa de esporulación mientras que otros limitan la producción de sus esporas.

Por último, en el Capítulo 5 se encuentran las conclusiones de esta tesis de acuerdo con los resultados obtenidos en cada experimento y las perspectivas futuras de trabajo. Los resultados encontrados en esta tesis, a través de distintos abordajes metodológicos, si bien son preliminares, han demostrado que los factores ambientales entre ellos la calidad del agua modulan la esporulación de diferentes hongos acuáticos, la composición de sus ensambles y la descomposición de los restos foliares de *T. latifolia*, demostrando la contribución que estas variables pueden aportar al diagnósticos de la integridad ecológica como representantes del compartimento de descomponedores en los ecosistemas acuáticos.

Abstract

Fungi are microorganisms that play a key role in the decomposition of organic matter in aquatic ecosystems. In this thesis we studied the mycobiota of riverine wetlands located in the Pampean ecoregion. These fluvial ecosystems have a high development of macrophytes, including *Typha latifolia* L., an aquatic plant characteristic of these environments. Plants of the genus *Typha* form dense communities and contribute a large amount of organic matter to the streams, which is degraded by heterotrophic microorganisms such as fungi and bacteria. The overall objective of this thesis was to analyse the structure and function of the mycobiota that colonise *T. latifolia* and contribute to the decomposition of plant tissues exposed to different water quality in overflow marshes of Pampean streams.

In Chapter 1, the aquatic, Ingoldian, aeroaquatic and facultative fungi were described. The plant *T. latifolia* was characterised, as its leaf debris was used as a substrate for fungal colonisation. In addition, a synthesis of the background of studies on aquatic fungi in the Southern Cone of South America was made. Also, it was discussed how water quality affects the degradation of plant material and the microorganisms involved in this process. Finally, the conceptual framework, hypotheses and objectives of this doctoral thesis are mentioned.

In Chapter 2, an in-situ experiment was conducted using senescent leaf litter of *T. latifolia* as a colonisation substrate for aquatic fungi. The plant material was submerged for 40 days in two riverine wetlands of the Cajaravillas and Chubichaminí streams with good water quality, and in two riverine wetlands of the Carnaval and Del Gato streams with the opposite water quality. This experiment was repeated 4 times during the summer and until the winter of 2018. The aim of this study was to analyse the sporulation rate, richness, diversity and composition of aquatic fungal assemblages colonising and degrading *T. latifolia* leaf litter exposed to river overflowing marsh water under contrasting environmental conditions of water quality and seasonal temperature variations. Water quality results showed that the Cajaravillas and Chubichaminí riverine wetlands had higher values of conductivity, total dissolved solids and oxygen saturation

percentage. On the other hand, the bathing areas of Del Gato and Carnaval streams showed higher concentrations of nutrients and BOD₅, as well as turbidity. The sporulation rate was significantly higher in July than in January and February. In relation to richness and diversity, the Del Gato wetland had higher values for these variables. Diversity was also higher in February than in May. The results of the correlations of the biological variables with the physicochemical data showed that the sporulation rate was negatively correlated with temperature and total organic matter load. In relation to diversity, it was observed that it was positively correlated with the nitrogen concentration of the water. Finally, different taxa characterising the aquatic fungal assemblages were observed, as certain Ingoldian fungi were associated with higher dissolved oxygen concentrations, pH and lower nutrient concentrations, while most of the facultative fungi were associated with higher nutrient concentrations.

The second in-situ experiment was addressed in Chapter 3, with the purpose of describing the decomposition of *T. latifolia* leaf litter in 2 riverine wetlands with contrasting water quality, analysing the dynamics of the elemental composition and polymeric matrix of the substrate during the process, as well as the fungal assemblages colonising the substrate throughout the process and the levels of β -glucosidase activity. For this purpose, bags (with a pore size of 1 μ m) containing a constant dry mass of *T. latifolia* leaf fragments were placed for 216 days, in the autumn of 2019 and until the end of the following spring, in the of riverine wetlands of the Chubichaminí and Del Gato streams. Leaf debris was collected periodically. The results revealed that decomposition was higher in the Chubichaminí stream, where a mass loss of 60% was found at the end of the trial. With respect to the composition of elemental nutrients in the leaf debris, there was an enrichment in phosphorus in the material incubated in the Del Gato marsh towards the end of the process. In relation to cell wall polymer components, such as cellulose, hemicellulose and lignin, changes in their relative amounts at the end of the test were observed (analysed by Fourier transform infrared spectroscopy) in both river overflow marshes. These variations demonstrate the transformation of the plant material during the 216 days. With respect to the fungi that colonised the leaf remains of *T. latifolia*, higher sporulation rates were found in the Chubichaminí stream swamp during the decomposition process. Finally, a higher level

of β -glucosidase enzyme activity was observed in the plant remains incubated in the Chubichaminí stream swamp. In relation to the ecological category of the aquatic fungi identified, a greater number of Ingoldian fungi were found in the plant leaf litter incubated in the Chubichaminí riverine wetlands. On the other hand, a greater number of facultative fungi were recorded in the Del Gato stream.

In Chapter 4, an in-vitro bioassay was carried out to analyse the effect of acute exposure to glyphosate and tebuconazole on the sporulation rate of aquatic fungi. For this purpose, leaf remains of *T. latifolia* previously incubated in the Chubichaminí stream overflow marsh were used. The leaf material was exposed to three concentrations of glyphosate and one of tebuconazole. The results showed that glyphosate at both low and high concentrations did not significantly affect the sporulation rate, while tebuconazole significantly reduced this variable. With respect to the taxa found, they responded differentially to acute exposure to glyphosate and tebuconazole, showing that some taxa activate their sporulation rate while others limit their spore production.

Finally, Chapter 5 contains the conclusions of this thesis according to the results obtained in each experiment and the perspectives for future work. The results found in this thesis, through different methodological approaches, although preliminary, have shown that environmental factors including water quality modulate the sporulation of different aquatic fungi, the composition of their assemblages and the decomposition of *T. latifolia* leaf litter, demonstrating the contribution that these variables can make to the diagnosis of ecological integrity as representatives of the decomposer compartment in aquatic ecosystems.

1. Introducción al estudio de los hongos asociados a la descomposición de restos foliares de *T. latifolia* L. en bañados de desborde fluvial

1.1. Los hongos acuáticos del subreino Dikarya

Los hongos acuáticos son un grupo de organismos, cuyo ciclo vital se desarrolla total o parcialmente en hábitats acuáticos (Grossart et al., 2019). Ellos participan en diferentes procesos ecológicos de los ambientes acuáticos y son elementos clave en la descomposición de la materia orgánica, tanto autóctona como alóctona (Goh & Hyde, 1996, Romaní et al., 2009). A nivel sistemático, ellos están representados por diferentes grupos de hongos que, en un sentido amplio, incluyen a los hongos de sentido estricto (Reino Fungi) como los phyla Chytridiomycota, Blastocladiomycota y los representantes del subreino Dikarya, Ascomycota y Basidiomycota, y otros pertenecientes al Reino Straminipila (Oomycota) (Shearer et al., 2007; Abdel & Aziz 2008; Tsui et al., 2016). Los hongos del subreino Dikarya, se encuentran habitualmente en los ecosistemas acuáticos (Shearer et al., 2007) y se los clasifica desde una perspectiva ecológica y analizando la morfología de sus propágulos de dispersión (Schoenlein-Crusius & Grandi 2003), en tres principales categorías:

I. Hongos Ingoldianos: también conocidos como hifomicetes acuáticos. Reciben el nombre de Ingoldianos, en honor a su descubridor el micólogo Cecil Terense Ingold, quien los describió por primera vez en 1942 (Bärlocher 2012). Son importantes descomponedores del material foliar en ríos y arroyos (Gessner et al., 2007). Estos hongos diferencian como producto de su reproducción asexual esporas (conidios) hialinas de morfología tetra radiadas o sigmoideas adaptadas al ambiente acuático (Figuras 1.1 y 1.4). Esta morfología hidrodinámica facilita su adhesión a los sustratos y su dispersión en el ambiente acuático (Ingold 1975; Webster 1959; Dix & Webster 1995; Goh 1996). Sin embargo, solo un 10 % de estos hongos bajo ciertas condiciones pueden diferenciar esporas sexuales (Webster 1992) y algunos otros también vivir como endófitos en raíces y partes aéreas de plantas (Sati & Belwal 2005; Chauvet et al., 2016) (Figura 1.5).

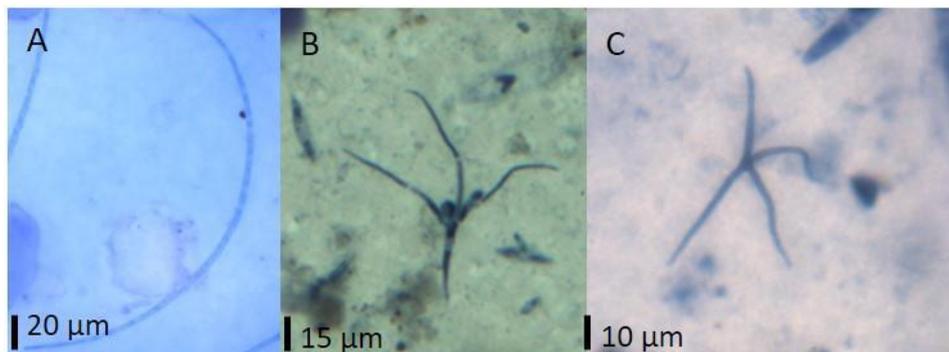


Figura 1.1 Ejemplos de especies de hongos Ingoldianos, *Amniculicola longissima* (Sacc. & P. Syd.) Nadeeshan & K.D. Hyde (A) *Tetracladium marchalianum* De Wild. Ann (B) y *Alatospora acuminata* Ingold (C).

II. Hongos aeroacuáticos: se encuentran asociados al material vegetal en descomposición en arroyos de bajo flujo de corriente y ambientes lénticos (Beverwijk 1951; Gessner et al., 2007) (Figura 1.5). Estos microorganismos generalmente liberan sus esporas por vía aérea y tienen esporas diseñadas para atrapar el aire y de este modo flotan sobre la superficie del agua (Gessner et al., 2007; Voglmayr & Delgado Rodríguez; 2001; Chuaseeharonnachai et al., 2013) (Figura1.2).

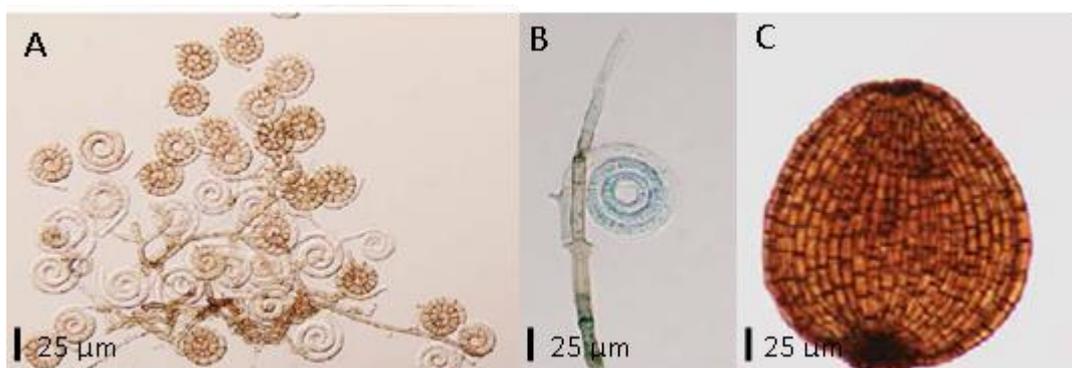


Figura 1.2. Hongos aeroacuáticos, *Helicoma perelegans* Thaxt. ex Linder (A) *Helicoma gracile* (B) *Cancellidium applanatum* Tubaki (C) (Imágenes extraídas de Chuaseeharonnachai et al., 2013).

III. Hongos facultativos: es un grupo heterogéneo también denominado hongos lignícolas (Hyde et al., 2016). Ellos incluyen a representantes dematiáceos y otros con

esporas hialinas, los cuales esporulan tanto por debajo como por encima del agua, siendo generalmente sus esporas carentes de alguna adaptación específica para la dispersión en el agua (Figura 1.3). Se encuentran principalmente asociados a material herbáceo en descomposición y en los restos de madera (Descals & Moralejo 2001; Shearer et al., 2007; Goh & Hyde 1996; Tsui et al., 2016).

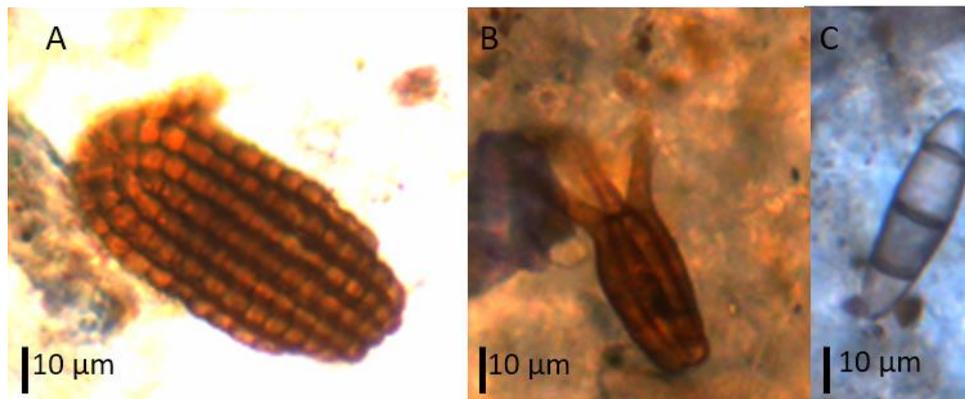


Figura 1.3. hongos facultativos, *Dictyosporium digitatum* J.L. Che (A), *Tetraploa ellisii* Cooke (B) y *Nakataea sigmoidea* (Cavara) Hara (C).



Figura 1.4. Estructuras y procesos fisiológicos dominantes en el ciclo biológico de los hongos Ingoldianos (adaptado de Grossart, 2011).

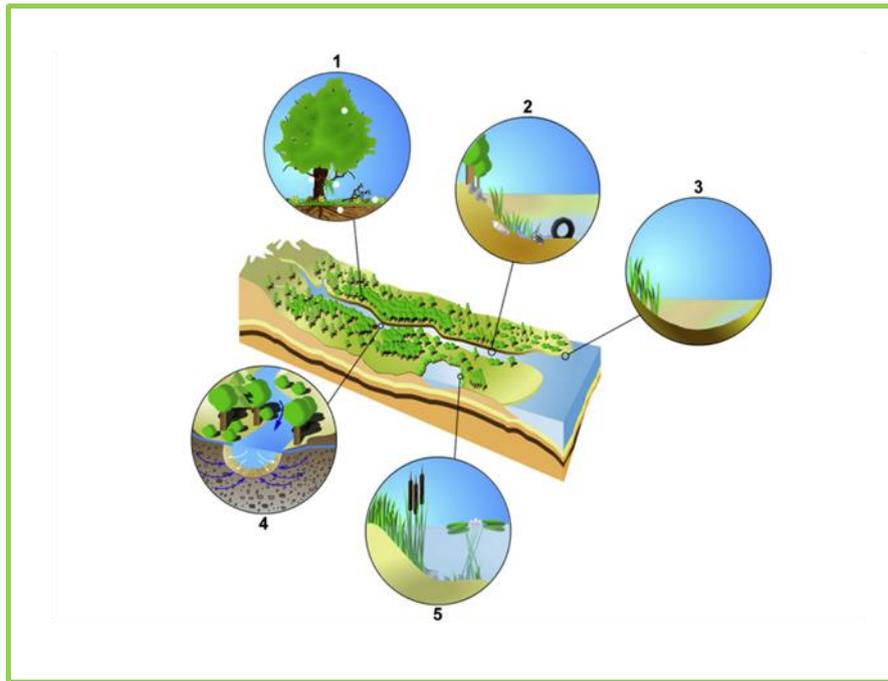


Figura 1.5. Hábitats de los hongos acuáticos 1. Árboles, raíces y suelo de bosques. 2. Ambientes lóticos 3 Estuarios 4. Hábitat hiporreico y aguas subterráneas; 5. Ambientes lénticos. (adaptado de Chauvet et al., 2016).

La colonización de los sustratos en descomposición por los hongos acuáticos involucra la proliferación de sus hifas que causan una acción mecánica permitiendo una mayor accesibilidad a los compuestos químicos componentes de la estructura de los sustratos, facilitando su exposición a la acción enzimática y a la colonización bacteriana (Gulis & Suberkropp 2003). Con respecto a las enzimas, los hongos son capaces de sintetizar exoenzimas que catalizan la descomposición de los polímeros del material vegetal complejo como celulosa, hemicelulosa y lignina (Gulis & Suberkropp, 2003). Todas estas acciones conducen a que la materia orgánica esté disponible para otros organismos como por ejemplo los macroinvertebrados, ya que aumenta la palatabilidad de los sustratos vegetales contribuyendo con el reciclado de materia y energía de los ecosistemas (Graca 2001; Gulis et al., 2006; Graca & Cressa 2010; Balibrea et al., 2020). Por otra parte, los hongos acuáticos, particularmente los Ingoldianos, son potencialmente bioindicadores de la calidad del agua ya que diversos estudios demuestran su estrecha relación con las características físicoquímicas del

agua (Sridhar et al 2000; 2005; Solé et al., 2008; Schoenlein-Crusius et al., 2015; Dubey 2016; Fernandez et al., 2017; Tarda et al., 2019).

1.2. Bañados de desborde fluvial y sus macrófitas

En los ríos y arroyos de la llanura Pampeana es posible reconocer zonas que adquieren transitoriamente características lénticas denominados bañados de desborde fluvial (Ringuelet, 1966). En estos humedales se desarrolla una abundante y diversa vegetación acuática, que cumplen un papel importante en la estructuración del hábitat acuático, ya que favorecen la disminución de la velocidad de la corriente, facilitan la sedimentación de las partículas y brindan amplias superficies con una variada arquitectura vegetal para ser colonizadas por los organismos (Di Giorgi et al., 2005). Por otra parte, las macrófitas son una fuente importante de materia orgánica autóctona que ingresa a ríos y arroyos, las cuales constituyen una parte fundamental de la productividad primaria en los ecosistemas acuáticos (Wetzel & Howe 1999; Lapierre et al., 2009). Formando parte de la vegetación característica de los bañados de desborde fluvial se encuentran las hidrófitas del género *Typha*, comúnmente conocida como totora, o españada, que es el único género de la familia Typhaceae, dentro del orden Poales. El género *Typha*, está compuesto por casi 40 especies e híbridos, de distribución cosmopolita, que se encuentran tanto en zonas templadas y tropicales de ambos hemisferios, con excepción en la Antártida (Kim et al., 2011; Zhou et al., 2018; Bansal et al., 2019). Estas plantas herbáceas y perennes pueden alcanzar hasta tres metros de altura y formar densas comunidades monoespecíficas, floreciendo principalmente en verano (Lahitte et al., 1997; Figura 1. 7 A). Son plantas monoicas, con flores masculinas y femeninas dispuestas en una inflorescencia que se desarrolla como espigas (Lahitte et al., 1997; Anton et al., 2012; Bansal et al., 2019). Cada inflorescencia posee flores masculinas, que son amarillas, en la parte superior y flores femeninas, marrones, en la parte inferior (Zhou et al., 2018; Bansal et al., 2019; Figura 1.6 y 1.7 B). Éstas últimas generan una gran abundancia de semillas que son dispersadas por el viento (Bansal et al., 2019). Estas plantas también se propagan a través de la multiplicación de rizomas subterráneos (Sale & Wetzel 1983). Las plantas del género *Typha*, al igual que otras acuáticas están caracterizadas por

tener un tejido aerenquimatoso interno bien desarrollado que actúa como una vía de difusión eficiente para el intercambio de gases de las partes de la planta que se desarrollan en condiciones anaeróbicas (Armstrong 1978). Esta macrófita es muy común en los ecosistemas acuáticos Pampeanos y debido al crecimiento denso de sus tallos y rizomas, así como a la acumulación de sus restos foliares (Apfelbaum 1985), forma densas comunidades monoespecíficas produciendo una gran cantidad de materia orgánica en los ecosistemas acuáticos (Grace & Wetzel 1981; Bansal et al., 2019; Figura 1.8 A y B). Se ha reportado en bibliografía que estos reservorios de biomasa vegetal producen aproximadamente hasta 1,75 Kg de peso seco por metro cuadrado (Maddison et al., 2009). En esta tesis se seleccionó como modelo de estudio a los restos foliares, particularmente las hojas secas de la especie *T. latifolia* L. encontrada en los bañados de desborde fluvial estudiados (Gomez & Zanotti 2020; Figura 1.7 C).

Las plantas del género *Typha* también tienen aplicaciones diversas ya que son utilizadas para el tratamiento de aguas residuales en humedales artificiales y en la fitorremediación de metales pesados (Perez Garcia 2019; Heidarzadeh et al., 2020). Además, ellas son empleadas por comunidades locales para la producción de artesanías (Kadir et al., 2021) y materiales para la construcción (Mauring 2003; Bajwa et al., 2015). Por último, en estas plantas acuáticas se han encontrado compuestos con propiedades medicinales como antioxidantes y antiinflamatorios (Musara & Aladejana 2020; Romero Moreyra 2021).

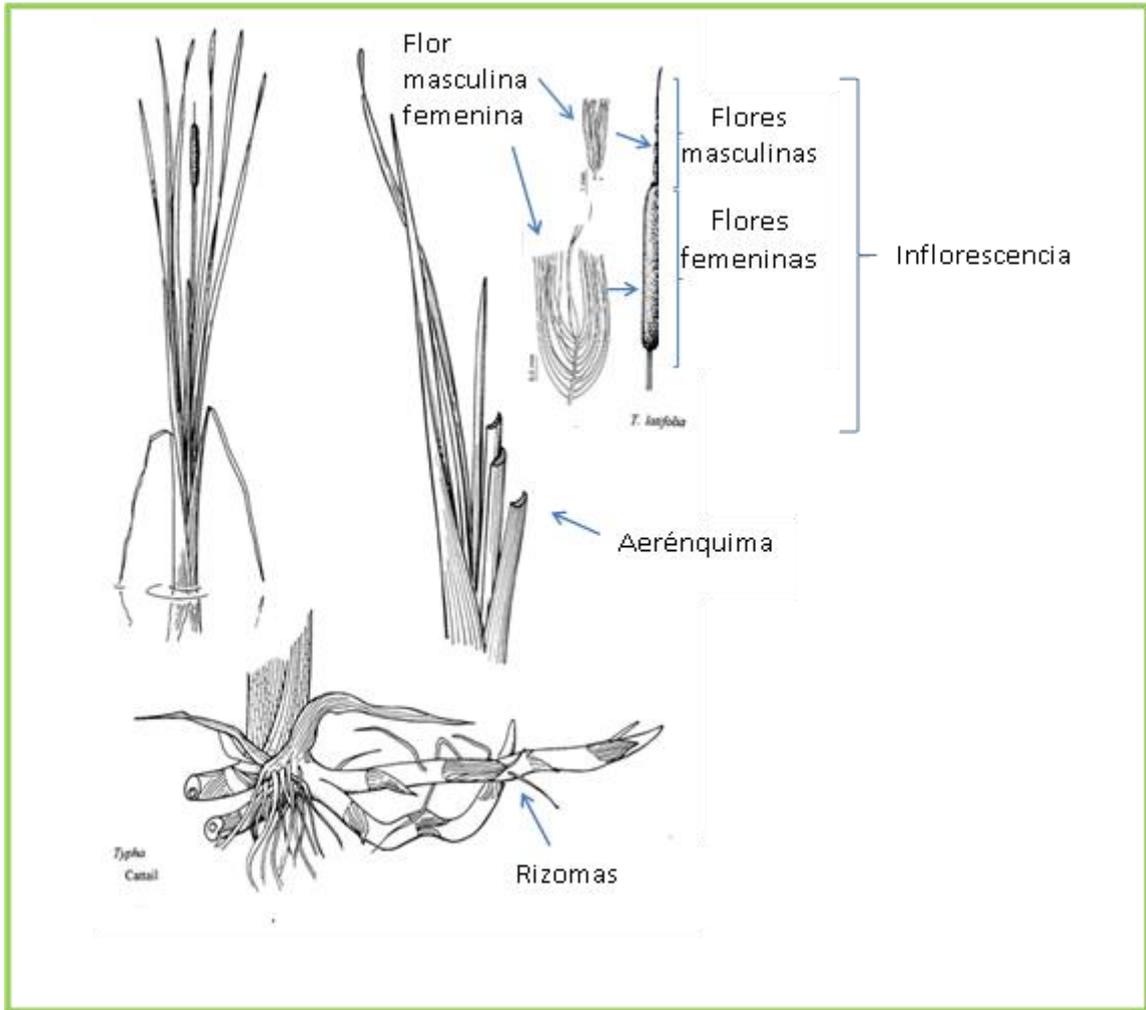


Figura 1.6. Partes constitutivas de *Typha latifolia* L. (Adaptado de <https://plants.ifas.ufl.edu/plant-directory/typha-species>).



Figura 1.7. *T. latifolia* formando densas comunidades en el bañado de desborde fluvial del arroyo Cajaravillas (A), individuos de *T. latifolia* con su inflorescencia característica (B).



Figura 1.8. *T. latifolia* en su etapa senescente los bañados de desborde fluvial de los arroyos Cajaravillas (A) y Carnaval (B), se evidencia la gran cantidad de materia orgánica que aporta al ecosistema (A), detalle de las hojas e inflorescencias en descomposición (B), restos foliares utilizados en este estudio (C).

1.3. Estado de arte sobre el estudio de los hongos acuáticos del subreino Dikarya en el Cono Sur de Sudamérica

A nivel mundial se han estimado más de 3,000 especies de hongos acuáticos que se encuentran en los phyla Ascomycota, Basidiomycota, Blastocladiomycota y Chytridiomycota (Shearer et al., 2007; Abdel-Aziz 2008; Tsui et al., 2016). Con respecto a los hongos acuáticos pertenecientes al Subreino Dikarya (phyla Ascomycota y Basidiomycota), unos 335 corresponden a Ingoldianos, 90 a aeroacuáticos y 405 a facultativos (Shearer et al., 2007; Duarte et al., 2016; Tarda et al., 2022). Estos microorganismos descomponedores han sido muy estudiados particularmente en regiones templadas del hemisferio norte principalmente en Europa y Norteamérica (Jabiol et al., 2013; Duarte et al., 2016; Figura 1.9).

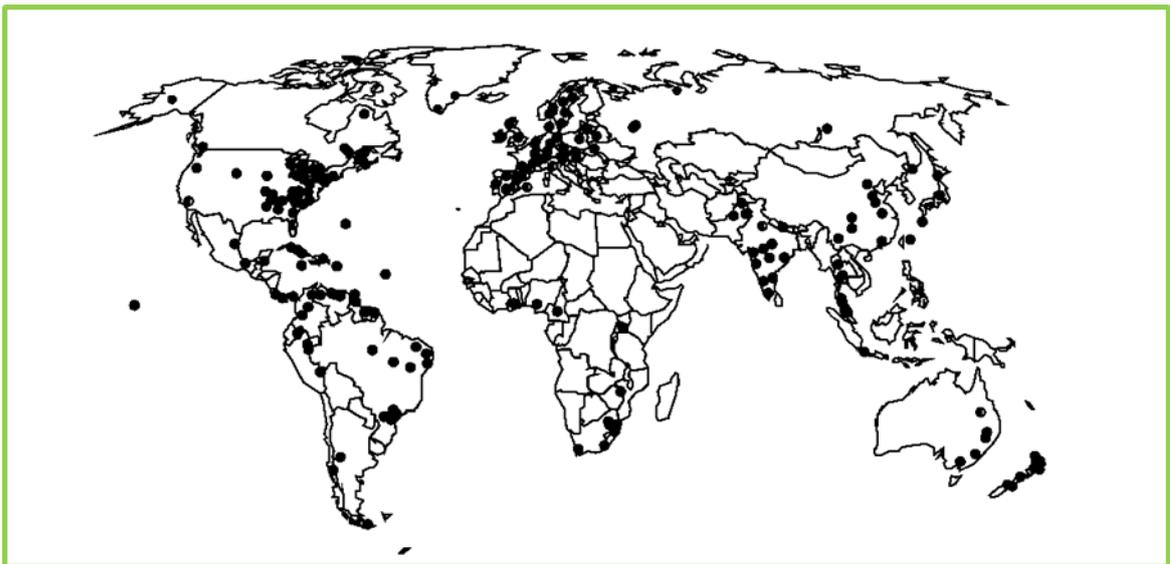


Figura 1.9. Los puntos indican estudios realizados sobre hongos acuáticos del subreino Dikarya en el mundo (adaptado de Duarte et al., 2016).

Un análisis bibliográfico sobre los hongos acuáticos del Cono Sur de Sudamérica, que se extiende desde el Trópico de Capricornio hasta el Cabo de Hornos (incluyendo Argentina, Chile y Uruguay), en el cual se halla emplazada el área de estudio de esta tesis, ha permitido establecer el estado del arte sobre estos organismos (Tarda et al., 2022). Se trata de un área de Sudamérica que es potencialmente favorable para albergar una importante diversidad de hongos acuáticos, ya que tiene gran variedad de biomas y paisajes. Además, hidrológicamente, presenta una amplia gama de

hábitats de agua dulce, ríos de diferentes órdenes, lagos, lagunas, turberas, entre otros humedales (Reis et al., 2016). Los resultados obtenidos en este análisis bibliográfico demostraron que en esta región se han reportado 38 artículos científicos, de los cuales la mayoría fueron de carácter taxonómico (76 %), seguidos por los ecológicos (Anexo I) (Tarda et al., 2022). El primer trabajo publicado se realizó en 1970 analizando hongos de agua dulce de Chile (Lindquist, 1970). Con respecto a la producción de publicaciones, la mayor cantidad de datos sobre hongos de agua dulce del Cono Sur de Sudamérica se produjo entre las décadas de 1980 y 1990 en Argentina y Chile (Figura 1.10).

En cuanto a la distribución biogeográfica de las publicaciones, los estudios realizados se restringen a cinco provincias, de las 20 reconocidas en el Cono Sur de Sudamérica, siendo Pampa y Bosques Valdivianos las que reunieron el 49% y 24% de trabajos científicos respectivamente (Fig. 1.11). Por otro lado, el análisis de los ambientes en los que se realizaron los estudios revela que los hábitats lóticos han sido los más explorados (76%).

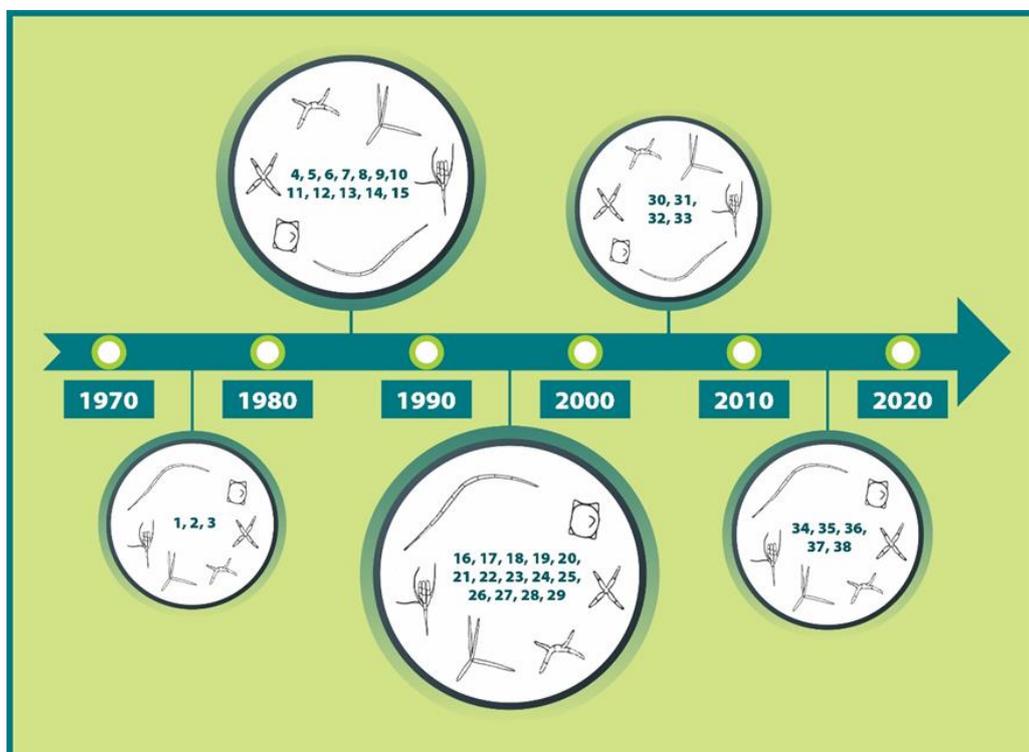


Figura 1.10. Línea de tiempo de los estudios publicados en cada década sobre el Cono Sur de Sudamérica. Los números corresponden a las publicaciones científicas realizadas por década especificadas en el Anexo I.

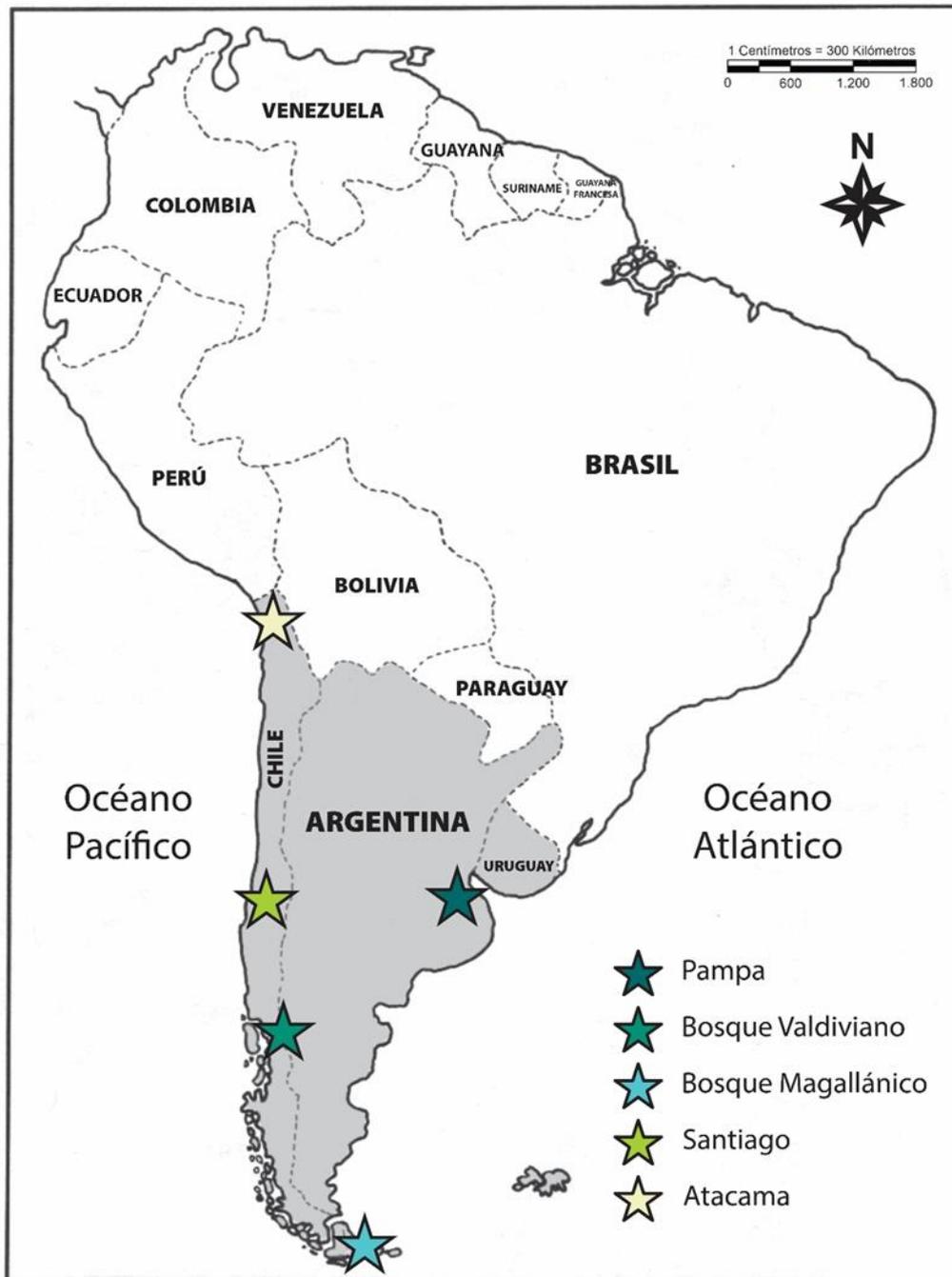


Figura 1.11. Mapa del Cono Sur de Sudamérica (área sombreada), indicando las provincias biogeográficas donde se registraron los estudios sobre hongos acuáticos (Morrone, 2001).

Con respecto al número de taxa identificados en el Cono Sur de Sudamérica, se encontraron un total de 325 taxa, siendo solo 7 pertenecientes al phylum Basidiomycota y el resto dentro del phylum Ascomycota (Anexo II). Considerando,

como se indicó previamente los tres grupos ecológicos de hongos acuáticos, se hallaron 199 hongos facultativos, 109 Ingoldianos y sólo 17 hongos fueron aeroacuáticos.

En relación con los principales sustratos reportados como fuente de procedencia de los hongos en ambientes de agua dulce en el Cono Sur de Sudamérica, restos de material foliar y los sustratos leñosos fueron los más usados (31 y 24 % respectivamente, Figura 1.12 A). La principal técnica empleada para la detección de estos hongos fue la cámara húmeda (44 %, Figura 1.12 B). Los procedimientos utilizados en todos estos estudios fueron tradicionales, basados en el cultivo y la morfología de las estructuras diferenciadas; sólo un artículo reciente utilizó el enfoque molecular (Seena et al., 2019)

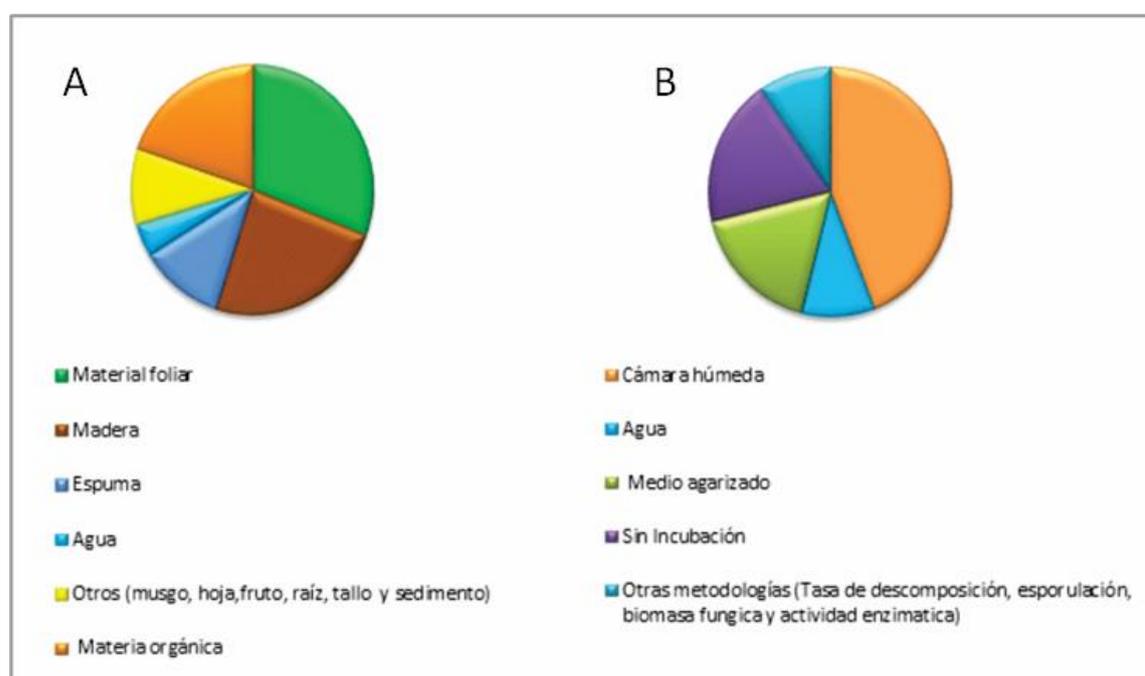


Figura 1.12. Porcentaje de sustratos (A) y de metodologías (B) que se utilizaron en cada publicación (Anexo I).

1.4. La influencia de la calidad del agua sobre el proceso de descomposición del material vegetal

Las respuestas biológicas en los ecosistemas acuáticos pueden variar diferencialmente ante variaciones en las condiciones fisicoquímicas del agua, siendo muchas veces multifactorial su manifestación. En tal sentido, por ejemplo, el comportamiento de los microorganismos involucrados en la degradación de los materiales vegetales es variable, generando sustratos residuales con propiedades fisicoquímicas particulares, constituyéndose así nuevos hábitats para otros microorganismos que previamente no eran dominantes en la microbiota asociada al material vegetal de partida. Todo esto puede ser a la vez influenciado por los cambios en la concentración de nutrientes y de condiciones redox en el sustrato orgánico a colonizar, que pueden afectar el metabolismo de los microorganismos involucrados y su interacción con otros con los que coexisten (Manning et al., 2021; Lee & Bukaveckas 2002; Pascoal et al., 2004; 2005). Es reportado en la bibliografía que el vertido de efluentes industriales, la actividad urbana y la escorrentía de aguas provenientes de zonas agrícolas suelen transportar metales pesados y pesticidas a diferentes cuerpos de agua, los cuales suelen causar un efecto negativo sobre las respuestas de los microorganismos que colonizan los restos vegetales en descomposición (Artigas et al., 2012; Fernández et al., 2015; Lecerf et al., 2007; Woodward et al., 2012; Rasmussen et al., 2012). Por otra parte, también existen evidencias que la disponibilidad de los nutrientes que contienen los sustratos lignocelulósicos expuestos a la acción degradadora de saprótrofos y su movilización en el proceso de descomposición son influenciados por las características físicoquímicas del agua, manifestándose a través de los procesos y/o la actividad catalítica que las enzimas que pueden estar involucradas, incrementando la elución desde el sustrato orgánico y por lo tanto la asimilación de nutrientes que serán aprovechados por los descomponedores (Manning et al., 2021). También la concentración de oxígeno puede afectar la actividad metabólica y reproductiva de los organismos que colonizan la materia orgánica, siendo

una respuesta común entre los hongos, lo cual conlleva a cambios en la diversidad y estructura de los ensambles fúngicos (Sigeo et al., 2005). Otro caso que puede ejemplificarse son los efectos de los pesticidas, que, según diversos estudios, han demostrado que mayoritariamente afectan de forma negativa la actividad de los hongos acuáticos, aunque ello es dependiente de las condiciones ambientales, el tipo de cuerpo de agua y la microbiota asociada (Ittner et al., 2018; Pimentão et al., 2020; Tsui et al., 2001).

1.5. Marco conceptual

Considerando los antecedentes descritos precedentemente, en este trabajo de tesis se abordarán aspectos ecológicos de los hongos acuáticos, a partir de la exploración de las respuestas estructurales y funcionales de los ensambles de hongos que colonizan material foliar de *T. latifolia* en bañados de desborde fluvial con diferentes calidades del agua. A partir de este abordaje será posible avanzar en la incorporación de indicadores fúngicos que contribuyan al diagnóstico de la calidad del agua de los cuerpos de agua pampeanos. Para ello se plantea el siguiente marco conceptual (Figura 1.13):

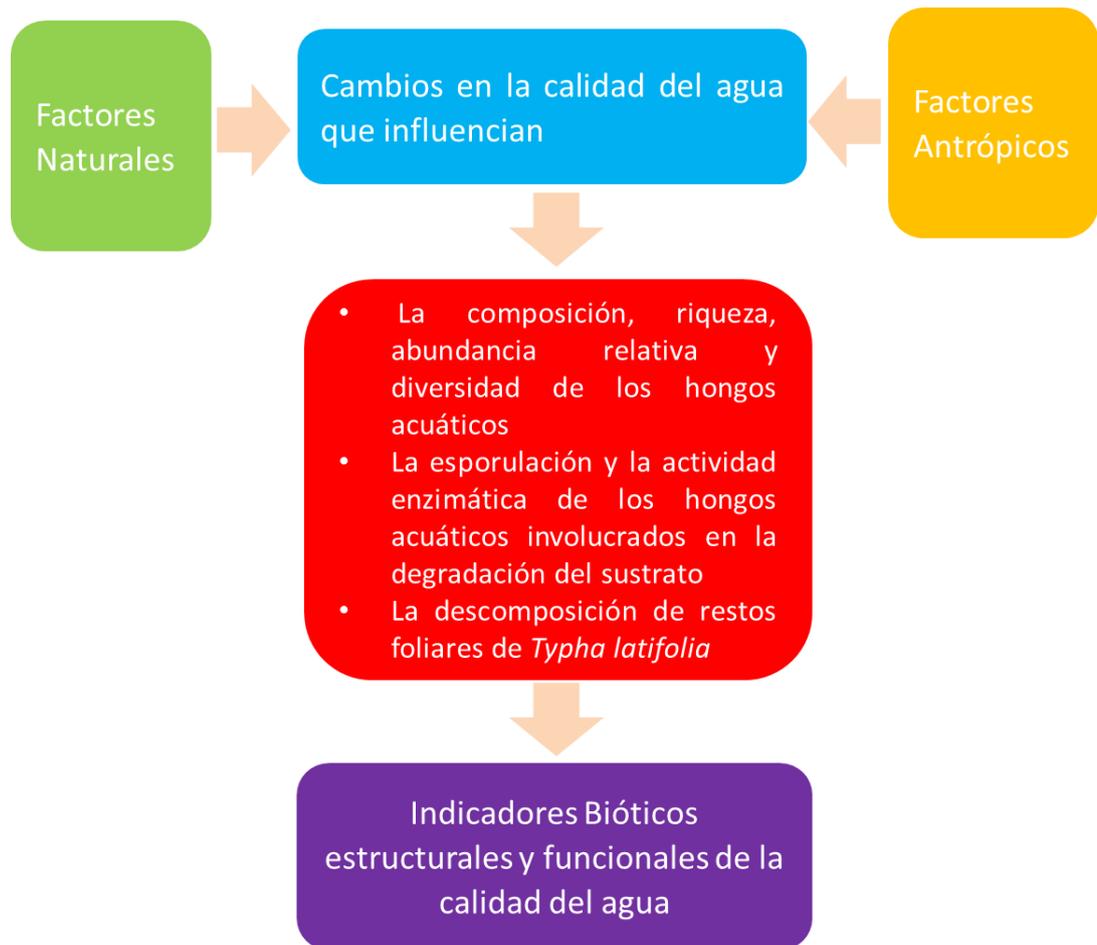


Figura 1.13. Marco conceptual de la presente tesis.

1.6. Hipótesis, predicciones y objetivos

Hipótesis: Las respuestas estructurales y funcionales de la microbiota acuática vinculada a la descomposición de restos foliares del *T. latifolia* en los bañados de desborde fluvial de arroyos pampeanos son moduladas por la calidad del agua.

Predicciones para esta hipótesis

Cuando la calidad del agua se deteriora:

- la tasa de descomposición del material vegetal se reduce;
- la actividad β -glucosidasa asociada al material vegetal en descomposición disminuye;
- La composición elemental de los restos foliares aumenta durante la degradación;
- La variación de la matriz polimérica de los componentes de la pared celular se modifica;
- la tasa de esporulación de los hongos es menor;
- la composición de los ensambles de hongos varía;
- los pesticidas, como el glifosato y el tebuconazole, afectan negativamente la actividad de los hongos acuáticos.

Objetivo general

Analizar la estructura y función de la microbiota que coloniza restos foliares de *T. latifolia* expuestos a diferente calidad de agua en bañados de desborde fluvial de arroyos pampeanos.

Objetivos específicos

- Analizar la tasa de esporulación, abundancia relativa, riqueza y diversidad de los hongos acuáticos asociados al material foliar, expuestos a distinta calidad del agua.
- Describir los ensambles de hongos acuáticos de acuerdo a la calidad del agua a la que están expuestos.
- Describir el proceso de descomposición de los restos de *T. latifolia* en bañados de desborde fluvial con diferente calidad del agua.

- Analizar los cambios en los macronutrientes y en la fracción polimérica de los restos foliares de *T. latifolia* a lo largo del proceso de descomposición en bañados de desborde fluvial con diferente calidad del agua.
- Estimar los niveles de la actividad β -glucosidasa en el material foliar en descomposición
- Analizar el efecto de la exposición aguda del glifosato y el tebuconazole sobre los ensambles de hongos acuáticos en un experimento *in-vitro*, a través de los cambios en la tasa de esporulación y su uso en la estimación de la abundancia relativa y diversidad fúngica.

2. Esporulaci3n de hongos acu3ticos asociados a restos foliares de *T. latifolia* L. (Typhaceae) en descomposici3n en ba~ados de desborde fluvial de la llanura pampeana con diferentes calidades del agua como consecuencia de los usos del suelo.

2.1. Introducci3n

La descomposici3n de la materia org3nica en los ecosistemas acu3ticos es un proceso complejo llevado a cabo principalmente por bacterias y hongos junto con la fragmentaci3n causada por diferentes grupos de invertebrados (Hieber & Gessner 2002; Elosegui 2009). Las bacterias y los hongos son capaces de sintetizar enzimas que transforman mol3culas complejas como la celulosa en compuestos simples (Roman3 et al., 2009). Aunque ambos participan en el proceso, los hongos tienen un papel m3s importante que las bacterias, ya que los hongos pueden reciclar el nitr3geno y, en general, asimilar sustratos org3nicos de forma m3s eficiente que las bacterias (Hodge et al., 2000). Los hongos se caracterizan por diferenciar dos tipos principales de estructuras: unas vegetativas y otras reproductivas. Mientras que las primeras son clave para la colonizaci3n y la descomposici3n del sustrato org3nico sobre el cual crecen, incluyendo la producci3n de enzimas involucradas en el proceso de descomposici3n y en la absorpci3n de nutrientes, las estructuras reproductivas, incluyendo esporas y otros prop3gulos, participan en la propagaci3n y dispersi3n de los hongos y est3n caracterizadas por una notable diversidad morfol3gica que tiene utilidad en la identificaci3n de los hongos que las diferencian (Roldan et al., 1988; Sigee 2005).

La esporulaci3n en la biolog3a de los hongos es el proceso de diferenciaci3n de esporas, estructuras reproductivas que constituyen unidades de propagaci3n y dispersi3n de origen sexual o asexual que al germinar origina un cuerpo vegetativo. En los hongos acu3ticos, las esporas son principalmente derivadas de procesos asexuales (conidiog3nesis), siendo la tasa de esporulaci3n de los hongos existentes en los ecosistemas de agua dulce un par3metro 3til que permite estimar el potencial reproductivo del micelio que se encuentra colonizando un determinado sustrato

orgánico (Romaní et al., 2009; Bärlocher 2020). La composición y la estructura de la microbiota asociada a un sustrato orgánico en un curso de agua, inferida a través de la tasa de esporulación de sus componentes, dependen de muchos factores, incluyendo la composición del sustrato que los hongos colonizan, de las condiciones físicas y químicas del agua (temperatura del agua, régimen hidrológico y otros atributos de la calidad del agua, como el pH y el estado redox) y de otros factores ambientales como el suelo, la vegetación ribereña y el clima (Pascoal 2005; Kraus et al., 2011). La perturbación antrópica de los arroyos también puede afectar a la estructura del ecosistema, dando lugar a cambios en la composición y estructura de la microbiota, cuyos representantes dominantes pueden ser potenciales indicadores de estrés ambiental según el tipo de estresor y su impacto (Sole et al., 2008). De acuerdo con la bibliografía, existen taxa fúngicos que tienen el potencial de ser bioindicadores de la calidad del agua, por ejemplo, en aguas contaminadas por efluentes industriales, residuos domésticos y otros vertidos (Sole et al., 2008). Las actividades antrópicas a las que se someten los suelos asociados a los cursos de agua (por ejemplo, la agricultura, la ganadería y el desarrollo urbano e industrial) modifican las características físicas y químicas del agua asociada e influyen en la biota y el funcionamiento de los sistemas fluviales (Pozo & Elosegui 2009). Además, la naturaleza y la disponibilidad de sustratos orgánicos susceptibles a la colonización de los hongos disponibles en el agua como esporas y otros propágulos pueden influir también en la frecuencia y la abundancia de los hongos en los ecosistemas acuáticos y su habilidad para esporular y dispersarse (Marano et al., 2011).

Existen numerosos bañados de desborde fluvial de la Llanura Pampeana que están amenazados por el avance de la urbanización y la agricultura, afectando la calidad del agua y alterando el hábitat natural (Gómez et al., 2022). En estos últimos, los hongos son actores claves que contribuyen al proceso de reciclado de la materia orgánica, específicamente los restos vegetales ricos en polímeros, contribuyendo así en los procesos de autodepuración. A diferencia de lo reportado para otros arroyos de la ecorregión pampeana, afectados por la actividad antrópica (Marano et al., 2013), no hay datos sobre la microbiota de los bañados de desborde fluvial de la Llanura Pampeana, así como tampoco cómo su actividad se encuentra condicionada por

factores ambientales que contrastan durante el rango estacional verano- otoño-invierno, considerado como un periodo clave en la carga de inóculo potencial de hongos en los cursos de agua (Liu 2015; Bärlocher & Schweizer 1983).

2.2. Hipótesis y objetivos

Hipótesis

En los bañados de desborde fluvial la tasa de esporulación, la riqueza, la diversidad y la composición de los ensamblajes de hongos acuáticos asociados a restos foliares de *T. latifolia*, como así también su pérdida de masa, son influenciados por la calidad del agua, como consecuencia del uso del suelo y la temperatura estacional.

Objetivo

Analizar la tasa de esporulación, la riqueza, la diversidad y la composición de los ensamblajes de hongos acuáticos que colonizan y degradan restos foliares de *T. latifolia* expuestos al agua de bañados de desborde fluvial bajo condiciones ambientales contrastantes de la calidad del agua y de variaciones estacionales de temperatura (verano-otoño-invierno).

2.3 Materiales y Métodos

2.3.1. Área de estudio

El área de estudio se localiza en la Ecorregión Pampa, ubicada en región Neotropical, subregión Chaqueña, provincia Pampeana (Morrone 2001). En esta ecorregión predominan las sabanas con gramíneas, hierbas, arbustos y en menor medida bosques xéricos similares a los de la provincia del Chaco, aunque empobrecidos en taxa, sabanas inundables; y bosques en galería a lo largo de los ríos

(Cabrera & Willink, 1973). Con respecto al clima, éste es templado húmedo con una temperatura media anual de 18°C y precipitaciones anuales de 1060 mm (Hurtado et al., 2006).

Los arroyos se caracterizan por tener baja velocidad de corriente, debido a la escasa pendiente del terreno y en su lecho se deposita sedimento tales como limo y arcilla (Licursi & Gómez 2002; Rodríguez Capítulo et al., 2020). La vegetación de ribera no tiene un gran desarrollo, estando compuesta principalmente por especies herbáceas y con ausencia de estratos arbóreos (Giorgi et al., 2005; Feijoó & Lombardo 2007). Los niveles de nutrientes en estos arroyos son naturalmente altos aún en sitios expuestos a baja o moderada actividad agrícola-ganadera (Feijoó et al., 1999; Bauer et al., 2002), lo que favorece un desarrollo de densas comunidades de macrófitas (Allan & Castillo 2007). Particularmente se seleccionaron para este trabajo de tesis tramos de arroyos denominados bañados de desborde fluvial; estos humedales son cuerpos de agua permanente o semipermanente, someros, sin una cuenca bien definida, de contorno o perímetro indefinido, y sin sedimento propio, con vegetación emergente abundante dejando pocos espacios libres (Figura 2.2). Por lo tanto, los bañados de desborde fluvial, que pueden abarcar desde un centenar de metros hasta kilómetros, adquieren transitoriamente características lénticas (Rodríguez Capítulo et al., 2020; Figura 2.2).

Los bañados seleccionados para esta tesis se caracterizan por estar influenciados diferencialmente por las actividades agrícolas del cinturón hortícola platense, actividades industriales y/u otros desarrollos productivos de la ciudad de La Plata, la cual tiene una población de casi 1 millón de habitantes (Cortizo et al., 2021). En la presente tesis se estudiaron cuatro bañados de desborde fluvial con calidades del agua contrastantes; dos de los cuales se encuentran en áreas rurales y tienen mejor calidad del agua, con bajas concentraciones de nutrientes y mayores niveles de oxígeno disuelto (Tarda et al., 2019; Gómez et al., 2022). En cambio, los otros dos bañados, se encuentran en áreas suburbanas, expuestos a la agricultura, específicamente a la horticultura, con mayores concentraciones de nutrientes y menor concentración de oxígeno disuelto (Tarda et al., 2019; Gómez et al., 2022; Figura 2.1). Desde una perspectiva hidrológica, los bañados de los arroyos Chubichaminí y Cajaravillas están

conectados con el freático, lo cual favorece la permanencia de agua. Por otra parte, los bañados Del Gato y Carnaval han perdido su vinculación con el freático debido a la intensa explotación de agua subterránea que se realiza en la zona periurbana de la ciudad de La Plata, atravesando períodos en los que se secan (Kruse et al., 2014; Rodríguez Capítulo 2020; Gómez et al., 2022).

A continuación, se describen las características de cada bañado de desborde fluvial donde se ubicaron los sitios de muestreo:

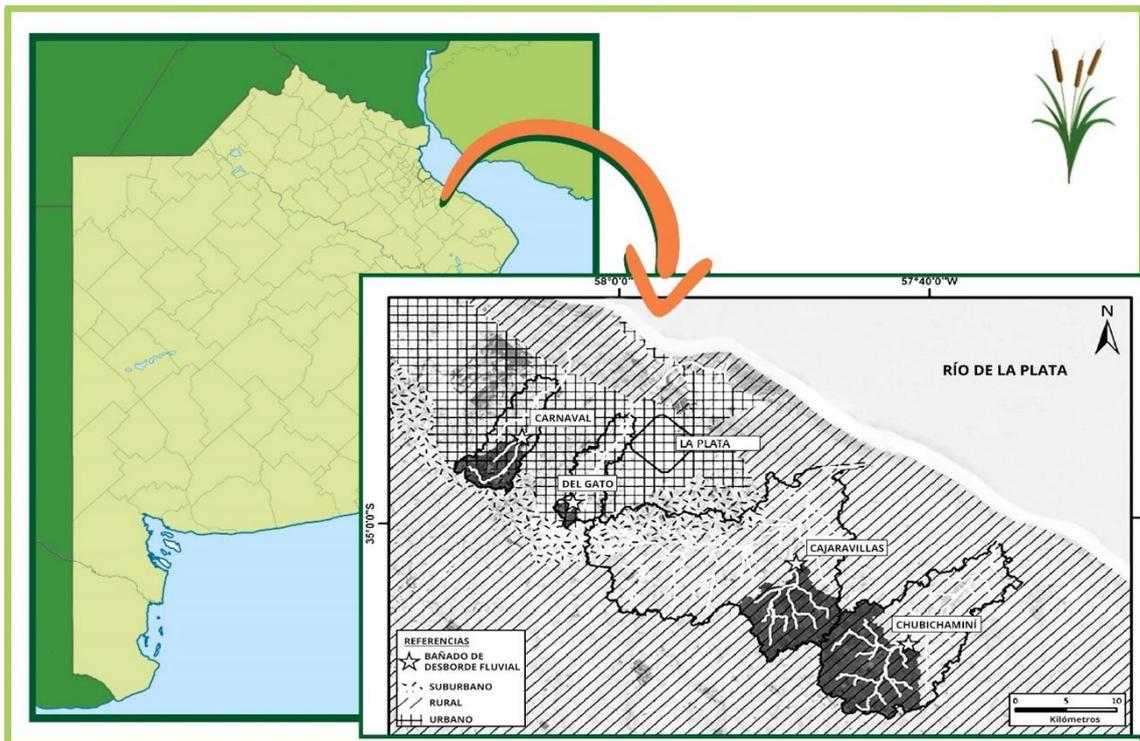


Figura 2.1. Área de estudio donde se observa cada uno de los bañados de desborde fluvial estudiados (adaptado de Gómez et al., 2022).

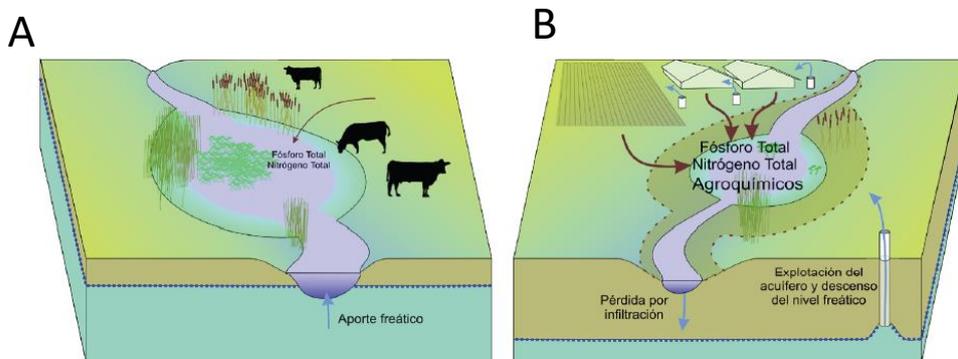


Figura 2.2. Esquemas de los bañados de desborde fluvial de zonas rurales (A) y periurbanas (B) (adaptado de Álvarez et al., 2020).

Arroyo Cajaravillas

El bañado del Arroyo Cajaravillas se encuentra ubicado en la zona rural del partido de La Plata (Figura 2.A y B) y cuenta con un área de 337 m² (35°2'44.52" S, 57°48'43.41" W) (Rodríguez Capítulo et al., 2020). En su entorno el suelo está principalmente destinado al uso de ganadería extensiva, sin embargo, también incluye sectores de la cuenca que en los últimos años avanzó la agricultura con cultivo de soja y horticultura (Mugni et al., 2009). Este bañado pertenece a la cuenca del A° Pescado, declarado como Paisaje Protegido de acuerdo con la ley provincial n°12247, siendo una de las cuencas más preservadas de la región del Gran La Plata con una longitud de 32 Km. Las principales macrófitas que habitan este bañado son *Typha latifolia* L. e *Iris pseudacorus* L., acompañadas por *Gymnocoronis spilanthoides* (D. Don ex Hook. & Arn.) DC. *Mikania periplocifolia* Hook. & Arn., *Panicum gouinii* E. Fourn. y *Setaria parviflora* Kerguelen (Zanotti & Gómez 2020).



Figura 2.4. Bañado de desborde fluvial del arroyo Cajaravillas (A), sitio donde se realizó el ensayo (B).

Arroyo Chubichaminí

El arroyo Chubichaminí, también denominado Espinillo, se encuentra en la localidad de General Mansilla, partido de Magdalena (Figura 2.3 A y B). En sus márgenes, el uso del suelo es rural con ganadería extensiva. La cuenca del arroyo tiene un área de 190 km² y una longitud de 25 Km, siendo el bañado de desborde fluvial seleccionado para este estudio de unos 190 m² (35°7'44.50" S, 57°41'51.95" W) (Rodríguez Capítulo et al., 2020). En este humedal *Schoenoplectus americanus* (Pers.) Volkart ex Schinz y R. Keller fue la especie dominante, también se encontraron otros hidrofitos como *Typha latifolia* L. *Gymnocoronis spilanthoides* (D. Don ex Hook. & Arn.) DC. *Mikania periplocifolia* Hook. & Arn., *Panicum gouinii* E. Fourn. y *Setaria parviflora* (Poir.) Kerguelen (Zanotti & Gómez 2020).

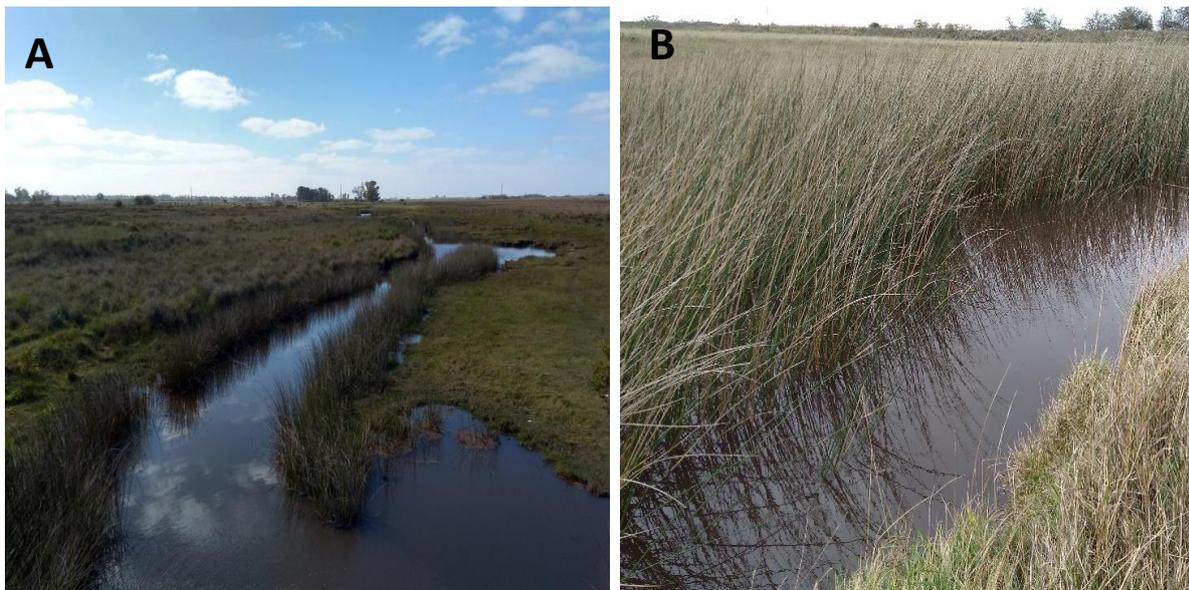


Figura 2.3. Bañado de desborde fluvial del arroyo Chubichaminí (A), sitio donde se realizó el ensayo (B).

Arroyo Del Gato

El Arroyo Del Gato, con una extensión de 15 km, es una cuenca heterogénea, ya que la parte superior del arroyo está en un área suburbana con actividad hortícola principalmente bajo cubierta (Figura 2. 5 A y B); el resto de la cuenca está influida por la urbanización. El bañado de desborde fluvial seleccionado ($34^{\circ}58'49.52''$ S, $58^{\circ}3'10.70''$ W) para este estudio se encuentra en la cuenca alta y tiene un área de 81355 m^2 rodeado por un uso del suelo dedicado principalmente a la actividad hortícola y cultivo en invernaderos, que deterioran la calidad del agua (Rodríguez Capítulo et al., 2020). La vegetación del sitio estudiado está representada por las siguientes especies: *Typha latifolia* L., *Hidrocotile bonaeriensis* Lam., *Schoenoplectus americanus* (Pers.) Volkart ex Schinz & R. Keller, *Polygonum punctatum* Elliott, *Gymnocoronis spilanthoides* (D. Don ex Hook. & Arn.) DC., *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. f. *philoxeroides*, *Ludwigia peploides* (Kunth) P.H., (Zanotti & Gómez 2020). En sus riberas se hallan también especies leñosas como *Salix humboldtiana* Willd, y *Morus alba* L. Con respecto al cauce principal, hay una gran abundancia de *Egeria densa* Planch (Zanotti & Gómez 2020).



Figura 2.5. Bañado de desborde fluvial del arroyo Del Gato (A), sitio donde se realizó el ensayo (B).

Arroyo Carnaval

El Arroyo Carnaval se origina en la laguna García y tiene una longitud de 16 km (Figura 2.6 A y B). En la cuenca alta y media, los principales usos del suelo son la horticultura, floricultura y cultivos de soja, maíz y trigo. La mayor densidad de población junto con algunas industrias se concentra en la cuenca baja. El bañado de desborde fluvial seleccionado tiene una superficie 20.015 m² (34°55'5.33" S, 58°6'32.24" W (Rodríguez Capítulo et al., 2020), que está rodeada por un uso del suelo dedicado principalmente al cultivo de soja, que influye en el deterioro de la calidad del agua. Las especies de hidrofitos más frecuentes son: *Typha latifolia*, *Schoenoplectus americanus* (Pers.) Volkart ex Schinz & R. Keller, *Polygonum punctatum* Elliott, *Gymnocoronis spilanthoides* (D. Don ex Hook. & Arn.) DC., *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. f. *philoxeroides* y *Ludwigia peploides* (Kunth) P.H., (Zanotti & Gómez 2020).



Figura 2.6. Bañado de desborde fluvial del arroyo Carnaval (A), sitio donde se realizó el ensayo (B)

2.3.2. Análisis fisicoquímicos del agua de los bañados

El oxígeno disuelto (OD, mgL^{-1}), la saturación de oxígeno (%), la temperatura ($^{\circ}\text{C}$), el pH, la conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$), la turbidez (UNT) y los sólidos suspendidos totales (SST mgL^{-1}) fueron medidos con un sensor multiparamétrico (HORIBA U10). Los nutrientes fueron analizados por triplicado mediante técnicas estándar (APHA/AWWA/WEF, 2012). Para ello, se filtraron 200 ml de agua de los sitios de muestreo en campo por filtros de fibra de vidrio (Whatman GF/C 1,2 micras de apertura de poro) y se congelaron a -18°C hasta su análisis. El fósforo reactivo soluble, nitrito y nitrógeno amoniacal fueron determinados colorimétricamente; el nitrato fue reducido a nitrito antes de realizar las mediciones colorimétricas (APHA/AWWA/WEF, 2012). El valor de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) se obtuvo de la suma de las tres fracciones del nitrógeno analizadas. También se colectaron 200 mL de agua del arroyo para análisis de la demanda bioquímica de oxígeno ($\text{DBO}_5 \text{mgL}^{-1}$) y la demanda química del oxígeno (DQO mgL^{-1}). La DBO_5 fue medida luego de una incubación en oscuridad durante 5 días a 20°C ; la concentración de oxígeno fue medida con un electrodo de oxígeno YSI-52 y la DQO se determinó por oxidación con dicromato de potasio en medio ácido (APHA/AWWA/WEF, 2012).

2.3.3. Diseño del ensayo

Previamente al inicio de experimento se colectaron hojas senescentes de *T. latifolia*, en junio de 2017, en el bañado de desborde fluvial del arroyo Cajaravillas. Las hojas fueron procesadas según la metodología propuesta por Romaní et al., (2009). Se empleó la técnica de la bolsa (Bocock & Gilbert 1957) para estimar las tasas de esporulación de los hongos que colonizan el material foliar a un tiempo específico (constante) de sumersión (considerado intermedio en el sentido de Garnett et al., 2000) y la pérdida de su masa, siendo el ensayo repetido en cuatro ocasiones consecutivas durante el rango estacional verano-otoño-invierno de 2018. En cada bañado de desborde fluvial se sumergieron ocho bolsas (20 x 25 cm, tamaño de poro

1 mm) y se fijaron a estacas durante 40 días, un periodo de tiempo que se considera adecuado para la colonización fúngica según Lee et al., (2002) y que ha mostrado los mayores niveles de esporulación y diversidad de hongos acuáticos durante el verano-otoño (Bärlocher & Schweizer 1983; Garnett et al 2000). Se emplearon tres bolsas (con una masa inicial de 2 gr. de material foliar seco a 20°C por unidad) para estimar la tasa de esporulación y otras cinco (cada una con 5 gr.) para calcular la pérdida de masa foliar.

2.3.4. Ensayo de esporulación *in-vitro*, riqueza y diversidad de hongos acuáticos

Transcurridos los 40 días de sumersión en cada bañado, las bolsas fueron recolectadas y en el laboratorio los restos foliares remanentes de cada bolsa se lavaron suavemente con agua destilada para eliminar el sedimento (Pozo et al 2009; Bärlocher 2020). Posteriormente, se fraccionaron en rectángulos de 5 cm de largo por 2 cm de ancho y 2 de estas unidades se incubaron durante 2 días en frascos con 20 ml de agua destilada (ensayo de esporulación *in-vitro*). En todos los casos se empleó aireación constante manteniendo la concentración de oxígeno a 8,9 mgL⁻¹ y a 18° C de temperatura (Romaní et al., 2009) (Figura 2.10). Una vez finalizado el tiempo de incubación, se retiró el material foliar y fue colocado en sobres de papel aluminio y luego secado a 60°C hasta obtener una masa constante. Veinte mililitros de la fracción líquida homogeneizada de cada Erlenmeyer fueron suplementados con Tween 80 al 0,02% y posteriormente procesados mediante filtros de nylon de 0,80 µm de poro y 47 mm de diámetro. Las esporas de hongos retenidas en cada filtro se tiñeron con azul de tripán al 10% (Figura 2.11). Posteriormente estos filtros fueron secados a 50°C durante una hora. Por último, se cortó cada filtro y se armaron preparados sobre un portaobjeto. El conteo de esporas se realizó con un microscopio óptico a una magnificación de 600x, empleándose para la identificación de las mismas bibliografía específica (Seifert & Gams 2011; Bärlocher 2020). Los taxa se citaron de acuerdo al buscador Mycobank. La tasa de esporulación se expresó como el número de esporas por mg de hoja por día (esporas mg⁻¹d⁻¹).

Fórmula para estimar la tasa de esporulación:

$$E = \frac{nA/a}{tp}$$

E: número de esporas por día y por mg de materia foliar seca.

n: número promedio de esporas por campo de microscopio.

a: Área del campo del microscopio (mm²)

A: Área del filtro del microscopio.

t: tiempo del ensayo de esporulación en días.

p: masa total de los fragmentos materia foliar seca de incluido en el sistema usado (Erlenmeyer).



Figura 2.10. Sistema de incubación de los fragmentos de material foliar seco de *T. latifolia* para estimar esporulación *in-vitro*.



Figura 2. 11. Superficie del filtro luego de procesar la fracción líquida derivada del ensayo de esporulación y su posterior tinción con azul de tripán al 10 %.

La riqueza y el índice de diversidad de Shannon-Wiener (Shannon & Weaver 1949) se estimaron utilizando los datos de esporulación. La abundancia relativa de cada taxón de hongo acuático identificado se obtuvo de acuerdo con Zhang et al., (2004), la cual establece cuatro grupos: dominante ($\geq 50\%$), más común (≥ 30 a 50%), común (≥ 10 a 30%) y rara ($\leq 10\%$).

2.3.5. Pérdida de masa de los restos foliares de *T. latifolia*

Para estimar la pérdida de masa del material foliar de *T. latifolia* después de 40 días, se procesó el material de cada bolsa contenido y se lavó con agua desionizada estéril para eliminar cualquier sedimento que se hubiera acumulado en los fragmentos de hojas. A continuación, las muestras se secaron hasta alcanzar una masa constante a 40 °C y se calcinaron a 500 °C para estimar la masa seca libre de cenizas (Bärlocher 2005).

2.3.6. Análisis estadísticos

Para explorar los datos de las variables ambientales obtenidas en los distintos sitios de muestreo se empleó la técnica de Análisis de Componentes Principales (ACP). Estos datos fueron transformados logarítmicamente usando $\log_{10}(x+1)$. Se utilizó el Análisis de Redundancia (ARD) para explorar la relación entre la composición de los taxa fúngicos y las variables ambientales (Braak & Smilauer, 1998). Los datos de abundancia de los hongos fueron transformados utilizando $\log_{10}(x+1)$ y los ambientales se estandarizaron mediante logaritmo natural. Las variables ambientales seleccionadas tuvieron un factor de inflación fue <20 según ter Braak (1986).

Las variaciones de los descriptores biológicos fueron testeadas con ANOVA a una vía, empleando el tiempo (periodo de sumersión de 40 días) y el sitio como factores. La normalidad de los datos fue evaluada previamente por la prueba de Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk, 1965), y aquellas variables que no cumplieron con este supuesto fueron transformados a $\log(x+1)$; el supuesto de homogeneidad de varianzas fue comprobado mediante la prueba de Cochran (Cochran, 1951). Aquellas variables biológicas que no cumplieron con los supuestos de normalidad y/o homogeneidad de varianzas, aún luego de realizar la transformación de los datos, fueron analizadas mediante Kruskal-Wallis. Cuando se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos se utilizó la prueba post hoc de Tukey (ANOVA) o test de Dunn's (Kruskal-Wallis) para reconocer las diferencias entre los niveles.

Por último, se realizó un análisis de correlación de Spearman entre las variables biológicas con las variables fisicoquímicas que resultaron significativas en el Análisis de

Redundancia (ARD) (oxígeno disuelto, pH, temperatura, conductividad, demanda química de oxígeno, fósforo y nitrógeno totales).

2.4. Resultados

2.4.1. Datos meteorológicos

El período comprendido entre enero y julio de 2018 se caracterizó por temperaturas mensuales entre 25°C a 10°C (Figura 2.7), en tanto las precipitaciones fueron más escasas durante los meses estivales, alcanzando el valor más bajo en febrero, causando que el bañado de desborde fluvial Carnaval se secase (Figura 2.8). De acuerdo con el Índice de Oscilación Sur (IOS) los muestreos estuvieron enmarcados durante un periodo de niña y finalizaron en el comienzo del periodo neutral, con valores entre +8 y -8. (Figura 2.9).

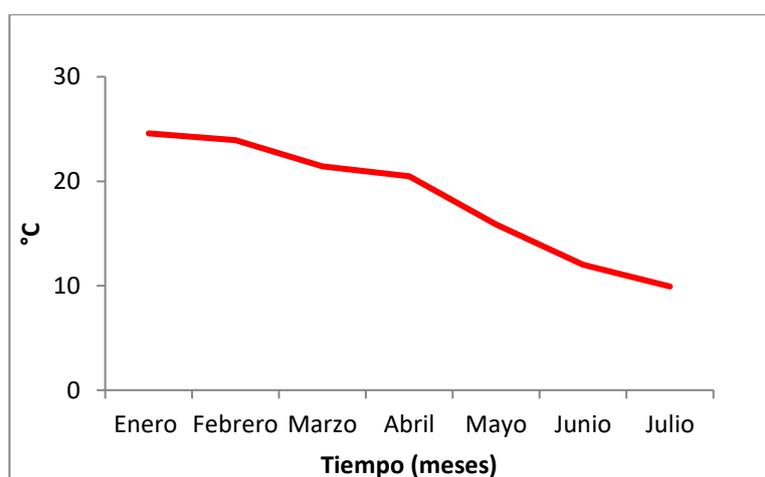


Figura 2.7. Temperaturas promedio del aire correspondientes al periodo analizado durante en 2018

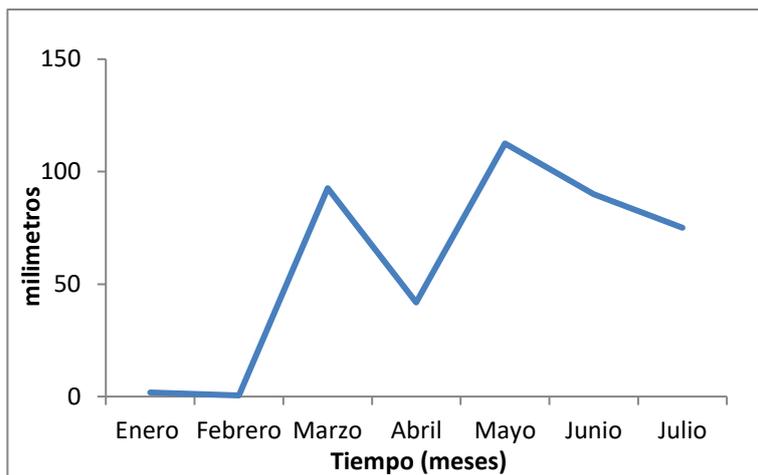


Figura 2.8. Precipitaciones acumuladas durante el período analizado en 2018.

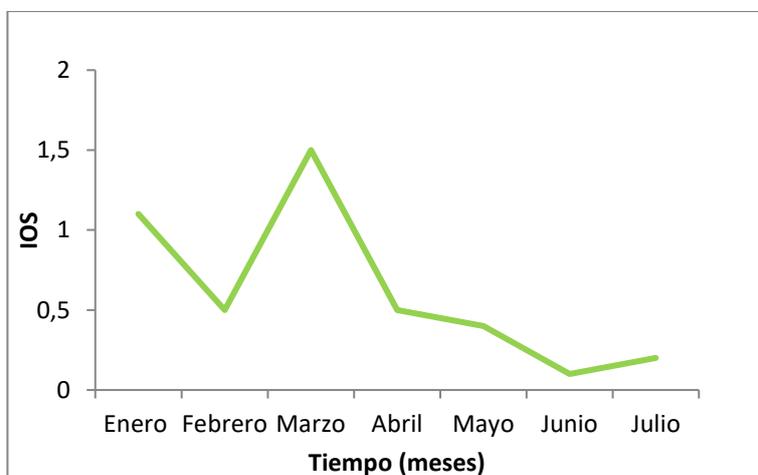


Figura 2.9. Valores mensuales del Índice de Oscilación del Sur para el período analizado en 2018.

2.4.2. Características fisicoquímicas del agua

El ACP realizado, cuyos ejes explicaron el 63% de la variación, reveló que los bañados de desborde fluvial Cajaravillas y Chubichaminí tuvieron mayores valores de conductividad, de sólidos totales disueltos y porcentaje de saturación de oxígeno. Por otro lado, los sitios de los arroyos del Gato y Carnaval mostraron mayores concentraciones de nutrientes y DBO_5 , así como de turbidez (Tabla 2.1; Figura 2.12). Además, estos últimos sitios se diferenciaron entre sí, ya que el arroyo Del Gato tendió a una mayor concentración de amonio, mientras que el arroyo Carnaval tendió a una mayor concentración de fósforo reactivo soluble y fósforo total (Tabla 2.1; Figura 2.12).

Tabla 2.1. Parámetros físicoquímicos del agua de los bañados de desborde fluvial de los cuatro tiempos muestreados. CAJ: Cajaravillas; CHU: Chubichamini; GAT: del Gato; CAR: Carnaval (Valores promedios, máximos y mínimos).

	CAJ	CHU	GAT	CAR
OD (mgL ⁻¹)	7,23 (10,6-2,8)	5,13 (10,0-2,5)	3,3 (4,21-1,7)	4,7 (5,6-4)
Saturación de oxígeno (%)	70 (97-34)	52 (100-27)	33 (38-20)	45 (52-41)
pH	7,9 (8,6-7,2)	7,6 (8,3-7,2)	7,3 (8,2-6,8)	7,9 (9,2-6,6)
Temperatura (°C)	15 (24-8)	15 (24-8)	15 (19-10)	17 (27-9)
Turbidez (UNT)	60 (83-24)	131 (273-29)	156 (403-51)	198 (429-79)
Conductividad (μScm ⁻¹)	772 (886-518)	828 (952-576)	396 (647-154)	433 (842-204)
SST (mgL ⁻¹)	495 (570-331)	531 (609-368)	273 (414-135)	280 (543-132)
P- PO ₄ (mgL ⁻¹)	0,32 (0,61-0,09)	0,23 (0,26-0,14)	0,968 (1,202-0,772)	1,41 (1,416-1,07)
N- NO ₃ (mgL ⁻¹)	0,06 (0,09-0,03)	0,04 (0,09-0,01)	0,05 (0,06-0,05)	0,06 (0,09-0,02)
N-NO ₂ (mgL ⁻¹)	0,03 (0,05-0,02)	0,02 (0,04-0,00)	0,08(0,21-0,03)	0,039 (0,74-0,02)
N- NH ₄ (mgL ⁻¹)	0,08 (0,16-0,00)	0,09 (0,16-0,05)	0,50 (1,40-0,07)	0,04 (0,09-0,001)
P Total (mgL ⁻¹)	0,43 (0,68-0,33)	0,27 (0,40-0,20)	1,02 (1,12-0,91)	1,76 (2,00-1,38)
N Total (mgL ⁻¹)	2,44(3,03-1,90)	2,11(2,68-1,67)	11,48(13,67-9,33)	10,01(11,43-8,53)
DBO ₅ (mg O ₂ L ⁻¹)	7 (19-1)	7,5 (12-3)	9,75 (21-5)	17 (18-16)
DQO (mg O ₂ L ⁻¹)	53 (84-40)	59 (67-50)	56 (75-48)	130 (228-31)

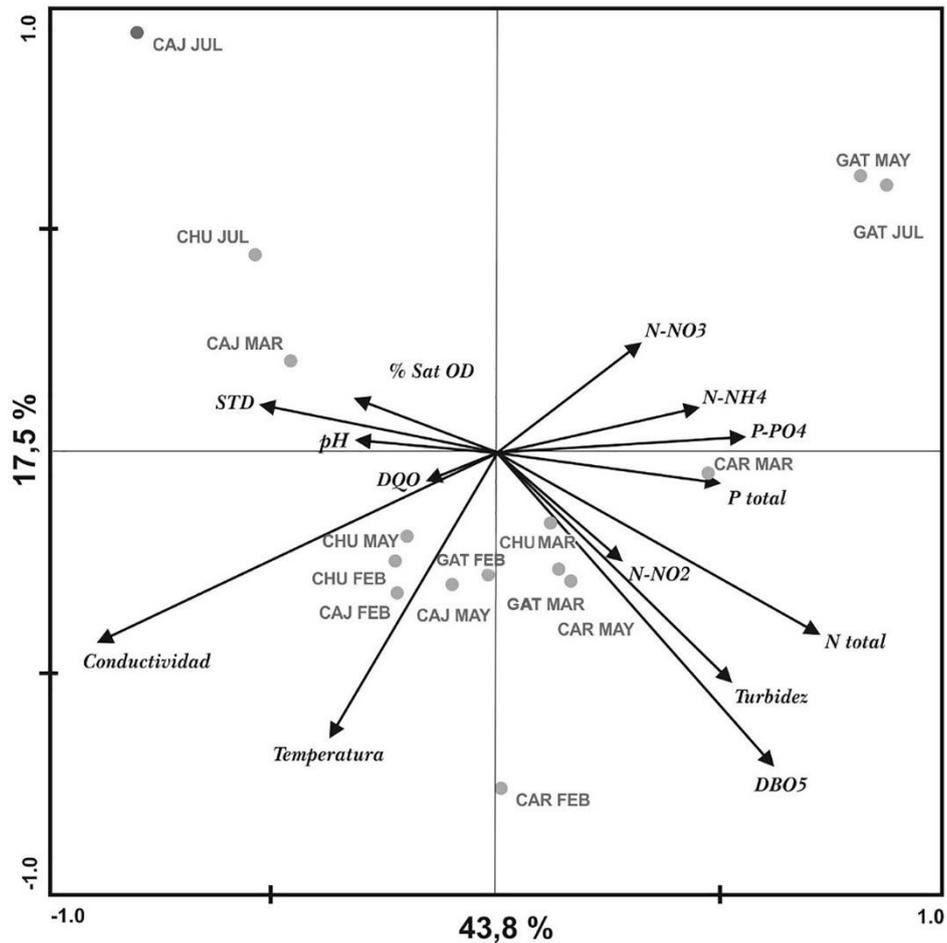


Figura 2. 12. Análisis de Componentes Principales (ACP). (CAJ: Cajaravillas; CAR: Carnaval; CHU: Chubichaminí; GAT: del Gato. FEB: febrero; MAR: marzo; MAY: mayo; JUL: julio)

2.4.3. Tasa de esporulación, riqueza y diversidad de los hongos que colonizan restos foliares de *T. latifolia*.

Las tasas de esporulación fueron significativamente diferentes, en tanto el test *a posteriori* demostró que esta variable fue significativamente mayor en el mes de julio con respecto a los meses de febrero y marzo ($p < 0,05$; Figura 2.13A; Tabla 2.2). Por otra parte, este parámetro no tuvo diferencias significativas cuando se comparó entre los bañados muestreados ($p > 0,05$; Figura 2.14A; Tabla 2.3).

La riqueza de taxa no tuvo diferencias significativas durante los meses muestreados ($p > 0,05$; Figura 2.13 B; Tabla 2.2). En cambio, se encontraron diferencias significativas entre los bañados, donde el test *a posteriori* demostró que el bañado Del Gato tuvo una riqueza significativamente mayor con respecto a los bañados Chubichaminí y Carnaval ($p < 0,05$; Figura 2.14 B; Tabla 2.3). Por otra parte, la diversidad fue significativamente diferente entre los meses analizados, donde el test *a posteriori* mostró que fue significativamente mayor el mes de febrero con respecto a mayo ($p < 0,05$; Figura 2.13 C; Tabla 2.2). Por último, se encontró una diversidad significativamente diferente entre los bañados, según el test *a posteriori* demostró que esta variable fue significativamente mayor en el bañado Del Gato con respecto al Chubichaminí ($p < 0,05$; Figura 2.14 C; Tabla 2.3).

2.4.4. Pérdida de masa de restos foliares de *T. latifolia*

En relación con la pérdida de masa del sustrato, no se registraron diferencias significativas en los meses muestreados ($p > 0,05$; Figura 2.13 D; Tabla 2.2). En contraste, esta variable tuvo diferencias significativas entre bañados, donde el test *a posteriori* mostró que los bañados Cajaravillas y Chubichaminí tuvieron una pérdida de masa significativamente mayor con respecto al bañado Carnaval ($p < 0,05$; Figura 2.14 D; Tabla 2.3).

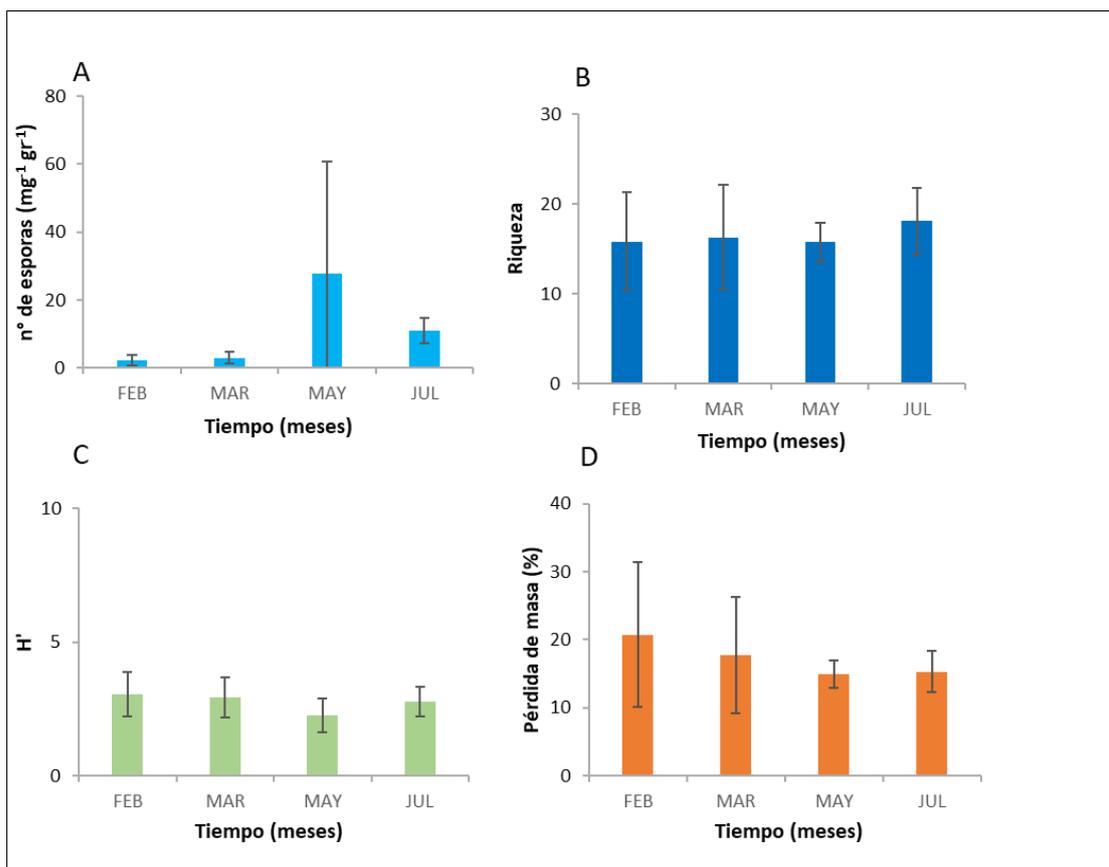


Figura 2.13. Tasa de esporulación (A), riqueza (B) índice de diversidad (C) y la pérdida de masa de los restos foliares de *T. latifolia* (D) durante el periodo muestreado. FEB: febrero; MAR: marzo; MAY: mayo; JUL: julio. Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

Tabla 2.2. Resultados de los análisis de las variables de tasa de esporulación, riqueza, diversidad y pérdida de masa durante el periodo muestreado. Las variables que fueron analizadas con ANOVA a una vía (gl, grados de libertad, F y p valor) se encuentran en color negro, mientras en gris las que fueron analizadas con Kruskal-Wallis (gl, grados de libertad, H y p valor).

Variables		Factor Tiempo
T. de Esporulación	gl	3
(n° esporas mg ⁻¹ día ⁻¹)	H	27,074
	p	<0,001
Riqueza	gl	3
	H	2,269
	p	0,518
Diversidad	gl	3
	F	2,883
	p	0,047
Pérdida de masa	gl	3
(%)	H	6,402
	p	0,094

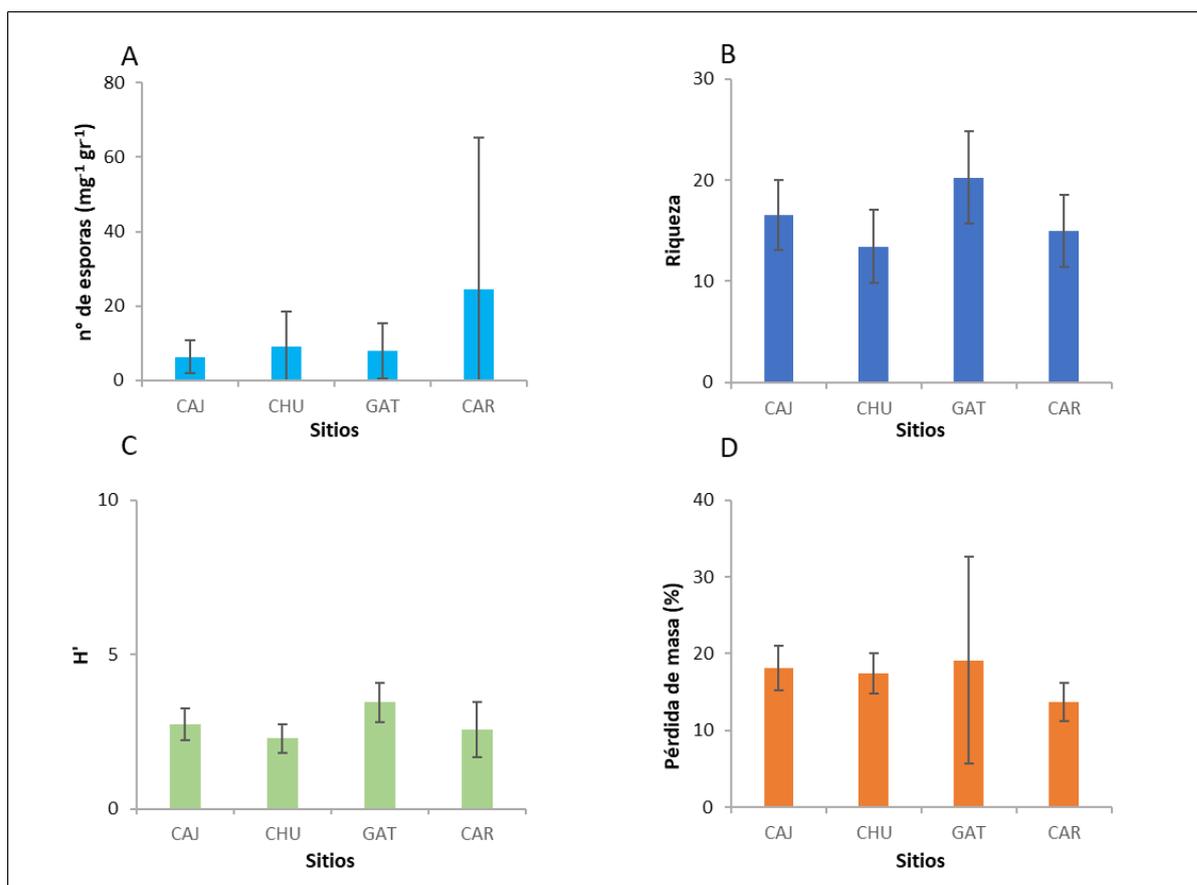


Figura 2.14. Tasa de esporulación (A), riqueza (B) índice de diversidad (C) y la pérdida de masa de los restos foliares de *T. latifolia* (D): CAJ: Cajaravillas; CHU: Chubichaminí; GAT: del Gato; CAR: Carnaval. Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

Tabla 2.3. Resultados de los análisis de las variables de tasa de esporulación, riqueza, diversidad y pérdida de masa. Las variables que fueron analizadas con ANOVA a una vía (gl, grados de libertad, F y p valor) se encuentran en color negro, mientras que en gris las variables que fueron analizadas con Kruskal-Wallis (gl, grados de libertad, H y p valor).

Variables		Factor Tiempo
T. de Esporulación	gl	3
(nº esporas mg ⁻¹ día ⁻¹)	F	0,069
	p	0,976
Riqueza	gl	3
	F	6,849
	p	<0,001
Diversidad	gl	3
	H	15,488
	p	0,001
Pérdida de masa (%)	gl	3
	H	22,696
	p	<0,001

Sobre la base de las esporas halladas en la fracción líquida derivada de los ensayos de esporulación, se identificaron 76 taxa fúngicos, siendo 22 hongos Ingoldianos, 1 aeroacuático y los demás facultativos (Tabla 2.4). *Fibulotaeniella* sp. fue el único representante perteneciente al phylum Basidiomycota y los demás identificados correspondieron a Ascomycota. Con respecto a la abundancia de taxa, se observó que *Amniculicola longissima* (Sacc. & P. Syd.) Nadeeshan & K.D. Hyde (= *Anguilospora longissima* Ingold) fue dominante en el arroyo Carnaval en otoño (mayo), mientras que en el Chubichaminí fue en invierno (julio). *Arthrinium* sp. dominó en el bañado del arroyo Cajaravillas a fines de verano (marzo), en cambio, *Margaritispora aquatica* Ingold fue dominante en el bañado de desborde fluvial Del Gato en otoño (mayo) y a fines de verano (marzo) en el Chubichaminí. Por último, *Gemmulina botryosa* (Descals) Descals & Marvanová fue dominante en verano (febrero) en el bañado de desborde fluvial del arroyo Chubichaminí (Tabla 2.4). Las tasas de esporulación específicas de cada taxa en particular se describen en el Anexo III.

Tabla 2.4. Lista de taxa, acrónimos y abundancia relativa de hongos acuáticos en cada bañado de desborde fluvial en cada tiempo ^(a). CHU: Chubichamini; CAJ: Cajaravillas; GAT: del Gato; CAR: Carnaval. El número de asteriscos indica la predominancia: cuatro asteriscos, dominante ($\geq 50\%$); tres asteriscos, más común (≥ 30 a 50%); C, dos asteriscos, común (≥ 10 a 30%); un asterisco, ocurrencia rara ($\leq 10\%$). Los superíndices indican los tipos de hongos Ingoldianos (ⁱ), aeroacuáticos (^a) y facultativos (^f). Las figuras de gran parte de las esporas se encuentran en el Anexo IV.

Taxa	Acrónimos	CHU	CAJ	GAT	CAR
<i>Amniculicola longissima</i> ⁱ (Sacc. & P. Syd.) Nadeeshan & K.D. Hyde	AMLG	****Jul,a	***Jul	**Jul	***May
<i>Gemmulina botryosa</i> ⁱ (Descals) Descals & Marvanová	GEBT	****Feb	*Feb	*Jul	*May
<i>Margaritispora aquatica</i> ⁱ Ingold	MGAQ	****Mar	**Mar	****May	*May
<i>Arthrinium</i> ^f sp.	ARTM	***May	***Mar	**Feb	**Feb
<i>Zalerion</i> ^f sp. 1	ZAL1	**Mar	***May	*Feb	*Feb
<i>Fibulotaeniella</i> ⁱ sp.	FIBU	***May	**Jul	**Jul	*May
<i>Torula</i> ^f sp.	TORL	*Jul	*May	**Mar	**Feb
<i>Cordana</i> ^f sp.	CORD	*Mar	*Mar	*Feb	**Mar
<i>Diplococcium</i> ^f sp. 2	DIP2	*Mar	*Mar	*Mar	**Feb
<i>Diplococcium</i> ^f sp. 1	DIP1	*Feb	*Feb	*Feb	*Mar
<i>Curvularia</i> ^f sp.	CURV	*Feb	*Feb	*Feb	*Mar
<i>Tetraploa aristata</i> ^f Berk. & Broome	TEAR	*Jul	*Feb	*Mar	*Feb
<i>Stemphylium</i> ^f sp.	STEM	*Jul	*Feb	*Mar	*Feb
<i>Bipolaris</i> ^f sp.	BIPO	*Feb	*Feb	*Feb	*Mar
<i>Alternaria</i> ^f sp.	ALTR	*Jul	*Jul	*Mar	*Mar
<i>Alatospora acuminata</i> ⁱ Ingold	ALAC	*May	*Jul	*Jul	*Jul
<i>Endophragmiella biseptata</i> ^f (Peck) S. Hughes	ENBI	*Mar	*May	*Mar	*Mar
<i>Sigmoidea</i> ⁱ sp.	SIGM	*Mar	*Feb	*Feb	*Feb
<i>Brachysporium</i> ^f sp.	BRAC	*May	*Jul	*Feb	*Feb
<i>Truncatella</i> ^f sp.	TRUN	*Mar	*Jul	*May	*Jul
<i>Endophragmiella globulosa</i> ^f (B. Sutton) S. Hughes	ENGL	*Mar	*Mar	*Feb	*Feb
<i>Sporidesmium socium</i> ^f M.B. Ellis	SPSO	*Jul	*May	*Mar	*Feb
<i>Fusarium</i> ⁱ sp.	FUSA	*Feb	*Feb	*Feb	*May
<i>Beltrania</i> ^f sp.	BELT	*Feb	*Feb	*Feb	*Feb
<i>Dictyosporium</i> ^f sp.1	DIC1	*May	*Jul	*May	*Mar
<i>Oncopodium</i> ^f sp.	ONCO	*Feb	*Feb	*Mar	*Mar
<i>Tetraploa ellisii</i> ^f Cooke	TEEL	*May	*May	*Feb	
<i>Lemonnieria</i> ⁱ sp. 1	LEM1	*May	*Jul		*Mar
<i>Tetracladium marchalianum</i> ⁱ De Wild	TEMA	*Jul	*Jul		*May
<i>Tricladium</i> ⁱ sp.	TRIC	*Feb	*Jul		*May
<i>Endophragmiella boothii</i> ^f (M.B. Ellis) S. Hughes	ENBO	*Mar		*Mar	*Mar
<i>Brachysporium britannicum</i> ^f S. Hughes	BRAB	*May		*Mar	*Mar
<i>Pseudotetraploa</i> ^f sp.	PSEU		*May	*May	*May
<i>Sporidesmium</i> ^f sp. 3	SPO3		*Jul	*May	*May
<i>Dictyoarthrinium sacchari</i> ^f (J.A. Stev.)	DISA		*Feb	*Mar	*Mar
<i>Sporidesmium</i> ^f sp.4	SPO4		*Feb	*Mar	*May
<i>Dictyoarthrinium africanum</i> ^f S. Hughes	DIAF		*May	*Mar	*Mar

Taxa	Acrónimos	CHU	CAJ	GAT	CAR
<i>Spegazzinia</i> ^f sp.	SPEG		*May	*Mar	*Mar
<i>Sporidesmium</i> ^f sp.1	SPO1	*Mar	*Feb		
<i>Clavatospora</i> ⁱ sp.	CLAV	*Mar	*Mar		
<i>Tricladium anomalum</i> ⁱ Ingold	TRAN	*May	*May		
<i>Sporidesmium</i> ^f sp. 2	SPO2	*Mar	*Feb		
<i>Lemonniera</i> ⁱ sp. 4	LEM4		*Jul		*May
<i>Brachysporium obovatum</i> ^f (Berk.) Sacc	BROB			*Feb	*Mar
<i>Tridentaria</i> ⁱ sp.	TRID			*Jul	*May
<i>Dictyosporium elegans</i> ^f Corda	DIEL		*Feb	*Feb	
<i>Diplococcium</i> ^f sp. 3	DIP3		*May	*Mar	
<i>Endophragmiella cambrensis</i> ^f M.B. Ellis	ENCA		*Mar	*Feb	
<i>Zalerion</i> ^f sp. 2	ZAL2		*May	*Jul	
<i>Heliscella stellata</i> ⁱ Ingold & V.J. Cox	HEST	*Jul		*Mar	
<i>Triscelosporus</i> ⁱ sp.	TRIU	*Jul		*Jul	
<i>Beltraniella</i> ^f sp. 2	BEL2	*Mar		*Feb	
<i>Tetraploa abortiva</i> ^f Aramb. & Cabello	TEAB	*Jul		*Feb	
<i>Lemonniera</i> ⁱ sp.2	LEM2	*Jul			*May
<i>Sporidesmium bicolor</i> ^f (Peck) Pound & Clem	SPBI		*Feb		*Feb
<i>Diplocladiella</i> ^f sp.	DIPL		*Feb		
<i>Cumulospora</i> ⁱ sp.	CUMA		*Feb		
<i>Clathroconium</i> ^f sp.	CLAT		*Jul		
<i>Beltraniella</i> ^f sp. 1	BEL1		*Mar		
<i>Dictyosporium digitatum</i> ^f J.L. Che	DIDI		*Feb		
<i>Dictyosporium zeylanicum</i> ^f Petch	DIZE		*May		
<i>Dictyosporium tetraseriale</i> ^f Goh, Yanna & K.D. Hyde	DITE		*Mar		
<i>Lemonniera centrosphaera</i> ⁱ Marvanová	LECE		*Jul		
<i>Brachysporium dingleyae</i> ^f S. Hughes	BRAD			*Jul	
<i>Bispora</i> ^f sp.	BISP			*Feb	
<i>Pseudobeltrania</i> ^f sp.	SEBE			*Feb	
<i>Sporidesmium cookei</i> ^f (S. Hughes) M.B. Ellis	SPOC			*Feb	
<i>Sporidesmium coffeicola</i> ^f M.B. Ellis	SPOF			*Feb	
<i>Sporidesmium leptosporum</i> ^f (Sacc. & Roum.) S. Hughes	SPOL			*Feb	
<i>Dictyosporium triseriale</i> ^f Matsush	DITR			*Jul	
<i>Dictyosporium</i> ^f sp. 2	DIC2			*Feb	
<i>Lemonniera</i> ⁱ sp.3	LEM3			*Jul	
<i>Flabellospora</i> ⁱ sp.	FLAB				*May
<i>Melanocephala</i> ^f sp.	MELA				*Mar
<i>Helicosporium</i> ^a sp.	HELI				*May
<i>Tricladium patulum</i> ⁱ Marvanová & Marvan	TRIP				*May

2.4.5. Análisis de Redundancia utilizando abundancias relativas de taxa y variables ambientales.

El análisis de ARD demostró que los dos primeros ejes explicaron el 64,9% de la varianza acumulada de la relación entre la abundancia de los hongos y las variables ambientales (Figura 2.14). El primer eje, que explica el 41% de la varianza, se relacionó con mayores concentraciones de nutrientes (N total y P total), mayor contenido de materia orgánica (DQO) y mayor temperatura del agua. En relación a este gradiente se encontró (derecha del gráfico) un ensamble de hongos vinculados a mayores concentraciones de nutrientes y materia orgánica, formado por *Endophragmiella globulosa* (B. Sutton) S. Hughes, *Dictioartrynium africanum* S. Hughes, *Tricladium* sp., *Stemphylium* sp, *Brachysporium obovatum* (Berk.) Sacc, *Sporidesmium leptosporum* (Sacc. & Roum.) S. Hughes, *Lemonniera centrosphaera* Marvanová, *Dictyosporium digitatum* J.L. Che, *Sporidesmium coffeicola* M.B. Ellis, *Dictyosporium zeylanicum* Petch, *Tricladium patulum* Marvanová & Marvan, *Tricelophorus* sp., *Sigmoidea* sp., *Beltrania* sp., *Dictyosporium elegans* Corda, *Brachisporium britanicum* S. Hughes, *Tricladium anomalum* Ingold, *Lemonniera* sp. 4, *Pseudotetraploa* sp., *Dictyosporium tetraseriale* Goh, Yanna & K.D. Hyde, *Diplocladiella* sp., *Tetraploa abortiva* Aramb. & Cabello, *Brachysporium* sp., *Beltraniella* sp. 2, *Helicosporium* sp., *Diplococcium* sp. 3, *Bispora* sp. 1, *Dictyosporium* sp. 2, *Lemonniera* sp. 3, *Tridentaria* sp., *Endophragmiella boothii* (M.B. Ellis) S. Hughes, *Spegazzinia* sp., *Cumulospora* sp., *Clathroconium* sp., *Sporidesmium cookei* (S. Hughes) M.B. Ellis, *Clavatospora* sp., *Lemonniera* sp. 1, *Endophragmiella cambrensis* M.B. Ellis, *Beltraniella* sp. 1, *Pseudobeltrania* sp., *Dictyosporium triseriale* Matsush, *Endophragmiella biseptata* (Peck) S. Hughes, *Melanocephala* sp., *Sporidesmium* sp. 2, *Heliscella stellata* Ingold & V.J. Cox, *Sporidesmium* sp. 3, *Sporidesmium bicolor*, *Tetraploa ellisii* Cooke, *Lemonniera* sp. 2, *Tetracladium marchalianum* De Wild, *Brachisporium dinglayae* S. Hughes, *Curvularia* sp., *Dictioartrynium sacchari* (J.A. Stev.), *Bipolaris* sp., *Diplococcium* sp. 2, *Cordana* sp., *Pseudobeltrania* sp. y *Fusarium* sp. El segundo eje del ARD, que explicó el 23,8% de la varianza acumulada, se vinculó principalmente con mayores niveles de pH y oxígeno disuelto. Los taxa más relacionados con estas condiciones fueron *Amniculicola longissima*, *Alatospora acuminata* Ingold, *Zalerion* sp. 2, *Fibulotaeniella* sp., *Sporidesmium socium* M.B. Ellis, *Flabellospora* sp., *Dictyosporium* sp. 1 y

2.4.6. Análisis de correlación de la tasa de esporulación, riqueza, diversidad y pérdida de masa con las variables fisicoquímicas del agua empleadas en el ARD.

La tasa de esporulación de los hongos que colonizaron el material foliar de *T. latifolia* expuestos al agua de los 4 bañados se correlacionó negativamente con la temperatura del agua ($p < 0,001$; Tabla 2.5) y con carga de materia orgánica total (biodegradable y recalitrante) inferida a través de la concentración de la DQO ($p < 0,017$; Tabla 2.5). Por otro lado, la diversidad de los hongos identificados se correlacionó de forma positiva con la concentración del nitrógeno total en el agua de los bañados ($p < 0,020$; Tabla 2.5). La correlación con las restantes variables biológicas analizadas no mostraron relaciones significativas.

Tabla 2.5. Resultados del análisis de correlación (coeficiente de correlación y valor de p) de las variables biológicas con las variables fisicoquímicas.

		OD (mgL ⁻¹)	pH	Temperatura (°C)	Conductividad (μScm ⁻¹)	DQO (mg O ₂ L ⁻¹)	P total (mgL ⁻¹)	N total (mgL ⁻¹)
T. de Esporulación (n° esporas mg ⁻¹ día ⁻¹)	Coef.	0,329	0,243	-0,780	-0,150	-0,599	-0,196	-0,261
	p-valor	0,224	0,374	0,001	0,584	0,017	0,473	0,339
Riqueza	Coef.	-0,100	0,0358	-0,455	-0,219	-0,0897	0,0789	0,373
	p-valor	0,714	0,893	0,0861	0,426	0,743	0,773	0,167
Diversidad	Coef.	-0,397	-0,257	0,221	-0,225	0,495	0,221	0,589
	p-valor	0,138	0,346	0,418	0,410	0,0576	0,418	0,020
Pérdida de masa (%)	Coef.	-0,349	-0,161	0,368	0,318	0,138	-0,421	-0,061
	p-valor	0,194	0,558	0,171	0,240	0,611	0,113	0,822

2.5. Discusión

Los resultados obtenidos revelaron que los bañados de desborde fluvial de los arroyos Chubichaminí y Cajaravillas tuvieron una mejor calidad de agua, con mayores concentraciones de oxígeno disuelto y menores de DBO₅, nitrógeno, fósforo y mayores valores de conductividad, como consecuencia del aporte de agua subterránea más mineralizada. En cambio, los bañados de desborde fluvial de los arroyos Del Gato y Carnaval mostraron una peor calidad del agua (con más materia orgánica y nutrientes). Es de destacar que además se observaron diferencias entre estos últimos bañados, ya que el bañado Del Gato se vinculó a mayores concentraciones de amonio, mientras que el Carnaval tuvo altas concentraciones de fósforo reactivo soluble y fósforo total. Los resultados revelaron la influencia de los usos del suelo sobre la calidad del agua y del aporte de agua subterránea en estos humedales.

Las tasas de esporulación fueron mayores en el material foliar incubado en los sitios durante otoño e invierno (mayo y julio). Estas se correlacionaron negativamente con la temperatura del agua de los arroyos, lo cual podría estar relacionado con una microbiota que tuvo una menor actividad metabólica y/o una baja contribución en el proceso de degradación, como consecuencia de la activación de mecanismos de respuesta al descenso de temperatura del agua. En tal sentido las muestras correspondientes a los periodos de bajas temperaturas (otoño-invierno), mostraron una mayor tasa de esporulación *in vitro* según Garnett et al., (2000) la carga de inóculo potencial que se encuentra durante el otoño es mayor que la hallada para periodos estivales. También, la tasa de esporulación se vinculó con las mayores concentraciones de DQO, siendo mayor en otoño e invierno, coincidiendo con las menores temperaturas y a un menor carácter recalcitrante de la materia orgánica, revelada a través de la relación DBO/DQO que fue mayor a 0,2.

Por otra parte, la diversidad de hongos que esporularon *in-vitro* mostró estar directamente relacionada a la concentración de nitrógeno en el agua de los bañados. Este nutriente además de ser clave para el crecimiento fúngico también lo es para la síntesis de numerosos metabolitos que son intermediarios necesarios para la activación de la esporulación de los hongos (Lecerf & Chauvet 2008; Jabiol et al., 2018).

La estructura del ensamble de hongos en el bañado de desborde fluvial del arroyo Del Gato mostró valores más altos de diversidad, probablemente debido a las altas concentraciones de nutrientes, particularmente de amonio, que fue entre 6 y 12 veces mayor que lo observado en los otros bañados. Estos resultados son compatibles con los encontrados por Gulis & Suberkropp (2004) y Noel et al., (2016), quienes señalaron que el enriquecimiento con nutrientes como el nitrógeno y el fósforo del agua provoca un aumento en la riqueza y diversidad de los hongos acuáticos.

La micobiota asociada a los restos vegetales en descomposición en el agua de los bañados estudiados incluye a tres grupos ecológicos: facultativos, aeroacuáticos e Ingoldianos. Analizando el ensamble de hongos, se encontraron más hongos facultativos (70%) que Ingoldianos (30%). Los hongos facultativos se consideran propios de la colonización del material vegetal previa a su inmersión en el agua. Ellos también pueden provenir de otras fuentes de inóculo como el agua y las partículas del suelo. Aunque los hongos Ingoldianos son principalmente formas acuáticas asociadas a la columna de agua y al sustrato, también pueden existir como formas endófitas de diferentes plantas (Chauvet et al., 2016).

La composición de los ensambles de hongos, analizados, demostró cambios con las variaciones estacionales observados entre el verano, el otoño e invierno. Entre estos, cabe señalar los vinculados a la dinámica hidrológica de los bañados, que pueden causar la retracción o expansión de la superficie con humedad en estos ambientes. En tal sentido durante el verano (febrero-marzo) el 70% de los hongos fueron facultativos (con esporas de hongos que pueden encontrarse tanto en ambientes terrestre como acuáticos); en cambio en otoño e invierno (mayo-julio), durante períodos más húmedos, el 60% fueron hongos Ingoldianos. Estos cambios en los ensambles podrían estar vinculado a que los hongos facultativos pueden desarrollarse tanto en los ambientes terrestres como acuáticos (Goh & Hyde 1996; Goh & Tsui 2003), mientras que los Ingoldianos son mayoritariamente acuáticos (Nikolcheva & Bärlocher 2005). En este sentido, los taxa *A. loggissima* y *A. acuminata* se registraron principalmente en invierno. Coincidentemente, investigaciones realizadas por Suberkropp en 1984, demostraron que estas especies constituyeron un ensamble de invierno en un estudio

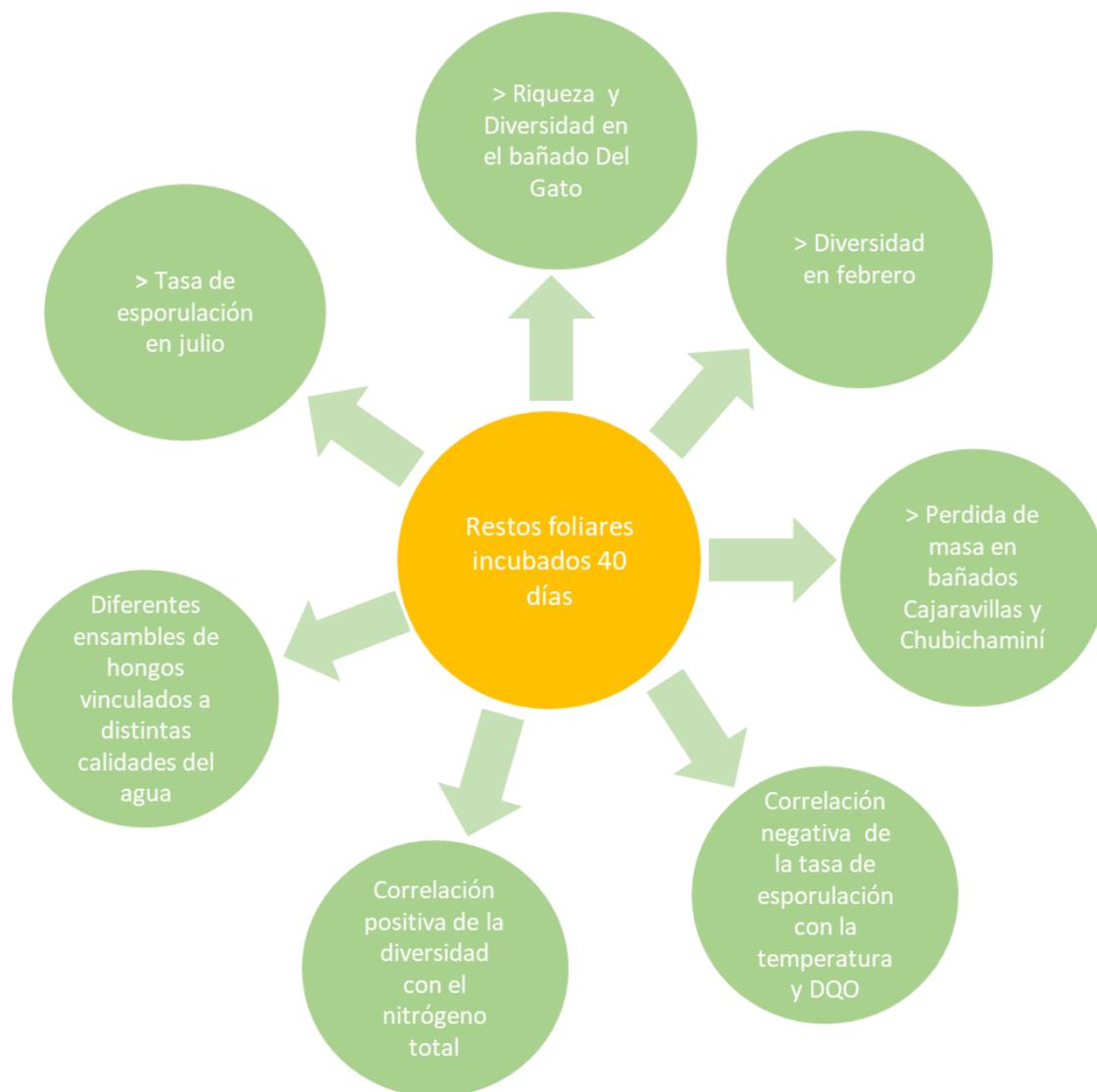
anual con hojas de alamo introducidas cada cuatro semanas en un pequeño arroyo, August Creek, en Michigan (USA).

En relación con la colonización fúngica en los sustratos orgánicos en el agua y su degradación, Gessner (2005) ha propuesto una secuencia de fases que incluye la adhesión de las esporas al sustrato, seguida de su germinación y la posterior diferenciación de las hifas que penetran y así colonizan el sustrato. Como consecuencia de este proceso, es habitual encontrar un pico de actividad fúngica en el material vegetal en descomposición en el agua tras cuatro semanas de incubación, que es también dependiente de las condiciones ambientales (Bärlocher 2012). Aunque la temperatura del agua es un factor considerado clave en el proceso de degradación (Graça et al., 2015), nosotros no encontramos diferencias durante todo el rango estacional verano-invierno analizado.

El análisis de ARD mostró dos ensamblajes fúngicos que se asociaron a distintas características físicoquímicas del agua en los bañados de desborde fluvial. Un ensamblaje estuvo vinculado a mayores concentraciones de nutrientes y materia orgánica, estando representado por especies reconocidas como tolerantes como *L. centrosphaera* y *T. marchalianum* (Sole et al., 2008). *T. marchalianum* se ha encontrado en condiciones de grave contaminación en ríos fuertemente contaminados de Alemania (Sridhhar et al., 2000). En cambio, otro ensamblaje de hongos estuvo relacionado con concentraciones más bajas de materia orgánica y nutrientes, y representado por especies menos tolerantes como *A. longissima*, reconocida también, por Sole et al., (2008), como un indicador de bajas concentraciones de carbono orgánico disuelto y total (DOC y TOC) y cloruros. Finalmente, de las 76 taxa, el 5% fueron exclusivos de los bañados con buena calidad del agua (*Sporidesmium* sp.1, *Sporidesmium* sp. 2, *Clavatospora* sp. y *Tricladium anomalum*), en cambio el 2% fueron exclusivos en los bañados con mala calidad del agua (*Brachysporium obovatum* y *Tridentaria* sp.). Cabe señalar que las variables ambientales que definieron la calidad del agua de los bañados además de estar influenciadas por los usos del suelo también lo están por la dinámica hidrológica de los bañados (Gómez et al 2022), lo cual influencia a su vez la microbiota y sus habilidades en la explotación de los hábitats, como se señaló en párrafos precedentes. Por lo tanto, la dinámica de los ensamblajes

fúngicos debe abordarse con una mirada multifactorial de los procesos que inducen a la estructura y funcionalidad de los mismos.

Finalmente, mientras la composición de los ensamblajes de hongos reflejó distintas condiciones ambientales (ARD), la tasa de esporulación se correlacionó significativamente con la menor temperatura y DQO y la diversidad con mayores concentraciones de nitrógeno. Por lo tanto, estos resultados rechazan parcialmente la hipótesis planteada, ya que no se encontraron patrones definidos en el resto de las respuestas analizadas. A continuación, en la siguiente figura se sintetizan los principales resultados obtenidos del presente capítulo.



3. Análisis comparativo de la tasa de descomposición y de la micobiota en material foliar de *T. latifolia* L. en dos bañados de desborde fluvial de la llanura pampeana con diferente calidad del agua

3.1. Introducción

La materia orgánica constituye el principal reservorio de energía química en los ecosistemas (Pozo et al., 2009). La descomposición de ésta tiene un rol importante en la cadena alimentaria y en los ciclos biogeoquímicos de los arroyos, ya que es un proceso clave en el reciclado de nutrientes dentro de los ecosistemas acuáticos (Tiegs et al., 2013; Smith & Smith 2007; Graça et al., 2015). La descomposición es un proceso biológico por el cual la materia orgánica es transformada en estructuras más simples, que en algunos casos puede conducir a la generación de dióxido de carbono y agua (Smith & Smith 2007). El término descomposición tiene dos acepciones: uno relativo a la desintegración mecánica de los materiales vegetales hasta un estado en el que la estructura celular no es reconocible; y otro referido a la mineralización de los compuestos orgánicos (Pozo et al., 2009; Graça et al., 2014). La descomposición es semejante en ambientes terrestres y acuáticos; solamente tiene variación la tasa de descomposición, la que, aunque es menor en los ecosistemas terrestres, es dependiente de la química del sustrato orgánico dominante, la micobiota que lo coloniza y los factores ambientales a los que están expuestos (Cebrian 2004; Saparrat et al., 2008; Abelho & Descals 2019).

En los arroyos el material foliar senescente de las plantas palustres comienza a descomponerse incluso cuando aún están en pie (Kuehn et al., 2004). El proceso de descomposición de la materia orgánica en los diferentes cuerpos de agua puede incluir las siguientes fases secuenciales: i. lixiviación de las sustancias solubles desde su material de partida; ii. colonización y degradación microbiana y iii. fragmentación mecánica y biótica (Sigee et al., 2005).

i. La lixiviación de carbohidratos, fenoles y aminoácidos ocurre entre las primeras 24 horas y hasta los 7 días de inmersión del material en el agua (Suberkropp et al., 1976; Gessner et al., 1999).

ii. La degradación del material vegetal involucra a la actividad de hongos y bacterias. En general las bacterias actúan sobre polisacáridos simples y péptidos, en cambio los hongos tienen la capacidad para descomponer compuestos complejos tales como celulosa y lignina (Romaní et al., 2009). Durante esta fase se produce en el sustrato un enriquecimiento en nitrógeno, el cual deriva mayoritariamente de la colonización del mismo por diferentes microorganismos y su metabolización, lo que conduce al incremento de la biomasa microbiana y a la consecuente inmovilización del nitrógeno en la matriz remanente, incluyendo la incorporación de formas solubles inorgánicas de nitrógeno disponibles en el agua. Estas transformaciones microbianas son consideradas claves puesto que tornan al material en descomposición más palatable para los invertebrados (Siggé et al., 2005).

iii. La última fase es la de fragmentación del sustrato atacado, que resulta de la abrasión ejercida por el flujo del agua y de los invertebrados trituradores (Alvarez & Bécares 2006).

La velocidad (tasa) de descomposición y la duración de cada fase depende de diversos factores ambientales, tanto abióticos como bióticos, así como de la calidad del material vegetal incorporado al cuerpo de agua (Anderson & Sedell 1979; Abelho 2001). Entre los factores abióticos externos se encuentran los parámetros fisicoquímicos del agua, como la temperatura (Chergui & Bergfur 2007; Graça et al., 2014), el oxígeno disuelto (Ferreira et al., 2015), otros nutrientes (Gulis & Suberkropp 2003) y el pH (Dangles et al., 2004). Las etapas descritas anteriormente pueden ser secuenciales o tener superposición (Petersen & Cummins 1974). Como resultado del proceso de descomposición, el material vegetal alóctono y autóctono en un cuerpo de agua, que puede incluso conducir a formar parte de alguna fracción húmica del sistema, se transforma mayoritariamente en varios productos, como biomasa microbiana e invertebrados, material orgánico residual de tipo particulado fino, coloidal, o soluble y compuestos inorgánicos como dióxido de carbono y sales nitrogenadas y fosforadas (Gessner et al., 1999). Por lo tanto, el conocimiento de la composición elemental del sustrato expuesto a la descomposición en el agua es un tópico relevante al analizar la descomposición de plantas acuáticas.

La dinámica de la descomposición de la materia orgánica en el agua puede estar condicionada por diversos factores tanto bióticos como abióticos. Entre estos últimos, la temperatura del agua, siendo la descomposición de la materia orgánica más lenta a temperaturas bajas, aunque ello también es función de la diversidad de microorganismos implicados en el proceso (Graça et al., 2015).

También el estado redox del ambiente acuático, el nivel de oxigenación y pH del agua pueden a la vez modular la actividad de los microorganismos que colonizan el sustrato. En general los procesos de degradación de la materia orgánica, como la celulólisis, son más activos en ambientes con valores de pH neutro o levemente ácidos.

En relación al contenido de nutrientes en el sustrato vegetal, tales como la de nitrógeno y fósforo total, son factores que condicionan los procesos de degradación del material vegetal (Flint et al., 2020). Por ejemplo, sustratos con elevada concentración de nitrógeno o baja relación carbono nitrógeno tienen mayores velocidades de descomposición (Flindt & Lillebø 2005). El tenor de N es un componente clave para la degradación de la materia orgánica, ya que la microbiota lo requiere para sintetizar diferentes enzimas involucradas en los procesos de degradación. Si la disponibilidad de N en el sustrato es alta, la microbiota involucrada en el proceso de degradación encontrará satisfecha la demanda del elemento, lo que conducirá a la rápida mineralización de la materia orgánica. En cambio, si el sustrato es deficiente en nitrógeno, su relación C/N será alta y el proceso de degradación estará limitado y por lo tanto se llevará a cabo más lentamente, ya que el N del sistema estará inmovilizado. La calidad del C del sustrato también puede ser un parámetro que condicione su degradabilidad. En el caso del material foliar senescente de *T. latifolia*, los polímeros estructurales de sus paredes celulares como celulosa, hemicelulosa y lignina son los componentes que más contribuyen a su masa, siendo el nivel de celulosa cristalina y de lignina parámetros que pueden limitar la velocidad de su degradación. Específicamente, la materia seca de esta macrófita está integrada principalmente por un 45% de celulosa, un 30 % de lignina y un 25 % de hemicelulosa (Rebaque et al., 2017). Es conocido que la celulosa tiene 2 principales fracciones o regiones, una amorfa y otra cristalina, siendo la primera más susceptible a la degradación (Floudas et al., 2020). Los procesos de celulólisis microbiana involucra una serie de eventos

secuenciales que incluye uno primario, de amorfogénesis (que reduce el tenor de cristalinidad del sustrato y su resistencia a la descomposición), seguido de uno de despolimerización y un tercero de oxidación de glucosa, que abastece a los microorganismos celulolíticos de carbono y energía. Por lo tanto, el estudio de la variación de la composición polimérica durante el proceso de descomposición resulta relevante para intentar comprender la compleja dinámica de este proceso. También son indicadores indirectos de la posible participación de microorganismos y de sus enzimas extracelulares que pueden contribuir a inferir los mecanismos que están involucrados en la degradación del material foliar.

Existen diferentes parámetros fisicoquímicos que pueden utilizarse en la caracterización de los sustratos lignocelulósicos durante el proceso de descomposición, como la proporción relativa de sus componentes estructurales, su masa específica y su coloración (Dorado et al 1999; Saparrat et al., 2010). En relación al color, aunque es variable la percepción visual de los colores según el observador, el análisis del color digital de las estructuras a caracterizar, utilizando modelos matemáticos como uno referido a los colores primarios, es una estrategia práctica y estandarizada que se está utilizando en el estudio del proceso de degradación de la materia orgánica (Gorthi et al., 2021). Específicamente la variación del color también ha sido reportada en restos vegetales incubados en ecosistemas acuáticos (Lin et al., 2006; Zhou et al., 2012). Por lo tanto, los cambios observados de este parámetro podrían ser un buen predictor de modificaciones fisicoquímicos del sustrato.

Como se indicó previamente, la descomposición de la materia orgánica implica una serie de eventos que se inician con la colonización del sustrato a degradar por agentes descomponedores que modifican mecánicamente su estructura y que sintetizan diferentes enzimas involucradas en el proceso de degradación (Gulis & Suberkropp 2003). Los procesos enzimáticos de los hongos y la actividad catalítica de enzimas específicas pueden ser utilizados como índices fidedignos de la tasa de descomposición (Saparrat et al., 2008; Romaní et al., 2009). Aunque la celulólisis implica la participación de una batería amplia de enzimas, la enzima β -glucosidasa cataliza el último paso del proceso del clivaje de la celobiosa a glucosa, una reacción que es limitante de la velocidad de degradación de la celulosa en los procesos de

descomposición de los restos vegetales en sistemas acuáticos. Este descriptor ha sido seleccionado en varios estudios como un parámetro clave de la degradación de diferentes sustratos orgánicos en el agua (Corstanje et al., 2006; Zang et al., 2018).

Finalmente, la descomposición foliar es un parámetro funcional que ha sido propuesto por Gessner & Chauvet (2002) como una herramienta clave para evaluar la integridad funcional de los arroyos (Gessner & Chauvet 2002; Young et al., 2008; Imberger et al., 2010; Ferreira & Guérolde 2017; Ferreira et al., 2020; Ferreira et al., 2021). Este descriptor funcional cumple con los atributos de un buen indicador, puesto que es predictivo y sensible a los impactos realizados por las actividades humanas, entre otras características (Bonada et al., 2006; Ferreira et al., 2020). Por lo tanto, resulta útil emplearlo en arroyos para evaluar esta respuesta bajo distintas calidades del agua vinculadas a diferentes usos del suelo.

3.2. Hipótesis y objetivos

Hipótesis

La tasa de descomposición, composición elemental (C, N y P), y la proporción relativa de los polímeros componentes del material foliar de *T. latifolia*, así como la actividad enzimática asociada a este sustrato durante el proceso de descomposición, están condicionadas por la calidad del agua.

Objetivo general

Describir la descomposición de restos foliares de *T. latifolia* en 2 bañados de desborde fluvial con calidad de agua contrastante, analizando la dinámica de la composición elemental y de la matriz polimérica del sustrato durante el proceso, así como los niveles de la actividad de β -glucosidasa asociada.

Objetivos específicos

Estimar la pérdida de masa de los restos foliares de *T. latifolia* bajo diferentes condiciones de la calidad del agua.

Analizar la composición de macronutrientes (C, N y P) del material vegetal durante el proceso de descomposición y caracterizar a nivel físicoquímico su fracción polimérica.

Analizar los niveles de la actividad β -glucosidasa asociada al material vegetal durante el proceso de descomposición.

Analizar complementariamente la tasa de esporulación, riqueza y diversidad de los hongos que colonizan el material vegetal de *T. latifolia*, durante el proceso de descomposición.

3.3. Materiales y Métodos

3.3.1. Método de muestreo y estimación de descomposición del material vegetal

Se colectaron hojas senescentes de ejemplares en pie de *T. latifolia* del arroyo Cajaravillas, un sitio de bajo impacto antrópico (Tarda et al., 2019; Gómez et al., 2022). Posteriormente las hojas fueron secadas a temperatura ambiente y almacenadas en el laboratorio. Fragmentos de estas hojas de 2x10 cm fueron colocados en bolsas de descomposición (Figura 3.1). En total se introdujeron 4 gramos de masa seca (estimada a temperatura de 25°C) del resto en cada bolsa (1 mm de tamaño de poro). Cada bolsa, conteniendo el material vegetal, se cerró con precintos y tanzas; éstas últimas también se utilizaron para amarrar a la totalidad de las bolsas a estacas para que queden sumergidas durante 7 meses, que fue el tiempo que duró el experimento. Se colocaron un total de 30 bolsas en cada bañado de los arroyos Chubichaminí y Del Gato, cuyas características ya fueron indicadas en el Capítulo 2. Estos bañados se seleccionaron para este experimento debido a ser aquellos que mantienen los niveles de agua de tal manera que aseguraban la inmersión de las bolsas durante todo el año, son de fácil acceso y representan sitios con calidad del agua contrastante.

Las muestras (bolsas) fueron recolectadas periódicamente por triplicado a los 7 días (21/5/2019), 20 días (3/6/2019), 50 días (3/7/2019), 80 días (1/8/2019), 110 días (31/8/2019), 160 días (20/10/2019) y 216 días (18/12/2019) de establecido el ensayo. Una vez recuperadas las bolsas, su contenido se secó hasta obtener una masa constante a 40 ° C, siendo una fracción calcinada a 500 °C para estimar la masa seca libre de cenizas (Pozo et al., 2009; Bärlocher 2020). La tasa de descomposición foliar fue estimada calculando el porcentaje de masa remanente en cada tiempo de exposición y mediante el ajuste a un modelo exponencial negativo (Petersen & Cummins 1974; Pozo et al., 2009). La ecuación del modelo es:

$$M_t = M_o \cdot e^{-kt}$$

donde

M_o es el Masa seca inicial,

M_t es el Masa seca remanente al tiempo *t*

k es la tasa de descomposición.



Figura 3.1. Bolsas empleadas en el ensayo, conteniendo el material foliar previo a su posterior sumersión en los sitios de estudio.

Se calculó el cociente de la tasa de descomposición de acuerdo con Gessner & Chauvet (2002), los cuales proponen como indicadores funcionales de calidad ecológica de los cursos de agua, las relaciones entre las tasas de descomposición de un sitio impactado vs uno de referencia. Dependiendo de los valores del mencionado

cociente, se puede inferir el nivel o grado de impacto del arroyo, en base al siguiente criterio: si el cociente de las tasas es un valor comprendido entre 0,75 – 1,33, no hay evidencia notoria del impacto. En cambio, si el cociente de las tasas es un valor comprendido entre los valores 0,5 y 0,75 ó entre 1,33 y 2,0, el arroyo es considerado impactado. Si el cociente de las tasas es un valor < a 0,5 ó > a 2,0, el arroyo es considerado severamente impactado.

3.3.2. Análisis fisicoquímico del agua

El oxígeno disuelto (OD, mgL^{-1}) y su porcentaje de saturación (%), la temperatura ($^{\circ}\text{C}$), el pH, la conductividad (μScm^{-1}), la turbidez (UNT) y los sólidos suspendidos totales (SSD mgL^{-1}) fueron medidos con un sensor multiparamétrico (HORIBA U10). Los nutrientes fueron analizados por triplicado mediante técnicas estandarizadas (APHA/AWWA/WEF, 2012). También se recolectaron 200 ml de agua del arroyo para el análisis de la demanda biológica de oxígeno ($\text{DBO}_5 \text{mgL}^{-1}$) y la demanda química del oxígeno (DQO, mgL^{-1}) (APHA/AWWA/WEF, 2012); estas técnicas están descriptas en el Capítulo 2.

3.3.3. Análisis elemental de C, N y P del material vegetal

Para analizar los mencionados macronutrientes, se emplearon 5 mg de la biomasa seca del material vegetal correspondiente al tiempo cero (previo a la incubación), tiempo medio (80 días) y tiempo final (216 días). Cada material se trituró con mortero siguiendo a Flindt & Lillebø (2005). Para el P se empleó la metodología colorimétrica de acuerdo con Anderson (1976). Con respecto al N, se utilizó el método de Kjeldalh. Para la medida del carbono orgánico total se usó un equipo "TELEDYNE TEKMAR Apollo 9000 Combustion TOC Analyzer con TOC Boat Sampler Rosemount Dohrmann Model 183."

3.3.4. Caracterización físicoquímica de la matriz polimérica del material vegetal a través de FT-IR

La composición físicoquímica relativa de los polímeros componentes del material foliar de *T. latifolia* al tiempo cero, a los 80 y 216 días fue analizada mediante Espectroscopía Infrarroja Transformada de Fourier (FT-IR) siguiendo el método de Lammers et al., (2009). El material de cada bolsa-tratamiento fue triturado con nitrógeno líquido en mortero de porcelana y luego pasado a través de un tamiz con trama tipo lienzo de voile para homogeneizar el tamaño de las partículas. Posteriormente, las muestras fueron expuestas a una serie de lavados utilizando Triton X-100, agua, etanol, metanol y acetona, con el fin de eliminar sus extraíbles hidro- y liposolubles, siguiendo el procedimiento reportado por Espiñeira et al., (2011). El material resultante fue secado a 40 °C y mantenido en una atmósfera libre de humedad hasta el momento de proceder al armado de las pastillas en una relación de 2:20 con bromuro de potasio (BrK) que es transparente al IR, utilizando una prensa manual. Los espectros se registraron a una velocidad de 1 cm s⁻¹ en un espectrofotómetro Thermo Nicolet Nexus 470 en el rango entre 800 y 1800 cm⁻¹ con 4 cm⁻¹ de resolución bajo atmósfera de aire seco (cámara con silicagel), obteniéndose un espectro promedio como resultado de 64 lecturas. Para el procesamiento de los datos se utilizó el software OMNIC 7.2 y se llevó a cabo la corrección de cada espectro sustrayendo automáticamente aquel correspondiente a la pastilla blanco (conteniendo solo BrK), obtenido inmediatamente antes del registro de cada muestra. Se analizaron las bandas consideradas de referencia de los polímeros de la pared celular vegetal y de sus grupos funcionales componentes (Tabla 3.1) y se estimaron intensidades relativas siguiendo a Pandey y Pitman (2003; 2004) y Luna et al., (2015).

Tabla 3.1. Asignación de bandas de absorción en los espectros FT-IR de las muestras de la matriz polimérica de la biomasa seca de *T. latifolia*.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupos funcionales	Referencia
899	vibraciones de grupos C ₁ -H en celulosa y celulosa amorfa	Hinterstoisser et al., (2001); Rizal et al., (2018)
1164	vibraciones de enlaces glicosídicos C-O-C (holocelulosa)	Saparrat et al., (2010); Fackler et al., (2010)
1318	vibraciones de C-O del anillo guayacilo (lignina)	Pandey y Pitman (2003; 2004)
1263	vibraciones del C-O del anillo siringilo (lignina)	Pandey y Pitman (2003; 2004)
1424	celulosa cristalina	Poletto et al., (2014)
1516	vibraciones de esqueletos aromáticos (lignina)	Shi et al., (2012); Jelle & Hovde (2012); Saparrat et al., (2010) Bari et al., (2019)
1735	grupos carbonilos no conjugados de pectinas y hemicelulosas (xilanos)	Luna et al., (2015); Rizal et al., (2018)

3.3.5. Análisis de los componentes del color digital del material foliar

La variación en los componentes RVA (rojo, verde, azul; en inglés RGB) del color digital del material de partida previo a la incubación, y después de los 80 y 216 días se realizó siguiendo el método de Dorado et al., (1999). Para ello, se armó un set de pastillas con el material particulado obtenido para el estudio de FT-IR, y a fin de sistematizar las condiciones de luz, todas las muestras se fotografiaron a la vez sobre un fondo blanco único con una cámara digital Sony y se generó una imagen digital. Esta última, con una resolución 14,1 pixeles, se analizó con el software Photoshop para cuantificar los tres componentes del color digital de un área determinada.

3.3.6. Tasa de esporulación, abundancia, riqueza y diversidad de los hongos acuáticos asociados al material foliar de *T. latifolia*

Se midió la tasa de esporulación a los 7, 20, 80 y 216 días en cada bañado de desborde fluvial, con el protocolo explicado en el Capítulo 2. Esta variable se expresa en número de esporas formadas por miligramo de hoja por día (n° de esporas.mg⁻¹.d⁻¹). A partir de la tasa de esporulación se estimó la abundancia relativa, la riqueza y la diversidad de taxa mediante el índice de Shannon (H'). La abundancia relativa de cada taxa se obtuvo de acuerdo a Zhang et al., (2004), clasificándolos en cuatro grupos: dominante ($\geq 50\%$), más común ($\geq 30-50\%$), común ($\geq 10-30\%$) y raras ($\leq 10\%$).

3.3.7. Actividad β -glucosidasa

Los niveles de esta actividad se valoraron en fracciones acuosas obtenidas a partir de macerados del material vegetal expuesto a cada uno de los bañados (LeBauer 2010, Frossard et al., 2013, Hendel & Marxsen 2020). Para ello, los 4 gramos de material fresco en presencia del buffer de extracción K₂HPO₄ 0,1M pH 6,5, se trituraron en un mortero en un baño de hielo. Posteriormente, el macerado obtenido fue centrifugado a 4° C y 15000 g de velocidad; siendo el sobrenadante utilizado como fuente de enzimas. La actividad β -glucosidasa se estimó según Hendel & Marxsen (2020), utilizando 4-Nitrophenyl- b- D- Glucopyranosido (PNPG) como sustrato.

3.3.8. Análisis estadísticos

Los datos de descomposición fueron ajustados a una curva exponencial negativa mediante análisis de regresión, y se utilizó un ANCOVA a dos vías (sitio y tiempo como factores) para comparar las tasas de descomposición entre sitios y tiempos, empleando al factor tiempo como covariable. Para analizar las diferencias en los parámetros fisicoquímicos del agua obtenidos en el campo se empleó un MANOVA a dos vías con sitio y tiempo como factores, mientras que los datos de nutrientes, DBO₅ y DQO se analizaron mediante un ANOVA a una vía con el factor sitio. Las variaciones

de los descriptores biológicos a lo largo del experimento y entre sitios fueron testeadas con un ANOVA a dos vías, con sitio y tiempo como factores. La normalidad de los datos fue evaluada previamente por la prueba de Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk, 1965), y aquellas variables que no cumplieron con este supuesto fueron transformados a log (x+1). El supuesto de homogeneidad de varianzas fue comprobado mediante la prueba de Cochran (Cochran, 1951); aquellas variables biológicas que no cumplieron con los supuestos de normalidad y/o homogeneidad de varianzas fueron analizadas mediante ANOVA a dos vías en rangos. Cuando se encontraron diferencias significativas entre los factores se utilizó la prueba post hoc de Tukey para reconocer las diferencias entre los grupos.

Para testear las diferencias de los ensambles de hongos a lo largo de la incubación, en cada sitio, se llevó a cabo un análisis ANOSIM a una vía, con el tiempo como factor, y una prueba SIMPER, utilizando las abundancias relativas de los taxa (Clarke 1993; Clarke & Gorley 2006).

3.4. Resultados

3.4.1. Análisis fisicoquímico del agua

Los resultados de las características fisicoquímicas del agua durante los 7 muestreos realizados se encuentran en las tablas 3.2 y 3.3. La concentración de oxígeno disuelto y el porcentaje de saturación fueron significativamente diferentes; el test *a posteriori* evidenció que estas variables fueron significativamente mayores en el bañado del arroyo Chubichaminí a los 7, 20, 160 y 216 días ($p < 0,05$; Tabla 3.2; Tabla 3.3; Tabla 3.4). En cambio, en el bañado del arroyo Del Gato, el oxígeno disuelto fue significativamente diferente en un solo tiempo, el test *a posteriori* mostró que fue significativamente mayor a los 110 días ($p < 0,05$; Tabla 3.2; Tabla 3.3; Tabla 3.4). Por otro lado, el pH fue significativamente diferente; el test *a posteriori* evidenció que esta variable fue significativamente mayor en el arroyo Del Gato a los 20, 80, 110 y 160 días ($p < 0,05$; Tabla 3.2; Tabla 3.3; Tabla 3.4). La turbidez fue significativamente diferente

en el tiempo; el test *a posteriori* demostró que esta variable fue significativamente mayor a los 216 días en ambos bañados ($p < 0,05$; Tabla 3.2; Tabla 3.3; Tabla 3.4). Por otro lado, los sólidos totales disueltos mostraron diferencias significativas, ya que el test *a posteriori* evidenció que esta variable fue significativamente mayor en el bañado Chubichaminí en todos los tiempos muestreados ($p < 0,05$; Tabla 3.2; Tabla 3.3; Tabla 3.4). También, la temperatura del agua fue significativamente diferente, siendo esta variable significativamente mayor en el bañado Chubichaminí a los 216 días ($p < 0,05$; Tabla 3.2; Tabla 3.3; Tabla 3.4). Por otra parte, el fósforo reactivo soluble y el nitrógeno total tuvieron diferencias significativas entre sitios, siendo las concentraciones de los mismos significativamente mayores en el bañado del arroyo Del Gato ($p < 0,05$; Tabla 3.2; Tabla 3.3; Tabla 3.5). Por último, la concentración de fósforo total tendió a ser mayor en el bañado Del Gato, mientras que la DQO tendió a ser más alta en el bañado Chubichaminí ($p > 0,05$; Tabla 3.2; Tabla 3.3; Tabla 3.4).

Tabla 3.2. Parámetros físicoquímicos del agua del bañado del arroyo Chubichaminí en cada fecha de muestreo. Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

Tiempo de sumersión (días)	7	20	50	80	110	160	216
OD mgL ⁻¹	6,66 (\pm 0,0404)	8,313 (\pm 0,109)	7,843 (\pm 0,143)	9,056 (\pm 0,22)	9,56(\pm 0,529)	5,906(\pm 0,100)	3,55 (\pm 0,407)
Sat. de OD %	66,26 (\pm 4,366)	76 (\pm 0,5)	70,6 (\pm 0,984)	84,73 (\pm 1,50)	86,73 (\pm 1,01)	60,8 (\pm 1,51)	42,66 (\pm 5,22)
pH	6,75 (\pm 0,063)	6,92 (\pm 0,03)	6,80 (\pm 0,090)	6,76 (\pm 0,036)	7,17 (\pm 0,08)	6,05 (\pm 0,25)	7,20 (\pm 0,03)
Temperatura °C	13,5633 (\pm 0,23)	9,903 (\pm 0,83)	9,27(\pm 0,56)	10,87(\pm 0,40)	9,53(\pm 0,72)	15,77(\pm 0,11)	23,22 (\pm 0,22)
Turbidez UNT	61,56 (\pm 2,59)	55,8 (\pm 5,66)	43,53 (\pm 0,80)	45,4 (\pm 0,80)	43,86 (\pm 1,60)	51,36 (\pm 7,79)	205 (\pm 60,69)
Conductividad μ S cm ⁻¹	659 (\pm 12,42)	799 (\pm 11,37)	481(\pm 0,04)	519 (\pm 4,04)	842(\pm 22,59)	330(\pm 1,54)	341 (\pm 11,54)
SST mgL ⁻¹	422,33 (\pm 8,08)	511,33 (\pm 7,76)	312,66 (\pm 2,081)	332,33 (\pm 3,21)	539,33 (\pm 14,04)	216,666 (\pm 0,57)	634,66 (\pm 14,57)
P-PO ₄ mgL ⁻¹	0,184 (\pm 0,001)	0,145 (\pm 0,002)	0,214 (\pm 0,02)	0,253 (\pm 0,001)	0,121 (\pm 0,01)	0,195 (\pm 0,002)	0,157 (\pm 0,001)
P TOTAL mgL ⁻¹	0,302 (\pm 0,002)	0,162 (\pm 0,02)	0,316 (\pm 0,001)	0,282 (\pm 0,001)	0,326 (\pm 0,002)	0,3013 (\pm 0,02)	0,38 (\pm 0,001)
N-NO ₃ mgL ⁻¹	0,0953 (\pm 0,02)	0,0343 (\pm 0,01)	0,101 (\pm 0,02)	0,001 (\pm 0,01)	0,035 (\pm 0,002)	0,065 (\pm 0,03)	0,06 (\pm 0,04)
N-NO ₂ mgL ⁻¹	0,005 (\pm 0,001)	0,014 (\pm 0,002)	0,001 (\pm 0,002)	0,001 (\pm 0,03)	0,0123 (\pm 0,05)	0,02 (\pm 0,005)	0,0164 (\pm 0,004)
N-NH ₄ mgL ⁻¹	0,075 (\pm 0,001)	0,129 (\pm 0,001)	0,001 (\pm 0,001)	0,005 (\pm 0,001)	0,002 (\pm 0,002)	0,074 (\pm 0,001)	0,0375 (\pm 0,01)
N TOTAL mgL ⁻¹	2,43 (\pm 0,001)	2,837 (\pm 0,002)	3,252 (\pm 0,001)	1,572 (\pm 0,004)	0,870 (\pm 0,001)	2,048 (\pm 0,001)	1,458 (\pm 0,001)
DBO ₅ mgL ⁻¹	12,333 (\pm 1,5)	20,33 (\pm 2,1)	16,333 (\pm 1,4)	14,66 (\pm 0,5)	2,333 (\pm 1,5)	29,333 (\pm 1,5)	15,5 (\pm 1,5)
DQO mgL ⁻¹	94 (\pm 1,05)	123,33 (\pm 1,10)	79 (\pm 1,20)	45 (\pm 0,57)	27,66 (\pm 0,05)	85 (\pm 0,75)	55 (\pm 1,5)

Tabla 3.3. Parámetros físicoquímicos del bañado del arroyo Del Gato en cada tiempo de muestreo. Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

Tiempo de sumersión (días)	7	20	50	80	110	160	216
OD mgL ⁻¹	2,913 (\pm 0,273)	6,343 (\pm 0,192)	7,846 (\pm 0,549)	8,87 (\pm 0,381)	10,30 (\pm 0,625)	3,536 (\pm 0,256)	0,88 (\pm 0,695)
Sat. OD %	28,8 (\pm 3,011)	58,7 (\pm 1,509)	69,2 (\pm 3,23)	81,73 (\pm 2,309)	92,2(\pm 5,260)	36 (\pm 2,48)	13,3 (\pm 2,851)
pH	6,7 (\pm 0,03)	7,19 (\pm 0,21)	8,373 (\pm 0,35)	8,06 (\pm 0,24)	8,52 (\pm 0,08)	6,56 (\pm 0,25)	7,30 (\pm 0,30)
Temperatura° C	13,29 (\pm 0,44)	10,38 (\pm 0,92)	8,48 (\pm 0,92)	10,25 (\pm 0,63)	9,08 (\pm 0,53)	15,06 (\pm 0,73)	21,15 (\pm 0,17)
Turbidez UNT	42,46 (\pm 2,84)	149,5 (\pm 16,26)	91,16 (\pm 3,59)	102,36 (\pm 3,72)	94,76 (\pm 23,97)	82,23 (\pm 1,55)	336 (\pm 370,44)
Conductividad μ S cm ⁻¹	380 (\pm 8,08)	526 (\pm 2,89)	263 (\pm 8,96)	363 (\pm 2,20)	578 (\pm 50,84)	276 (\pm 13,05)	448 (\pm 56,41)
SST mgL ⁻¹	247,33 (\pm 5,131)	337 (\pm 1,732)	171 (\pm 6,08)	236 (\pm 1,00)	364 (\pm 43,312)	172 (\pm 6,557)	278,33 (\pm 39,7)
P-PO ₄ mgL ⁻¹	0,906 (\pm 0,001)	0,414 (\pm 0,001)	0,675 (\pm 0,01)	0,708 (\pm 0,001)	0,357 (\pm 0,02)	1,409 (\pm 0,001)	0,884 (\pm 0,001)
P TOTAL mgL ⁻¹	1,115 (\pm 0,01)	0,473 (\pm 0,03)	0,863 (\pm 0,001)	0,756 (\pm 0,001)	0,52 (\pm 0,01)	1,633 (\pm 0,04)	1,076 (\pm 0,03)
N-NO ₃ mgL ⁻¹	0,048 (\pm 0,03)	0,079 (\pm 0,04)	1,592 (\pm 0,02)	0,911 (\pm 0,03)	0,085 (\pm 0,04)	0,375 (\pm 0,002)	0,233 (\pm 0,01)
N-NO ₂ mgL ⁻¹	0,014 (\pm 0,01)	0,127 (\pm 0,003)	0,001 (\pm 0,01)	0,001 (\pm 0,03)	0,024 (\pm 0,01)	0,113 (\pm 0,03)	0,067 (\pm 0,001)
N-NH ₄ mgL ⁻¹	0,261 (\pm 0,002)	0,090 (\pm 0,007)	0,024 (\pm 0,001)	0,017 (\pm 0,001)	0,001 (\pm 0,003)	0,243 (\pm 0,001)	0,122 (\pm 0,001)
N TOTAL mgL ⁻¹	8,237 (\pm 0,003)	6,210 (\pm 0,001)	8,554 (\pm 0,004)	9,662 (\pm 0,001)	5,969 (\pm 0,001)	11,33 (\pm 0,001)	8,654 (\pm 0,001)
DBO ₅ mgL ⁻¹	19 (\pm 1,15)	21 (\pm 1,5)	19 (\pm 1,5)	12,33 (\pm 0,75)	1(\pm 1,5)	25,333 (\pm 1,5)	13,5 (\pm 1,5)
DQO mgL ⁻¹	50 (\pm 0,57)	30 (\pm 1,05)	63,33 (\pm 0,5)	38 (\pm 0,57)	15,333 (\pm 0,58)	40 (\pm 0,80)	27,5 (\pm 0,80)

Tabla 3.4. Resultados del análisis de MANOVA a dos vías (F y p valor) realizado para las variables físicoquímicas medidas a campo.

Variables	Factores			
		Sitio	Fecha	Sitio * Fecha
OD mgL ⁻¹	F	161,92	325,21	29,75
	p	0,00	0,00	0,00
Sat. OD %	F	284,98	325,49	44,55
	p	0,00	0,00	0,00
pH	F	183,20	55,16	22,57
	p	0,00	0,00	0,00
Temperatura° C	F	11,88	378,49	2,47
	p	0,00	0,00	0,05
Turbidez UNT	F	2,61	3,40	0,28
	p	0,12	0,01	0,94
Conductividad μS cm ⁻¹	F	1,01	1,00	1,00
	p	0,32	0,44	0,44
SST mgL ⁻¹	F	987,69	228,46	48,19
	p	0,00	0,00	0,00

Tabla 3.5. Resultados del análisis de ANOVA a una vía (gl: grados de libertad, F, y p valor) realizado para las variables físicoquímicas medidas en laboratorio.

Variables	Factor	
		Sitio
P-PO ₄ mgL ⁻¹	Gl	1
	F	6,15
	P	0,048
P TOTAL mgL ⁻¹	Gl	1
	F	5,05
	P	0,066
N-NO ₃ mgL ⁻¹	Gl	1
	F	1,33
	P	0,293
N-NO ₂ mgL ⁻¹	Gl	1
	F	2,04
	P	0,203
N-NH ₄ mgL ⁻¹	Gl	1
	F	1,37
	P	0,286
N TOTAL mgL ⁻¹	Gl	1
	F	20,16
	P	0,004
DBO ₅ mgL ⁻¹	Gl	1
	F	0,02
	P	0,905
DQO mgL ⁻¹	Gl	1
	F	5,22
	P	0,062

3.4.2. Tasa de descomposición de los restos foliares de *T. latifolia*

La pérdida de masa del material foliar de *T. latifolia* fue similar en ambos sitios hasta los 80 días; posteriormente el descenso fue mayor en el bañado Chubichamini con respecto al bañado Del Gato (60% y 40% de disminución de masa seca respectivamente después de 216 días). La tasa de descomposición fue significativamente mayor en el arroyo Chubichamini ($k=-0,004$) con respecto al arroyo del Gato ($k=-0,002$) a partir de los 80 días de sumersión (ANCOVA, $p<0,05$; tabla 3.6; Figura 3.2). El cociente entre las tasas de descomposición estimadas de los 2 sitios reveló un valor de 0,5.

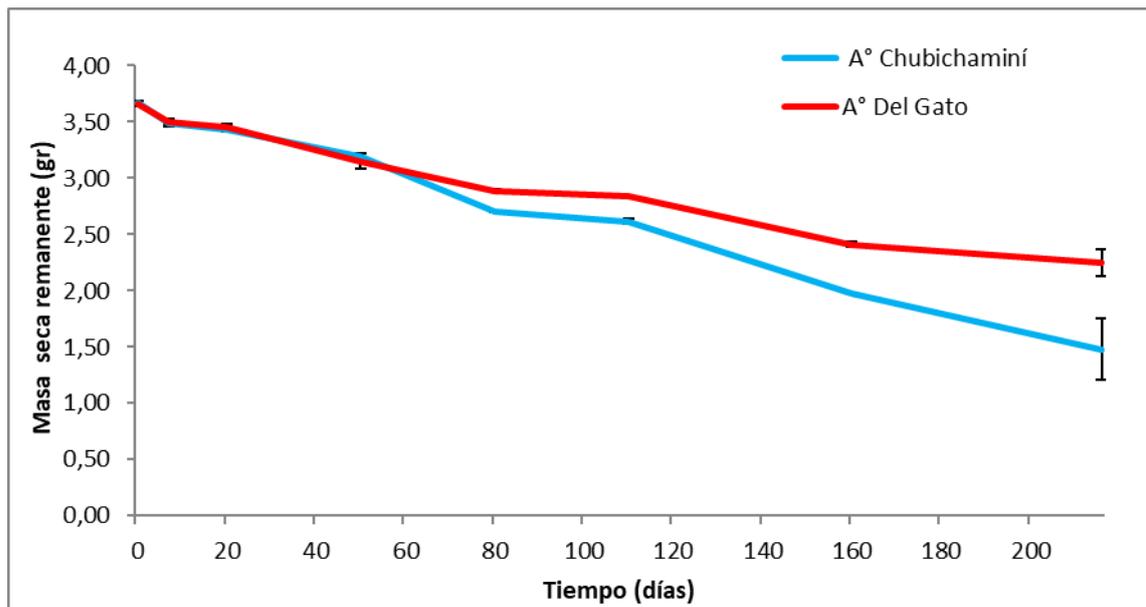


Figura 3.2. Evolución de la masa seca remanente de las bolsas con los restos foliares de *T. latifolia* a lo largo de su incubación en los bañados de desborde fluvial de los arroyos Chubichamini y Del Gato. Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

Tabla 3.6. Resultados del análisis de ANCOVA a dos vías (F y p valor) realizado para la tasa de descomposición de los restos foliares de *T. latifolia*.

Variable		Sitio	Factores	
			Tiempo	Sitio* Tiempo
Tasa de descomposición	F	17,363	258,034	26,497
	P	0,00	0,00	0,00

3.4.3. Composición de macronutrientes de los restos foliares de *T. latifolia*

El análisis de la concentración de nutrientes de los restos foliares de *T. latifolia* mostró que el carbono y nitrógeno no variaron significativamente después de 80 y 216 días de iniciado el ensayo cuando el sustrato estuvo expuesto a ambos bañados de desborde fluvial ($p > 0,05$; Figura 3.4 AB; tabla 3.7). Por el contrario, la concentración de fósforo fue significativamente diferente; según el test *a posteriori* esta variable fue significativamente mayor a los 216 días con respecto tiempo inicial y a los 80 días en el bañado Del Gato ($p < 0,05$; Figura 3.4C; tabla 3.7). Con respecto a las relaciones entre C/N, C/P y P/N, no se detectaron diferencias significativas entre los sitios y en cada tiempo dentro de los mismos ($p > 0,05$; Figura 3.4 D, E, F; tabla 3.7).

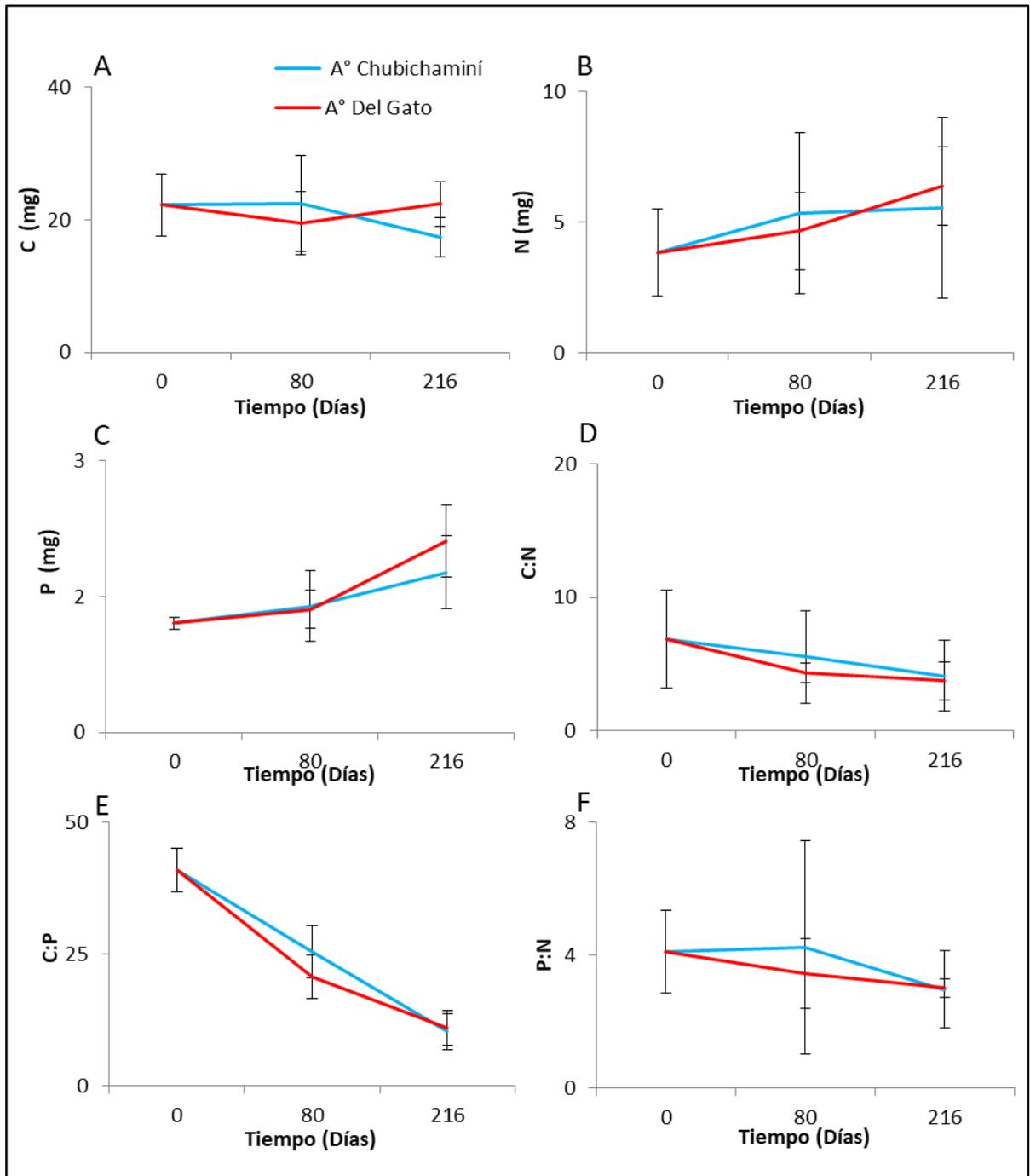


Figura 3.4. Composición del material foliar seco al inicio, 80 y 216 días de incubación en ambos bañados de desborde fluvial. Composición de carbono (A), nitrógeno (B) y fósforo (C). Relaciones Carbono/Nitrógeno (D), Carbono/Fósforo (E) y Fósforo/Nitrógeno (F). Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

Tabla 3.7. Resultados del análisis de ANOVA a dos vías (gl: grados de libertad, F, y p valor) realizado de la composición de macronutrientes del material foliar de *T. latifolia*.

Variable		Factores		
		Sitio	Tiempo	Sitio* Tiempo
C (mg)	gl	1	2	2
	F	0,107	0,352	1,056
	p	0,750	0,710	0,378
P (mg)	gl	1	2	2
	F	7,735	5,785	2,394
	p	0,501	0,002	0,133
N (mg)	gl	1	2	2
	F	0,353	1,023	0,252
	p	0,563	0,389	0,781
C: N	gl	1	2	2
	F	0,248	1,581	0,094
	p	0,628	0,246	0,911
C: P	gl	1	2	2
	F	2,877	3,671	0,846
	p	0,116	0,057	0,453
P: N	gl	1	2	2
	F	0,547	0,137	0,238
	p	0,474	0,873	0,792

3.4.4. Caracterización físicoquímica de la matriz polimérica de los restos foliares de *T. latifolia*

A continuación, se muestran los resultados de los espectros FT-IR, en el rango comprendido entre los 800 cm^{-1} y 1800 cm^{-1} , correspondientes al material foliar de partida y sumergido en los bañados de desborde fluvial de los arroyos Chubichaminí y Del Gato después de 80 y 216 días (Figura 3.5A, B; las referencias de cada relación se encuentran indicadas en materiales y métodos). La relación entre las intensidades de absorbancia a 1424 cm^{-1} y a 899 cm^{-1} (índice de cristalinidad de la celulosa) fue significativamente diferente en los tratamientos analizados, existiendo interacción entre los factores sitio y tiempo. En este sentido, esta relación fue significativamente menor a los 80 y 216 días en el bañado Del Gato con respecto al Chubichaminí ($p < 0,05$; Figura 3.6A; tabla 3.7). También según el test *a posteriori* esta variable fue significativamente menor a los 80 y 216 días con respecto al tiempo inicial en ambos bañados ($p < 0,05$; Figura 3.6A; tabla 3.7). Por otra parte, la relación entre 899 cm^{-1} y 1164 cm^{-1} (relación celulosa/holocelulosa) fue significativamente diferente considerando el factor tiempo; el test *a posteriori* evidenció que esta variable fue significativamente mayor a los 80 y 216 días con respecto al inicio del estudio en ambos bañados ($p < 0,05$; 3.6B; tabla 3.7). La relación 899 cm^{-1} y 1516 cm^{-1} (relación celulosa/lignina) fue significativamente diferente entre sitios, según el test *a posteriori* esta variable fue significativamente mayor en el bañado Del Gato ($0,423 \pm 0,11$) con respecto al bañado Chubichaminí ($0,33 \pm 0,074$; $p < 0,05$; tabla 3.7). También, esta variable fue significativamente mayor a los 80 y 216 días con respecto al tiempo inicial en los bañados ($p < 0,05$; 3.6C; tabla 3.7). Por otro lado, la relación de absorbancia a 899 cm^{-1} y 1735 cm^{-1} (relación celulosa/hemicelulosa) fue significativamente mayor en el material incubado después de los 80 y 216 días en los bañados con respecto a aquel correspondiente al tiempo inicial ($p < 0,05$), no observando diferencias entre sitios (Figura 3.6D; tabla 3.7). Las relaciones entre las intensidades de absorbancias a $1735\text{ cm}^{-1}/1516\text{ cm}^{-1}$ y $1516\text{ cm}^{-1}/1263\text{ cm}^{-1}$ (la relación hemicelulosa/lignina) $1516\text{ cm}^{-1}/1263\text{ cm}^{-1}$ (relación lignina/anillo siringilo) no mostraron diferencias en los materiales expuestos a los 2 sitios y a los 2 tiempos de incubación relativo al material de partida ($p > 0,05$; Figura 3.6E, F. tabla 3.7). Con respecto a la relación entre la intensidad de absorbancia a 1516

cm^{-1} y 1318 cm^{-1} , (relación lignina/anillo guayacilo) fue significativamente diferente, ya que el test *a posteriori* evidenció que esta variable fue significativamente mayor a los 216 días con respecto al tiempo inicial en ambos bañados ($p < 0,05$; Figuras 3.6G; tabla 3.7). La relación entre la intensidad de absorbancia a 1263 cm^{-1} y 1318 cm^{-1} (relación anillo siringilo/guayacilo), no mostraron diferencias significativas entre sitios y tiempos durante el proceso de descomposición ($p > 0,05$; Figura 3.6H; tabla 3.7). Por último, la relación entre la intensidad de absorbancia a 1516 cm^{-1} y 1424 cm^{-1} (relación lignina/celulosa cristalina) fue significativamente mayor a los 80 y 216 días con respecto al tiempo inicial en ambos bañados de desborde fluvial ($p < 0,05$; Figuras 3.6I; tabla 3.7).

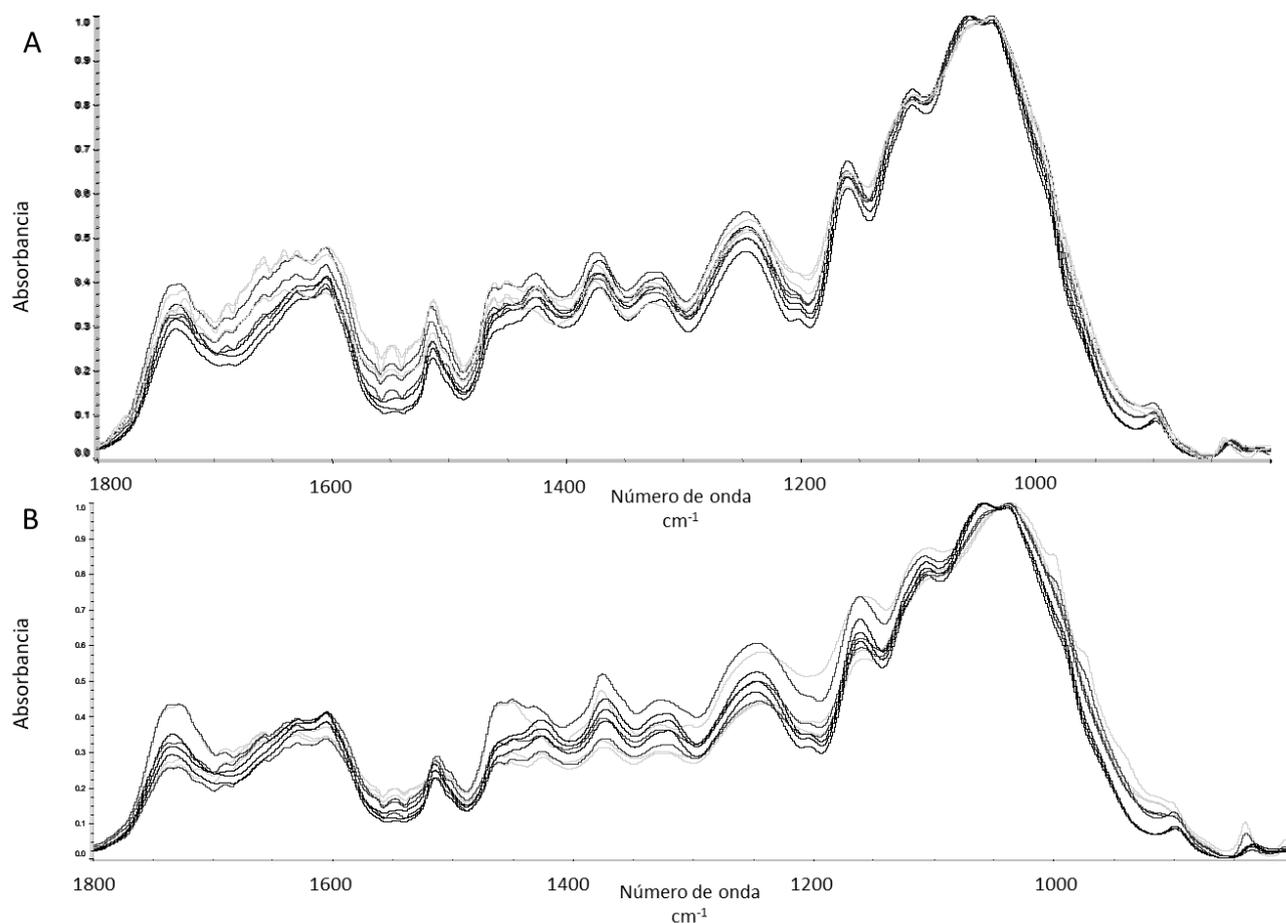


Figura 3.5. Espectros FT-IR de las fracciones poliméricas de los restos del material foliar de *Typha latifolia* de partida (líneas negras) y luego de su incubación en los bañados de desborde fluvial Chubichaminí (A) y Del Gato (B) por 80 (líneas punteadas) y 216 (líneas grises) días.

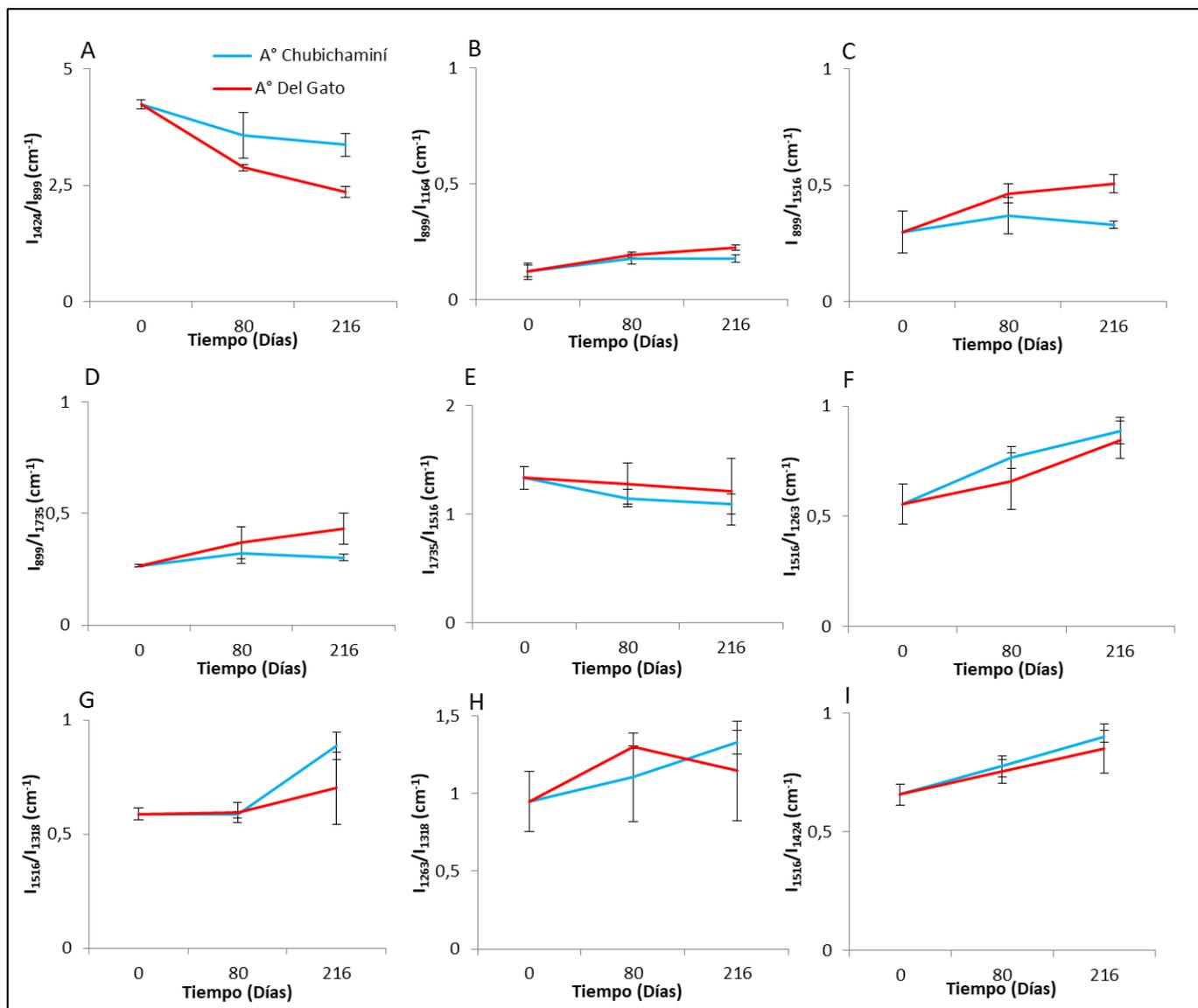


Figura 3.6. Relaciones de las intensidades de absorbancia a números de onda específicos, asignables a diferentes polímeros de la pared celular vegetal y sus grupos funcionales, correspondientes al material foliar de *T. latifolia* de partida y después de 80 y 216 días de incubación en los bañados Chubichamini y Del Gato. Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

Tabla 3.8. Resultados de los análisis estadísticos de las relaciones de los valores de absorbancia a números de onda específicos, asignables a diferentes polímeros de la pared celular vegetal y sus grupos funcionales, correspondientes al material foliar de *T. latifolia* de partida y después de 80 y 216 días de incubación en los bañados Chubichaminí y Del Gato. Las variables analizadas con ANOVA a dos vías paramétrico (gl: grados de libertad, F, y p valor) se encuentran en color negro, mientras que en gris las que fueron analizadas con ANOVA dos vías no paramétrico (a rangos).

Variable		Factores		
		Sitio	Tiempo	Sitio* Tiempo
1424 cm ⁻¹ /899 cm ⁻¹	gl	1	2	2
	F	17,000	44,471	4,956
	p	0,001	<0,001	0,027
899 cm ⁻¹ /1164 cm ⁻¹	gl	1	2	2
	F	4,254	21,339	1,755
	p	0,062	<0,001	0,215
899 cm ⁻¹ /1516 cm ⁻¹	gl	1	2	2
	F	6,752	5,421	2,166
	p	0,023	0,021	0,157
899 cm ⁻¹ /1735 cm ⁻¹	gl	1	2	2
	F	4,455	14,932	1,540
	p	0,056	<0,001	0,254
1735 cm ⁻¹ /1516 cm ⁻¹	gl	1	2	2
	F	0,877	1,463	0,224
	p	0,368	0,270	0,802
1516 cm ⁻¹ /1263 cm ⁻¹	gl	1	2	2
	F	0,615	3,115	1,026
	p	0,448	0,081	0,388
1516 cm ⁻¹ /1318 cm ⁻¹	gl	1	2	2
	F	1,147	15,283	0,453
	p	0,305	<0,001	0,646
1318 cm ⁻¹ /1263 cm ⁻¹	gl	1	2	2
	F	0,00085	2,680	0,969
	p	0,997	0,109	0,407
1516 cm ⁻¹ /1424 cm ⁻¹	gl	1	2	2
	F	0,677	17,514	0,256
	p	0,427	<0,001	0,778

3.4.5. Análisis del color digital de la matriz polimérica de los restos foliares de *T. latifolia* durante su incubación

Se observaron variaciones notorias en el color percibido del material vegetal expuesto a ambos arroyos a lo largo de su incubación, donde el material de partida que inicialmente tuvo una tonalidad amarillenta cambió a una coloración parda oscura, siendo esta más intensa en el material recuperado en el bañado del arroyo Del Gato (Figura 3.8). Aunque no se detectaron diferencias en los componentes del color digital del material estudiado, rojo, verde y azul (RVA), entre sitios, se observaron variaciones en los valores de cada componente a lo largo del ensayo y según el bañado analizado (interacción, Tabla 3.9). Con respecto a los componentes R y V tuvieron diferencias significativas, según el test *a posteriori* estas variables fueron significativamente menores a los 80 y 216 días con respecto material de partida en el bañado Chubichaminí, ($p < 0.05$; Figura 3.7AB; Tabla 3.9). Sin embargo, en este bañado el componente A del color del material analizado solo redujo sus valores a los 216 días ($p < 0,05$; Figura 3.7C; Tabla 3.9). Por otro lado, también los componentes del color R, V y A, tuvieron diferencias significativas, según el test *a posteriori* estas variables disminuyeron significativamente a los 216 días con respecto al material de partida en el bañado Del Gato ($p < 0,05$; Figura 3.7 ABC; Tabla 3.9). Asimismo, el material polimérico expuesto al agua del bañado Chubichaminí al tiempo final (216 días) tuvo los componentes R, V y A significativamente mayores con respecto a lo observado en el arroyo Del Gato ($p < 0,05$; Figura 3.7ABC; Tabla 3.9).

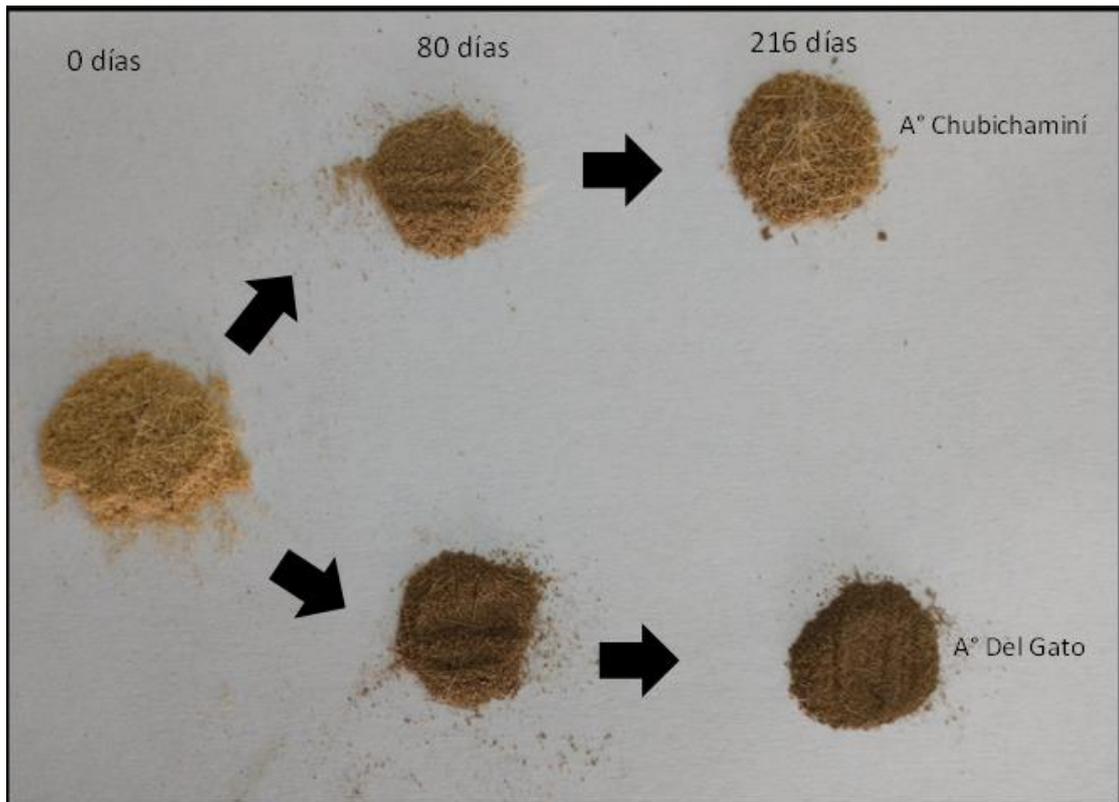


Figura 3.8. Variación colorimétrica de la biomasa seca foliar de *T. latifolia* a lo largo del ensayo en los 2 arroyos estudiados.

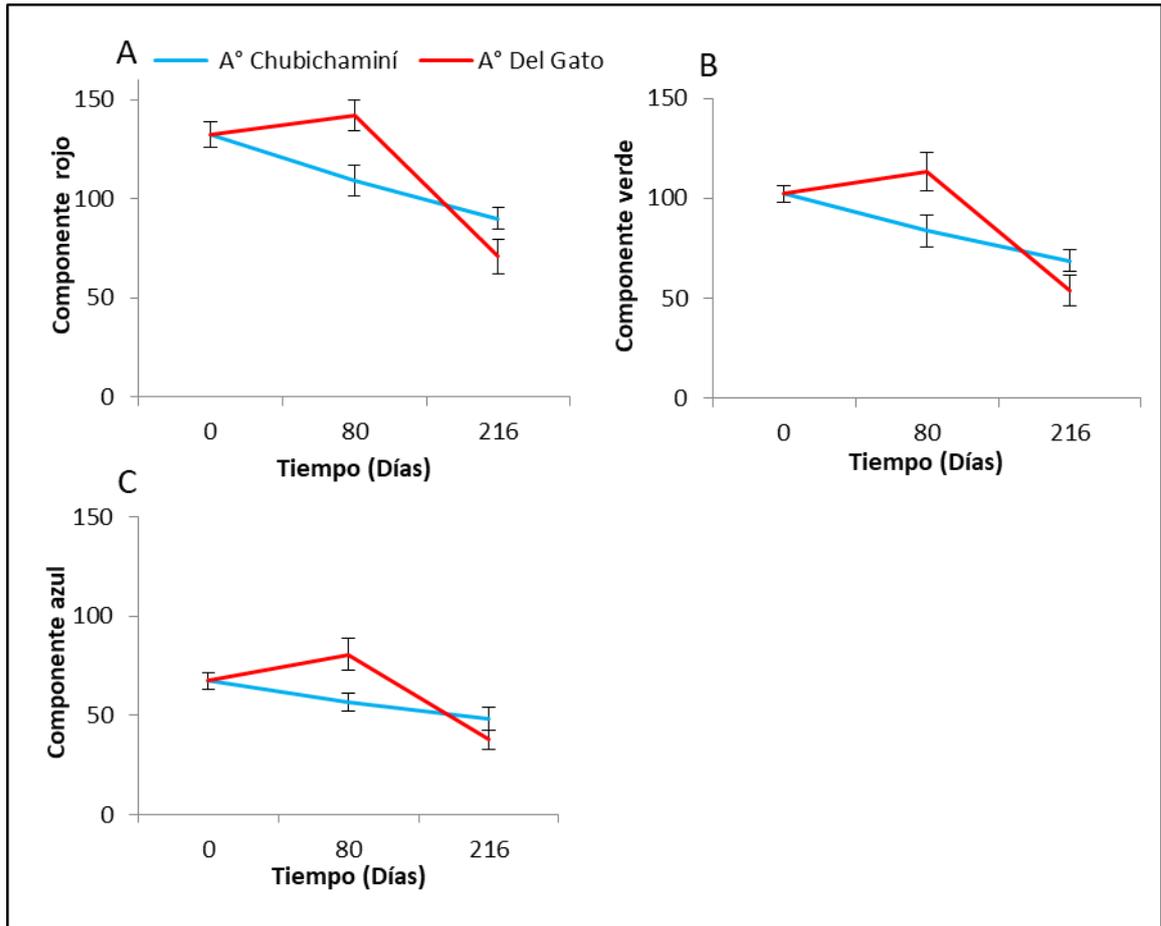


Figura 3.7. Análisis de los componentes RVA del color digital del material particulado de los restos foliares de *T. latifolia* a lo largo del ensayo en los 2 arroyos estudiados. Componente rojo (A), componente verde (B), componente azul (C). Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

Tabla 3.9. Resultados del análisis de ANOVA a dos vías (gl: grados de libertad, F, y p valor) realizado para las variables referidas a los componentes del color digital R, V y A.

Variable		Factores		
		Sitio	Tiempo	Sitio* Tiempo
R	gl	1	2	2
	F	1,497	76,059	16,461
	p	0,245	<0,001	<0,001
V	gl	1	2	2
	F	2,273	64,999	16,379
	p	0,158	<0,001	<0,001
A	gl	1	2	2
	F	0,661	44,269	14,367
	p	0,432	<0,001	<0,001

3.4.6. Tasa de esporulación y análisis del ensamble de hongos acuáticos

La tasa de esporulación tuvo diferencias significativas entre sitios; de acuerdo al test *a posteriori* esta variable fue significativamente mayor en el bañado de desborde fluvial del arroyo Chubichaminí ($390,35 \text{ esporas.mg}^{-1}.\text{d}^{-1} \pm 441,54$) con respecto al bañado Del Gato ($209,78 \text{ esporas.mg}^{-1}.\text{d}^{-1} \pm 264,34$; $p < 0,05$; tabla 3.10). Por otro lado, se encontraron diferencias significativas en la tasa de esporulación entre tiempos; el test *a posteriori* evidenció que esta variable fue significativamente mayor a los 80 y 216 días con respecto a los 7 y 20 días del experimento ($p < 0,05$; Figura 3.9; tabla 3.10).

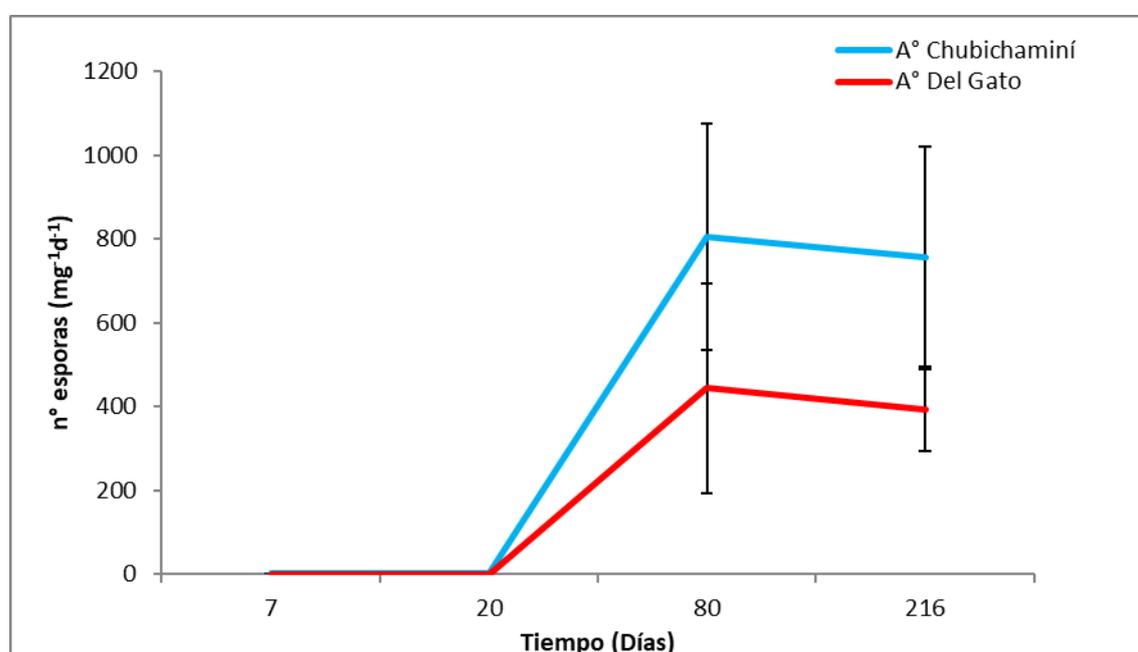


Figura 3.9. Tasa de esporulación estimada de los hongos acuáticos que colonizan restos foliares de *T. latifolia* durante el proceso de su descomposición en los bañados de desborde fluvial de los arroyos Chubichaminí y Del Gato. Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

Tabla 3.10. Resultados del análisis de ANOVA a dos vías (gl: grados de libertad, F, y p valor) realizado para las variables referidas a la tasa de esporulación.

Variable		Sitio	Factores	
			Tiempo	Sitio* Tiempo
T. de Esporulación (n° esporas.mg ⁻¹ .d ⁻¹)	gl	1	3	3
	F	8,038	213,819	0,663
	p	0,012	<0,001	0,587

El análisis de la composición específica reveló un total de 66 taxa, de los cuales, 65 correspondieron al phylum Ascomycota y una a Basidiomycota (Tabla 3.12). En relación con la riqueza de hongos, no se encontraron diferencias significativas entre los sitios analizados ($p > 0,05$; Tabla 3.11). No obstante, la riqueza fue significativamente diferente en los tiempos, en tanto el test a posteriori evidenció que esta variable fue significativamente mayor a los 216 días con respecto a los 7, 20 y 80 días en el bañado Chubichaminí ($p < 0,05$; Figura 3.10A; Tabla 3.11), mientras que, en el bañado Del Gato, la riqueza fue significativamente mayor a los 80 y 216 días con respecto a 7 y 20 días ($p < 0,05$; Figura 3.10A; Tabla 3.11). Con respecto a la diversidad, no se encontraron diferencias significativas entre los bañados ($p > 0,05$; Tabla 3.11). Sin embargo, este descriptor fue significativamente diferente en el tiempo, según el test a posteriori la diversidad fue significativamente mayor a los 20 días con respecto a los 216 días en el bañado Chubichaminí ($p < 0,05$; Figura 3.10B; Tabla 3.11). Por otra parte, la misma fue significativamente mayor a los 20 días en relación a lo observado a los 80 días en el bañado Del Gato ($p < 0,05$; Figura 3.10B; Tabla 3.11). Considerando los tipos de hábitos ecológicos de los hongos identificados a través de sus esporas, se encontraron en total, 38 hongos Ingoldianos, 28 facultativos y 1 aeroacuático. El número de taxa de hongos Ingoldianos fue significativamente diferente entre sitios, de acuerdo al test a posteriori esta variable fue significativamente mayor en el bañado Chubichaminí (16 ± 10) con respecto al bañado del arroyo Del Gato (9 ± 7 ; $p < 0,05$; Tabla 3.11). Asimismo, el número de hongos Ingoldianos, fue significativamente diferente en el tiempo, según el test a posteriori su número fue significativamente mayor a los 80 y 216 días con respecto a los 7 y 20 días en ambos bañados ($p < 0,05$; Figura 3.10C; Tabla 3.11). Por otra parte, el número de hongos facultativos fue significativamente diferente entre sitios, de acuerdo al test a posteriori estos hongos fueron significativamente mayores en el bañado del Gato (15 ± 7) con respecto al bañado Chubichaminí (13 ± 6 ; $p < 0,05$; Figura 3.10D; Tabla 3.11). Por último, el número de taxa de hongos facultativos tuvo diferencias significativas entre los tiempos, en tanto el test a posteriori evidenció que la cantidad de estos hongos fueron significativamente mayores a los 80 y 216 días con respecto a los 7 y 20 días en ambos bañados de desborde fluvial ($p < 0,05$; Figura 3.10D; Tabla 3.11).

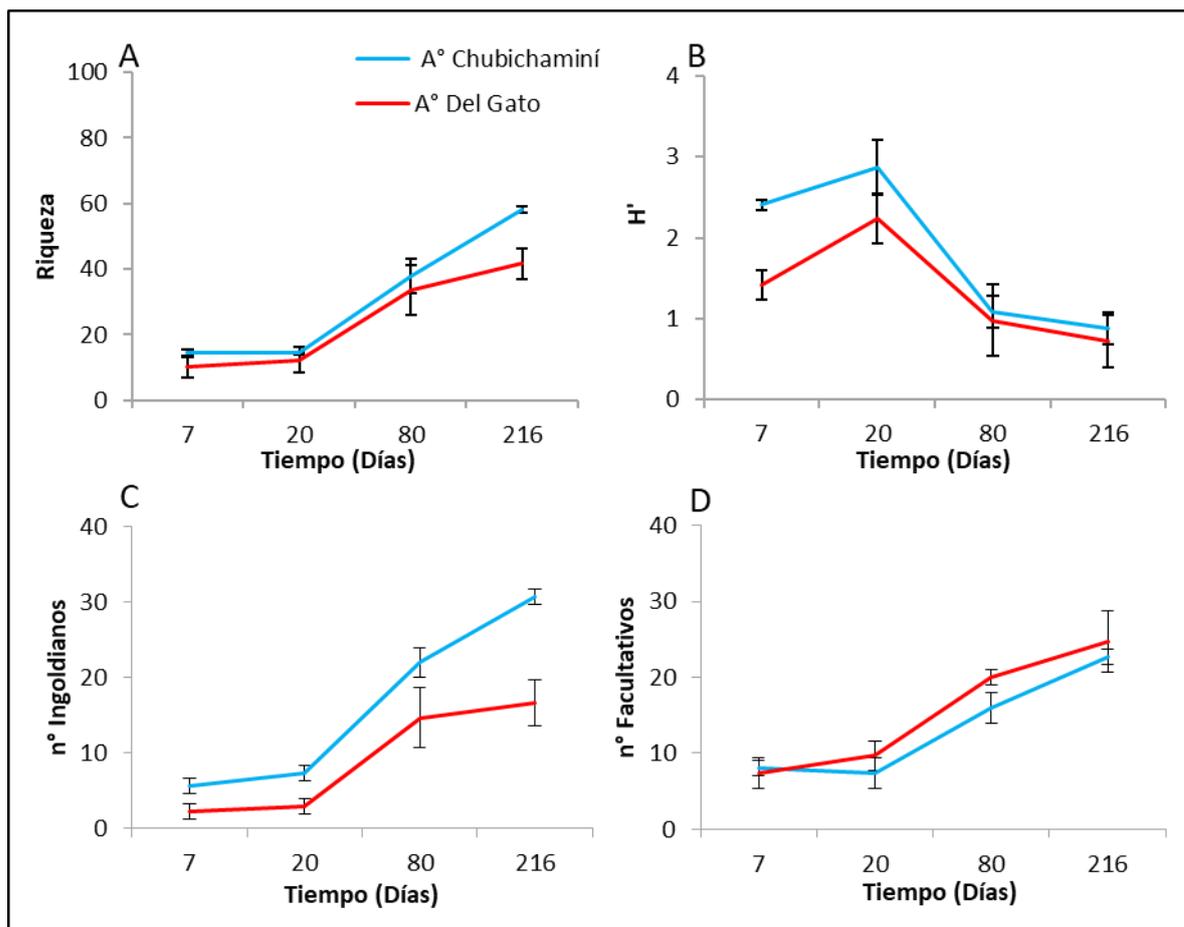


Figura 3.10. Riqueza (A), diversidad (B), número de hongos Ingoldianos (C) y facultativos (D) en los bañados de desborde fluvial de los arroyos Del Gato y Chubichaminí. Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

Tabla 3.11. Resultados de los análisis de las variables relacionadas al ensamble de hongos acuáticos. Las variables analizadas con ANOVA a dos vías (gl: grados de libertad, F, y p valor) se encuentran en color negro, mientras que en gris las que fueron analizadas con ANOVA dos vías no paramétrico (a rangos).

Variable		Sitio	Factores	
			Tiempo	Sitio* Tiempo
Riqueza	gl	1	3	3
	F	1,788	36,638	1,764
	P	0,200	<0,001	0,195
Diversidad	gl	1	3	3
	F	1,08	7,979	1,024
	P	0,314	0,002	0,408
n°Ingoldianos	gl	1	3	3
	F	3,124	5,176	0,0854
	P	<0,001	<0,001	0,143
n°facultativos	gl	1	3	3
	F	5,568	90,425	1,414
	p	0,031	<0,001	0,275

Con respecto a la abundancia de los taxa fúngicos, los datos estimados muestran diferencias según el tiempo de incubación del material de partida en ambos sitios de estudio (Tabla.3.12). En el bañado de desborde fluvial del arroyo Chubichaminí a los 7 días de sumersión *Arthrinium* sp. y *Nakataea sigmoidea* (Cavara) Hara tuvieron un 40% y 32% de abundancia relativa respectivamente (Tabla 3.12). En cambio, a los 20 días *Arthrinium* sp. y *N. sigmoidea* disminuyeron un 4% y un 15% cada una respectivamente. En este tiempo también se reportó a *Tetracladium breve* A. Roldán con un 20% de abundancia relativa (Tabla 3.12). El ensamble de hongos cambió considerablemente a los 80 y 216 días, ya que *Amniculicola longissima* (Sacc. & P. Syd.) Nadeeshan & K.D. Hyde tuvo entre 78 y 85% de abundancia relativa y *Anguillospora angulata* (R.H. Petersen) Redhead & G.P. White entre un 14 y 12% (Tabla 3.12). Por otro lado, en el bañado de desborde fluvial del arroyo Del Gato a los 7 días, *Arthrinium* sp. y *N. sigmoidea* tuvieron una abundancia de 60% la primera y 30% la segunda (Tabla 3.12). La abundancia de esporas en estos hongos se modificó a los 20 días, donde *Arthrinium* sp. descendió un 26%, mientras que *N. sigmoidea* aumento un 10%. Por último, a los 80 y 216 días solo la especie *A. longissima* tuvo una abundancia relativa de entre 85 y 90% (Tabla 3.12). También cabe resaltar, que *Lemonniera pseudofloscula* Dyko, *Taeniospora* sp., *Culicidospora* sp., *Alatospora pulchella* Marvanová, *Mycocentrospora acerina* (R. Hartig) Deighton, *Tetracladium maxiliforme* (Rostr.) Ingold, *Tetracladium palmatum* A. Roldán, *Tetracladium apiense* R.C. Sinclair & Eicker, *Endophragmiella triseptata* K.M. Tsui, Goh, K.D. Hyde & Hodgkiss y *Gemmulina* sp. solo se detectaron en el bañado de desborde fluvial del arroyo Chubichaminí (Tabla 3.12).

Tabla 3.12. Lista de taxa asociados al material foliar de *T. latifolia* provenientes de los bañados de desborde fluvial Chubichaminí y Del Gato luego de sumersión a diferentes tiempos. Los rectángulos y puntos negros se corresponden a las abundancias. Las figuras de gran parte de las esporas se encuentran en el Anexo IV.

	CHUBICHAMINÍ				DEL GATO			
	7	20	80	216	7	20	80	216
<i>Amniculicola longissima</i> (Sacc. & P. Syd.) Nadeeshan & K.D. Hyde
<i>Arthrimum</i> sp.
<i>Nakataea sigmoidea</i> (Cavara) Hara
<i>Anguillospora angulata</i> (R.H. Petersen) Redhead & G.P. White
<i>Tetracladium breve</i> A. Roldán
<i>Torula</i> sp.
<i>Truncatella</i> sp.
<i>Zalerion</i> sp.
<i>Alatospora acuminata</i> Ingold
<i>Curvularia</i> sp.
<i>Dyctiochaeta triseptata</i> (Matsushima) R.F. Castañeda
<i>Endophragmiella biseptata</i> (Peck) S. Hughes
<i>Diplococcium</i> sp.
<i>Brachysporium</i> sp.1
<i>Helicosporium</i> sp.
<i>Beltrania</i> sp.
<i>Sigmoidea prolifera</i> (R.H. Petersen) J.L. Crane
<i>Tricellula aquatica</i> J. Webster
<i>Margaritisporea aquatica</i> Ingold
<i>Oncopodium</i> sp.
<i>Isthmotricladia</i> sp.
<i>Brachysporium dingleyae</i> S. Hughes
<i>Tetraploa aristata</i> Berkeley et Broome
<i>Endophragmiella uniseptata</i> M.B. Ellis ex S. Hughes
<i>Alternaria</i> sp.
<i>Fibulotaeniella</i> sp.
<i>Tetracladium marchalianum</i> De Wild. Ann
<i>Dictyosporium</i> sp.
<i>Sporidesmium</i> sp.
<i>Cordana</i> sp.
<i>Anguillospora crassa</i> Ingold
<i>Anguillospora filiformis</i> Greath
<i>Dactylella attenuata</i> Xing Z. Liu, K.Q. Zhang & R.H. Gao
<i>Mycocentrospora angulata</i> (R.H. Petersen) S.H. Iqbal
<i>Lemmoniera</i> sp.
<i>Lemmoniera centrosphaera</i> Marvanová
<i>Tricladium</i> sp.
<i>Camposporium</i> sp.
<i>Trinacrium</i> sp.
<i>Flagelospora</i> sp.
<i>Heliscus</i> sp.
<i>Lemmoniera aquatica</i> De Wild
<i>Xylomyces acerosisporus</i> M.S. Oliveira, Malosso
<i>Sporidesmium aquaticum</i> Cabello, Mengasc. & Aramb.
<i>Brachysporium britannicum</i> S. Hughes
<i>Brachyporium</i> sp.2
<i>Brachysporium pendulisporum</i> S. Hughes
<i>Tumularia aquatica</i> (Ingold) Descals & Marvanová
<i>Brachysporium obovatum</i> (Berk.) Sacc
<i>Triscelophorus</i> sp.
<i>Tetracladium</i> sp.
<i>Lemmoniera pseudofloscula</i> Dyko
<i>Clavatospora</i> sp.
<i>Dictyosporium triseriale</i> Matsush
<i>Dactylella</i> sp.
<i>Taeniospora</i> sp.
<i>Culicidospora</i> sp.
<i>Brachysporium lindquistii</i> Arambarri et Cabello sp. nov
<i>Alatospora pulchella</i> Marvanová
<i>Mycocentrospora acerina</i> (R. Hartig) Deighton
<i>Tetracladium maxilliforme</i> (Rostr.) Ingold
<i>Tetracladium palmatum</i> A. Roldán
<i>Tetracladium apiense</i> R.C. Sinclair & Eicker
<i>Endophragmiella triseptata</i> K.M. Tsui, Goh, K.D. Hyde & Hodgkiss
<i>Gemmulina botryosa</i>
<i>Conditospora</i> sp.

Referencias

-  Dominante ≥ 50 %
-  Más común ≥ 30 - 50 %
-  Común ≥ 10 - 30 %
-  Raras (≤ 10 %)

Para el análisis de los ensambles de los hongos acuáticos de este estudio se llevó a cabo un ANOSIM y un SIMPER, teniendo en cuenta las respuestas obtenidas a lo largo del experimento en secciones precedentes. En tal sentido, se tuvieron en cuenta 2 periodos de la incubación, un Tiempo A (TA), que incluyó a T7 y T20, y un Tiempo B (TB), que incluyó a T80 y T216.

El análisis de ANOSIM demostró diferencias significativas entre los ensambles de hongos del bañado Chubichaminí (R Global 1, $p=0,002$). Con respecto al análisis SIMPER evidenció una disimilitud que fue del 97,14% entre los tiempos TA y TB, siendo los taxa que más contribuyeron a la misma los siguientes: *A. longissima*, *Arthrinium* sp., *N. sigmoidea*, *A. angulata*, *T. breve* y *Anguillospora filiformis* Greath (Tabla 3.13). En relación a la similitud en cada tiempo, el análisis SIMPER mostró que TA tuvo un 58,13%, siendo los taxa que más aportaron a la misma *Arthrinium* sp., *N. sigmoidea*, *T. breve*, *Torula* sp., *Sigmoidea prolifera* (R.H. Petersen) J.L. Crane, y *Dyctiochaeta triseptata* (Matsushima) R.F. Castañeda (Tabla 3.13). Con respecto a TB, este tiempo tuvo una similitud del 91,85%, siendo los taxa que más contribuyeron a la misma *A. longissima*; *A. angulata*, *A. filiformis*, *Arthrinium* sp., *Anguillospora crassa* Ingold y *Brachysporium* sp. (Tabla 3.13).

El análisis de ANOSIM demostró diferencias significativas entre los ensambles de hongos del bañado Del Gato (R Global 1, $p=0,002$). Con respecto al análisis SIMPER evidenció una disimilitud que fue del 99,13% entre los tiempos TA y TB, siendo los taxa que más contribuyeron a la misma los siguientes: *A. longissima*, *Arthrinium* sp., *N. sigmoidea*, *A. angulata*, *Torula* sp. y *A. filiformis* (Tabla 3.14). Con respecto a la similitud en cada tiempo, el análisis SIMPER mostró que TA tuvo un 60,9%, siendo los taxa que más aportaron a la misma *Arthrinium* sp., *N. sigmoidea*, *Torula* sp., *Zalerion* sp., *Curvularia* sp. y *Dictyosporium* sp. (Tabla 3.14). Con respecto a TB, este tiempo tuvo una similitud del 85,87%, siendo los taxa que más contribuyeron a la misma *A. longissima*, *A. angulata*, *A. filiformis*, *Arthrinium* sp., *A. crassa* y *Torula* sp. (Tabla 3.14).

Tabla 3.13. Resultados del análisis SIMPER del ensamble de hongos del bañado Chubichaminí, con el porcentaje de disimilitud entre los tiempos TA y TB (%D); y los taxa que más contribuyeron a la misma.

También, se encuentra la similitud (%S) dentro de cada tiempo TA y TB, junto con los taxa que más contribuyeron a la misma.

SIMPER (% Taxa)		
	% D	
TA &TB	97,14	<i>A. longissima</i> (40,10); <i>Arthrimum</i> sp. (17,91); <i>N. sigmoidea</i> (13,66); <i>A. angulata</i> (6,80); <i>T. breve</i> (5,87); <i>A. filiformis</i> (2,93)
	% S	
TA	58,13	<i>Arthrimum</i> sp. (42,94); <i>N. sigmoidea</i> (31,44); <i>T. breve</i> (6,94); <i>Torula</i> sp. (5,11); <i>S. prolifera</i> (3,67); <i>D. triseptata</i> (3,24)
TB	91,85	<i>A. longissima</i> (83,69); <i>A. angulata</i> (11,83); <i>A. filiformis</i> (3,96); <i>Arthrimum</i> sp. (0,20); <i>A. crassa</i> (0,17); <i>Brachysporium</i> sp.3 (0,03)

Tabla 3.13. Resultados del análisis SIMPER del ensamble de hongos del bañado Del Gato, con el porcentaje de disimilitud entre los tiempos TA y TB (%D); y los taxa que más contribuyeron a la misma.

También, se encuentra la similitud (%S) dentro de cada tiempo TA y TB, junto con los taxa que más contribuyeron a la misma.

SIMPER (% Taxa)		
	% D	
TA &TB	99,13	<i>A. longissima</i> (42,27); <i>Arthrimum</i> sp. (23,23); <i>N. sigmoidea</i> (18,63); <i>A. angulata</i> (4,29); <i>Torula</i> sp. (3,26); <i>A. filiformis</i> (3,01)
	% S	
TA	60,9	<i>Arthrimum</i> sp. (49,90); <i>N. sigmoidea</i> (38,06); <i>Torula</i> sp. (8,15); <i>Zalerion</i> sp. (0,89); <i>Curvularia</i> sp. (0,49); <i>Dictyosporium</i> sp. (0,39)
TB	85,87	<i>A. longissima</i> (90,91); <i>A. angulata</i> (4,44); <i>A. filiformis</i> (4,11); <i>Arthrimum</i> sp. (0,27); <i>A. crassa</i> (0,09); <i>Torula</i> sp. (0,03)

3.4.7. Actividad enzimática

La enzima β -glucosidasa es considerada clave en el mecanismo hidrolítico de la celulólisis. Aunque se no detectó interacción entre los factores sitio y tiempo, los niveles de esta actividad enzimática fue significativamente diferente en los materiales vegetales incubados en los 2 sitios; el test *a posteriori* reveló que esta variable fue significativamente mayor en el bañado Chubichaminí ($0,542 \text{ mU.gr.}^{-1} \pm 0,206$) con respecto al bañado Del Gato ($0,464 \text{ mU.gr.}^{-1} \pm 0,187$; $p < 0,05$; Tabla 3.15). La actividad enzimática también evidenció diferencias significativas a lo largo del tiempo de incubación; el test *a posteriori* mostró que esta variable fue significativamente mayor a los 80 días con respecto a los 7, 20, 50, 110 y 216 días ($p < 0,05$; Figura 3.11; Tabla 3.15).

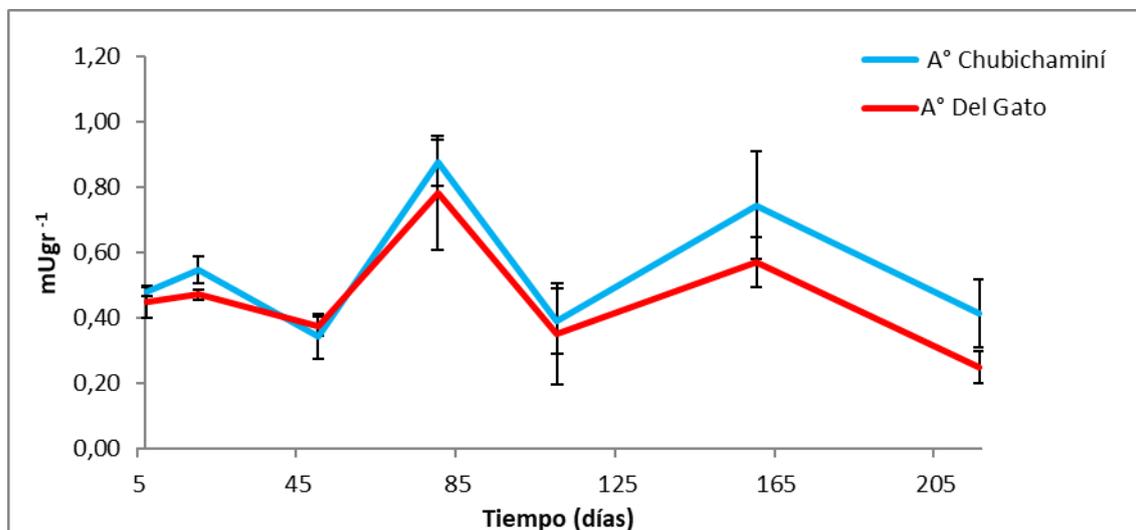


Figura 3.11. Actividad β -glucosidasa asociada a los restos foliares de *T. latifolia* expuestos a los bañados de desborde fluvial de los arroyos Chubichaminí y Del Gato. Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

Tabla 3.15. Resultados del análisis de ANOVA a dos vías (gl: grados de libertad, F, y p valor) realizado para la actividad β -glucosidasa.

Variable		Sitio	Factores	
			Tiempo	Sitio* Tiempo
β -glucosidasa mUgr ⁻¹	gl	1	6	6
	F	5,754	17,796	0,72
	p	0,023	<0,001	0,637

3. 5. Discusión

Las diferentes características físicoquímicas del agua que se encontraron entre los bañados de desborde fluvial estudiados se debieron principalmente a las mayores concentraciones de nutrientes en el bañado Del Gato, que fueron similares a las reportadas en estudios previos realizados en estos humedales (Tarda et al., 2019; Álvarez et al., 2020). Las mayores concentraciones de nutrientes encontradas en el bañado de desborde fluvial del arroyo Del Gato con respecto al Chubichaminí se corresponden a los diferentes usos del suelo en su entorno. En el en el primero predomina la actividad hortícola que demanda el uso de fertilizantes causando el aumento de nutrientes en los arroyos cercanos (Gómez et al., 2022). Estos suplementos pueden modificar la calidad del agua de los arroyos y en consecuencia afectan al proceso de descomposición de la materia orgánica, así como también a los hongos asociados al mismo, tal como se ha reportado en las investigaciones realizadas por Pascoal (2005), Kraus et al., (2011) y Sole et al., (2008).

La tasa de descomposición del material foliar seco de *T. latifolia* sumergido en los bañados de desborde fluvial Chubichaminí y Del Gato durante el periodo de mayo a diciembre de 2019, fue menor de 0,005. Este valor es considerado un indicador de baja tasa de descomposición según Petersen & Cummins (1974). Por otro lado, comparando los sitios estudiados, la tasa de descomposición del bañado Chubichaminí fue dos veces mayor que la registrada en el bañado Del Gato. De acuerdo con los resultados obtenidos, y considerando lo reportado en la bibliografía acerca de la influencia de la calidad del agua en los procesos de descomposición (Graça et al., 2015;

Gomes et al., 2018; Medeiros & Graça 2009), es conducente a inferir que el agua en el bañado del arroyo Chubichaminí es más propicia para los procesos de descomposición. Si bien es reconocido en la bibliografía que una mayor concentración de nutrientes en el agua causa un aumento en la tasa de descomposición (Lee & Bukaveckas 2002; Pascoal et al., 2004; 2005), en el bañado Del Gato se registró un resultado opuesto. Quizás la baja concentración de oxígeno medida en este sitio pudo haber limitado la descomposición, tal como ha sido reportada en un estudio similar realizado por Gomes et al., (2018). Otro factor que puede haber influido en estos resultados es la presencia de diferentes compuestos químicos como pesticidas, que afectan negativamente a la degradación (Lecerf et al., 2007; Woodward et al., 2012; Rasmussen et al., 2012; Fernández et al., 2015). En consecuencia, considerando que el bañado Del Gato se encuentra rodeado de tierras con actividad hortícola, es probable que diversos agroquímicos estén en el agua, como los pesticidas detectados en arroyos cercanos a este humedal (Pérez et al., 2021; Mac Loughlin et al., 2017, 2020). En contraposición en el bañado Chubichaminí, la mayor concentración de oxígeno podría haber acelerado la descomposición de los restos foliares, además de ubicarse en una zona con menor impacto antrópico.

El modelo funcional de Gessner & Chauvet (2002), que relaciona las tasas de descomposición de los sitios impactados y de referencia (con k impactado/ k referencia) se puede utilizar como una medida que contribuya a la caracterización de la integridad ecológica de los arroyos. En este capítulo, la relación entre la tasa de descomposición de los restos foliares de *T. latifolia* en el bañado del arroyo Del Gato con respecto a la observada en el bañado Chubichaminí fue de 0,5, lo que demuestra que el primero puede ser considerado como un sitio más impactado. De acuerdo a la bibliografía, valores similares fueron encontrados cuando arroyos afectados por la actividad agrícola, la urbanización y la contaminación industrial eran analizados respecto arroyos prístinos (Castela et al., 2008; Yule et al., 2015; Chauvet et al., 2016).

En relación a la concentración de nitrógeno total en los restos foliares de *T. latifolia* tuvo una tendencia al incremento hacia el final del experimento como las reportadas en trabajos similares (Jaques & Pinto 1997; Alvarez & Bécares 2006; Pu Gaozhong et al., 2014). Considerando que se encontró en esta etapa del ensayo una

alta tasa de esporulación, (indicadora de una alta carga micelial con respecto a la estimada al inicio de la incubación, es posible inferir que una parte del enriquecimiento del sustrato en nitrógeno provenga de la quitina (polímero estructural de la pared de los hongos), así como también a partir de proteínas sintetizadas por ellos y compuestos solubles removilizados por los hongos (Su et al., 2015). Además, es conocido que los microorganismos incorporan el nitrógeno de la columna de agua enriqueciendo posiblemente su concentración en los restos foliares de *T. latifolia* (Sigeo et al., 2005).

Con respecto al fósforo total encontrado en el material vegetal, su concentración fue mayor en el bañado Del Gato al final del ensayo, siendo esto probablemente debido a la inmovilización de este nutriente en el sustrato, ya que los microorganismos descomponedores lo pueden adquirir de la columna de agua y así lo asimilan en compuestos orgánicos (Su et al., 2015). Estudios realizados por Alvarez & Bécares (2006) y Kuehn et al., (2011) con *T. latifolia* también reportaron mayores concentraciones de fósforo en el sustrato durante el proceso de descomposición.

La reducción en el índice de cristalinidad de la celulosa residual y el incremento en el tenor de lignina versus al de la celulosa cristalina a lo largo del proceso de incubación sugieren que los restos foliares fueron enriquecidos en fracciones amorfas de la celulosa. Esto es compatible con el evento de amorfogénesis, que conduce a la desorganización de la trama de microfibrillas de la pared celular. Este factor es clave para que las enzimas de los organismos que colonizan los restos foliares, como muchos de los hongos identificados en este trabajo, puedan acceder a sus enlaces y catalizar la segunda etapa de la celulólisis (Saparrat et al., 2013). En este sentido, *Amniculicola longissima*, *Anguillospora crassa*, *Alatospora acuminata*, *Flagellospora penicilloides* Ingold y *Tetracladium marchalianum* han sido reportadas como capaces de sintetizar enzimas que catalizan la despolimerización de la celulosa (Abdel-Raheem & Ali 2004). En el estudio que se realizó en los bañados, también encontramos las especies citadas precedentemente.

Puesto que este índice de cristalinidad fue más bajo en los restos foliares incubados en el bañado Del Gato en relación al estimado en el material incubado en el Chubichaminí y que fue opuesto a lo observado en la masa seca total remanente de

los sustratos en estos bañados en un estado avanzado de la incubación, futuros estudios *in-vitro*, serán necesarios para identificar las posibles causas de estos comportamientos diferenciales según el compuesto estructural analizado y la calidad del agua a la cual están expuestos. En este sentido, varios factores pueden estar modulando diferencialmente cada etapa de la descomposición del sustrato vegetal como un todo y sus componentes estructurales, cuya dinámica es a la vez también dependiente de los requerimientos de los mecanismos implicados y de la disponibilidad de microorganismos específicos que estén colonizando los restos foliares y que pueden contribuir de manera diferente a la química del material vegetal debido a las habilidades fisiológicas de los degradadores (Marano et al 2013; Mallerman et al., 2018). Comparado con el material de partida, la concentración de hemicelulosa en los restos foliares de *T. latifolia* respecto a la de la celulosa descendió, después de avanzada la incubación en los dos bañados estudiados. Por lo tanto, considerando que la masa total de los restos foliares se redujo significativamente durante el ensayo y que la hemicelulosa es un complejo mixto de polisacáridos que cohesionan la pared celular de muchos vegetales, que es más susceptible a la degradación que la celulosa (Berglund et al., 2020), esta reducción puede probablemente deberse a la habilidad que tienen muchos microorganismos que colonizaron el material foliar en los bañados bajo estudio para despolimerizar estos heteropolisacáridos. Se ha reportado en la bibliografía que las especies *A. longissima*, *A. crassa*, *A. acuminata* y *F. penicilloides*, encontradas en esta investigación, tienen también la habilidad para producir endoxilanasas, enzimas capaces de hidrolizar y degradar hemicelulosas (Abdel-Raheem & Ali 2004). Por otro lado, ensayos similares con *T. latifolia* demostraron también un descenso rápido de la hemicelulosa hacia el final de la degradación (Jaques & Pinto (1997).

Mientras que la lignina redujo su concentración relativa (respecto a la celulosa) en los restos foliares de *T. latifolia*, en al menos el periodo avanzado de incubación en los bañados, también mostró alteraciones en su estructura, tal como lo reveló la reducción relativa en el tenor de sus fracciones guaiacílicas y las variaciones en la carga de grupos cromóforos en el material analizado. Como un todo, esto puede ser el resultado neto de procesos de degradación como también de la polimerización de

fenoles solubles derivados de la degradación foliar y/o de su adición a la matriz polimérica resultante, así como de humatos que viajan en suspensión en agua de los arroyos y que, a la vez, son responsables del incremento relativo del color de los restos foliares en el proceso de descomposición (Suberkropp et al., 1976; Gessner 1991, Vilches et al 2011). No obstante, estudios realizados por Webster & Benfield (1986) y Chimney & Pietro (2006) demostraron que la proporción de lignina en el material vegetal tiende a incrementarse durante los procesos de descomposición. Estudios adicionales, utilizando otras metodologías analíticas, complementarias al FTIR, confirmarán a futuro estos resultados preliminares sobre la transformación y degradación de lignina de restos herbáceos en agua.

Puesto que se detectaron cambios en el color percibido en el sustrato de *T. latifolia*, esta variación podría ser un buen predictor de cambios tanto físicos como químicos del sustrato. Esta observación también fue reportada en experimentos con hojas de la macrófita *Kandelia obovata* Sheue, H.Y. Liu & J.W.H. Yong, durante su descomposición en estuarios de China (Lin et al., 2006; Zhou et al., 2012). En relación con el color digital del material de *T. latifolia*, en estados avanzados de incubación, sus componentes RVA revelaron menores valores cuando fueron incubados en el bañado Del Gato comparado a los estimados en el material sumergido en el bañado de Chubichaminí. Si bien, como se mencionó en la introducción de este capítulo, este estimador depende de muchos factores, como la naturaleza del material de partida y la calidad del agua, su análisis y nuevas investigaciones podrían comprobar su potencial utilidad en estudios de descomposición de sustratos vegetales.

La tasa de esporulación y el número de taxa de hongos Ingoldianos fueron mayores en el bañado del arroyo Chubichaminí; probablemente las mejores condiciones de calidad del agua influyeron en estos resultados, ya que se ha comprobado que estos hongos son dependientes de un alto nivel de oxigenación de los arroyos para su actividad y/o reproducción (Bärlocher 1992; 2005). No obstante, de acuerdo con la bibliografía arroyos con mayores concentraciones de nutrientes, como en el bañado Del Gato, suelen tener mayores tasas de esporulación (Bärlocher 2016). Sin embargo, los resultados del presente capítulo fueron opuestos, lo que probablemente se deba a que otros factores ambientales no cuantificados en esta tesis

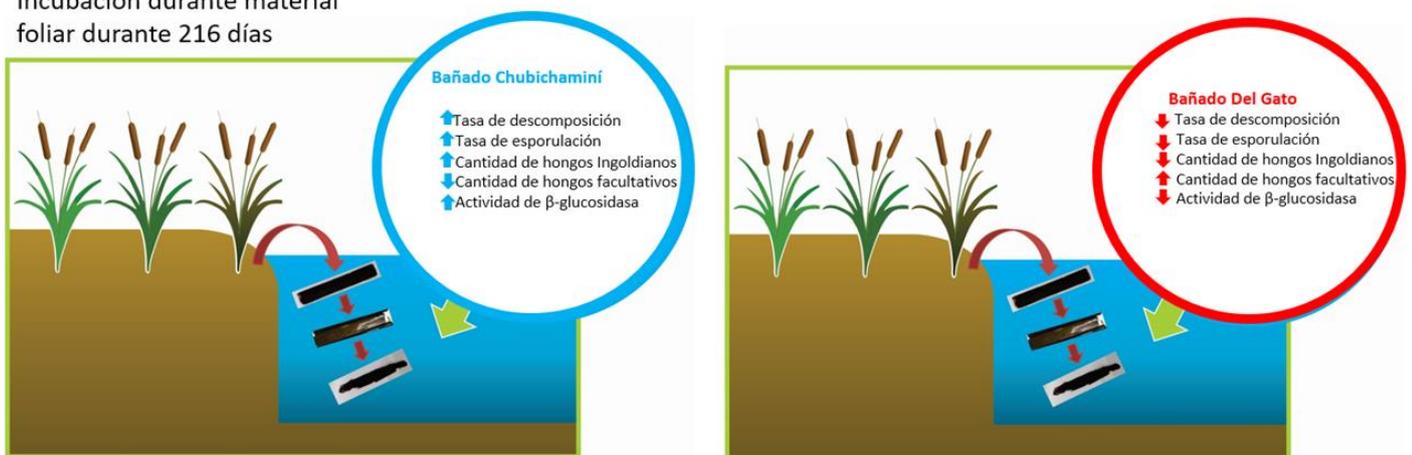
podrían estar influenciando este patrón de esporulación y el ensamble de hongos inferidos a partir de ella.

Con respecto a la sucesión de taxa fúngicos durante la incubación de los restos foliares en los 2 bañados analizados, este estudio reveló la existencia de hongos que caracterizan al ensamble de hongos en diferentes etapas del proceso de descomposición de los restos foliares de *T. latifolia*. Mientras que en el bañado Chubichaminí, *Arthrinium* sp., *N. sigmaidea* y *T. breve* caracterizaron la etapa temprana de la incubación (TA; 7 y 20 días), *A. longissima* y *A. angulata* fueron representativas de la incubación avanzada de los restos foliares en el mencionado bañado (TB, 80 y 216 días). Por otra parte, en el bañado Del Gato, también en la etapa inicial, *Arthrinium* sp. y *N. sigmaidea* caracterizaron al ensamble de hongos, en este momento de la sucesión. Mientras que *A. longissima*, *A. angulata* y *A. filiformis* conformaron principalmente al ensamble de hongos que colonizaron los restos foliares de *T. latifolia* al final de la incubación en el bañado del Gato, *A. filiformis*.

Con respecto a la actividad enzimática asociada al material en descomposición, variaciones en los niveles de la actividad β -glucosidasa se detectaron en los restos incubados en los 2 sitios. Esta actividad fue mayor en el bañado del arroyo Chubichaminí con respecto a lo estimado en las muestras procedentes del bañado Del Gato. En relación a lo mencionado anteriormente cabe señalar que Duarte et al., (2013) y Rossi et al., (2019) reportaron resultados opuestos, ya que en cuencas urbanizadas observaron mayores niveles de actividad enzimática que los obtenidos en arroyos expuestos a la actividad agrícola. La menor actividad enzimática encontrada en el arroyo Del Gato puede deberse a un amplio espectro de factores y condiciones que modulan la actividad neta de estas enzimas, siendo uno de ellos los fungicidas que afectan negativamente la producción de la β -glucosidasa y su estabilidad (Artigas et al., 2012). Puesto que estudios realizados por Mac Loughlin et al., (2017) y Pérez et al., (2021) registraron fungicidas en arroyos de la llanura pampeana con uso del suelo agrícola/hortícola, futuros ensayos analizando reacciones *in-vitro* con los extractos enzimáticos derivados del material en descomposición incubados previamente en cada uno de los arroyos estudiados, contribuirán a constatar los resultados preliminares de esta tesis.

Todos estos resultados, en conjunción con la pérdida de masa del sustrato a lo largo del ensayo, avalan la existencia de una compleja comunidad heterótrofa asociada a los restos foliares de *T. latifolia* que modula su degradable en aguas de bañados con diferente calidad, generando sustratos con características fisicoquímicas diferentes a lo largo del proceso que pueden ser colonizados por organismos con habilidades fisiológicas diferentes. Los parámetros analizados en este capítulo demuestran que variables como la tasa de descomposición y los cambios en la composición polimérica del sustrato, la tasa de esporulación de hongos acuáticos y los ensambles a que los cuales pertenecen, así como la actividad de β -glucosidasa asociada al sustrato en descomposición tienen un potencial prometedor como herramientas en el monitoreo de ecosistemas acuáticos. De acuerdo con los resultados obtenidos la hipótesis no se rechaza parcialmente ya que las variables de tasa de descomposición, composición polimérica y actividad β -glucosidasa fueron moduladas por la calidad del agua. Finalmente se agrega una figura con la síntesis de los resultados del capítulo.

Incubación durante material foliar durante 216 días



4. Efecto de la exposición aguda del glifosato y el tebuconazole sobre la esporulación de hongos acuáticos asociados a los restos foliares de *T. latifolia*: bioensayo *in-vitro*

4.1. Introducción

Los pesticidas son sustancias químicas destinadas a prevenir el crecimiento y/o actividad de plantas, hongos, insectos u otras plagas perjudiciales para cultivos agrícolas y otros sistemas de producción de alimentos (Ramírez & Lacasaña 2001; Mahmood et al., 2016). De acuerdo con su función se clasifican en diferentes categorías, como por ejemplo en herbicidas, insecticidas, fungicidas, entre otros (Mahmood et al., 2016). También se catalogan según su toxicidad, estructura química y vida media (Ramírez & Lacasaña 2001; WHO 2020).

Los arroyos que atraviesan el partido de La Plata se encuentran afectados por la actividad de uno de los principales cinturones hortícolas del país, con más de 6000 hectáreas dedicadas a la producción de hortalizas (Mac Loughlin et al., 2022). El impacto del uso del suelo en el área ha sido demostrado en diversos estudios, reportando la presencia de diferentes pesticidas como el glifosato, la atrazina, el tebuconazole, la cipermetrina y el endosulfan entre otros, que son hallados en el agua y en los sedimentos de los arroyos próximos a las tierras cultivadas (Camilión et al., 2003; Ronco et al., 2007; Agostini et al., 2013; Nicolosi Gellis et al., 2020; Perez et al., 2021; Mac Loughlin et al., 2017; 2020). Estas sustancias ingresan a los cursos de agua principalmente a través de fuentes difusas por la escorrentía superficial (Cruzeiro et al., 2015).

Entre los agroquímicos mencionados precedentemente, el glifosato (N-fosfometilglicina) es uno de los herbicidas mayoritariamente utilizado, a nivel mundial, para el control de malezas (Valavanidis 2018). Su formulado comercial contiene, además del principio activo mencionado anteriormente, a la polioxietilenoamina (POEA), que actúa como coadyuvante (Li et al., 2005). Niveles de hasta $450 \mu\text{gL}^{-1}$ de glifosato se han registrado en arroyos de Norteamérica (Coupe et al., 2012; Battaglin et al., 2014), en tanto que en Argentina la mayor concentración reportada en arroyos ha sido de hasta $700 \mu\text{gL}^{-1}$ (Primost et al., 2008). Este máximo registrado supera el límite establecido como referencia por la legislación argentina

para la protección de la vida acuática ($240\mu\text{gL}^{-1}$; Secretaría de Recursos Hídricos de la Nación 2003). Aparicio et al., (2013), Pérez et al., (2017) y Primost et al., (2017) han registrado también concentraciones menores del herbicida en aguas superficiales de la llanura pampeana, en un rango de 0,5 a $7,6\mu\text{gL}^{-1}$. Sin embargo, los niveles encontrados en el lecho de arroyos, con valores de $3004\mu\text{gkg}^{-1}$ de glifosato, resultan alarmantes, ya que éste persiste debido a su adsorción a partículas de arcilla y materia orgánica presentes en los sedimentos, en combinación con la acumulación de AMPA (ácido amino metilfosfónico), el principal metabolito derivado de la transformación microbiana del glifosato, que se ha reportado con valores máximos de $5374\mu\text{gkg}^{-1}$ (Ronco et al., 2016; Magnoli et al., 2018).

Los fungicidas son agentes químicos utilizados para prevenir, tratar y/o evitar las enfermedades causadas por los hongos sobre diferentes huéspedes. El tebuconazole es un fungicida de amplio espectro que pertenece al grupo de azoles y actúa a través de la inhibición de la biosíntesis del ergosterol, componente estructural de la membrana celular de los hongos (Berenzen et al., 2005). Específicamente, este fungicida bloquea la actividad de una enzima clave de la ruta de síntesis del ergosterol, la citocromo P450 lanosterol 14α -demetilasa (Copping & Hewitt 1998). A nivel mundial, el tebuconazole ha sido encontrado en aguas superficiales en concentraciones de $0,03\mu\text{gL}^{-1}$ (Kahle et al., 2008; Rasmussen et al., 2012); no obstante, en algunos arroyos se han reportado valores máximos de $2,4\mu\text{gL}^{-1}$ y $9,1\mu\text{gL}^{-1}$ (Rabiet et al., 2010; Wang et al., 2021). En Argentina, las concentraciones encontradas están en el rango de $0,004\mu\text{gL}^{-1}$ hasta $0,0822\mu\text{gL}^{-1}$, en aguas superficiales, mientras que en sedimentos se detectaron hasta $0,6\mu\text{gL}^{-1}$ (Corcoran et al., 2019).

Los hongos acuáticos tienen un rol clave en el reciclaje de nutrientes y suministro de energía en los diferentes niveles tróficos de los cuerpos de agua (Schoenlein-Crusius & Piccolo 2003; Gulis & Suberkropp 2003). Además, estos microorganismos requieren condiciones ambientales específicas para su crecimiento y diferenciación (Bärlocher, 2012) y se ha demostrado que tienen un uso potencial como bioindicadores de calidad del agua (Miersch, 1997; Solé et al., 2008; Cudowski, 2015; Tarda et al., 2019). Por lo tanto, resulta relevante el estudio de los hongos acuáticos bajo la exposición de pesticidas comúnmente utilizados en el cultivo de vegetales.

Tanto el glifosato como el tebuconazole persisten en el ambiente afectando a los organismos que habitan en los ecosistemas acuáticos. Diversos estudios han demostrado los efectos adversos del glifosato sobre los organismos acuáticos, en el perifiton, fitoplancton, macroinvertebrados, anuros y peces, entre otros (Vera et al., 2010; Mugni et al., 2014; Lajmanovich et al., 2003; Salbego et al., 2010; Bonansea et al., 2018; Van Bruggen 2021). Asimismo, también se encontraron efectos perjudiciales de ambos pesticidas en humanos; en este sentido el glifosato ha sido categorizado por la OMS como un potencial cancerígeno (Guyton et al., 2015). En relación a los hongos del suelo, se ha reportado en la bibliografía los efectos adversos que el glifosato ejerce sobre ellos (Wardle & Parkinson 1990; Druille et al., 2013; Zaller et al., 2014; Aluffi et al., 2020). Tsui et al., (2001) también hallaron efectos inhibitorios del glifosato sobre el crecimiento de hongos acuáticos. Por otra parte, Franz et al., (1997) observaron que este pesticida inhibe en bacterias y hongos la síntesis de proteínas a través de la vía del ácido shikímico. Este herbicida tiene una vida media entre 3,5 a 70 días, que puede ser dependiente de la concentración de carbonato de calcio en el agua. En contraste, el AMPA tiene mayor persistencia en el ambiente acuático, de hasta aproximadamente 250 días, e incluso quedar adsorbido al sedimento de los cuerpos de agua (Reinert & Rodgers 1987; U.S. EPA 1992; Goeldsborough & Brown 1993; Grunewald et al., 2001). Con respecto al POEA que es suministrado en la dispersión del herbicida, también ha sido reportada su toxicidad en animales (Folmar et al., 1979). Sin embargo, es escasa la información sobre los efectos de este herbicida comúnmente empleado para el control de plagas en hongos acuáticos.

Con respecto al tebuconazole, estudios previos han demostrado que este fungicida causa efectos adversos en macroinvertebrados y actúa como disruptor endocrino en anfibios (Poulsen et al., 2015). Numerosas investigaciones en ensayos de exposición crónica han demostrado los esperados efectos perjudiciales sobre los hongos, principalmente afectando su esporulación, diversidad y actividad en la descomposición de la hojarasca (Zubrod et al., 2015; Bundschuh et al., 2011; Artigas et al., 2012; Dimitrov et al., 2014; Ittner et al., 2018; Pimentão et al., 2020). Este biocida tiene una vida media de aproximadamente 7 días en ambientes acuáticos (OSPAR Commission 2013; Kegley et al., 2014). Por lo expresado en párrafos previos, a través

de ensayos de exposición aguda resulta relevante dilucidar los posibles efectos que tienen el glifosato y tebuconazol sobre los hongos acuáticos que se desarrollan en los restos foliares de *Typha latifolia*.

4.2. Hipótesis y objetivos

Hipótesis general

La esporulación de los hongos que colonizan los restos foliares de *T. latifolia* es modulada por los pesticidas glifosato y tebuconazole.

Objetivo

Analizar el efecto de la exposición aguda del glifosato y del tebuconazole sobre la tasa de esporulación de los hongos acuáticos en un bioensayo *in vitro*.

4.3. Materiales y Métodos

4.3.1. Preparación del sustrato y tasa de esporulación

Se emplearon restos foliares de *T. latifolia*, que fueron colectados del arroyo Cajaravillas, un sitio de bajo impacto antrópico (Tarda et al., 2019, Gómez et al., 2022), en marzo de 2019. Posteriormente estos materiales vegetales se secaron a temperatura ambiente y se acondicionaron para ser empleados como sustrato para hongos acuáticos. Específicamente, cuatro gramos del material sólido se introdujeron en bolsas con poros de 1 mm de diámetro (Bärlocher 2020). Estas bolsas fueron colocadas en el arroyo Chubichaminí, otro sitio de bajo impacto antrópico (Tarda et al., 2019, Gómez et al., 2022), durante 5 meses. Posteriormente se recolectaron las bolsas del arroyo y el material foliar recuperado se fraccionó, incubando dos rectángulos de 5 cm de largo por 2 cm de ancho de estos restos foliares durante 48 horas en frascos (sistemas de incubación) conteniendo 20 ml de agua destilada (C) o solución alcohólica al 1 % (CT, controles según el pesticida analizado, glifosato y tebuconazole, respectivamente) o soluciones correspondientes de ambos pesticidas (por triplicado). Se empleó como control una solución alcohólica al 1 % para el caso del tratamiento

con tebuconazole, puesto que este fungicida es solo soluble en esta fase, siendo a la vez la concentración utilizada en este ensayo no perjudicial para los microorganismos que colonizan los restos vegetales (Pimentão et al., 2020). Con respecto a los tratamientos con glifosato, se hicieron soluciones con proporciones crecientes del pesticida, empleando el producto comercial de aplicación agrícola Roundup® Full II, que es una marca registrada de Monsanto Company, y que está formulado por el compuesto activo con 66,2 gramos en forma de ácido al 54% p/v⁻¹ e ingredientes inertes, así como también incluyendo al coadyuvante POEA (Rossi et al., 2018). Considerando los niveles máximos de glifosato que se han reportado para arroyos, con valores de concentración que alcanzan los 3004 µgkg⁻¹ en el lecho de arroyos en la provincia de Entre Ríos (Ronco et al., 2016) y de 1146,5 µgkg⁻¹ en sedimento y 20,04 µgL⁻¹ en el agua del arroyo Carnaval (Mac Loughlin et al., 2022), se seleccionaron para este estudio tres concentraciones, una de 1500 µgL⁻¹ (G1), otra de 3000 µgL⁻¹ (G2) y una tercera de 6000 µgL⁻¹ (G3). Por otro lado, en el caso del tratamiento con tebuconazole, cuya fuente de partida consistió en un producto comercial de 98 % de pureza, DIRETH SRL, se analizó a la concentración de 20 µgL⁻¹, de acuerdo con la utilizada por Pimentão et al., (2020) (Figuras 4.1 y 4.2). En todos los casos, el ensayo de esporulación se llevó a cabo empleando aireación constante para mantener la concentración de oxígeno en los líquidos de los frascos a 8,9 mgL⁻¹ y su temperatura igual a 18,5°C (Romaní et al., 2009). Posteriormente se filtró toda la fracción líquida de cada frasco por filtros de nylon y se procesó como fue descrito en el Capítulo 2, para la identificación de los propágulos fúngicos y su posterior recuento bajo microscopio óptico a 400x. Con los resultados obtenidos se estimó la tasa de esporulación total y parcial de cada taxa, su diversidad, que fue estimada mediante el índice de Margalef (el cual considera el número de taxa sobre el logaritmo natural del total de esporas cuantificadas). Los taxa fueron clasificadas de acuerdo a la bibliografía en Ingoldianos y facultativos (Tsui et al., 2016). El ensamble de esporas fue analizado mediante el índice de disimilitud de Bray & Curtis (1957), que permite comparar la diferencias en la composición de taxa existentes en las muestras. Si el índice muestra valores cercanos a 1, los ensambles comparten la totalidad de los taxa, mientras que, si los valores son 0, ellos no comparten taxa en común.

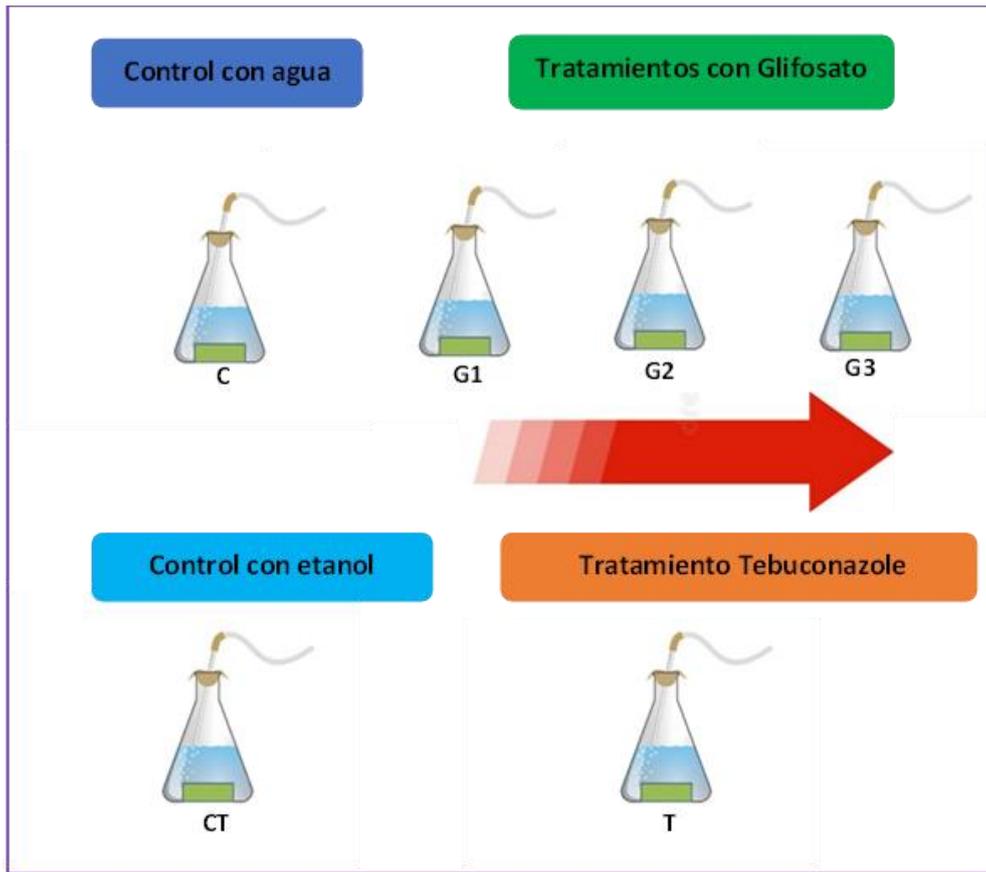


Figura 4.1. Estrategia de diseño experimental, en la parte superior se encuentra el control con agua (C), y sus respectivos tratamientos con concentraciones crecientes de glifosato (G1, G2 y G3). En la parte inferior el control con etanol (CT) y su tratamiento con tebuconazole (T), todos realizados por triplicado.



Figura 4.2. Disposición de los sistemas de incubación para la exposición aguda de los restos foliares al glifosato y al tebuconazole y sus respectivos controles.

4.3.2. Análisis de parámetros físicoquímicos

Luego de la filtración, alícuotas de las fracciones líquidas destinadas para estimar la esporulación fueron utilizadas para la determinación de parámetros físicoquímicos. Particularmente el fósforo reactivo soluble y amonio se midieron mediante determinación colorimétrica empleando los protocolos de Mackereth et al., (1978) y APHA (1998).

4.3.3. Cuantificación analítica del glifosato, AMPA y tebuconazole

Alícuotas de las diferentes soluciones de glifosato y de tebuconazole de las concentraciones aplicadas en el ensayo, se analizaron mediante cromatografía líquida de alto rendimiento y espectrometría de masas (HPLC-MASA), según Ronco et al., (2016). En el caso de las alícuotas de muestras correspondientes a los tratamientos con glifosato también se cuantificó la concentración de AMPA, su principal producto de degradación.

4.3.4. Análisis estadísticos

Los datos físicoquímicos, de esporulación, riqueza y diversidad de hongos acuáticos fueron testeadas con un ANOVA a una vía con cuatro niveles en el caso del glifosato y con 2 niveles en el caso del tebuconazole. La normalidad de los datos fue evaluada previamente por la prueba de Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk, 1965), y aquellas variables que no cumplieron con este supuesto fueron transformados a $\log(x+1)$; el supuesto de homogeneidad de varianzas fue comprobado mediante la prueba de Cochran (Cochran, 1951). Aquellas variables que no cumplieran con los supuestos de normalidad y/o homogeneidad de varianzas aún luego de realizar la transformación de los datos, fueron analizadas mediante un test de Kruskal-Wallis. Cuando se encontraron diferencias significativas entre las muestras se utilizó la prueba post hoc de Tukey (ANOVA) o test de Dunn's (Kruskal-Wallis) para reconocer las diferencias entre los grupos.

4.4. Resultados

4.4.1. Restos foliares de *T. latifolia* expuestos a glifosato

Las tres concentraciones iniciales de glifosato descendieron después de 48 horas de incubación, siendo el tratamiento G3 el que mostró la mayor concentración residual (37,52 %) con respecto al resto de los tratamientos ($p < 0,05$; Tabla 4.1; Tabla 4.2). También en las fracciones líquidas del ensayo al tiempo final se detectó AMPA, cuya concentración mostró niveles máximos en el tratamiento G3, que fue significativamente mayor con respecto a G1 ($p < 0,05$; Tabla 4.1; Tabla 4.2).

Tabla 4.1. Concentraciones de glifosato Roundup Full II (μgL^{-1}) y AMPA (μgL^{-1}) en cada uno de los tratamientos a tiempo cero (T0) y tiempo final (TF) del bioensayo. Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

Control y tratamientos	Glifosato (μgL^{-1})		AMPA (μgL^{-1})
	T0	TF	TF
C	0	0	0
G1	1500	423,12 ($\pm 109,7$)	77,15 ($\pm 13,71$)
G2	3000	885,31 ($\pm 76,41$)	83,64 ($\pm 22,90$)
G3	6000	2251,22 ($\pm 598,91$)	196,09 ($\pm 75,61$)

Tabla 4.2. Resultados del análisis de ANOVA a una vía (gl: grados de libertad, F y p valor) realizado para las variables el glifosato y AMPA medidos.

Variables		
Glifosato (μgL^{-1})	gl	3
	F	21,597
	p	0,002
AMPA (μgL^{-1})	gl	3
	F	6,261
	p	0,034

El pH del líquido del ensayo al tiempo final fue mayor en C en relación con todos los tratamientos con glifosato ($p < 0,05$; Tabla 4.3; Tabla 4.4). Por otra parte, esta variable mostró diferencias entre los tratamientos con diferentes concentraciones iniciales de glifosato, con valores mayores en G1 con respecto a G3 y G2 ($p < 0,05$; Tabla 4.3; Tabla 4.4). En relación al fósforo reactivo soluble, la concentración fue mayor en G2 con respecto a C y a los tratamientos G1 y G3 ($p < 0,05$; Tabla 4.3; Tabla 4.4). Por otra

parte, el amonio fue significativamente diferente al tiempo final en los tratamientos con diferentes concentraciones iniciales de glifosato, siendo mayor en G1 ($p < 0,05$; Tabla 4.3; Tabla 4.4).

Tabla 4.3. Parámetros fisicoquímicos medidos a tiempo final en el control y en los tratamientos con glifosato: pH, fósforo reactivo soluble ($\text{PO}_4\text{-P}$) y amonio ($\text{NH}_4\text{-N}$). Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

	pH	$\text{PO}_4\text{-P}$ (mgL^{-1})	$\text{NH}_4\text{-N}$ (mgL^{-1})
C	7,61 ($\pm 0,01$)	0,092 ($\pm 0,001$)	$\leq 0,001$
G1	6,02 ($\pm 0,02$)	0,094 ($\pm 0,001$)	0,133 ($\pm 0,002$)
G2	5,53 ($\pm 0,02$)	0,132 ($\pm 0,001$)	0,106 ($\pm 0,005$)
G3	5,51 ($\pm 0,01$)	0,093 ($\pm 0,001$)	0,115 ($\pm 0,005$)

Tabla 4.4. Resultados del análisis de ANOVA a una vía (gl: grados de libertad, F y p valor) realizado para las variables fisicoquímicas medidas.

Variable		
pH	gl	3
	F	615,737
	p	<0,001
$\text{PO}_4\text{-P}$ (mgL^{-1})	gl	3
	F	1131,846
	p	<0,001
$\text{NH}_4\text{-N}$ (mgL^{-1})	gl	3
	F	8718,311
	p	<0,001

En relación a la tasa de esporulación no se encontraron diferencias significativas entre controles y tratamientos con glifosato ($p > 0,05$; Figura 4.3A; Tabla 4.5). No obstante, esta variable tendió a ser menor en C con respecto a G1 (Figura 4.3A). En relación a la diversidad tampoco no se encontraron diferencias significativas entre controles y tratamientos con el pesticida ($p > 0,05$; Figura 4.3B; Tabla 4.5). Del mismo modo, la riqueza, no tuvo diferencias significativas ($p > 0,05$; Tabla 4.5). El promedio de taxa fue de 8 en C y en los tratamientos esta variable fue de 5 taxa en G1 y de 6 en G2 y G3. Por último, el índice de disimilitud de Bray & Curtis estuvo en un rango de 0,6 a

0,7 sugiriendo similitud entre el ensamble de esporas en C y los tratamientos con glifosato.

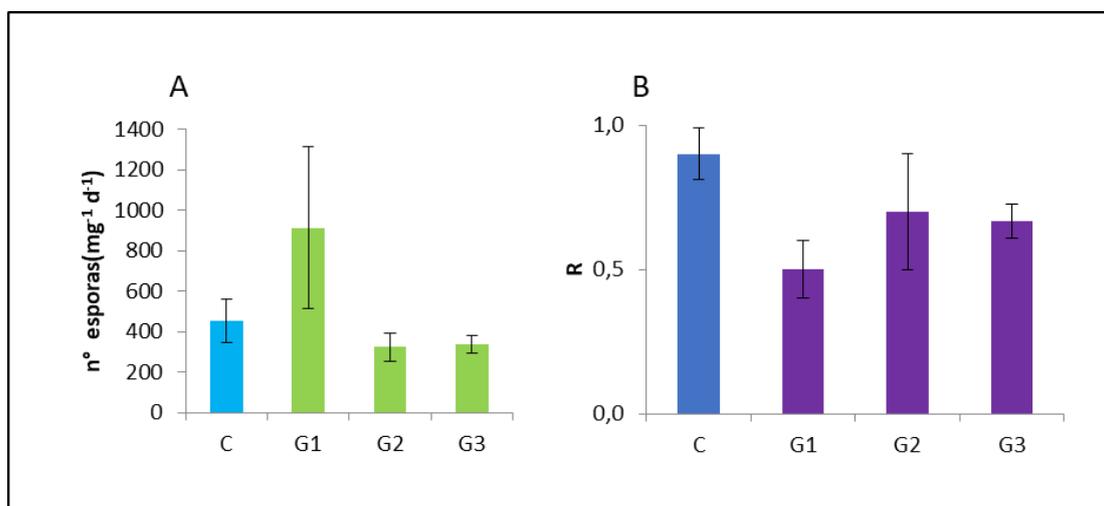


Figura 4.3. Tasa de esporulación total de los hongos en el control (C) y en los tratamientos con glifosato (G1, G2 y G3; A) índice de diversidad de Margalef (G1, G2 y G3; B). Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

Tabla 4.5. Resultados del análisis de ANOVA a una vía (gl: grados de libertad, F y p valor) realizado para las variables biológicas medidas.

Variables		
T. de Esporulación total (n° esporas mg ⁻¹ día ⁻¹)	gl	3
	F	3,697
	p	0,062
Diversidad	gl	3
	F	3,883
	p	0,055
Riqueza	gl	3
	F	2,983
	p	0,096

El análisis de los ensambles fúngicos permitió identificar 13 taxa, que corresponden al phylum Ascomycota. Analizando los tipos de hongos acuáticos, dentro del ensamble de Ingoldianos, se detectaron *Amniculicola longissima* (Sacc. & P. Syd.) Nadeeshan & K.D. Hyde, *Dactylella attenuata* Xing Z. Liu, K.Q. Zhang & R.H. Gao, *Alatospora acuminata* Ingold, *Tetracladium marchalianum* De Wild y *Lemonniera* sp. Por otro lado, el ensamble de hongos facultativos estuvo compuesto por *Brachysporium* sp., *Endophragmiella* sp., *Diplococcium* sp., *Torula* sp., *Truncatella* sp.,

Cordana sp. *Curvularia* sp. y *Sporidesmium* sp. Con respecto a las tasas de esporulaciones parciales de los taxa *A. longissima* y *Diplococcium* sp., ellas tendieron a aumentar a bajas concentraciones de glifosato (Tabla 4.6). En cambio, a mayor proporción del herbicida la esporulación tendió a disminuir en los taxa mencionados (Tabla 4.6). En relación con *D. attenuata* y *Endophragmiella* sp., su esporulación tendió a descender en G1 y G2 en ambas taxa. Con respecto a *Brachysporium* sp., su tasa de esporulación fue tendió a ser mayor en el tratamiento G1 con respecto a C, G2 y G3. Por último, *Cordana* sp. fue encontrada solo en C, mientras que *Curvularia* sp. y *Sporidesmium* sp. solo se hallaron en tratamientos G2 y G3 (Tabla 4.6).

Tabla 4.6. Tasas de esporulaciones parciales (n° de esporas de cada hongo por mg de hoja por día). Los datos son valores medios con sus respectivas desviaciones estándares (\pm).

	C	G1	G2	G3
<i>Amniculicola longissima</i> (Sacc. & P. Syd.) Nadeeshan & K.D. Hyde	316,51 (\pm 48,1)	586,36 (\pm 355,9)	276,94 (\pm 78,5)	187,66 (\pm 73,5)
<i>Dactylella attenuata</i> Xing Z. Liu, K.Q. Zhang & R.H. Gao	49,53 (\pm 13,3)	33,29 (\pm 4,8)	19,62 (\pm 18,1)	51,97 (\pm 30,1)
<i>Diplococcium</i> sp.	13,75 (\pm 12,1)	38,41 (\pm 41,2)	6,53 (\pm 6,1)	1,96 (\pm 1,6)
<i>Torula</i> sp.	4,69 (\pm 5,2)	-	-	0,40 (\pm 0,6)
<i>Lemonniera</i> sp.	0,13 (\pm 0,2)	-	0,19 (\pm 0,3)	-
<i>Cordana</i> sp.	1,49 (\pm 1,5)	-	-	-
<i>Endophragmiella</i> sp.	18,02 (\pm 11,5)	2,95 (\pm 3,6)	10,02 (\pm 3,0)	23,46 (\pm 10,8)
<i>Brachysporium</i> sp.	45,55 (\pm 23,3)	250,29 (\pm 41,7)	1,72 (\pm 1,4)	60,11 (\pm 51,8)
<i>Alatospora acuminata</i> Ingold	0,18 (\pm 0,3)	0,44 (\pm 0,7)	-	-
<i>Tetracladium marchalianum</i> De Wild	0,13 (\pm 0,2)	-	0,16 (\pm 0,3)	0,59 (\pm 0,9)
<i>Truncatella</i> sp.	0,68 (\pm 0,7)	-	0,13 (\pm 0,2)	-
<i>Curvularia</i> sp.	-	-	0,80 (\pm 1,2)	0,29 (\pm 0,5)
<i>Sporidesmium</i> sp.	-	-	0,40 (\pm 0,6)	0,59 (\pm 0,9)

4.4.2. Restos foliares de *T. latifolia* expuestos a tebuconazole

La concentración de tebuconazole se redujo a la mitad con respecto al tiempo cero (Tabla 4.7). En relación a los parámetros fisicoquímicos, el pH en el control (CT) estuvo en torno a la neutralidad en relación al tratamiento con tebuconazole (T), que fue levemente alcalino ($p < 0,05$; Tabla 4.8; Tabla 4.9). También, las concentraciones de fósforo reactivo soluble y de amonio fueron diferentes, con valores superiores en los

líquidos que contenían tebuconazole al tiempo final del ensayo ($p < 0,05$; Tabla 4.8; Tabla 4.9).

Tabla 4.7. Concentraciones de tebuconazole a tiempo cero (T0) y tiempo final (TF) en el tratamiento del bioensayo. Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

Control y tratamiento	T0 (μgL^{-1})	TF (μgL^{-1})
CT	0,0	0,0
T	22,4	10,95 ($\pm 0,77$)

Tabla 4.8. Parámetros fisicoquímicos medidos a tiempo final en el control (CT) y en el tratamiento con tebuconazol (T) Parámetros físicos y químicos: pH, fósforo reactivo soluble ($\text{PO}_4\text{-P}$), amonio ($\text{NH}_4\text{-N}$). Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

	pH	$\text{PO}_4\text{-P}$ (mgL^{-1})	$\text{NH}_4\text{-N}$ (mgL^{-1})
CT	7,62 ($\pm 0,01$)	0,091 ($\pm 0,001$)	$\leq 0,001$
T	8,23 ($\pm 0,02$)	0,109 ($\pm 0,001$)	0,043 ($\pm 0,005$)

Tabla 4.9. Resultados del análisis de ANOVA a una vía (gl: grados de libertad, F y p valor) realizado para las variables fisicoquímicas medidas.

Variable		
pH	gl	1
	F	3129,143
	p	<0,001
$\text{PO}_4\text{-P}$ (mgL^{-1})	gl	1
	F	7482,25
	p	<0,001
$\text{NH}_4\text{-N}$ (mgL^{-1})	gl	1
	F	13225
	p	<0,001

Con respecto a la tasa de esporulación, se encontraron diferencias significativas, donde el test *a posteriori* evidenció que la misma fue significativamente mayor en CT, con respecto al tratamiento T ($p < 0,05$; Figura 3A; Tabla 4.10). En relación a la diversidad, no se encontraron diferencias significativas; no obstante, esta variable tendió a ser menor en CT ($p > 0,05$; Figura 3B; Tabla 4.10). En cuanto a la riqueza de taxa, hubo diferencias significativas, donde el test *a posteriori* demostró que fue significativamente menor en CT con respecto a T (con 5 taxa en el primero y 6 el

segundo) ($p < 0,05$; Tabla 4.10). Por último, el índice de disimilitud de Bray and Curtis, fue de un promedio de 0,6, evidenciando similitud entre la carga de esporas fúngicas en los diferentes tratamientos analizados.

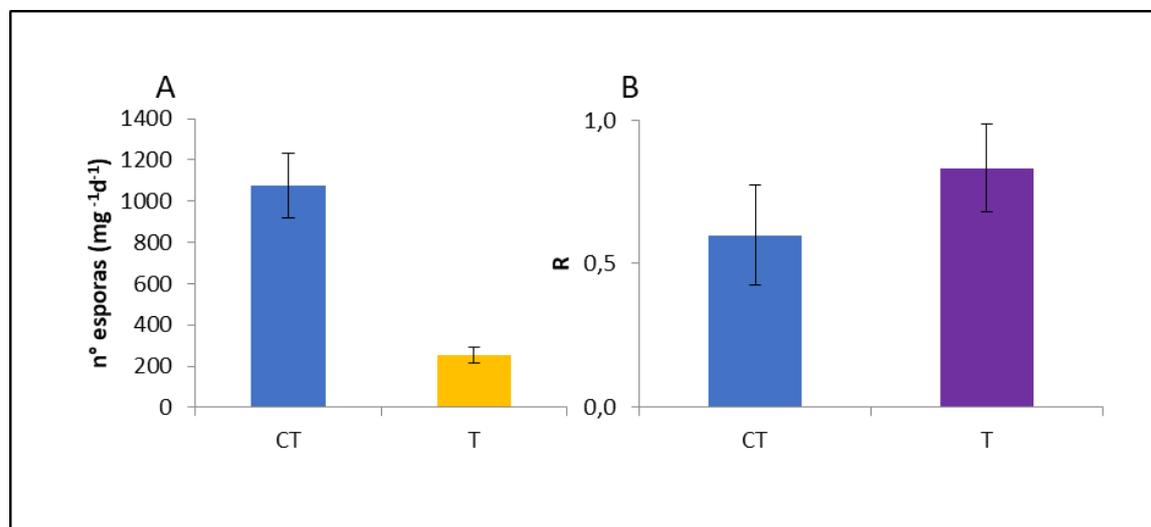


Figura 4.5. Tasa de esporulación de los hongos en el control (CT) y en el tratamiento con tebuconazole (T; A) e índice de diversidad de Margalef (B) en el control (CT; B) y en el sistema con tebuconazole (T; B). Los datos corresponden a valores promedios \pm desvíos estándares.

Tabla 4.10. Resultados del análisis de ANOVA a una vía en negro (gl: grados de libertad, F y p valor) y análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis (gl: grados de libertad, H y p valor) en gris realizado para las variables biológicas medidas.

Variables		
T. de Esporulación (n° esporas mg ⁻¹ . día ⁻¹)	gl	1
	F	78,157
	p	<0,001
Diversidad	gl	1
	H	4,355
	p	0,100
Riqueza	gl	1
	F	8
	p	0,047

Se encontraron un total de 9 tipos de taxa pertenecientes al phylum Ascomycota. Dentro del ensamble de Ingoldianos, se reportaron *A. longissima* y *D. attenuata*. Por otro lado, el ensamble de hongos facultativos estuvo integrado por *Brachysporium* sp., *Endophragmiella* sp., *Diplococcium* sp., *Cordana* sp., *Curvularia* sp. *Sporidesmium* sp. y *Torula* sp. Con respecto a las tasas de esporulaciones parciales de los hongos Ingoldianos, *A. longissima* tendió a una alta tasa de esporulación parcial en CT en

relación a T (Tabla 4.11). Por el contrario, *D. attenuata* tendió a aumentar en el tratamiento T. Con respecto a los hongos facultativos, comparando CT con T, *Brachysporium* sp. tendió a disminuir su abundancia. Cabe resaltar que los taxa *Curvularia* sp., *Sporidesmium* sp. y *Torula* sp. solamente fueron reportados en presencia del tebuconazole (Tabla 4.11).

Tabla 4.11. Tasas de esporulaciones parciales (n° de esporas de cada hongo por mg de hoja por día). Los datos son valores medios con sus respectivas desviaciones estándares (\pm).

	CE	T
<i>Amniculicola longissima</i> (Sacc. & P. Syd.) Nadeeshan & K.D. Hyde	600,52 (\pm 105,3)	117,84 (\pm 80,2)
<i>Dactylella attenuata</i> Xing Z. Liu, K.Q. Zhang & R.H. Gao	56,21 (\pm 13,7)	46,08 (\pm 30,9)
<i>Diplococcium</i> sp.	8,74 (\pm 9,2)	18,97 (\pm 16,1)
<i>Torula</i> sp.	-	0,44 (\pm 0,4)
<i>Cordana</i> sp.	0,58 (\pm 1,0)	0,14 (\pm 0,2)
<i>Endophragmiella</i> sp.	18,59 (\pm 27,6)	8,51 (\pm 7,3)
<i>Brachysporium</i> sp.	400,17 (\pm 81,5)	43,86 (\pm 39,1)
<i>Curvularia</i> sp.	-	0,53 (\pm 0,5)
<i>Sporidesmium</i> sp.	-	0,78 (\pm 0,8)

4.5. Discusión

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, la reducción en las concentraciones de glifosato en el agua de los tratamientos G1, G2 y G3 después de 48 horas del ensayo de esporulación *in-vitro* sugiere que los restos de *T. latifolia* y sus componentes como un todo remueven este pesticida, posiblemente involucrando tantos procesos fisicoquímicos como biológicos (bacterias y hongos). La detección de AMPA en los líquidos del ensayo, el cual alcanzó concentraciones entre 17 y 44 veces más elevadas que el valor máximo registrado por Mac Loughlin et al., (2020) en el arroyo Carnaval, sugiere que componentes de la microbiota de los restos foliares de *T. latifolia*, que estuvieron sumergidos durante 5 meses en el arroyo Chubichaminí, fueron activos agentes de la transformación del glifosato en el sistema *in-vitro* estudiado.

Es de destacar que una concentración superior de fósforo reactivo fue detectada en el tratamiento G2. Estudios realizados por Vera et al., (2010) y Perez et al., (2011) han demostrado que la transformación del glifosato en ambientes acuáticos conduce al aumento de este nutriente en el agua, con la consecuente promoción de la eutrofización de los ecosistemas. También es reconocida la degradación del glifosato por los hongos, facilitando la liberación de fósforo (Krzyśko Łupicka & Orlik 1997; Arfarita et al., 2011). Aunque, ensayos adicionales son necesarios, el incremento en el nivel de fósforo solo en el agua de esporulación en el tratamiento G2 y no en los tratamientos G1 y G3 (donde también se detectó remoción de glifosato) pudo estar condicionado por el efecto de la concentración umbral de glifosato sobre la fisiología de los microorganismos existentes en los restos foliares que, en el caso del tratamiento G3, pudo a la vez activar la asimilación del fósforo inorgánico soluble, incluyendo aquel derivado de la degradación de glifosato durante el ensayo, y formar compuestos orgánicos fosforados como respuesta a la toxicidad relativa del mismo glifosato; esto probablemente condujo a la reducción en el nivel de fosforo inorgánico, considerando que la tasa respiratoria de los microorganismos es dependiente de compuestos energéticos como el ATP. En tal sentido Busse et al., (2001) reportaron la activación de la respiración microbiana en un suelo por la adición de niveles en exceso de glifosato y su efecto en la actividad microbiana.

En relación al ensamble de esporas identificadas, los taxa de hongos Ingoldianos más abundantes fueron *A. longissima* y *D. attenuata*. La primera, fue descendiendo su tasa de esporulación a mayor concentración de glifosato, mientras que la segunda, tuvo una tasa de esporulación parcial similar en el control y en el tratamiento G3, lo que demostraría un menor efecto del herbicida sobre su esporulación. Esta respuesta diferencial de los taxa también fue registrada en el estudio de Tsiu et al (2001), donde el género *Massarina* sp. (teleomorfo del género *Anguillospora sensu lato*) tuvo una reducción del crecimiento, mientras que *Helicosporium griseum* Goos y *Camposporium antennatum* Harkn aumentaron ante la exposición del herbicida.

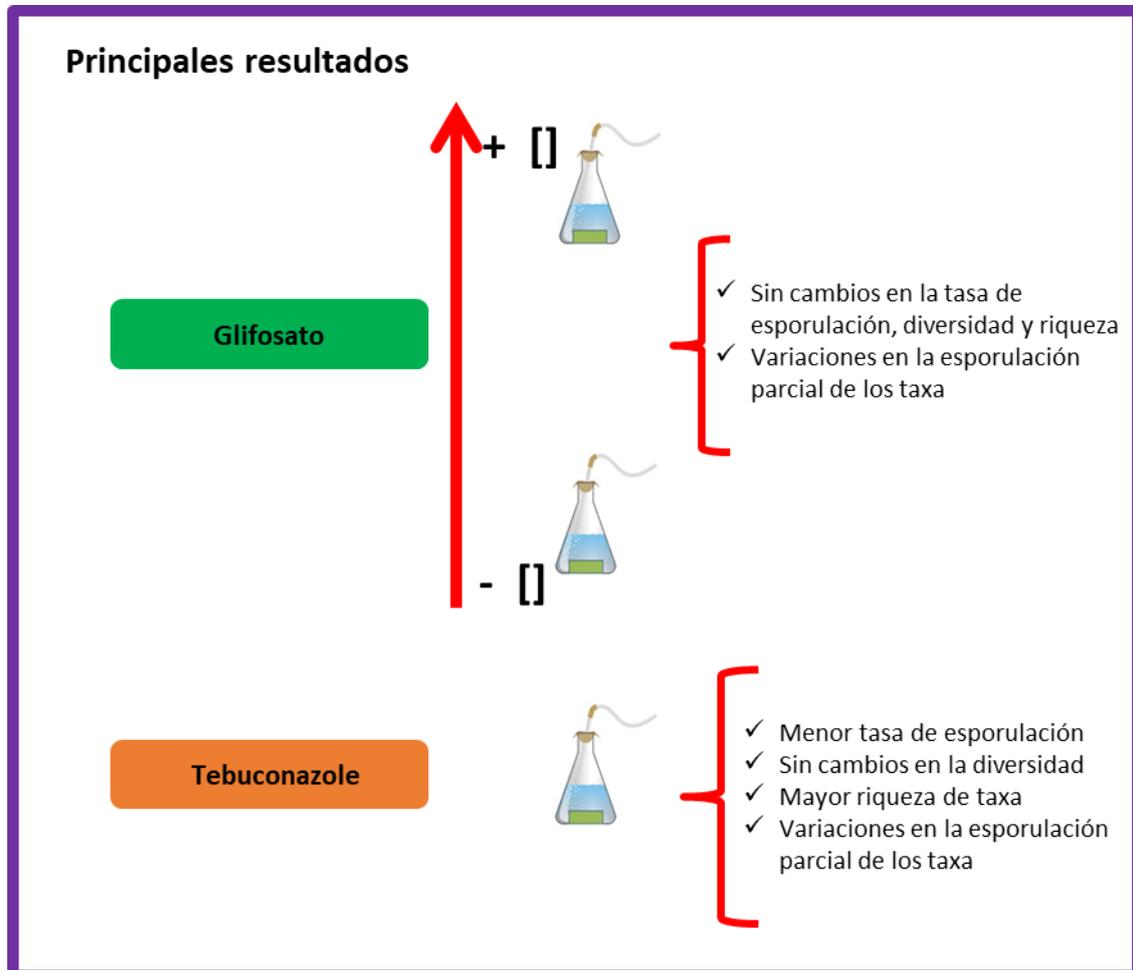
El tebuconazole es un fungicida ampliamente utilizado en la producción agrícola de soja, trigo y cebada, así como también en la actividad hortícola y frutícola (Sarandon et al., 2013). Este fungicida después de 2 días de su suplementación a un sistema

conteniendo restos foliares de *T. latifolia* redujo su concentración a la mitad. Este descenso fue 3,5 veces más rápido que el reportado en el ensayo realizado por Donnadieu et al., (2016) después de 7 días de exposición, en canales artificiales con tebuconazole y hojarasca de *Fagus sylvatica* L. El descenso detectado podría deberse a diferentes procesos, entre ellos los de carácter fisicoquímicos, así como los debidos a la metabolización del fungicida por microorganismos, como ha sido ha sido encontrado en hongos de colonizan madera (Obanda & Shupe, 2009).

El fungicida tebuconazole también mostró una reducción en la formación de esporas por hongos que colonizan los restos foliares de *T. latifolia* a una exposición aguda de $20 \mu\text{gL}^{-1}$. Esta misma concentración fue empleada por Pimentão et al., (2020), encontrando resultados similares bajo exposición crónica. Por lo tanto, estos resultados demuestran los efectos adversos del empleo de este fungicida sobre los hongos acuáticos tanto en exposición aguda como crónica. Estudios realizados por Donadieu et al., (2016) mostraron que a la mitad de la concentración empleada en nuestro experimento no causó un efecto en la tasa de esporulación, no obstante, si influyó en la biomasa fúngica. Investigaciones realizadas por Artigas et al., (2012) reportaron que a una concentración de 1,5 veces mayor que la empleada en este estudio, influye negativamente en la tasa de descomposición, el nivel de biomasa fúngica y en la actividad de las enzimas que cumplen funciones clave en la degradación de la hojarasca.

El análisis de la esporulación fúngica reveló que *A. longissima* los valores de esporulación parcial tendieron a descender ante la concentración de tebuconazole empleado en el experimento, por el contrario, *D. attenuata* tuvo tasas de esporulación parciales similares en el control y tratamiento. Del mismo modo, con 12 veces más de concentración de tebuconazole que el empleado en este capítulo y exposición crónica, Dimitrov et al., (2014) también encontraron una menor esporulación de *A. longissima* mientras que no se observaron efectos adversos sobre *Tetracladium setigerum* (Grove) Ingold en su experimento.

En este Capítulo la hipótesis no se rechaza parcialmente. Ya que se observó que solo el tebuconazole respondió a la hipótesis planteada. A continuación, se sintetizan los principales resultados obtenidos.



5. Conclusiones y perspectivas futuras

A continuación, se detallan las principales conclusiones de este trabajo de tesis doctoral:

- ✓ Existe una relación entre la calidad del agua de los bañados de desborde fluvial y el ensamble de hongos que colonizan los restos foliares de *T. latifolia* L. En tal sentido, los hongos Ingoldianos dominan bajo condiciones con mejor calidad del agua y condiciones hidrológicas más estables y su detección puede ser un buen indicador de cambios ambientales.
- ✓ La tasa de descomposición del material foliar de *T. latifolia* en bañados de desborde fluvial está condicionada por diferentes factores ambientales, incluyendo la calidad del agua. Los datos obtenidos en este estudio de tesis aportan información preliminar que inducen a considerar el potencial de la tasa de descomposición de estos restos foliares en bañados de desborde fluvial como un descriptor funcional prometedor para contribuir a interpretar aspectos de los procesos de descomposición y contribuir así a interpretar la integridad ecológica de estos ambientes.
- ✓ El grado de amorfogénesis de la celulosa de los restos foliares de *T. latifolia* fue mayor en el bañado Del Gato predominado la celulosa amorfa, en tanto en el bañado Chubichaminí fue mayor la concentración relativa de lignina hacia el final de la descomposición. Esto señala la posible influencia de las condiciones ambientales de los bañados en los procesos de transformación polimérica.
- ✓ Los niveles de actividad de la β -glucosidasa asociada a los restos foliares en descomposición, si bien es modulada por múltiples factores, los resultados obtenidos en esta investigación demostraron la influencia de la calidad del agua sobre esta respuesta funcional. En tal sentido esta actividad enzimática la posiciona como un descriptor más que puede complementar los diagnósticos sobre la calidad ecológica de los bañados de desborde fluvial, como así también permite el seguimiento temporal de la degradación del sustrato.
- ✓ La tasa de esporulación de los hongos asociados al material foliar de *T. latifolia* está condicionada por la calidad del agua siendo un buen indicador funcional de la microbiota en los ecosistemas acuáticos.

- ✓ Los hongos que colonizan restos foliares de *T. latifolia* responden diferencialmente a la exposición aguda al glifosato y al tebuconazole, demostrando que algunos taxa activan su tasa de esporulación mientras otros limitan la producción sus esporas.
- ✓ Existen taxa de hongos que son prometedores como descriptores del estado de descomposición de los restos foliares de *T. latifolia*, en sitios con diferente calidad del agua.
- ✓ Finalmente, los restos foliares de *T. latifolia* resultan un sustrato adecuado para el monitoreo de la descomposición y de los ensambles de hongos que los colonizan, en bañados de desborde fluvial de la región Pampeana. Cabe destacar que estos materiales lignocelulósicos permiten realizar estudios prolongados en el tiempo debido a sus características de degradabilidad, favoreciendo las comparaciones entre sitios de muestreos a partir de emplear el mismo tipo de sustrato.

Perspectivas futuras:

- Completar la identificación de los hongos que colonizan los restos foliares de *T. latifolia* en los bañados utilizando técnicas moleculares.
- Ampliar la base de datos que se comenzó a construir con esta tesis, con la finalidad de aumentar el gradiente ambiental vinculado a la calidad del agua acompañado de los ensambles fúngicos, lo cual permitirá desarrollar un índice basado en descomponedores para el biomonitoreo.
- Incorporar otras técnicas como la estimación de la biomasa fúngica a través de la cuantificación del ergosterol en el material foliar en descomposición y otras actividades enzimáticas como endoglucanasas y endoxilanasas, con la finalidad de completar los diagnósticos que se pueden realizar a partir del empleo de la microbiota acuática.
- Realizar experimentos con otros pesticidas empleados en la agricultura para estimar su efecto sobre los hongos acuáticos. También incluir bioensayos con contaminantes emergentes como los microplásticos y fármacos presentes en los ecosistemas acuáticos.

- Explorar otros sustratos celulósicos alternativos que permitan la estandarización de las metodologías vinculadas al estudio de la descomposición y la microbiota asociada, como por ejemplo material de algodón.
- Ampliar los estudios de la microbiota y la descomposición en ambientes lénticos.
- Aislar hongos de los ambientes acuáticos, para disponer de cultivos axénicos que permitan la experimentación con distintos tipos de compuestos contaminantes.

6. Bibliografía

Abdel-Aziz, F. A. (2008). Diversity of aquatic fungi on *Phragmites australis* at Lake Manzala, Egypt. *Sydowia*, 60(1), 1-14.

Abdel-Raheem, A. M., & Ali, E. H. (2004). Lignocellulolytic enzyme production by aquatic hyphomycetes species isolated from the Nile's delta region. *Mycopathologia*, 157(3), 277-286

Abel, T. H., & Bärlocher, F. (1984). Effects of cadmium on aquatic hyphomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(2), 245-251.

Abelho, M., & Graça, M. A. S., 2006. Effects of nutrient enrichment on decomposition and fungal colonization of sweet chestnut leaves in an Iberian stream (Central Portugal). *Hydrobiologia*, 560(1), 239-247.

Agostini, M.G., Kacoliris, F., Demetrio, P., Natale, G.S., Bonetto, C., Ronco, A.E. (2013). Abnormalities in amphibian populations inhabiting agroecosystems in Northeastern Buenos Aires Province, Argentina.

Aimer, R. D. (1989). Ecology of Aquatic Hyphomycetes in New Zealand Streams: A Thesis Submitted in Fulfilment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy in Biological Sciences at the University of Waikato (Doctoral dissertation, University of Waikato).

Aizen, M. A., & Harder, L. D. (2009). The global stock of domesticated honey bees is growing slower than agricultural demand for pollination. *Current biology*, 19(11), 915-918.

Allan, J.D, Castillo, MA. (2007). *Stream Ecology: Structure and Function of Running Waters*, 2nd ed. Springer, The Netherlands. 400pp.

Aluffi, M. E., Carranza, C. S., Benito, N., Magnoli, K., Magnoli, C. E., & Barberis, C. L. (2020). Isolation of culturable mycota from Argentinean soils exposed or not-exposed to pesticides and determination of glyphosate tolerance of fungal species in media supplied with the herbicide. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(3), 221-230.

Alvarez, J. A., & Bécares, E. 2006. Seasonal decomposition of *Typha latifolia* in a free-water surface constructed wetland. *Ecological Engineering*, 28(2), 99-105.

Anderson, J. L., & Marvanová, L. (2020). Broad geographical and ecological diversity from similar genomic toolkits in the ascomycete genus *Tetracladium*. *BioRxiv*.

- Annett, R., Habibi, H. R., & Hontela, A. (2014). Impact of glyphosate and glyphosate-based herbicides on the freshwater environment. *Journal of Applied Toxicology*, 34(5), 458-479.
- Anton, A. M. R., Zuloaga, F. O., Al-Shehbaz, I. A., Barboza, G. E., Belgrano, M. J., Freire, S. E., ... & Arbo, M. M. (2012). *Flora Argentina: flora vascular de la República Argentina*. Instituto de Botánica Darwinion (San Isidro, Argentina).
- Aparicio, V. C., De Gerónimo, E., Marino, D., Primost, J., Carriquiriborde, P., & Costa, J. L. (2013). Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. *Chemosphere*, 93(9), 1866-1873.
- Apfelbaum, S. I. (1985). Cattail (*Typha* spp.) management. *Natural Areas Journal*, 9-17.
- APHA, 1998. *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 20th ed. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, Washington 1325pp.
- Arfarita, N., Imai, T., Kanno, A., Higuchi, T., Yamamoto, K., & Sekine, M. (2011). Screening of soil-born fungi from forest soil using glyphosate herbicide as the sole source of phosphorus. *Journal of Water and Environment Technology*, 9(4), 391-400.
- Armstrong, W. (1978). Root aeration in the wetland condition. *Plant life in anaerobic environments*, 269-297.
- Artigas, J., Majerholc, J., Foulquier, A., Margoum, C., Volat, B., Neyra, M., & Pesce, S. (2012). Effects of the fungicide tebuconazole on microbial capacities for litter breakdown in streams. *Aquatic toxicology*, 122, 197-205.
- Bajwa, D. S., Sitz, E. D., Bajwa, S. G., & Barnick, A. R. (2015). Evaluation of cattail (*Typha* spp.) for manufacturing composite panels. *Industrial Crops and Products*, 75, 195-199.
- Balibrea, A., Ferreira, V., Balibrea, C., Gonçalves, V., & Raposeiro, P. M. (2020). Contribution of macroinvertebrate shredders and aquatic hyphomycetes to litter decomposition in remote insular streams. *Hydrobiologia*, 847(10), 2337-2355.
- Bansal, S., Lishawa, S. C., Newman, S., Tangen, B. A., Wilcox, D., Albert, D., ... & Windham-Myers, L. (2019). *Typha* (cattail) invasion in North American wetlands: biology, regional problems, impacts, ecosystem services, and management. *Wetlands*, 39(4), 645-684.
- Bärlocher, F. (2005). Sporulation by aquatic hyphomycetes. In 'Methods to Study Litter Decomposition: a Practical Guide'. (Eds F. Bärlocher, MAS Graça and MO Gessner.) pp. 185-188.
- Bärlocher, F. (2016). Aquatic hyphomycetes in a changing environment. *Fungal Ecology*, 19, 14-27.
- Bärlocher, F. (2020). Leaf mass loss estimated by the litter bag technique. In *Methods to Study Litter Decomposition* (pp. 43-51). Springer, Cham.

- Bärlocher, F. (2020). Sporulation by aquatic hyphomycetes. In *Methods to study litter decomposition* (pp. 241-245). Springer, Cham.
- Bärlocher, F. (Ed.). (2012). *The ecology of aquatic hyphomycetes* (Vol. 94). Springer Science & Business Media.
- Bärlocher, F. E. L. I. X., Stewart, M. O. R. A. G., & Ryder, D. S. (2011). Analyzing aquatic fungal communities in Australia: impacts of sample incubation and geographic distance of streams. *Czech Mycol*, 63, 113-132.
- Bärlocher, F., 2005. Leaf mass loss estimated by litter bag technique. In *Methods to study litter decomposition* (pp. 37-42). Springer, Dordrecht.
- Bärlocher, F., Guenzel, K., Sridhar, K. R., & Duffy, S. J. (2011). Effects of 4-n-nonylphenol on aquatic hyphomycetes. *Science of the total environment*, 409(9), 1651-1657.
- Bar-On, Y. M., Phillips, R., & Milo, R. (2018). The biomass distribution on Earth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(25), 6506-6511.
- Battaglin, W. A., Meyer, M. T., Kuivila, K. M., & Dietze, J. E. (2014). Glyphosate and its degradation product AMPA occur frequently and widely in US soils, surface water, groundwater, and precipitation. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, 50(2), 275-290.
- Bauer, D.E., Conde, M.E., Gómez, N. (2002b) Phytoplankton of a Small Lowland Stream Related to Water Quality and Hydraulic Discontinuities. *Archiv Für Hydrobiologie*, 153(3),421–441.
- Bentley, R., & Haslam, E. (1990). The shikimate pathway—a metabolic tree with many branches. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 25(5), 307-384.
- Berenzen, N., Lentzen-Godding, A., Probst, M., Schulz, H., Schulz, R., & Liess, M. (2005). A comparison of predicted and measured levels of runoff-related pesticide concentrations in small lowland streams on a landscape level. *Chemosphere*, 58(5), 683-691.
- Berglund, J., Mikkelsen, D., Flanagan, B. M., Dhital, S., Gaunitz, S., Henriksson, G., ... & Vilaplana, F. (2020). Wood hemicelluloses exert distinct biomechanical contributions to cellulose fibrillar networks. *Nature communications*, 11(1), 1-16.
- Bermúdez-Couso, A., Arias-Estévez, M., Nóvoa-Muñoz, J. C., López-Periago, E., Soto-González, B., & Simal-Gándara, J. (2007). Seasonal distributions of fungicides in soils and sediments of a small river basin partially devoted to vineyards. *Water research*, 41(19), 4515-4525.
- Bocock, K. L., & Gilbert, O. J. W., 1957. The disappearance of leaf litter under different woodland conditions. *Plant and Soil*, 9(2), 179-185.

- Bonansea, R. I., Filippi, I., Wunderlin, D. A., Marino, D. J. G., & Amé, M. V. (2017). The fate of glyphosate and AMPA in a freshwater endorheic basin: An ecotoxicological risk assessment. *Toxics*, 6(1), 3.
- Bray, J. R., & Curtis, J. T. (1957). An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological monographs*, 27(4), 326-349.
- Bundschuh, M., Zubrod, J. P., Kosol, S., Maltby, L., Stang, C., Duester, L., & Schulz, R. (2011). Fungal composition on leaves explains pollutant-mediated indirect effects on amphipod feeding. *Aquatic Toxicology*, 104(1-2), 32-37.
- Busse, M. D., Ratcliff, A. W., Shestak, C. J., & Powers, R. F. (2001). Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. *Soil biology and biochemistry*, 33(12-13), 1777-1789.
- Cabello, M., Cazu, C., Arambarri, A., 1990. New Hyphomycetes from Santiago River. III. (Buenos Aires Province, Argentina). *Mycotaxon* (USA).
- Cabrera, A.L., Willink, A. (1980). *Biogeografía de America Latina*. Organization of American States, Washington. 122pp.
- Cambaza, E., Koseki, S., & Kawamura, S. (2018). The use of colors as an alternative to size in *Fusarium graminearum* growth studies. *Foods*, 7(7), 100.
- Camilión, M.C., Manassero, M.J., Hurtado, M.A., Ronco, A.E., (2003). Copper, lead and zinc distribution in soils and sediments of the south-western coast of the Río de la Plata estuary. *Journal of Soils and Sediments*, 3 (3), 213–220.
- Canhoto, C., Goncalves, A. L., & Baerlocher, F. (2016). Biology and ecological functions of aquatic hyphomycetes in a warming climate. *Fungal Ecology*, 19, 201-218.
- CASAFE (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes, Buenos Aires, Argentina), (2013) <<http://www.casafe.org/sobrelaindustria.htm>>.
- Castela, J., Ferreira, V., & Graça, M. A. (2008). Evaluation of stream ecological integrity using litter decomposition and benthic invertebrates. *Environmental Pollution*, 153(2), 440-449.
- Chan, S. Y., Goh, T. K., & Hyde, K. D. (2000). Ingoldian fungi in Hong Kong. *Fungal Diversity*, 5, 89-107.
- Chauvet, E., Cornut, J., Sridhar, K. R., Selosse, M. A., & Bärlocher, F., 2016. Beyond the water column: aquatic hyphomycetes outside their preferred habitat. *fungal ecology*, 19, 112-127.
- Chauvet, E., Ferreira, V., Giller, P. S., Mckie, B. G., Tiegs, S. D., Woodward, G., Elozegi A., Dobson M., Fleituch T., Graça M. S. A., Gulis V., Hladyz S., A. Lacoursière, J. Lecerf E. Pozo, M. Predakk Riipinen, Rişnoveanukk G., Vadineanukk A., Vought L.B.M., Gessner M.O.(2016). Litter decomposition as an indicator of stream ecosystem

functioning at local-to-continental scales: Insights from the European RivFunction project. In *Advances in ecological research* (Vol. 55, pp. 99-182). Academic Press.

Chergui, H. (1990). The dynamics of aquatic hyphomycetes in an eastern Moroccan stream. *Archiv für Hydrobiologie*, 341-352.

Chuaseeharonnachai, C., Yamaguchi, K., Sri-Indrasutdhia, V., Somrithipol, S., Okanec, I., Nakagirid, A., & Boonyuen, N. (2013). Diversity of aero-aquatic hyphomycetes from six streams in Doi Inthanon and Khao Yai tropical forests, Thailand. *Cryptogamie, Mycologie*, 34(2), 183-197

Cochero, J., Romaní, A. M., & Gómez, N. (2013). Delayed response of microbial epipellic biofilm to nutrient addition in a Pampean stream. *Aquatic Microbial Ecology*, 69(2), 145-155.

Copping, L. G., & Hewitt, H. G. (1998). *Chemistry and mode of action of crop protection agents*. Royal Society of Chemistry.

Corcoran, S., Metcalfe, C. D., Sultana, T., Amé, M. V., & Menone, M. L. (2020). Pesticides in surface waters in argentina monitored using polar organic chemical integrative samplers. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 104(1), 21-26.

Cortizo, D. E., Rodriguez Tarducci, R., & Frediani, J. C. (2021). Periferias dispersas: expansión urbana en la ciudad de La Plata en una década (periodo 2010-2020).

Coupe, R. H., Kalkhoff, S. J., Capel, P. D., & Gregoire, C. (2012). Fate and transport of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters of agricultural basins. *Pest management science*, 68(1), 16-30.

Cruzeiro, C., Rocha, E., Pardal, M. Â., & Rocha, M. J. (2015). Uncovering seasonal patterns of 56 pesticides in surface coastal waters of the Ria Formosa lagoon (Portugal), using a GC-MS method. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 95(14), 1370-1384.

Cudowski, A., Pietryczuk, A., & Hauschild, T. (2015). Aquatic fungi in relation to the physical and chemical parameters of water quality in the Augustów Canal. *fungus ecology*, 13, 193-204.

da Silva, R. F., & Briedis, G. S. (2015). Actualización de inventario de especies de hifomicetos acuáticos en Venezuela. *Gestión y Ambiente*, 18(2), 153-180.

de Zozaya, I. Y. B., & Neiff, J. J. (1991). Decomposition and colonization by invertebrates of *Typha latifolia* L. litter in Chaco cattail swamp (Argentina). *Aquatic Botany*, 40(2), 185-193.

Dimitrov, M. R., Kosol, S., Smidt, H., Buijse, L., Van den Brink, P. J., Van Wijngaarden, R. P., & Maltby, L. (2014). Assessing effects of the fungicide tebuconazole to heterotrophic microbes in aquatic microcosms. *Science of the total environment*, 490, 1002-1011.

- Dix, N. J., & Webster, J. (1995). Aquatic fungi. In *Fungal Ecology* (pp. 225-283). Springer, Dordrecht.
- Donnadieu, F., Besse-Hoggan, P., Forestier, C., & Artigas, J. (2016). Influence of streambed substratum composition on stream microbial communities exposed to the fungicide tebuconazole. *Freshwater Biology*, 61(12), 2026-2036.
- Dorado, J., Almendros, G., Camarero, S., Martínez, A. T., Vares, T., & Hatakka, A. (1999). Transformation of wheat straw in the course of solid-state fermentation by four ligninolytic basidiomycetes. *Enzyme and Microbial Technology*, 25(7), 605-612.
- Dorney JR (1986) Leachable and total phosphorous in urban street tree leaves. *Water Air Soil Poll* 28:439–443.
- Druille, M., Omacini, M., Golluscio, R. A., & Cabello, M. N. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi are directly and indirectly affected by glyphosate application. *Applied Soil Ecology*, 72, 143-149.
- Duarte, S., Bärlocher, F., Pascoal, C., & Cássio, F. (2016). Biogeography of aquatic hyphomycetes: current knowledge and future perspectives. *Fungal Ecology*, 19, 169-181.
- Duarte, S., Mora-Gómez, J., Romaní, A. M., Cássio, F., & Pascoal, C. (2017). Responses of microbial decomposers to drought in streams may depend on the environmental context. *Environmental microbiology reports*, 9(6), 756-765.
- Dubey A. 2016. Aquatic hyphomycetes communities occur as potential bioindicators of water quality. *IJAR*, vol. 2, no 8, p. 778-780.
- Elosegui A. Sabater S., 2009. Conceptos y Técnicas en ecología fluvial. Fundación BBVA. Dinamica y relevancia de la materia orgánica. Bilbao. capítulo 10, pp 141-167.
- Feijoó, C. S., Lombardo, R. J. (2007). Baseline water quality and macrophyte assemblages in Pampean streams: A regional approach. *Water Research*, 41, 1399–1410. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.08.026>
- Feijoó, C.S, Giorgi, A., García, M.E., Momo, F. (1999). Temporal and spatial variability in streams of a pampean basin. *Hydrobiología*, 394(0), 41-52.
- Fernández, D., Voss, K., Bundschuh, M., Zubrod, J. P., & Schäfer, R. B. (2015). Effects of fungicides on decomposer communities and litter decomposition in vineyard streams. *Science of the Total Environment*, 533, 40-48.
- Fernández, R., Smits, G., & Pinto, M. (2010). Características e importancia de los hifomicetos acuáticos y registro de especies en Venezuela. *Revista Faraute de Ciencia y Tecnología*, 5, 1-15.
- Fernández, R., Vincenzo, S., & Briedis, G. S. (2017). Evaluación de los hifomicetos acuáticos como bioindicadores de calidad ambiental en el río Chirgua (Bejuma, Venezuela). *Gestión y Ambiente*, 20(1), 82-94.

- Ferreira, V., & Chauvet, E. (2011). Synergistic effects of water temperature and dissolved nutrients on litter decomposition and associated fungi. *Global Change Biology*, 17(1), 551-564.
- Ferreira, V., Boyero, L., Calvo, C., Correa, F., Figueroa, R., Gonçalves, J. F., ... & Teixeira-de-Mello, F. (2019). A global assessment of the effects of eucalyptus plantations on stream ecosystem functioning. *Ecosystems*, 22(3), 629-642.
- Ferreira, V., Elozegi, A., D. Tiegs, S., von Schiller, D., & Young, R. (2020). Organic matter decomposition and ecosystem metabolism as tools to assess the functional integrity of streams and rivers—a systematic review. *Water*, 12(12), 3523.
- Ferreira, V., Silva, J., Cornut, J., Sobral, O., Bachelet, Q., Bouquerel, J., & Danger, M. (2021). Organic-matter decomposition as a bioassessment tool of stream functioning: A comparison of eight decomposition-based indicators exposed to different environmental changes. *Environmental Pollution*, 290, 118111.
- Ferreiro, N. A., Giorgi, A., Leggieri, L., Feijoó, C., & Vilches, C. (2011). Phosphorus enrichment affects immobilization but not litter decomposition or exoenzymatic activities in a Pampean stream. *International Review of Hydrobiology*, 96(3), 209-220.
- Fiuza, P. O., PÉREZ, T. C., Gulis, V., & Gusmao, L. F. (2017). Ingoldian fungi of Brazil: some new records and a review including a checklist and a key. *Phytotaxa*, 306(3), 171-200.
- Flindt, M. R., & Lillebø, A. I. (2005). Determination of total nitrogen and phosphorus in leaf litter. In *Methods to study litter decomposition* (pp. 53-59). Springer, Dordrecht.
- Folmar, L. C., Sanders, H. O., & Julin, A. M. (1979). Toxicity of the herbicide glyphosate and several of its formulations to fish and aquatic invertebrates. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 8(3), 269-278.
- Franz, J. E., Sikorski, J. A., & Mao, M. K. (1997). *Glyphosate: a unique global herbicide*. American Chemical Society.
- Frossard, A., Gerull, L., Mutz, M., & Gessner, M. O. (2013). Litter supply as a driver of microbial activity and community structure on decomposing leaves: a test in experimental streams. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(16), 4965-4973.
- Garnett, H., Bärlocher, F., & Giberson, D. (2000). Aquatic hyphomycetes in Catamaran Brook: colonization dynamics, seasonal patterns, and logging effects. *Mycologia*, 92(1), 29-41.
- Gelis, M. M. N., Cochero, J., Donadelli, J., & Gómez, N. (2020). Exploring the use of nuclear alterations, motility and ecological guilds in epipellic diatoms as biomonitoring tools for water quality improvement in urban impacted lowland streams. *Ecological Indicators*, 110, 105951.
- GESSNER, M. O. (1991). Differences in processing dynamics of fresh and dried leaf litter in a stream ecosystem. *Freshwater Biology*, 26(3), 387-398.

- Gessner, M. O., & Chauvet, E., 2002. A case for using litter breakdown to assess functional stream integrity. *Ecological applications*, 12(2), 498-510.
- Gessner, M. O., Gulis, V., Kuehn, K. A., Chauvet, E., & Suberkropp, K. (2007). 17 fungal decomposers of plant litter in aquatic ecosystems. *CP Kubicek*, 512, 301-324.
- Giorgi, A., Feijoó, C. & Tell, G. 2005. Primary producers in a Pampean stream: temporal variation and structuring role. *Biodivers. Conserv.* 14: 1699-1718.
- Giorgi, A., Feijoó, C., Tell, G. (2005). Primary producers in a Pampean stream: Temporal variation and structuring role. *Biodiversity and Conservation*, 14(7), 1699–1718.
- Glyphosate- Accord, Rodeo, Roundup and Roundup pro. Risk Assesment. Final Report. USDA, Forest Service. Leslie Rubin,
- Goh, T. K., & Hyde, K. D. (1996). Biodiversity of freshwater fungi. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 17(5-6), 328-345.
- Goldsborough, L. G., & Brown, D. J. (1993). Dissipation of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in water and sediments of boreal forest ponds. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 12(7), 1139-1147.
- Gomes, P. P., Ferreira, V., Tonin, A. M., Medeiros, A. O., & Júnior, J. F. G. (2018). Combined effects of dissolved nutrients and oxygen on plant litter decomposition and associated fungal communities. *Microbial ecology*, 75, 854-862.
- Gómez N.; Rodriguez Capítulo A., Collautti D., Mariñelarena A., Licursi M., Cochero J., Armendariz L., Maroñas M., Donadelli J., Jensen R., Garcia de Souza J., Maiztegui T., García I., Sathiq M.B., Suarez J. Cortese B., 2016. La puesta en valor de los servicios ecosistemicos que ofrecen los arroyos de llanura pampeana como una medida de mitigación de las inundaciones: El caso de arroyo Del Gato en el partido de la plata. Libro *Ecología y manejo de ecosistemas acuáticos pampeanos*. Editores Alejandra. V. Volpedo Laura de Cabo Silvana Arreghini Alicia Fernández Cirelli. Páginas 39.
- Gómez, N., Siri, A., Capítulo, L. R., Colautti, D. C., Alcalde, L., Capítulo, A. R., ... & Catanzaro, L. N. S. R. (2022). Effects of urban demand for food and water on physicochemicals and biotic structure of riverine wetlands in the Pampean plain. *Ecohydrology & Hydrobiology*, 22(2), 355-369.
- Gorthi, S., Swetha, R. K., Chakraborty, S., Li, B., Weindorf, D. C., Dutta, S., & Majumdar, K. (2021). Soil organic matter prediction using smartphone-captured digital images: use of reflectance image and image perturbation. *Biosystems Engineering*, 209, 154-169.
- Graça, M. A. (2001). The role of invertebrates on leaf litter decomposition in streams— a review. *International Review of Hydrobiology: A Journal Covering all Aspects of Limnology and Marine Biology*, 86(4-5), 383-393.

- Graça, M. A., & Cressa, C. (2010). Leaf quality of some tropical and temperate tree species as food resource for stream shredders. *International Review of Hydrobiology*, 95(1), 27-41.
- Graça, M. A., Ferreira, V., Canhoto, C., Encalada, A. C., Guerrero-Bolaño, F., Wantzen, K. M., & Boyero, L. (2015). A conceptual model of litter breakdown in low order streams. *International Review of Hydrobiology*, 100(1), 1-12.
- Graça, M. A., Hyde, K., & Chauvet, E. (2016). Aquatic hyphomycetes and litter decomposition in tropical–subtropical low order streams. *Fungal Ecology*, 19, 182-189.
- Grace, J. B., & Wetzel, R. G. (1981). Effects of size and growth rate on vegetative reproduction in *Typha*. *Oecologia*, 50(2), 158-161.
- Grossart, 2011H. P. Leibniz Institute of Freshwater Ecology and Inland Fisheries. *Alte Fischerhuetten*, 2.
- Grossart, H. P., Van den Wyngaert, S., Kagami, M., Wurzbacher, C., Cunliffe, M., & Rojas-Jimenez, K. (2019). Fungi in aquatic ecosystems. *Nature Reviews Microbiology*, 17(6), 339-354.
- Grunewald, K., Schmidt, W., Unger, C., & Hanschmann, G. (2001). Behavior of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in soils and water of reservoir Radeburg II catchment (Saxony/Germany). *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 164(1), 65-70.
- Gulis, V., & Suberkropp, K. (2003). Interactions between stream fungi and bacteria associated with decomposing leaf litter at different levels of nutrient availability. *Aquatic Microbial Ecology*, 30(2), 149-157.
- Gulis, V., & Suberkropp, K. 2004. Effects of whole-stream nutrient enrichment on the concentration and abundance of aquatic hyphomycete conidia in transport. *Mycologia*, 96(1), 57-65.
- Gulis, V., & Suberkropp, K., 2003. Leaf litter decomposition and microbial activity in nutrient-enriched and unaltered reaches of a headwater stream. *Freshwater biology*, 48(1), 123-134.
- Gulis, V., Ferreira, V., & Graça, M. A. (2006). Stimulation of leaf litter decomposition and associated fungi and invertebrates by moderate eutrophication: implications for stream assessment. *Freshwater Biology*, 51(9), 1655-1669.
- Guyton, K. Z., Loomis, D., & Straif, K. (2017). Reply to “the critical role of pre-publication peer review—a case study of glyphosate” by FN Dost. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(8), 7850-7851.
- Heidarzadeh, M., Abdi, N., Varvani Farahani, J., Ahmadi, A., & Toranjzar, H. (2020). The effect of *Typha Latifolia* L. on heavy metals phytoremediation at the urban and industrial wastewater entrance to the Meighan wetland, Iran. *Journal of Applied Research in Water and Wastewater*, 7(2), 167-171.

Hendel, B., & Marxsen, J. (2020). Fluorometric Determination of the Activity of β -Glucosidase and Other Extracellular Hydrolytic Enzymes. In *Methods to Study Litter Decomposition* (pp. 411-418). Springer, Cham. Hendel, B., & Marxsen, J. (2020).

Hieber, M., & Gessner, M. O., 2002. Contribution of stream detritivores, fungi, and bacteria to leaf breakdown based on biomass estimates. *Ecology*, 83(4), 1026-1038.

Hodge, Angela., Robinson, David., Fitter, Alastair., 2000. Are microorganisms more effective than plants at competing for nitrogen? *Trends in plant science*, vol. 5, no 7, p. 304-308.

<https://plants.ifas.ufl.edu/plant-directory/typha-species/>

Hurtado, M. A., Giménez, J. E., Cabral, M. G., Silva, M. M. D., Martinez, O. R., Camilión, M. C., & Lucesoli, H. (2006). Análisis ambiental del partido de La Plata.

Hyde, K. D., Fryar, S., Tian, Q., Bahkali, A. H., & Xu, J. (2016). Lignicolous freshwater fungi along a north–south latitudinal gradient in the Asian/Australian region; can we predict the impact of global warming on biodiversity and function?. *Fungal ecology*, 19, 190-200.

Ingold, T. C. (1975). *An Illustrated Guide to Aquatic Hyphomycetes*. Freshwater Biological Association Scientific Publication, 30.

Iqbal, S. H., & Webster, J., 1973. The trapping of aquatic hyphomycete spores by air bubbles. *Transactions of the British Mycological Society*, 60(1), 37-IN2.

Ittner, L. D., Junghans, M., & Werner, I. (2018). Aquatic fungi: a disregarded trophic level in ecological risk assessment of organic fungicides. *Frontiers in Environmental Science*, 6, 105.

Jabiol, J., Bruder, A., Gessner, M. O., Makkonen, M., McKie, B. G., Peeters, E. T., ... & Chauvet, E. (2013). Diversity patterns of leaf-associated aquatic hyphomycetes along a broad latitudinal gradient. *Fungal Ecology*, 6(5), 439-448.

Jaques, N., & Pinto, P., 1997. Seasonal differences in the decomposition of *Typha angustifolia* leaves in a Mediterranean river. *Limnetica*, 13(2), 19-23.

Jonsson, M., Malmqvist, B., & Hoffsten, P. O., 2001. Leaf litter breakdown rates in boreal streams: does shredder species richness matter? *Freshwater Biology*, 46(2), 161-171.

Kadir, Y. R., & Muhammad, Y. (2021). Competitiveness-based development strategy for purun (*Typha latifolia*) craftsmen in Haur Gading sub-district, Amuntai, Hulu Sungai Utara district during COVID-19 pandemic period.

Kahle, M., Buerge, I. J., Hauser, A., Muller, M. D., & Poiger, T. (2008). Azole fungicides: occurrence and fate in wastewater and surface waters. *Environmental Science & Technology*, 42(19), 7193-7200.

- Kegley, S. E., Hill, B. R., Orme, S., & Choi, A. H. (2000). PAN pesticide database. Pesticide Action Network, North America.
- Kim, C., & Choi, H. K. (2011). Molecular systematics and character evolution of *Typha* (Typhaceae) inferred from nuclear and plastid DNA sequence data. *Taxon*, 60(5), 1417-1428.
- Krauss, G. J., Sole, M., Krauss, G., Schlosser, D., Wesenberg, D., & Baerlocher, F., 2011. Fungi in freshwaters: ecology, physiology and biochemical potential. *FEMS microbiology reviews*, 35(4), 620-651.
- Kravetz, S., Gonzalez, B., Marano, A., & Giorgi, A., 2018. The genus *Tetracladium* in Pampean streams (Buenos Aires, Argentina). *Phytotaxa*, 338(3), 276-284.
- Krzyśko-Łupicka, T., & Orlik, A. (1997). The use of glyphosate as the sole source of phosphorus or carbon for the selection of soil-borne fungal strains capable to degrade this herbicide. *Chemosphere*, 34(12), 2601-2605.
- Lahitte, H. B., Hurrell, J. A., Belgrano, M. L., Jankowski, L. S., Mehlreter, K., Haloua, M. P., & Canda, G., 1997. *Plantas de la Costa. Literature of Latin America*, Buenos Aires, Argentina.
- Lajmanovich, R. C., Sandoval, M. T., & Peltzer, P. (2003). Induction of mortality and malformation in *Scinax nasicus* tadpoles exposed by glyphosate formulations.
- Lapierre, J. F., & Frenette, J. J. (2009). Effects of macrophytes and terrestrial inputs on fluorescent dissolved organic matter in a large river system. *Aquatic Sciences*, 71(1), 15-24.
- Le Bauer, D. S. (2010). Litter degradation rate and β -glucosidase activity increase with fungal diversity. *Canadian Journal of Forest Research*, 40(6), 1076-1085.
- Lecerf, A., & Chauvet, E., 2008. Diversity and functions of leaf-decaying fungi in human-altered streams. *Freshwater Biology*, 53(8), 1658-1672.
- Lee, A. A., & Bukaveckas, P. A. 2002. Surface water nutrient concentrations and litter decomposition rates in wetlands impacted by agriculture and mining activities. *Aquatic Botany*, 74(4), 273-285.
- Li, J., Smeda, R. J., Sellers, B. A., & Johnson, W. G. (2005). Influence of formulation and glyphosate salt on absorption and translocation in three annual weeds. *Weed Science*, 53(2), 153-159.
- Licursi, M., Gómez, N. (2002). Benthic diatoms and some environmental conditions in three lowland streams. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*, 38(2), 109– 118. doi:10.1051/limn/2002009
- Lindquist, J. C., & Gamundi, I. (1970). *Hughesinia*, nuevo género de Hifomicetes (Demaciácea). *Bol Soc Argent Bot*, 13, 63-74.

- Liu, Y., Majdi, N., Tackx, M., Dauta, A., Gerino, M., Julien, F., & Buffan-Dubau, E. 2015. Short-term effects of nutrient enrichment on river biofilm: N–NO₃– uptake rate and response of meiofauna. *Hydrobiologia*, 744(1), 165-175.
- Lueangjaroenkit, P., Teerapatsakul, C., & Chitradon, L. (2018). Morphological characteristic regulation of ligninolytic enzyme produced by *Trametes polyzona*. *Mycobiology*, 46(4), 396-406.
- Mac Loughlin, T. M., Peluso, L., & Marino, D. J. (2017). Pesticide impact study in the peri-urban horticultural area of Gran La Plata, Argentina. *Science of the Total Environment*, 598, 572-580.
- Mac Loughlin, T. M., Peluso, M. L., & Marino, D. J. (2022). Multiple pesticides occurrence, fate, and environmental risk assessment in a small horticultural stream of Argentina. *Science of The Total Environment*, 802, 14989
- Mackereth, F. J. H., Heron, J., & Talling, J. F., 1978. *Water Analysis of Freshwater*. Biol. Ass. Publ, 36, 120.
- Maddison, M., Muring, T., Remm, K., Lesta, M., & Mander, Ü. (2009). Dynamics of *Typha latifolia* L. populations in treatment wetlands in Estonia. *Ecological Engineering*, 35(2), 258-264.
- Mahmood, I., Imadi, S. R., Shazadi, K., Gul, A., & Hakeem, K. R. (2016). Effects of pesticides on environment. In *Plant, soil and microbes* (pp. 253-269). Springer, Cham.
- Mallerman, J.; Itria, R.; Alarcón-Gutiérrez, E.; Hernández, C.; Levin, L.; Saparrat, M. C. N. 2018. "Exotic litter of the invasive plant *Ligustrum lucidum* alters enzymatic production and lignin degradation by selected saprotrophic fungi". *Canadian Journal of Forest Research* 48 (6): 709-720.
- Maltby, L., Forrow, D. M., Boxall, A. B., Calow, P., & Betton, C. I., 1995. The effects of motorway runoff on freshwater ecosystems: 1. Field study. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 14(6), 1079-1092.
- Manning, D. W., Ferreira, V., Gulis, V., & Rosemond, A. D. (2021). Pathways, mechanisms, and consequences of nutrient-stimulated plant litter decomposition in streams. *The ecology of plant litter decomposition in stream ecosystems*, 347-377.
- Marano, A. V., Pires-Zottarelli, C. L. A., Barrera, M. D., Steciow, M. M., & Gleason, F. H., 2011. Diversity, role in decomposition, and succession of zoosporic fungi and straminipiles on submerged decaying leaves in a woodland stream. *Hydrobiologia*, 659(1), 93-109.
- Marano, A.V.; Saparrat, M.C.N.; Steciow, M.M.; Cabello, M.N.; Gleason, F.H.; Pires-Zottarelli, C.L.A.; de Souza, J.I.; Barrera M.D. 2013. Comparative analysis of leaf-litter decomposition from the native *Pouteria salicifolia* and the exotic invasive *Ligustrum lucidum* in a lowland stream (Buenos Aires, Argentina). *Fundamental and Applied Limnology* 183/4: 297-307.

- Mauring, T. (2003). The use of reed and cattail produced in constructed wetlands as building material. *Constructed and Riverine Wetlands for Optimal Control of Wastewater at Catchment Scale*. Publicaciones Instituti Geographici Universitatis Tartuensis, 94, 286-288.
- Medeiros, A. O., Pascoal, C., & Graça, M. A. S. (2009). Diversity and activity of aquatic fungi under low oxygen conditions. *Freshwater Biology*, 54(1), 142-149.
- Meyer JL, Likens GE (1979) Transport and transformation of phosphorus in a forest stream ecosystem. *Ecology* 60:1255–1269
- Miersch, J., Bärlocher, F., & Bruns, I. (1997). Effects of cadmium, copper, and zinc on growth and thiol content of aquatic hyphomycetes. *Hydrobiologia*, 346(1), 77-84.
- Morrone, J. J. (2001). *Biogeografía de América latina y el Caribe*.
- Mugni, H., Paracampo, A., Solis, M., Fanelli, S., & Bonetto, C. (2014). Acute toxicity of roundup to the nontarget organism *Hyalella curvispina*. Laboratory and field study. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 96(7), 1054-1063.
- Musara, C., & Aladejana, E. B. (2020). *Typha capensis* (Rohrb.) NE Br.(Typhaceae): morphology, medicinal uses, biological and chemical properties. *Plant Science Today*, 7(4), 578-583.
- Noel, L., Bärlocher, F., Culp, J. M., & Seena, S. 2016. Nutrient enrichment and flow regulation impair structure and function of a large river as revealed by aquatic hyphomycete species richness, biomass, and decomposition rates. *Freshwater Science*, 35(4), 1148-1163.
- Nyström, J. (2018). The OSPAR list of chemicals for priority action: Suggestions for future actions.
- Obanda, D. N., & Shupe, T. F. (2009). Biotransformation of tebuconazole by microorganisms: evidence of a common mechanism. *Wood and fiber science*, 157-167.
- Ostrofsky, M. L. (1997). Relationship between chemical characteristics of autumn-shed leaves and aquatic processing rates. *Journal of the North American Benthological Society*, 16(4), 750-759.
- Pascoal C, Cássio F (2004) Contribution of fungi and bacteria to leaf litter decomposition in a polluted river. *Appl Environ Microbiol* 70:5266–5273
- Pascoal, C., Cássio, F., & Marvanová, L., 2005. Anthropogenic stress may affect aquatic hyphomycete diversity more than leaf decomposition in a low-order stream. *Archiv für Hydrobiologie*, 162(4), 481-496.
- Pengue, W., (2000). *Cultivos Transgénicos ¿Hacia Dónde Vamos?* Lugar Editorial S. A,
- Pérez García, G. P., & Galarza Guzmán, A. J. (2019). Diseño de humedales artificiales para fitorremediación de plomo y cromo con *typha latifolia* en el lago Yahuarcocha-Imbabura (Bachelor's thesis).

- Pérez, D. J., Iturburu, F. G., Calderon, G., Oyesqui, L. A., De Gerónimo, E., & Aparicio, V. C. (2021). Ecological risk assessment of current-use pesticides and biocides in soils, sediments and surface water of a mixed land-use basin of the Pampas region, Argentina. *Chemosphere*, 263, 128061.
- Pérez, D. J., Okada, E., De Gerónimo, E., Menone, M. L., Aparicio, V. C., & Costa, J. L. (2017). Spatial and temporal trends and flow dynamics of glyphosate and other pesticides within an agricultural watershed in Argentina. *Environmental toxicology and chemistry*, 36(12), 3206-3216.
- Pérez, G. L., Vera, M. S., & Miranda, L. A. (2011). Effects of herbicide glyphosate and glyphosate-based formulations on aquatic ecosystems. *Herbicides and environment*, 16, 343-368
- Permann, C., Herburger, K., Felhofer, M., Gierlinger, N., Lewis, L. A., & Holzinger, A. (2021). Induction of conjugation and zygospore cell wall characteristics in the alpine *Spirogyra mirabilis* (Zygnematophyceae, Charophyta): Advantage under climate change scenarios?. *Plants*, 10(8), 1740.
- Peruzzo, P. J., Porta, A. A., & Ronco, A. E. (2008). Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. *Environmental pollution*, 156(1), 61-66.
- Pesce, S., Zoghalmi, O., Margoum, C., Artigas, J., Chaumot, A., & Foulquier, A. (2016). Combined effects of drought and the fungicide tebuconazole on aquatic leaf litter decomposition. *Aquatic Toxicology*, 173, 120-131.
- Petersen, R. C., & Cummins, K. W. (1974). Leaf processing in a woodland stream. *Freshwater*
- Pimentão, A. R., Pascoal, C., Castro, B. B., & Cássio, F. (2020). Fungistatic effect of agrochemical and pharmaceutical fungicides on non-target aquatic decomposers does not translate into decreased fungi-or invertebrate-mediated decomposition. *Science of the Total Environment*, 712, 135676.
- Poi de Neiff, A., Neiff, J. J., & Casco, S. L. (2006). Leaf litter decomposition in three wetland types of the Paraná River floodplain. *Wetlands*, 26(2), 558-566.
- Poulsen, R., Luong, X., Hansen, M., Styris, B., & Hayes, T. (2015). Tebuconazole disrupts steroidogenesis in *Xenopus laevis*. *Aquatic Toxicology*, 168, 28-37.
- Pozo, J., Elosegí, A., Díez, J., & Molinero, J. (2009). Dinámica y relevancia de la materia orgánica. Elosegí, A; Sabater, S. *Conceptos y técnicas en ecología fluvial*. Bilbao, ES, Fundación BBVA.
- Primost, J. E., Marino, D. J., Aparicio, V. C., Costa, J. L., & Carriquiriborde, P. (2017). Glyphosate and AMPA, "pseudo-persistent" pollutants under real-world agricultural management practices in the Mesopotamic Pampas agroecosystem, Argentina. *Environmental Pollution*, 229, 771-779.

- Primost, S. (2008). Applying Security within a Service-Oriented Architecture. *Information Security Journal: A Global Perspective*, 17(1), 26-32.
- Pu, Gaozhong, et al., "Contribution of ambient atmospheric exposure to *Typha angustifolia* litter decomposition in aquatic environment." *Ecological engineering* 67 (2014): 144-149.
- Rabiet, M., Margoum, C., Gouy, V., Carluet, N., & Coquery, M. (2010). Assessing pesticide concentrations and fluxes in the stream of a small vineyard catchment—effect of sampling frequency. *Environmental Pollution*, 158(3), 737-748.
- Ramírez, J. A., & Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Labor*, 4(2), 67-75.
- Rasmussen, J. J., Wiberg-Larsen, P., Baattrup-Pedersen, A., Monberg, R. J., & Kronvang, B. (2012). Impacts of pesticides and natural stressors on leaf litter decomposition in agricultural streams. *Science of the Total Environment*, 416, 148-155.
- Rebaque, D., Martínez-Rubio, R., Fornalé, S., García-Angulo, P., Alonso-Simón, A., Álvarez, J. M., ... & Encina, A. (2017). Characterization of structural cell wall polysaccharides in cattail (*Typha latifolia*): evaluation as potential biofuel feedstock. *Carbohydrate polymers*, 175, 679-688.
- Reinert, K. H., & Rodgers, J. H. (1987). Fate and persistence of aquatic herbicides. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 61-98.
- Reis, R. E., Albert, J. S., Di Dario, F., Mincarone, M. M., Petry, P., & Rocha, L. A. (2016). Fish biodiversity and conservation in South America. *Journal of fish biology*, 89(1), 12-47.
- Ringuelet, R.A. 1962. *Ecología acuática continental*. Manuales de EUDEBA. Ciencias naturales. 166pp.
- Rizal, S., Thalib, S., & Huzni, S. (2018, May). Hemicellulose and lignin removal on typha fiber by alkali treatment. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 352, No. 1, p. 012019). IOP Publishing.
- Rodríguez Capítulo, L. R., Kruse, E., & Gómez, N. (2020). Los bañados de desborde fluvial: una mirada desde la geohidrología. *Biología Acuática*, (35), 011-011.
- Roldán, A., Descals, E., & Honrubia, M., 1988. Hifomicetos acuáticos de Sierra Nevada y Sierra de los Filabres.
- Romaní Cornet, A. M., Artigas Alejo, J., Camacho, A., Graça, M. A., & Pascoal, C., 2009. La biota de los ríos: los microorganismos heterotróficos. © *Conceptos y técnicas en ecología fluvial*, 2009. Editors: Arturo Elosegui Sergi Sabater, capítulo 11, p. 169-218.
- Romero Moreyra, R. (2021). Actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto etanólico de las hojas de *Typha Domingensis* Persoon "Totora" a nivel preclínico.

- Ronco, A. E., Marino, D. J. G., Abelando, M., Almada, P., & Apartin, C. D. (2016). Water quality of the main tributaries of the Paraná Basin: glyphosate and AMPA in surface water and bottom sediments. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(8), 1-13.
- Ronco, A., Camilión, C., & Manassero, M. (2007). Metal occurrence and textural-compositional properties in bottom sediments from right margin tributaries of the lower del Plata basin. *Latin American journal of sedimentology and basin analysis*, 14(1), 43-51.
- Rossi, F., Mallet, C., Portelli, C., Donnadieu, F., Bonnemoy, F., & Artigas, J. (2019). Stimulation or inhibition: Leaf microbial decomposition in streams subjected to complex chemical contamination. *Science of the total environment*, 648, 1371-1383.
- Salbego, J., Pretto, A., Gioda, C. R., de Menezes, C. C., Lazzari, R., Radünz Neto, J., ... & Loro, V. L. (2010). Herbicide formulation with glyphosate affects growth, acetylcholinesterase activity, and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58(3), 740-745.
- Sale, P. J. M., & Wetzel, R. G. (1983). Growth and metabolism of *Typha* species in relation to cutting treatments. *Aquatic botany*, 15(4), 321-334.
- Sani, A., & Idris, M. K. (2016). Acute toxicity of herbicide (glyphosate) in *Clarias gariepinus* juveniles. *Toxicology reports*, 3, 513-515.
- Saparrat, M. C. N., Rocca, M., Aulicino, M., Arambarri, A. M., & Balatti, P. A. (2008). *Celtis tala* and *Scutia buxifolia* leaf litter decomposition by selected fungi in relation to their physical and chemical properties and lignocellulolytic enzyme activity. *European Journal of Soil Biology*, 44(4), 400-407.
- Sarandon, S. J. (2013). Análisis del uso de agroquímicos asociado a las actividades agropecuarias de la Provincia de Buenos Aires.
- Sarandón, SJ, CC Flores, E Abbona, MJ Iermanó, ML Blandi, M Oyhamburu (2015). Uso de agroquímicos en la Provincia de Buenos Aires, Argentina: las consecuencias de un modelo
- Sati, S. C., & Belwal, M. (2005). Aquatic hyphomycetes as endophytes of riparian plant roots. *Mycologia*, 97(1), 45-49.
- Schindler, M. H., & Gessner, M. O. (2009). Functional leaf traits and biodiversity effects on litter decomposition in a stream. *Ecology*, 90(6), 1641-1649.
- Schoenlein-Crusius, I. H., & Grandi, R. A. P. (2003). The diversity of aquatic hyphomycetes in South America. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34, 183-193.
- Schoenlein-Crusius, I. H., Moreira, C. G., & Malosso, E. (2015). Aquatic Hyphomycetes from leaf litter in Brazilian urban waters. *Fungi from Different Substrates*. CRC Press, USA, 75-96.

- Seena, S., Bärlocher, F., Sobral, O., Gessner, M. O., Dudgeon, D., McKie, B. G., ... & Graça, M. A. (2019). Biodiversity of leaf litter fungi in streams along a latitudinal gradient. *Science of the Total Environment*, 661, 306-315.
- Seifert, K. A., & Gams, W. (2011). The genera of Hyphomycetes—2011 update. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 27(1), 119-129.
- Shannon, C. E., & Weaver, W. (1949). *The mathematical theory of communication* (Urbana, IL).
- Sigee, D. C. (2005). *Freshwater microbiology: biodiversity and dynamic interactions of microorganisms in the aquatic environment*. John Wiley & Sons.
- Smith, T., & Robert, S. (2007). *Ecología* (Sexta edición ed.). Valencia, España.
- Solé, M., Fetzer, I., Wennrich, R., Sridhar, K. R., Harms, H., & Krauss, G. (2008). Aquatic hyphomycete communities as potential bioindicators for assessing anthropogenic stress. *Science of the total environment*, 389(2-3), 557-565.
- Sridhar, K. R., & Bärlocher, F. (2011). Reproduction of aquatic hyphomycetes at low concentrations of Ca²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, and Cd²⁺. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(12), 2868-2873.
- Sridhar, K. R., Bärlocher, F., Krauss, G. J., & Krauss, G. (2005). Response of aquatic hyphomycete communities to changes in heavy metal exposure. *International Review of Hydrobiology: A Journal Covering all Aspects of Limnology and Marine Biology*, 90(1), 21-32.
- Sridhar, K. R., Duarte, S., Cássio, F., & Pascoal, C., 2009. The role of early fungal colonizers in leaf-litter decomposition in Portuguese streams impacted by agricultural runoff. *International Review of Hydrobiology*, 94(4), 399-409.
- Sridhar, K. R., Krauss, G., Bärlocher, F., Wennrich, R., & Krauss, G. J. (2000). Fungal diversity in heavy metal polluted waters in central Germany. *Fungal Divers*, 5(119), e129.
- Suberkropp, K., 1984. Effect of temperature on seasonal occurrence of aquatic hyphomycetes. *Transactions of the British Mycological Society*, 82(1), 53-62.
- Suberkropp, K., 1991. Relationships between growth and sporulation of aquatic hyphomycetes on decomposing leaf litter. *Mycological Research*, 95(7), 843-850.
- Suberkropp, K., 1997. Annual production of leaf-decaying fungi in a woodland stream. *Freshwater biology*, 38(1), 169-178.
- Suberkropp, K., Godshalk, G. L., & Klug, M. J. (1976). Changes in the chemical composition of leaves during processing in a woodland stream. *Ecology*, 57(4), 720-727.
- tropical streams. *Freshwater Sciences* 31, 945–962.
- Subsecretaria de Recursos Hídricos de la Nación (2003). *Desarrollo de Niveles Guía Nacionales de Calidad de Agua correspondiente a Glifosato*.

- Tarda, A. S., Saparrat, M. C. N., & Gómez, N. (2019). Assemblage of dematiaceous and Ingoldian fungi associated with leaf litter of decomposing *Typha latifolia* L. (Typhaceae) in riverine wetlands of the Pampean plain (Argentina) exposed to different water quality. *Journal of Environmental Management*, 250, 109409.
- Tarda, A. S., Saparrat, M. C., & Gomez, N. (2022). Studies on aquatic fungi in Dikarya: a review of the literature from Southern Cone of South America. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 94.
- Ter Braak, C. J., & Smilauer, P., 1998. CANOCO reference manual and user's guide to Canoco for Windows: software for canonical community ordination.
- Ter Braak, C. J., 1986. Canonical correspondence analysis: a new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology*, 67(5), 1167-1179.
- Tsui, C. K., Baschien, C., & Goh, T. K. (2016). Biology and ecology of freshwater fungi. In *Biology of microfungi* (pp. 285-313). Springer, Cham.
- Tsui, C. K., Hyde, K. D., & Hodgkiss, I. J. (2000). Biodiversity of fungi on submerged wood in Hong Kong streams. *Aquatic microbial ecology*, 21(3), 289-298.
- Tsui, C. K., Hyde, K. D., & Hodgkiss, I. J. (2001). Effects of glyphosate on freshwater fungi. *SYDOWIA-HORN-*, 53(1), 167-174.
- U.S. EPA (1992). Drinking Water Criteria Document for glyphosate. U.S. EPA, Office of Assistant Administrator.
- Valavanidis, A. (2018). Glyphosate, the most widely used herbicide. *Scientific Reviews*.
- Van Beverwijk, A. L. (1951). Zalewski's 'Clathrosphaera spirifera'. *Transactions of the British Mycological Society*, 34(3), 280-IN7.
- Van Bruggen, A. H., Finckh, M. R., He, M., Ritsema, C. J., Harkes, P., Knuth, D., & Geissen, V. (2021). Indirect effects of the herbicide glyphosate on plant, animal and human health through its effects on microbial communities. *Frontiers in Environmental Science*, 9.
- Van der Merwe, WJ and Jooste, W. J. (1988). A synecological study of aquatic Hyphomycetes in the Mooi river, western Transvaal. and their significance in the decomposition of allochthonous leaf litter. *South African Journal of Science*, 84(5), 314.
- Vera, M. S., Lagomarsino, L., Sylvester, M., Pérez, G. L., Rodríguez, P., Mugni, H., ... & Pizarro, H. (2010). New evidences of Roundup® (glyphosate formulation) impact on the periphyton community and the water quality of freshwater ecosystems. *Ecotoxicology*, 19(4), 710-721.
- Vera-Candioti, J., Araujo, P. I., Huerga, I. R., Rojas, D. E., Cristos, D. S., & Malmantile, A. D. (2021). Pesticides detected in surface and groundwater from agroecosystems in the

- Pampas region of Argentina: occurrence and ecological risk assessment. *Environmental Monitoring and Assessment*, 193(10), 1-20.
- Vilches, C., Giorgi, A., Mastrángelo, M., & Ferrari, L. (2011). Non-point contamination homogenizes the water quality of Pampean streams. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 87(2), 147-151.
- Voglmayr, H., & Delgado-Rodríguez, G. (2001). *Dendroclathra caeruleofusca* gen. nov. et sp. nov., an aeroaquatic hyphomycete from Cuba. *Canadian Journal of Botany*, 79(9), 995-1000.
- Wang, K. L., Wang, B., Hu, R., Zhao, X., Li, H., Zhou, G., ... & Wu, A. M. (2019). Characterization of hemicelluloses in *Phyllostachys edulis* (moso bamboo) culm during xylogenesis. *Carbohydrate polymers*, 221, 127-136.
- Wang, T., Zhong, M., Lu, M., Xu, D., Xue, Y., Huang, J., & Yu, G. (2021). Occurrence, spatiotemporal distribution, and risk assessment of current-use pesticides in surface water: A case study near Taihu Lake, China. *Science of the Total Environment*, 782, 146826.
- Wardle, D. A., & Parkinson, D. (1990). Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. *Plant and soil*, 122(1), 21-28.
- Washington, D.C. EPA/600/8-91/011B. En SERA TR 96-22-02-01c. (1996).
- Webster, J. (1959). Experiments with spores of aquatic hyphomycetes: I. Sedimentation, and impact on smooth surfaces. *Annals of Botany*, 23(4), 595-611.
- Webster, J. (1992). Anamorph-teleomorph relationships. In *The ecology of aquatic hyphomycetes* (pp. 99-117). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Wetzel, R. G., & Howe, M. J. (1999). High production in a herbaceous perennial plant achieved by continuous growth and synchronized population dynamics. *Aquatic Botany*, 64(2), 111-129.
- White, S. A., Conrad, S. R., Woodrow, R. L., Tucker, J. P., Wong, W. W., Cook, P. M., ... & Santos, I. R. (2020). Nutrient transport and sources in headwater streams surrounded by intensive horticulture. National Marine Science Centre, Southern Cross University: Coffs Harbour, Australia.
- World Health Organization. (2020). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2019. World Health Organization. Zaller, J. G., Heigl, F., Ruess, L., & Grabmaier, A. (2014). Glyphosate herbicide affects belowground interactions between earthworms and symbiotic mycorrhizal fungi in a model ecosystem. *Scientific reports*, 4(1), 1-8.
- Yule, C. M., Gan, J. Y., Jinggut, T., & Lee, K. V. (2015). Urbanization affects food webs and leaf-litter decomposition in a tropical stream in Malaysia. *Freshwater Science*, 34(2), 702-715.

Zang X, Liu M, Fan Y, Xu J, Xu X, Li H. The structural and functional contributions of β -glucosidase-producing microbial communities to cellulose degradation in composting. *Biotechnol Biofuels*. 2018 Feb 27;11:51. doi: 10.1186/s13068-018-1045-8. PMID: 29492106; PMCID: PMC5828080.

Zanotti, C. A., & Gomez, N. (2020). Plantas vasculares que habitan los bañados de desborde fluvial del área periurbana de la ciudad de La Plata. *Biología Acuática*.

Zhang, Y., Guo, L. D., & Liu, R. J., 2004. Survey of arbuscular mycorrhizal fungi in deforested and natural forest land in the subtropical region of Dujiangyan, southwest China. *Plant and Soil*, 261(1-2), 257-263.

Zhou, B., Tu, T., Kong, F., Wen, J., & Xu, X. (2018). Revised phylogeny and historical biogeography of the cosmopolitan aquatic plant genus *Typha* (Typhaceae). *Scientific reports*, 8(1), 1-7.

Zhou, H. C., Tam, N. F. Y., Lin, Y. M., Wei, S. D., & Li, Y. Y. (2012). Changes of condensed tannins during decomposition of leaves of *Kandelia obovata* in a subtropical mangrove swamp in China. *Soil Biology and Biochemistry*, 44(1), 113-121.

Zubrod, J. P., Feckler, A., Englert, D., Koksharova, N., Rosenfeldt, R. R., Seitz, F., & Bundschuh, M. (2015). Inorganic fungicides as routinely applied in organic and conventional agriculture can increase palatability but reduce microbial decomposition of leaf litter. *Journal of Applied Ecology*, 52(2), 310-322.

7. Anexos

Anexo I

Tabla I. Publicaciones reportadas para el Cono Sur de América del Sur

Publicaciones	N°
Lindquist, J. C. (1970). Hughesinia, nuevo género de hifomicetes (Demaciácea). <i>Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica</i> , 13, 53.	1
Gamundí, I. J., Arambarri, A. M., & Giaiotti, A., 1978. Micoflora de la hojarasca de Nothofagus dombeyi. <i>Darwiniana</i> , 81-114.	2
Gamundi, I. J., Arambarri, A. M., & Bucsinzky, A. M., 1979. Micoflora de la hojarasca de Nothofagus dombeyi, II. <i>Darwiniana</i> , 189-216.	3
Burgos, J. E., & Riffart, R. G., 1982. Hongos saprobios en Chile: ambiente limnico. <i>Noticiario Mensual del Museo Nacional de Historia Natural, Chile</i> , 306-307.	4
Burgos E., J. y C.A. Shearer, 1983. "Hyphomycetes Acuáticos en Magallanes (Chile)"	5
Piontelli, E., Toro, M. A., & Manríquez, J., 1983. Hyphomycetes Acuáticos en Chile: estudio en el Estero de Limache; un afluente del Río Aconcagua. <i>Boletín Micológico</i> , 1(2).	6
Arambarri, A. M., & Spinedi, H. A., 1984. Micoflora de la hojarasca de Nothofagus pumilio. III. <i>Darwiniana</i> , 321-330.	7
Godeas, A. M. 1985. Hifomicetes (Deuteromycotina) acuáticos de Tierra del Fuego I. <i>Physis</i> , 43, 7-9.	8
Burgos, E., 1986. Aquatic Hyphomycetes as Indicators of Contamination (Hyphomycetes Acuáticos como Indicadores de Contaminación). <i>Biota</i> , 2.	9
Arambarri, A., Cabello, M., & Mengascini, A., 1987. New hyphomycetes from Santiago River (Buenos Aires Province, Argentina). <i>Mycotaxon</i> , 29, 29-35.	10
Arambarri, A., Cabello, M., & Mengascini, A., 1987. Estudio sistemático de los Hyphomycetes del Río Santiago (prov. Buenos Aires, Argentina). <i>Darwiniana</i> , 293-301.	11
Arambarri, A., Cabello, M., & Mengascini, A. 1987. Estudio sistematico de los Hyphomycetes del Río Santiago (prov. Buenos Aires, Argentina). <i>Darwiniana</i> , 293-301.	12
Arambarri, A., Cabello, M., & Mengascini, A., 1987. New hyphomycetes from Santiago River. II (Buenos Aires Province, Argentina). <i>Mycotaxon</i> , 30, 263-267	13
Burgos, J., & Shearer, C. A., 1987. Hifomicetes acuáticos en un gradiente bioclimático en Chile. <i>Boletín Micológico</i> , 3(2).	14
Arambarri, A., Cabello, M., & Mengascini, A., 1989. Estudio sistemático de los Hyphomycetes del río Santiago. III. (Buenos Aires, Argentina). <i>Boletín de la Sociedad Argentina Botánica</i> , 26, 1-6.	15
Cabello, M., Cazau, C., & Arambarri, A., 1990. New Hyphomycetes from Santiago River. III:(Buenos Aires Province, Argentina). <i>Mycotaxon</i> , 38, 15-19.	16
Cazau, C., Arambarri, A., & Cabello, M., 1990. New hyphomycetes from Santiago River. IV, (Buenos Aires Province, Argentina). <i>Mycotaxon</i> , 38, 21-25	17
Arambarri, A & M. Cabello., 1990. Estudio sistemático de los Hyphomycetes del río Santiago. IV. (Provincia de Buenos Aires, Argentina) <i>Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica</i> . 26 (3-4): 143-14	18
Arambarri, Cabello & Cazau. 1991. Estudio sistemático de los Hyphomycetes del río Santiago. V. (Buenos Aires, Argentina). <i>Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica</i> 27 (1-2): 1-5	19
Godeas, A. M., & Arambarri, A. M., 1992. Additions to the aquatic Hyphomycetes of Tierra del Fuego Argentina. <i>Mycotaxon</i> , 43, 157-161.	20
Arambarri, A., Cabello, M., & Cazau, C., 1992. A new Hyphomycete from Santiago River V. <i>Bloxamia cremaea</i> . <i>Mycotaxon</i> , 43, 327-330.	21

Publicaciones	N°
Arambarri, A., Cabello, M., & Cazau, C., 1992. Hyphomycetes del Río Santiago: su presencia en un hábitat con alto grado de contaminación. <i>Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica</i> 28(1-4):55-59	22
Godeas, A. M. & A. M. Arambarri., 1993. Fungi, Fungi Imperfecti, Hyphomycetales, Hifomicetes acuáticos. En: Guarrera, S. A., I. J. Gamundí de Amos & C. M. Matteri (eds.), <i>Flora Criptogámica de Tierra del Fuego</i> Tomo XII, fasc. 2, 60 pp. CONICET, Buenos Aires.	23
Cazau, M. C., Arambarri, A. M., & Cabello, M. N., 1993. New hyphomycetes from Santiago River. VI (Buenos Aires province, Argentina). <i>Mycotaxon</i> , 46, 235-240.	24
Cabello, M.; Cazau, C. & Arambarri, A., 1993. Estudio sistemático de los Hyphomycetes del Río Santiago. VI. (Buenos Aires, Argentina). <i>Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica</i> 29: 11-14	25
Arambarri, A. M., & Cabello, M. N., 1995. <i>Menispora gamundiae</i> sp. nov., a new Hyphomycete from Argentina (Buenos Aires province). <i>Mycological research</i> , 99(3), 377-378	26
Godeas, A. M., & Arambarri, A. M., 1996. <i>Helicoon septatissimum</i> sp. nov., a new species from Tierra del Fuego (Argentina). <i>Mycotaxon</i> , 60, 481-484M.	27
Arambarri, A. M., Cabello, M. N., & Cazau, M. C., 1997. <i>Gyrothrix flagelliramosa</i> sp. nov., a new hyphomycete from Argentina. <i>Mycological research</i> , 101(12), 1529-1530.	28
Cabello, M., Arambarri, A., & Cazau, M. C., 1998. <i>Minimidochium parvum</i> , a new species of hyphomycete from Argentina. <i>Mycological Research</i> , 102(3), 383-384.	29
Valenzuela, E., Santibañez, C., Leiva, S., & García, H., 2001. Hongos Aislados desde sedimentos del lago Riñihue y afluentes, X región (Chile). <i>Boletín Micológico</i> , 16.	30
Arambarri, A. M., Cabello, M. N., & Cazau, M. C., 2001. <i>Dictyosporium triramosum</i> , a new hyphomycete from Argentina. <i>Mycotaxon</i> , 78, 185-189.	31
Godeas, A. M., & Arambarri, A. M., 2007. Hifomicetes lignícolas de Tierra del Fuego (Fungi, Fungi Imperfecti, Hyphomycetales). <i>Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica</i> , 42(1-2), 59-69.	32
Albariño, R., Villanueva, V. D., & Canhoto, C., 2008. The effect of sunlight on leaf litter quality reduces growth of the shredder <i>Klapopteryx kuscheli</i> . <i>Freshwater Biology</i> , 53(9), 1881-1889.	33
Díaz Villanueva, V., Albariño, R., & Graça, M., 2010. Natural UVR does not affect decomposition by aquatic hyphomycetes. <i>International review of hydrobiology</i> , 95(1), 1-11	34
Marano, A. V., Pires-Zottarelli, C. L. A., Barrera, M. D., Steciow, M. M., & Gleason, F. H., 2011. Diversity, role in decomposition, and succession of zoosporic fungi and straminipiles on submerged decaying leaves in a woodland stream. <i>Hydrobiologia</i> , 659(1), 93-109.	35
Villanueva, V. D., Albarino, R., & Canhoto, C., 2012. Positive effect of shredders on microbial biomass and decomposition in stream microcosms. <i>Freshwater Biology</i> , 57(12), 2504-2513.	36
Kravetz, S., Gonzalez, B., Marano, A., & Giorgi, A., 2018. The genus <i>Tetracladium</i> in Pampean streams (Buenos Aires, Argentina). <i>Phytotaxa</i> , 338(3), 276-284	37
Tarda, A. S., Saparrat, M. C. N., & Gómez, N., 2019. Assemblage of dematiaceous and Ingoldian fungi associated with leaf litter of decomposing <i>Typha latifolia</i> L. (Typhaceae) in riverine wetlands of the Pampean plain (Argentina) exposed to different water quality. <i>Journal of environmental management</i> , 250, 109409.	38

Anexo II

Tabla I. Sistemática, material de herbario, cultivo y biogeografía de los taxos reportados para el Cono Sur de Sudamérica. Referencias: Ascomycota (a), Basidiomycota (b), Herbario del Instituto Spegazzini (c), no detectado (d), Material tipo (e), Portaobjetos (f), Colección de Hongos de Buenos Aires (g), Universidad Nacional de Luján (h) e Instituto Spegazzini Ceparium (i). Provincias biogeográficas: Pampa (P), Bosque Valdiviano (BV), Bosque Magallánico (BM), Santiago (S) y Atacama (A).

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A	
Agaricomycetes ^b	Polyporales	Meruliaceae	<i>Aegerita candida</i> Pers.	LPS ^c 45397-45398-45399-45401-45403				X			
	Incertae sedis		<i>Fibulotaeniella</i> sp.	n/d ^d		X					
				<i>Tricladomyces geniculatus</i> Nawawi & Kuthub.	LPS 44955				X		
Microbotryomycetes ^b	Sporidiobolales	Sporidiobolaceae	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> var. <i>mucilaginosa</i> (A. Jörg.) F.C. Harrison	n/d					X		
Tremellomycetes ^b	Cystofilobasidiales	Mrakiaceae	<i>Tausonia pullulans</i> (Lindner) Xin Zhan Liu	n/d			X				
	Tremellales	Incertae sedis	<i>Papiliotrema laurentii</i> (Kuff.) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boek hout	n/d					X		
			<i>Papiliotrema pseudoalba</i> (Nakase & M. Suzuki) Xin Zhan Liu	n/d			X				
Sordariomycetes ^a	Hypocreales	Hypocreaceae	<i>Trichoderma hamatum</i> (Bonord.) Bainier	n/d			X				
			<i>Trichoderma polysporum</i> (Link) Rifai	n/d			X				
			<i>Trichoderma</i> sp.	n/d		X	X		X		
			<i>Trichoderma viride</i> Pers.	n/d			X				
			<i>Gliocladium</i> spp.	n/d						X	
	Nectriaceae			<i>Nectria curta</i> J. Webster	n/d				X		
				<i>Flagellospora curvula</i> Ingold	LPS 44971-45002-45004-45007			X	X	X	
				<i>Aquanectria penicillioides</i> (Ingold) L. Lombard & Crous	n/d			X		X	
				<i>Flagellospora</i> sp.	n/d			X	X	X	
				<i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl.	n/d		X	X			

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
			<i>Fusarium</i> sp.	n/d		X	X		X	
			<i>Gliocephalotrichum bulbilium</i> J.J. Ellis & Hesselt	n/d	LPSC ⁱ 218	X				
			<i>Heliscus lugdunensis</i> Sacc. & Therry	LPS 44997			X	X	X	
			<i>Volutella ciliata</i> (Alb. & Schwein.) Fr.	n/d		X				
			<i>Aquanectria submersa</i> (H.J. Huds.) L. Lombard & Crous	n/d		X	X	X		
			<i>Bacillispora aquatica</i> Sv. Nilsson	n/d			X		X	
			<i>Cylindrocarpon</i> sp.	n/d		X				
			<i>Cylindrocladium</i> sp.	n/d		X				
	Bionectriaceae		<i>Clonostachys compactiuscula</i> (Sacc.) D. Hawksw. & W. Gams	n/d	LPSC 217	X				
			<i>Clonostachys</i> sp.	n/d		X				
	Stachybotryaceae		<i>Myrothecium verrucaria</i> (Alb. & Schwein.) Ditmar	n/d		X				
			<i>Paramyrothecium roridum</i> (Tode) L. Lombard & Crous	n/d			X			
	Ophiocordycipitaceae		<i>Chaunopycnis alba</i> W. Gams	n/d			X			
	Incertae sedis		<i>Acremonium biseptum</i> W. Gams	n/d			X			
			<i>Acremonium</i> spp.	n/d			X		X	
			<i>Acremonium tubakii</i> W. Gams	n/d			X			
			<i>Ilyonectria destructans</i> (Zinssm.) Rossman, L. Lombard & Crous	n/d			X			
			<i>Dendrosporium lobatum</i> Plakidas & Edgerton ex J.L. Crane	LPS 44235		X				

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
	Cordanales	Cordanaceae	<i>Cordana</i> sp.	n/d		X				
	Xylariales	Beltraniaceae	<i>Beltrania rhombica</i> Penz	LPS 44602	LPSC 3	X				
			<i>Beltrania</i> sp.	n/d		X				
			<i>Beltraniella</i> sp.	n/d		X				
			<i>Pseudobeltrania</i> sp.	n/d		X				
		Apiosporaceae	<i>Arthrinium phaeospermum</i> (Corda) M.B. Ellis	n/d			X			
			<i>Arthrinium</i> sp.	n/d		X				
	Microascales	Microascaceae	<i>Cephalotrichum stemonitis</i> (Pers.) Nees	n/d		X				
			<i>Doratomyces</i> spp.	n/d					X	
			<i>Scopulariopsis</i> sp.	n/d			X			
			<i>Pithoascus langeronii</i> Arx	n/d			X			
		Halosphaeriaceae	<i>Clavatospora longibrachiata</i> (Ingold) Sv. Nilsson ex Marvanová & Sv. Nilsson	LPS 44965-44972-44983			X	X	X	X
			<i>Clavatospora tentacula</i> Sv. Nilsson	n/d			X		X	
			<i>Clavatospora</i> sp.	n/d		X				
			<i>Sigmoidea</i> sp.	n/d		X				
	Trichosphaeriales	Trichosphaeriaceae	<i>Brachysporium britannicum</i> S. Hughes	n/d		X				
			<i>Brachysporium dingleyae</i> S. Hughes	n/d		X				
			<i>Brachysporium obovatum</i> (Berk.) Sacc.	n/d		X				
			<i>Brachysporium</i> sp.	n/d		X				
		Helminthosphaeriaceae	<i>Ceratosporium fuscescens</i> Schwein	LPS 44989				X		

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
			<i>Diplococcium</i> sp.	n/d		X				
			<i>Endophragmiella biseptata</i> (Peck) S. Hughes	n/d		X				
			<i>Endophragmiella boewei</i> (J.L. Crane) S. Hughes	LPS 44548		X				
			<i>Endophragmiella boothii</i> (M.B. Ellis) S. Hughes	n/d		X				
			<i>Endophragmiella cambrensis</i> M.B. Ellis	n/d		X				
			<i>Endophragmiella globulosa</i> (B. Sutton) S. Hughes	n/d		X				
			<i>Endophragmiella oblonga</i> (Matsushima) Hughes	LPS 44117		X				
	Chaetosphaeriales	Chaetosphaeriaceae	<i>Dictyochaeta assamica</i> (Agnihothr.) Aramb. Cabello & Mengasc.	LPS 44116		X				
			<i>Dictyochaeta gamundii</i> Aramb. & Cabello	LPS 44133 Tm ^e		X				
			<i>Dictyochaeta</i> sp.	n/d		X				
			<i>Dictyochaeta triseptata</i> (Matsush.) R.F. Castañeda	LPS 44547		X				
			<i>Menispora gamundiae</i> Aramb. & Cabello	LPS 45248 Tm		X				
			<i>Menisporopsis pirozynskii</i> Varghese & V.G. Rao	LPS 45020-45023		X				
			<i>Sporoschisma hemipsilum</i> (Berk. & Broome) Zelski	LPS 44551		X				
	Glomerellales	Reticulascaceae	<i>Cylindrotrichum clavatum</i> W. Gams & Hol.-Jech.	LPS 44337		X				
			<i>Cylindrotrichum ellisii</i> Morgan-Jones	LPS 44115		X				
			<i>Cylindrotrichum hennebertii</i> W. Gams & Hol.-Jech	LPS 45422				X		

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
			<i>Cylindrotrichum menisporioides</i> Cabello & Aramb	LPS 44605 Tm		X				
		Plectosphaerellaceae	<i>Verticillium</i> spp.	n/d					X	
	Sordariales	Chaetomiaceae	<i>Chaetomium globosum</i> Kunze ex Fr.	n/d		X	X			
			<i>Humicola</i> sp.	n/d		X				
		Lasio-sphaeriaceae	<i>Mammaria echinobotryoides</i> Ces.	n/d			X			
		Incertae sedis	<i>Lunulospora curvula</i> Ingold	LPS 44977-45014			X	X	X	
			<i>Monotosporella tuberculata</i> Gönczöl	n/d			X			
	Amphisphaeriales	Sporocadaceae	<i>Truncatella angustata</i> (Pers.) S. Hughes	n/d			X			
			<i>Truncatella</i> sp.	n/d		X				
		Pestalotiopsidaceae	<i>Pestalotiopsis guepinii</i> (Desm.) Steyaert	n/d		X				
	Sporidesmiales	Sporidesmiaceae	<i>Sporidesmium adscendens</i> Berk.	LPS 45021		X				
			<i>Sporidesmium aquaticum</i> Cabello, Mengascini & Arambarri	LPS 44342 Tm		X				
			<i>Sporidesmium aturbinatum</i> (Hughes) Ellis	LPS 44613		X				
			<i>Sporidesmium bicolor</i> (Peck) Pound & Clem.	n/d		X				
			<i>Sporidesmium calyptratum</i> Cabello, Cazau & Aramb.	LPS 44612 Tm		X				
			<i>Sporidesmium coffeicola</i> M.B. Ellis	n/d		X				
			<i>Sporidesmium cookei</i> (S. Hughes) M.B. Ellis	n/d		X				
			<i>Sporidesmium filirostratum</i> Cabello, Cazau & Aramb	LPS 44618 Tm		X				
			<i>Sporidesmium leptosporum</i> (Sacc. & Roum.) S. Hughes	n/d		X				

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
			<i>Sporidesmium longisporum</i> Cabello, Cazau & Aramb.	LPS 44617 Tm		X				
			<i>Sporidesmium maxigelatinosum</i> Cabello, Cazau & Aramb.	LPS 45022 Tm		X				
			<i>Sporidesmium minigelatinosum</i> Matsush	LPS 44121		X				
			<i>Sporidesmium pedunculatum</i> (Peck) M.B. Ellis	LPS 44614		X				
			<i>Sporidesmium socium</i> M.B. Ellis	LPS 44118		X				
			<i>Sporidesmium</i> sp.	n/d		X				
			<i>Sporidesmium spegazzinii</i> Cabello, Cazau & Aramb.	LPS 44615-44616 Tm		X				
	Magnaporthales	Magnaporthaceae	<i>Nakataea</i> sp.	LPS 44240		X				
	Pleurotheciales	Pleurotheciaceae	<i>Phaeoisaria clematidis</i> (Fuckel) S. Hughes	n/d		X				
	Lulworthiales	Lulworthiaceae	<i>Zalerion</i> sp.	n/d		X				
	Myrmecridiales	Myrmecridiaceae	<i>Myrmecridium schulzeri</i> (Sacc.) Arzanlou, W. Gams & Crous	LPS 44609		X				
Leotiomycetes ^a	Helotiales	Helotiaceae	<i>Articulospora</i> sp.	n/d			X	X	X	X
			<i>Articulospora tetracladia f. angulata</i> (Tubaki) Sv. Nilsson	n/d			X			
				LPS 44985-44954-44962-44982-44974-44966-44641-44638-45000-45015			X	X	X	
			<i>Articulospora tetracladia</i> Ingold				X	X	X	
			<i>Dimorphospora foliicola</i> Tubaki	n/d		X	X		X	
			<i>Idriella</i> sp.	n/d		X				

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
				LPS 44644-44640-44003			X	X		
			<i>Varicosporium delicatum</i> S.H. Iqbal							
				LPS 44642-44984-45006-45016			X	X		
			<i>Varicosporium elodeae</i> W. Kegel							
					LPSC					
				LPS 41904-45415	146		X	X		
			<i>Clathrosphaerina zalewskii</i> Beverw.							
				LPS 44134		X				
			<i>Pseudaegerita matsushimae</i> Abdullah & J. Webster							
				LPS 44236		X				
			<i>Helicodendron paradoxum</i> Peyronel							
				LPS 45404-45420				X		
			<i>Helicodendron triglitzensis</i> (Jaap) Linder							
				LPS 44648-44958-44973-44964		X	X	X	X	X
			<i>Alatospora acuminata</i> Ingold							
				n/d			X	X		
			<i>Alatospora constricta</i> Dyko							
				n/d			X		X	
			<i>Alatospora pulchella</i> Marvanová							
				n/d			X	X	X	X
			<i>Alatospora</i> sp.							
				LPS 45018 Tm		X				
			<i>Bloxamia cremea</i> Aramb. Cabello & Cazau							
				LPS 44986-44988-44647-45017			X	X		
			<i>Casaresia sphagnum</i> Gonz. Frag							
				n/d			X		X	
			<i>Tricladium angulatum</i> Ingold							
				n/d		X				
			<i>Tricladium anomalum</i> Ingold							
				n/d					X	
			<i>Tricladium castaneicola</i> B. Sutton							
				n/d			X	X		
			<i>Tricladium chaetocladium</i> Ingold							
				n/d			X	X		
			<i>Tricladium gracile</i> Ingold							
				LPS 45000-44957				X		
			<i>Tricladium intermedium</i> R.H. Petersen							

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
			<i>Tricladium minutum</i> (S.H. Iqbal) Marvanová & Descals	n/d			X	X		X
			<i>Tricladium patulum</i> Marvanová & Marvan	n/d		X				
			<i>Tricladium</i> sp.	n/d		X	X		X	
			<i>Tricladium splendens</i> Ingold	LPS 44992-45008			X	X	X	
			<i>Tricladium terrestre</i> D. Park	n/d					X	
			<i>Geniculospora inflata</i> (Ingold) Sv. Nilsson ex Marvanová & Sv. Nilsson	n/d			X			
			<i>Filosporella annelidica</i> (Shearer & J.L. Crane) J.L. Crane & Shearer	n/d			X			
			<i>Spirosphaera floriformis</i> Beverw.	LPS 45419-45400				X		
				S ^f BAFC ^g 52785-52786; S UNLu ^h 41-30		X				
	Vandijkellaceae		<i>Tetracladium breve</i> A. Roldán	S BAFC 52787-52788; S UNLu 80-64			X	X	X	
			<i>Tetracladium furcatum</i> Descals	S BAFC 52782-52783-52784; S UNLu 89-101		X	X	X	X	X
			<i>Tetracladium marchalianum</i> De Wild. Ann	LPS 44960-4496; S BAFC 52781-52780		X	X	X	X	X
			<i>Tetracladium setigerum</i> (Grove) Ingold	S BAFC 52789; S UNLu 105		X		X	X	
			<i>Tetracladium</i> sp.							
	Vibrisseaceae		<i>Vibrissea laxa</i> (B. Sutton) Marvanová	LPS 44990-44980				X		
	Incertae sedis		<i>Dactylaria appendiculata</i> Cazau	LPS 44610 Tm		X				

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
			<i>Dactylaria argentina</i> (Aramb. & Mengasc.) Cabello & Cazau	LPS 44306 Tm		X				
			<i>Dactylaria chrysosperma</i> (Sacc.) G.C. Bhatt & W.B. Kendr	n/d		X				
			<i>Dactylaria isthmospora</i> Cabello, Mengasc. & Aramb	LPS 44307 Tm		X				
			<i>Dactylaria longidentata</i> Cazau, Aramb. & Cabello	LPS 44611 Tm		X				
			<i>Dactylaria mitrata</i> Matsush.	n/d		X				
			<i>Dactylaria mucronulata</i> Ellis & Langl.	n/d		X				
			<i>Dactylaria obtriangularia</i> Matsush.	LPS 44546		X				
			<i>Dactylaria parvispora</i> (Preuss) de Hoog & Arx	n/d	LPSC 105	X				
			<i>Dactylaria</i> sp.	n/d		X				
			<i>Lemonniera aquatica</i> De Wild	LPS 44646-44959- 44968-45001- 45005-45013			X	X	X	
			<i>Lemonniera centrosphaera</i> Marvanová	n/d		X				
			<i>Lemonniera</i> sp.	n/d		X		X		
			<i>Lemonniera terrestris</i> Tubaki	n/d			X			
			<i>Margaritispora aquatica</i> Ingold	n/d		X	X			
			<i>Margaritispora monticola</i> Dyko	n/d			X			
			<i>Mirandina breviphora</i> Matsush.	n/d	LPSC 129	X				
			<i>Mirandina corticola</i> G. Arnaud ex Matsush.	LPS 44619		X				
			<i>Scytalidium lignicola</i> Pesante	n/d			X			

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
			<i>Lauriomyces catenatus</i> (Preuss) R.F. Castañeda & W.B. Kendr.	LPS 45410-45413				X		
			<i>Anguillospora crassa</i> Ingold	n/d			X	X	X	
			<i>Anguillospora filiformis</i> Greath	n/d			X			
			<i>Anguillospora furtiva</i> Descals	n/d			X			
			<i>Anguillospora rosea</i> Descals	n/d			X		X	
			<i>Alternaria oudemansii</i> (E.G. Simmons) Woudenb. & Crous	n/d			X			
Dothideomycetes ^a	Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i> sp.	n/d		X			X	
			<i>Bipolaris</i> sp.	n/d		X				
			<i>Curvularia</i> sp.	n/d		X				
			<i>Drechslera</i> spp.	n/d					X	
			<i>Stemphylium</i> sp.	n/d		X				
			<i>Ulocladium</i> spp.	n/d					X	
		Dothidotthiaceae	<i>Mycocentrospora angulata</i> (R.H. Petersen) S.H. Iqbal	n/d			X	X		
		Amniculicolaceae	<i>Amniculicola longissima</i> (Sacc. & P. Syd.) Nadeeshan & K.D. Hyde	LPS 44645-44950-44963-45010		X	X	X	X	
		Dictyosporiaceae	<i>Dictyosporium</i> sp.	n/d		X				
			<i>Dictyosporium digitatum</i> J.L. Che	n/d		X				
			<i>Dictyosporium elegans</i> Corda	n/d	LPSC 216	X				
			<i>Dictyosporium tetraseriale</i> Goh, Yanna & K.D. Hyde	n/d		X				

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
			<i>Dictyosporium triramsum</i> Arambarri, Cabello & Cazau	LPS45524	LPSC 617	X				
			<i>Dictyosporium triseriale</i> Matsush	n/d		X				
			<i>Dictyosporium zeylanicum</i> Petch	n/d		X				
		Massarinaceae	<i>Helminthosporium foveolatum</i> Pat	LPS 44335		X				
		Melanommataceae	<i>Camposporium antennatum</i> Harkn	LPS 44603-44604		X				
			<i>Camposporium antillanum</i> R.F. Castañeda	LPS 45019		X				
			<i>Camposporium pellucidum</i> (Grove) S. Hughes	LPS 44341		X				
			<i>Camposporium</i> sp.	n/d				X		
			<i>Sporidesmiella hyalosperma</i> (Corda) P.M. Kirk	LPS 44120		X				
		Montagnulaceae	<i>Microsphaeropsis</i> sp.	n/d			X			
		Astrosphaeriellaceae	<i>Pithomyces chartarum</i> (Berk. & M.A. Curtis) M.B. Ellis	n/d		X				
		Didymosphaeriaceae	<i>Pseudopithomyces atro-olivaceus</i> (Cooke & Harkn.)	n/d		X				
			<i>Spegazzinia</i> sp.	n/d		X				
		Didymellaceae	<i>Epicoccum nigrum</i> Link	n/d		X			X	
		Tetraplosphaeriaceae	<i>Pseudotetraploa</i> sp.	n/d		X				
			<i>Tetraploa abortiva</i> Aramb. & Cabello	LPS 44308 Tm		X				
			<i>Tetraploa aristata</i> Berk. & Broome	LPS 44122		X				
			<i>Tetraploa ellisii</i> Cooke	n/d		X				
		Torulaceae	<i>Dendryphion digitatum</i> Subram.	LPS 45389-45391				X		

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
				LPS 45406-45416-						
			<i>Torula corticalis</i> (Peck) Sacc.	45425				X		
			<i>Torula herbarum</i> (Pers.) Link	n/d		X				
			<i>Torula</i> sp.	n/d		X				
		Sporormiaceae	<i>Westerdykella multispora</i> (Saito & Minoura) Cejp & Milko	n/d			X			
		Incertae sedis	<i>Anguillospora</i> sp.	n/d			X	X	X	
				LPS 44996-44969-						
			<i>Clavariopsis aquatica</i> De Wild	45009			X	X	X	X
			<i>Mycocentrospora acerina</i> (R. Hartig) Deighton	LPS 44991-45011			X	X	X	
			<i>Phoma</i> spp.	n/d			X			
	Muyocopronales	Muyocopronaceae	<i>Arxiella terrestris</i> Papendorf	LPS 44339		X				
	Capnodiales	Capnodiaceae	<i>Tripospermum camelopardus</i> Ingold	n/d			X			
			<i>Tripospermum myrti</i> (Lind) S. Hughes	n/d			X			
			<i>Tripospermum prolongatum</i> R.C. Sinclair & Morgan-Jones	n/d			X			
		Cladosporiaceae	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries	n/d			X			
			<i>Cladosporium</i> sp.	n/d		X			X	
		Dissoconiaceae	<i>Ramichloridium</i> sp.	n/d		X				
	Minutisphaerales	Acrogenosporaceae	<i>Acrogenospora sphaerocephala</i> (Berk. & Broome) M.B. Ellis	LPS 44338		X				
	Jahnulales	Aliquandostipitaceae	<i>Xylomyces chlamydosporus</i> Goos, R.D. Brooks & Lamore	LPS 45400				X		
	Tubeufiales	Tubeufiaceae	<i>Helicoon multiseptatum</i> v. Beverwijk	LPS 39307			X			

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
			<i>Helicoön septatissimum</i> Godeas & Aramb.	LPS 45382 Tm				X		
			<i>Helicosporium murinum</i> Goos	LPS 44237		X				
			<i>Helicosporium</i> sp.	n/d		X				
			<i>Neohelicosporium griseum</i> (Berk. & M.A. Curtis) Y.Z. Lu & K.D. Hyde	LPS 44238		X				
		Wiesneriomycetaceae	<i>Wiesneriomyces javanicus</i> Koord	LPS 44336		X				
Pezizomycetes ^a	Pezizales	Pyronemataceae	<i>Actinospora megalospora</i> Ingold	LPS 44994-44993				X		
			<i>Actinospora</i> sp.	n/d			X			
Orbiliomycetes ^a	Orbiliales	Orbiliaceae	<i>Dactylella microaquatica</i> Tubaki	n/d			X			
			<i>Dactylella</i> sp.	n/d		X				
			<i>Dactylellina lysipaga</i> (Drechsler) M. Scholler, Hagedorn & A. Rubner	n/d		X				
			<i>Drechslerella bembicodes</i> (Drechsler) M. Scholler	n/d		X				
			<i>Dwayaangam cornuta</i> Descals	n/d			X			
			<i>Dwayaangam gamundiae</i> Cazau, Aramb. & Cabello	LPS 45026 Tm		X				
Saccharomycetes ^a	Saccharomycetales	Debaryomycetaceae	<i>Meyerozyma guilliermondii</i> (Wick.) Kurtzman & M. Suzuki	n/d					X	
			<i>Millerozyma acaciae</i> (Van der Walt) Kurtzman & M. Suzuki	n/d					X	
Eurotiomycetes ^a	Eurotiales	Aspergillaceae	<i>Aspergillus brunneouniseriatus</i> Suj. Singh & B.K. Bakshi	n/d			X			
			<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen.	n/d			X			
			<i>Aspergillus</i> spp.	n/d			X		X	

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
			<i>Penicillium brasilianum</i> Bat.	n/d			X			
			<i>Penicillium citrinum</i> Thom	n/d			X			
			<i>Penicillium expansum</i> Link	n/d			X			
			<i>Penicillium herquei</i> Bainier & Sartory	n/d			X			
			<i>Penicillium raistrickii</i> G. Sm.	n/d			X			
			<i>Penicillium rubrum</i> Stoll	n/d		X	X			
			<i>Penicillium sanguineum</i> Sopp	n/d			X			
			<i>Penicillium simplicissimum</i> (Oudem.) Thom	n/d			X			
			<i>Penicillium</i> spp.	n/d		X	X		X	
			<i>Penicillium thomii</i> Maire	n/d			X			
			<i>Penicillium verrucosum</i> Dierckx	n/d			X			
		Trichocomaceae	<i>Eupenicillium euglaucum</i> (J.F.H. Beyma) Stolk & Samson	n/d			X			
			<i>Eupenicillium javanicum</i> (J.F.H. Beyma) Stolk & D.B. Scott	n/d			X			
			<i>Paecilomyces farinosus</i> (Holmsk.) A.H.S. Br. & G. Sm	n/d			X			
			<i>Paecilomyces</i> sp.	n/d		X			X	
			<i>Talaromyces flavus</i> (Klöcker) Stolk & Samson	n/d			X			
			<i>Talaromyces purpureogenus</i> Samson	n/d			X			
	Chaetothyriales	Herpotrichiellaceae	<i>Cladophialophora chaetospora</i> (Grove) Crous & Arzanlou	n/d			X			
			<i>Exophiala</i> sp.	n/d		X				

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
Incertae sedis ^a			<i>Phialophora</i> sp.	n/d		X				
			<i>Bahusaganda elaeodes</i> (Pound & Clem.) J.L. Crane & A.N. Mill	LPS 44608		X				
			<i>Beverwykella pulmonaria</i> (Beverw.) Tubaki	n/d	LPSC 215	X				
			<i>Bispora</i> sp.	n/d		X				
			<i>Brachysporium lindquistii</i> Arambarri et Cabello	LPS 44544 Tm		X				
			<i>Campylospora chaetocladia</i> Ranzoni	LPS 41900			X	X	X	X
			<i>Campylospora parvula</i> Kuzuha	n/d						X
			<i>Candelabrum spinulosum</i> Beverw.	LPS 38631				X		
			<i>Cheiromyces wrightii</i> Mengasc.	LPS 44305 Tm		X				
			<i>Circinotrichum maculiforme</i> Nees	LPS 44545		X				
			<i>Clathroconium</i> sp.	n/d		X				
			<i>Clavariana aquatica</i> Nawawi	LPS 44995					X	
			<i>Coelomycete</i>	n/d			X			
			<i>Condylospora spumigena</i> Nawawi	LPS 44978					X	
			<i>Culicidospora aquatica</i> R.H. Petersen	n/d				X		
			<i>Culicidospora gravis</i> R.H. Petersen	n/d				X	X	
			<i>Cumulospora</i> sp.	n/d			X			
		<i>Dendrospora</i> sp.	n/d				X	X		
		<i>Dictyoarthrinium africanum</i> S. Hughes	n/d			X				

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
			<i>Dictyoarthrinium sacchari</i> (J.A. Stev.) Damon	n/d		X				
			<i>Diplocladiella scalaroides</i> G. Arnaud ex M.B. Ellis	n/d					X	
			<i>Diplocladiella</i> sp.	n/d		X				
			<i>Diplocladiella taurina</i> Cazau, Aramb. & Cabello	LPS 45027 Tm		X				
			<i>Flabellospora acuminata</i> Descals	n/d			X			
			<i>Flabellospora</i> sp.	n/d		X		X		
			<i>Fontanaspora eccentrica</i> (Petersen) Dyko	LPS 44999			X	X		
			<i>Gemmulina botryosa</i> (Descals) Descals & Marvanová	n/d		X				
			<i>Gyoerffyyella gemellipara</i> Marvanová	LPS 41903-44956			X	X		
			<i>Gyoerffyyella tricapillata</i> (Ingold) Marvanová	n/d				X		
			<i>Gyrothrix circinata</i> (Berk. & M.A. Curtis) S. Hughes	LPS 44606		X				
			<i>Gyrothrix flagelliramosa</i> Aramb.	LPS 45462 Tm		X				
			<i>Gyrothrix grisea</i> Piroz	LPS 44549		X				
			<i>Gyrothrix verticillata</i> Piroz	LPS 44607		X				
			<i>Heliscella stellata</i> (Ingold & V.J. Cox) Marvanová	n/d		X	X			
			<i>Hughesinia chusqueae</i> J.C. Lindq. & Gamundí	LPS 34490 Tm			X			
			<i>Hyphodiscosia jaipurensis</i> Lodha & K.R.C. Reddy	LPS 44119		X				

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
			<i>Isthmolongispora asymmetrica</i> Aramb. & Cabello	LPS 44134 Tm		X				
			<i>Isthmolongispora geniculata</i> Nawawi & Kuthub	LPS 44976				X		
			<i>Isthmolongispora minima</i> Matsush	n/d		X				
			<i>Isthmotricladia laeensis</i> Matsush	n/d			X			
			<i>Isthmotricladia</i> sp.	n/d			X			
			<i>Kostermansinda minima</i> Cabello & Aramb.	LPS 44135 Tm		X				
			<i>Lateriramulosa bi-inflata</i> Matsush.	LPS 44239		X				
			<i>Lateriramulosa uni-inflata</i> Matsush.	n/d					X	
			<i>Magnohelicospora fuscospora</i> (Linder) R.F. Castañeda	LPS 45415				X		
			<i>Melanocephala</i> sp.	n/d		X				
			<i>Minimidochium parvum</i> Cabello, Aramb. & Cazau	LPS 45458 Tm		X				
			<i>Oncopodium</i> sp.	n/d		X				
			<i>Phaeotrichoconis aquaticus</i> Mengascini et Arambarri	LPS 44136 Tm		X				
			<i>Phaecotrichoconis minigelatinosum</i> Arambarri, Cabello et Mengascini	LPS 44135 Tm		X				
			<i>Pleuropedium tricladioides</i> Marvanová & S.H. Iqbal	n/d			X	X	X	
			<i>Pleurotheciopsis</i> sp.	n/d		X				
			<i>Pleurotheciopsis websterii</i> Cazau, Aramb. & Cabello	LPS 45025 Tm		X				
			<i>Porospora</i> sp.	n/d		X				

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
			<i>Pseudeurotium zonatum</i> J.F.H. Beyma	n/d			X			
			<i>Speiroopsis aquatica</i> Aramb., Cabello & Mengasc.	LPS 44241 Tm		X				
			<i>Stenoclaadiella neglecta</i> (Marvanová & Descals) Marvanová & Descals	n/d			X			
			<i>Tetrabrachium elegans</i> Nawawi & Kuthub	LPS 44981-44952				X		
			<i>Tetrachaetum elegans</i> Ingold	LPS 44649-44639			X	X	X	X
			<i>Tetracoccusporium aerium</i> P.C. Misra & P. Srivast	LPS 45024		X				
			<i>Tricellula aquatica</i> J. Webster	LPS 44979-44975-45012			X	X		
			<i>Tricellula aurantiaca</i> (Haskins) Arx	n/d			X			
			<i>Triclaadiopsis foliosa</i> Descals	n/d					X	
			<i>Tridentaria</i> sp.	n/d		X				
			<i>Triposporina ceranoica</i> Speg.	n/d			X			
			<i>Triposporina</i> sp.	n/d					X	
			<i>Triramulispora gracilis</i> Matsush	n/d		X				
			<i>Triscelophorus acuminatus</i> Nawawi	n/d			X	X	X	X
			<i>Triscelophorus monosporus</i> Ingold	n/d			X	X	X	
			<i>Triscelophorus</i> sp.	n/d		X	X	X	X	
			<i>Trisulcosporium acerinum</i> H.J. Huds. & B. Sutton	LPS 44998				X		
			<i>Troposporella monilipes</i> (Ellis & L.N. Johnson) K.M. Tsui & Berbee	LPS 44550		X				

Clase	Orden	Familia	Taxa	Material de herbario	Cultivo	P	BV	BM	S	A
			<i>Tumularia aquatica</i> (Ingold) Descals & Marvanová	n/d			X	X		
			<i>Volucrispora graminea</i> Ingold	n/d			X	X		
			<i>Zygosporium gibbum</i> (Sacc., M. Rousseau & E. Bommer) S. Hughes	LPS 44307		X				

Anexo III

Tabla 2. Valor máximo de la tasa de esporulación de los hongos acuáticos encontrada en cada bañado de desborde fluvial en cada mes (ª) muestreado en el año 2018.

Taxa	CHU	CAJ	GAT	CAR
<i>Amniculicola longissima</i> (Sacc. & P. Syd.) Nadeeshan & K.D. Hyde	5,90 ^{Jul,a}	4,92 ^{Jul}	2,21 ^{Jul}	55,44 ^{May}
<i>Gemmulina botryosa</i> (Descals) Descals & Marvanová	2,31 ^{Feb}	0,20 ^{Feb}	0,33 ^{Jul}	0,18 ^{May}
<i>Margaritispora aquatica</i> Ingold	1,82 ^{May}	0,61 ^{Mar}	6,82 ^{May}	4,06 ^{May}
<i>Arthrinium</i> sp.	6,56 ^{May}	2,45 ^{Mar}	1,01 ^{May}	0,75 ^{May}
<i>Zalerion</i> sp. 1	0,45 ^{May}	4,24 ^{May}	0,34 ^{Mar}	1,21 ^{May}
<i>Fibulotaeniella</i> sp.	6,68 ^{May}	1,53 ^{Jul}	2,50 ^{May}	2,74 ^{May}
<i>Torula</i> sp.	0,41 ^{May}	0,86 ^{May}	1,72 ^{Jul}	0,55 ^{May}
<i>Cordana</i> sp.	0,10 ^{Jul}	0,03 ^{May}	0,41 ^{Jul}	0,49 ^{Mar}
<i>Diplococcium</i> sp. 2	0,10 ^{May}	0,03 ^{Mar}	0,15 ^{Mar}	0,38 ^{Feb}
<i>Diplococcium</i> sp. 1	0,19 ^{Feb}	0,74 ^{May}	0,75 ^{Jul}	0,12 ^{Mar}
<i>Curvularia</i> sp.	0,08 ^{May}	0,09 ^{Jul}	0,17 ^{Jul}	0,36 ^{May}
<i>Tetraploa aristata</i> Berk. & Broome	0,15 ^{Jul}	0,17 ^{Feb}	0,07 ^{Mar}	0,01 ^{Feb}
<i>Stemphylium</i> sp.	0,03 ^{Jul}	0,01 ^{Feb}	0,04 ^{Mar}	0,03 ^{Feb}
<i>Bipolaris</i> sp.	0,22 ^{Feb}	0,02 ^{Mar}	0,04 ^{Feb}	0,010 ^{Mar}
<i>Alternaria</i> sp.	0,20 ^{May}	0,36 ^{Jul}	0,70 ^{Jul}	0,23 ^{May}
<i>Alatospora acuminata</i> Ingold	0,15 ^{May}	0,60 ^{Jul}	0,03 ^{May}	0,05 ^{May}
<i>Endophragmiella biseptata</i> (Peck) S. Hughes	0,08 ^{May}	0,02 ^{May}	0,22 ^{Mar}	0,09 ^{Mar}
<i>Sigmoidea</i> sp.	0,04 ^{Mar}	0,02 ^{Mar}	0,70 ^{Feb}	0,03 ^{Feb}
<i>Brachysporium</i> sp.	0,06 ^{Jul}	0,03 ^{May}	0,05 ^{May}	0,01 ^{Mar}
<i>Truncatella</i> sp.	0,17 ^{Jul}	0,23 ^{Mar}	0,32 ^{May}	0,12 ^{May}
<i>Endophragmiella globulosa</i> (B. Sutton) S. Hughes	0,01 ^{Mar}	0,02 ^{Mar}	0,50 ^{Mar}	0,02 ^{Mar}
<i>Sporidesmium socium</i> M.B. Ellis	0,10 ^{Jul}	0,15 ^{May}	0,01 ^{Mar}	0,16 ^{May}
<i>Fusarium</i> sp.	0,06 ^{May}	0,01 ^{Mar}	0,01 ^{Mar}	0,67 ^{May}
<i>Beltrania</i> sp.	0,01 ^{Feb}	0,03 ^{Feb}	0,01 ^{Feb}	0,10 ^{May}
<i>Dictyosporium</i> sp.1	0,06 ^{May}	0,11 ^{Jul}	0,16 ^{May}	0,05 ^{May}
<i>Oncopodium</i> sp.	0,05 ^{May}	0,04 ^{Feb}	0,85 ^{Jul}	0,045 ^{May}
<i>Tetraploa ellisii</i> Cooke	0,10 ^{May}	0,13 ^{May}	0,06 ^{Feb}	
<i>Lemonniera</i> sp. 1	0,03 ^{May}	0,16 ^{Jul}		0,01 ^{Mar}
<i>Tetracladium marchalianum</i> De Wild	0,13 ^{Jul}	0,02 ^{Jul}		0,06 ^{May}
<i>Tricladium</i> sp.	0,01 ^{Feb}	0,02 ^{Jul}		0,12 ^{May}
<i>Endophragmiella boothii</i> (M.B. Ellis) S. Hughes	0,01 ^{Mar}		0,12 ^{Mar}	0,04 ^{Mar}
<i>Brachysporium britannicum</i> S. Hughes	0,03 ^{May}		0,09 ^{Mar}	0,05 ^{May}
<i>Pseudotetraploa</i> sp.		0,24 ^{May}	0,11 ^{May}	0,11 ^{May}
<i>Sporidesmium</i> sp. 3		0,02 ^{Jul}	0,01 ^{May}	0,12 ^{May}
<i>Dictyoarthrinium sacchari</i> (J.A. Stev.)		0,12 ^{Mar}	0,11 ^{Mar}	0,05 ^{Feb}
<i>Sporidesmium</i> sp.4		0,17 ^{May}	0,13 ^{Jul}	0,10 ^{May}
<i>Dictyoarthrinium africanum</i> S. Hughes		0,05 ^{May}	0,02 ^{Mar}	0,02 ^{Mar}
<i>Spegazzinia</i> sp.		0,02 ^{May}	0,10 ^{Mar}	0,03 ^{Mar}
<i>Sporidesmium</i> sp.1	0,03 ^{May}	0,23 ^{Feb}		
<i>Clavatospora</i> sp.	0,03 ^{May}	0,02 ^{Mar}		

Taxa	CHU	CAJ	GAT	CAR
<i>Tricladium anomalum</i> Ingold	0,02 ^{May}	0,02 ^{May}		
<i>Sporidesmium</i> sp. 2	0,02 ^{Mar}	0,02 ^{Feb}		
<i>Lemonniera</i> sp. 4		0,20 ^{Jul}		0,30 ^{May}
<i>Brachysporium obovatum</i> (Berk.) Sacc			0,02 ^{Feb}	0,01 ^{Mar}
<i>Tridentaria</i> sp.			0,02 ^{Jul}	0,05 ^{May}
<i>Dictyosporium elegans</i> ^d Corda		0,01 ^{Feb}	0,05 ^{Mar}	
<i>Diplococcium</i> sp. 3		0,02 ^{May}	0,06 ^{Jul}	
<i>Endophragmiella cambrensis</i> M.B. Ellis		0,02 ^{Mar}	0,01 ^{Feb}	
<i>Zalerion</i> sp. 2		0,02 ^{May}	0,13 ^{Jul}	
<i>Heliscella stellata</i> Ingold & V.J. Cox	0,09 ^{Jul}		0,05 ^{Mar}	
<i>Triscelophorus</i> sp.	0,03 ^{Jul}		0,06 ^{Jul}	
<i>Beltraniella</i> sp. 2	0,02 ^{Mar}		0,01 ^{Feb}	
<i>Tetraploa abortiva</i> Aramb. & Cabello	0,03 ^{Jul}		0,04 ^{Feb}	
<i>Lemonniera</i> sp. 2	0,03 ^{Jul}			0,10 ^{May}
<i>Sporidesmium bicolor</i> (Peck) Pound & Clem		0,01 ^{Feb}		0,01 ^{Feb}
<i>Diplocladiella</i> sp.		0,02 ^{Mar}		
<i>Cumulozpora</i> sp.		0,02 ^{Feb}		
<i>Clathroconium</i> sp.		0,02 ^{Jul}		
<i>Beltraniella</i> sp. 1		0,02 ^{Mar}		
<i>Dictyosporium digitatum</i> J.L. Che		0,01 ^{Feb}		
<i>Dictyosporium zeylanicum</i> Petch		0,03 ^{May}		
<i>Dictyosporium tetraseriale</i> Goh, Yanna & K.D. Hyde		0,02 ^{Mar}		
<i>Lemonniera centrosphaera</i> Marvanová		0,02 ^{Jul}		
<i>Brachisporium dinglayae</i> sp. Hughes			0,07 ^{Jul}	
<i>Bispora</i> sp.			0,01 ^{Mar}	
<i>Pseudobeltrania</i> sp.			0,01 ^{Feb}	
<i>Sporidesmium cookei</i> (S. Hughes) M.B. Ellis			0,01 ^{Feb}	
<i>Sporidesmium coffeicola</i> M.B. Ellis			0,03 ^{Feb}	
<i>Sporidesmium leptosporum</i> (Sacc. & Roum.) S. Hughes			0,02 ^{Feb}	
<i>Dictyosporium triseriale</i> Matsush			0,06 ^{Jul}	
<i>Dictyosporium</i> sp. 2			0,01 ^{Feb}	
<i>Lemonniera</i> sp.3			0,06 ^{Jul}	
<i>Flabellozpora</i> sp.				3,81 ^{May}
<i>Melanocephala</i> sp.				0,05 ^{Mar}
<i>Helicosporium</i> sp.				0,10 ^{May}
<i>Tricladium patulum</i> Marvanová & Marvan				0,24 ^{May}

Anexo IV

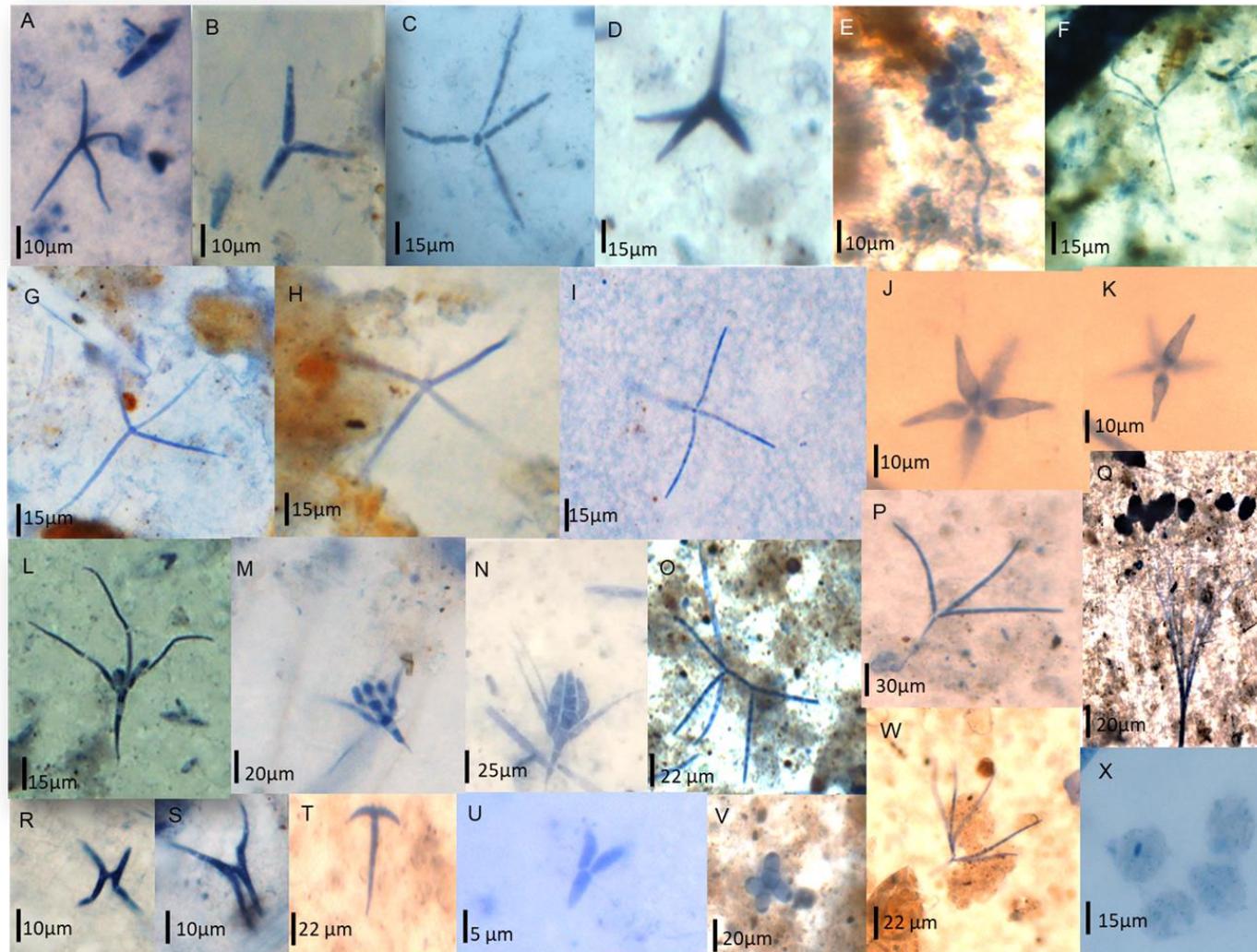


Figura 1. *Alatospora acuminata* (A), *Alatospora pulchella* (B), *Lemonniera* sp.1 (C), *Lemonniera terrestris* (D), *Gemmulina botryosa* (E), *Tetrachaetum elegans* (F), *Lemonniera aquatica* (G), *Lemonniera centrosphaera* (H), *Lemonniera pseudofloscula* (I), *Lemonniera* sp. 2 (J-K), *Tetracladium marchalianum* (L), *Tetracladium breve* (M), *Tetracladium setigerum* (N), *Tricladium patulum* (O), *Tridentaria* sp. (P), *Margaritispora aquatica* (Q-R), *Taeniospora* sp. (S-T), *Trinacrium* sp. (U), *Tricellula aquatica* (V), *Flabellospora* sp. (W), *Isthmotricladia* sp. (X).

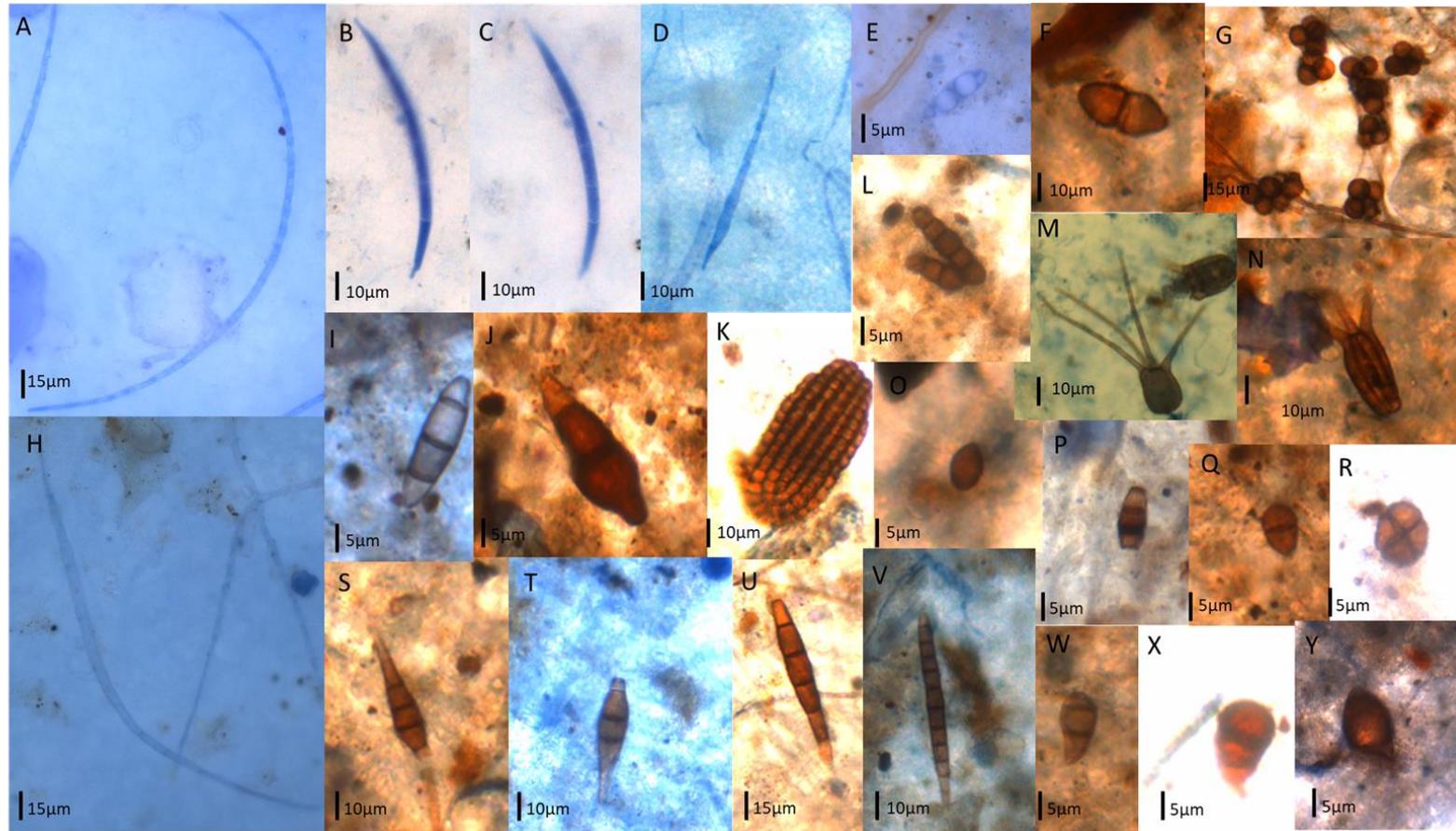


Figura 2. *Amniculicola longissima* (A), *Sigmoidea prolifera* (B-C) *Dactylella attenuata* (D), *Dictyochaeta triseptata* (E), *Diplococcium* sp. 1 (F), *Zalerion* sp. 1 (G), *Anguillospora crassa* (H), *Nakataea sigmoidea* (I), *Sporidesmium bicolor* (J), *Dictyosporium digitatum* (K), *Torula* sp. (L), *Tetraploa aristata* (M), *Tetraploa ellisii* (N), *Arthrinium* sp. (O), *Truncatella* sp. (P), *Endophragmiella uniseptata* (Q), *Spegazzinia* sp. (R) *Sporidesmium aquaticum* (S), *Sporidesmium* sp.1 (T), *Sporidesmium socium* (U), *Sporidesmium* sp.4 (V), *Endophragmiella triseptata* (W), *Brachysporium obovatum* (X) y *Brachysporium* sp.1 (Y).