

Variación estacional y potencial enzimático de microhongos asociados con la descomposición de hojarasca de *Nothofagus pumilio*

Seasonal variation and enzymatic potential of microfungi associated with the decomposition of *Nothofagus pumilio* leaf litter

EDUARDO VALENZUELA¹, SERGIO LEIVA¹ & ROBERTO GODOY²

Instituto de Microbiología¹, Instituto de Botánica², Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile; e-mail: evalenzu@uach.cl

RESUMEN

Se estudió la variación estacional y el potencial enzimático de microhongos aislados desde el follaje y hojarasca de *Nothofagus pumilio* sometida a degradación natural durante 1 año. La investigación se realizó en un bosque de *N. pumilio* ubicado en una microcuenca del Valle de Antillanca, Parque Nacional Puyehue (40° 47' S, 72° 12' O, 1.120 m de altitud). Hojas senescentes colectadas desde árboles de *N. pumilio* se depositaron en bolsas de malla de nylon ("litter bags") y se sometieron a degradación natural en el piso del bosque durante 1 año (marzo 1997-marzo 1998), realizando muestreos trimestrales. Para el aislamiento de microhongos desde las hojas se utilizó el método de las diluciones, con agar extracto de malta al 2 % como medio de cultivo. Para determinar los potenciales degradativos de los aislamientos, se analizaron in vitro las actividades de amilasa, celulasa, pectinasa, proteasa, lacasa, oxidasa extracelular, peroxidasa, citocromo oxidasa, fosfatasa, esterasa y tirosinasa. Las principales especies aisladas en las hojas senescentes fueron *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Epicoccum nigrum*, *Phialophora* grupo *hoffmannii* y *Rhodotorula aurantiaca*. Las especies dominantes en la hojarasca fueron *Hormonema prunorum*, *Mortierella ramanniana* var. *angulispora*, *Penicillium para-herquei* y *Trichoderma polysporum*. El mayor potencial enzimático lo exhibieron Moniliales y micelios estériles, mientras el menor Sphaeropsidales y levaduras. Las especies más activas fueron *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Hormonema prunorum* y *Phialophora malorum*. Las actividades de celulasa y amilasa fueron las más importantes. De las enzimas ligninolíticas, oxidasa extracelular y peroxidasa presentaron los más elevados potenciales enzimáticos.

Palabras clave: *Nothofagus pumilio*, descomposición, hojarasca, microhongos, potencial degradativo.

ABSTRACT

The seasonal variation and enzymatic potential of microfungi isolated from senescent leaves and leaf litter of *Nothofagus pumilio* was studied. The study was performed in a *N. pumilio* forest located in a microcatchment of the Antillanca Valley, Puyehue National Park (40° 47' S, 72° 12' W, 1,120 m of altitude). Senescent leaves recently collected from *N. pumilio* trees were enclosed in litter bags and subjected to natural degradation on the forest leaf litter during 1 year (March 1997-March 1998), with seasonal sampling. The isolation of microfungi was performed through the dilution plate technique using malt extract agar (2 %) as the isolation medium. The enzymatic degradation potential of microfungi was determined in vitro by testing amylase, cellulase, pectinase, protease, laccase, extracellular oxidase, peroxidase, cytochrome oxidase, phosphatase, esterase and tyrosinase activities. The mycoflora of the senescent leaves was dominated by *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Epicoccum nigrum*, *Phialophora* group *hoffmannii* and *Rhodotorula aurantiaca*. The most abundant species found in the leaf litter were *Hormonema prunorum*, *Mortierella ramanniana* var. *angulispora*, *Penicillium para-herquei* and *Trichoderma polysporum*. The Moniliales and sterile micelia exhibited the highest enzymatic degradation potential, being the lowest Sphaeropsidales and yeasts. Individually, the species with the highest degradative potential were *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Hormonema prunorum* and *Phialophora malorum*. Cellulase and amylase activities were the most important. Extracellular oxidase and peroxidase were the ligninolytic enzymes with the highest enzymatic potentials.

Key words: *Nothofagus pumilio*, decomposition, leaf litter, microfungi, degradative potential.

INTRODUCCIÓN

La descomposición de la materia orgánica en el suelo es un proceso clave en el ciclaje de nutrientes en el ecosistema. Como parte de los ciclos biogeoquímicos cabe mencionar la liberación de

nutrientes y la modificación y transformación de materiales resistentes por procesos de quelación y humificación. En un bosque, la hojarasca constituye la principal fuente de nutrientes para la vegetación, fauna y microorganismos. Cerca del 80 % de la degradación de la hojarasca es realiza-

da por microorganismos, siendo los hongos uno de los principales agentes (Jensen 1974).

De acuerdo a Frankland (1998), una sucesión de plantas y hongos se puede definir como un "cambio direccional en la composición, abundancia relativa y patrón espacial de las especies que comprenden las comunidades". A medida que la hojarasca se degrada, las comunidades fúngicas sufren cambios secuenciales en su composición y potencial de degradación, debido a cambios en la disponibilidad de nutrientes, humedad, pH, tensión de oxígeno, etc.

Una evaluación de la diversidad microbiológica en suelos no sólo debe estar basada en la cuantificación e identificación de los microorganismos involucrados, sino que es esencial investigar el rol funcional de los microorganismos, a fin de definir el significado de la diversidad microbiana (Kjøller et al. 2000). En este sentido, el estudio de las capacidades enzimáticas de la microbiota es una forma de comprender sus actividades y proporciona una base fisiológica a la sucesión observada.

La celulosa, hémicelulosa y lignina son los componentes más importantes de la hojarasca, constituyendo el 50-80 % de la materia seca (Schinner & Sonleitner 1996). Estas macromoléculas, previo a la asimilación por los microorganismos, deben ser hidrolizadas a subunidades más simples, mediante enzimas extracelulares. La celulosa es uno de los componentes estructurales orgánicos más importantes en tejidos vegetales y la capacidad para su utilización es considerada una propiedad esencial para los hongos saprófitos que degradan la hojarasca (Schinner & Sonleitner 1996). La hidrólisis de la celulosa a unidades de glucosa, es realizada por enzimas denominadas celulasas.

Después de la celulosa, la lignina es el segundo componente más importante de la hojarasca. La lignina es un polímero constituido por unidades de fenilpropano con múltiples enlaces y es degradada por un complejo de enzimas, entre otras lacasas, lignino peroxidasa, Mn peroxidasa y tirosinasas, que actúan sinérgicamente (Hammel 1997).

El almidón es otro compuesto común de la hojarasca, constituyendo una fuente de carbono fácilmente degradable en las primeras etapas de la descomposición de la hojarasca y su hidrólisis es llevada a cabo por amilasas.

En los últimos años, la diversidad funcional de los microorganismos en suelo y hojarasca ha sido determinada investigando su capacidad para utilizar diferentes sustratos (Kjøller et al. 2000), siendo un indicador sensible para determinaciones a gran escala. Varios estudios han analizado

la sucesión fúngica sobre hojarasca en bosques templados, tanto en latifoliadas como coníferas (Watson et al. 1974, Kuter 1986, Frankland 1998, Kjøller et al. 2000). Sin embargo, los estudios en bosques de *Nothofagus* son escasos, pudiéndose mencionar los trabajos de Ruscoe (1971) en *Nothofagus truncata* (Col.) Kkn. en Nueva Zelanda, Godeas et al. (1985) en *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser y Gamundi et al. (1987) en *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Blume en Argentina.

Nothofagus pumilio es la especie arbórea con la mayor área de distribución geográfica en Chile, con 2.200 km de extensión y constituyendo de preferencia el límite altitudinal de la vegetación boscosa (Hildebrand-Vogel et al. 1990, Veblen et al. 1996). Antecedentes de Salazar (1998) en bosque de *N. pumilio* de la cordillera andina (40° S) indican aportes de hojarasca cercanos a 2.000 kg ha⁻¹ año⁻¹, una velocidad de descomposición (k) de 0,13 y una pérdida de peso seco cercana al 65 % después de 12 meses de incubación in situ.

Se plantea que debido a las condiciones rigurosas del clima de alta montaña en el bosque de *N. pumilio*, las poblaciones de microhongos que colonizan la hojarasca varían según la estación climática y por tal razón, existirían diferencias cualitativas en sus potenciales enzimáticos. Como parte de una investigación de línea base sobre los ciclos biogeoquímicos a nivel de microcuencia en bosques de *N. pumilio* de la cordillera andina, el presente estudio tiene como objetivo identificar la variación temporal de las poblaciones de microhongos que colonizan la hojarasca de *N. pumilio* sometida a degradación natural y analizar in vitro sus potenciales para degradar sustratos representativos de los componentes orgánicos foliares (almidón, celulosa, lignina, pectina y proteínas).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Se localiza en la Cordillera de los Andes, Valle de Antillanca, X Región de Chile (40° 47' S, 72° 12' O, 1.120 m de altitud), área incluida en el Parque Nacional Puyehue. El clima es templado húmedo, Cfb según la clasificación de Köppen (Di Castri & Hajek 1976), con una precipitación anual promedio de 5.332 mm y presencia de nieve desde junio hasta noviembre (Godoy et al. 1999). La temperatura promedio anual durante 1997-1998 fue de 2,4 °C, con una temperatura 15,7 °C en febrero y una mínima de -1,8 °C en septiembre de 1998. En el nivel superficial del suelo, la tempe-

ratura máxima fue de 17,2 °C durante febrero y la mínima de 0,5 °C en julio (Godoy et al. 1999). El suelo es de origen volcánico, del tipo Andisol, formado principalmente por toba, escoria andesítica y basáltica y en menor proporción ceniza arenosa (Peralta 1975, Hildebrand-Vogel et al. 1990). El perfil del suelo del bosque en estudio posee un horizonte O_L de 1,5 cm de hojarasca y un O₂ de 3,5 cm de color café oscuro. El horizonte A₂ es de 17 cm, de color gris y con elevado contenido en raíces finas y gruesas, el horizonte B₂ es de 38 cm, de color marrón oscuro y un horizonte C por debajo de los 60 cm, formado por arena gruesa y grava, con escaso contenido de raíces. Las características químicas indican para el horizonte A: pH 5,8, C-total 4,6 %, N-total 0,22 %, C/N 21, P disponible 3 mg kg⁻¹, Na⁺ 20 mg kg⁻¹, K⁺ 71 mg kg⁻¹, Ca⁺² 158 mg kg⁻¹, Mg⁺² 34 mg kg⁻¹ (Godoy et al. 1999). En el área de estudio se identificó una microcuenca de 6 ha, donde se estableció una parcela experimental cuyo estrato arbóreo es dominado por *Nothofagus pumilio*, de una edad aproximada a 120 años. El sotobosque se caracteriza por la dominancia de *Drymis andina* (Reiche) R.A. Rodr. et Quez. y *Maytenus disticha* (Hook) Urban.

Ensayo de incubación in situ

En marzo de 1997, se recolectaron al azar hojas senescentes previa a la abscisión desde los árboles de *N. pumilio*. El material foliar de biomasa conocida y estándar se depositó en mallas de nylon ("litter bags") (300 cm², 1 mm² tamaño de trama) y se depositaron sobre la superficie de la capa de hojarasca. Se trasladaron tres mallas recién preparadas al laboratorio, con el fin de determinar los microhongos que colonizan las hojas en el árbol y que corresponden a los estados iniciales de la sucesión. Las restantes mallas se incubaron in situ para que la hojarasca continuara su proceso de descomposición natural, y se colectaron en triplicado cada tres meses (junio, septiembre, diciembre de 1997 y marzo de 1998). En cada oportunidad las muestras se procesaron inmediatamente en el laboratorio.

Aislamiento e identificación de microhongos

Para el aislamiento de los microhongos desde la hojarasca se utilizó el método de dilución en placa de Steubing et al. (en prensa). Diez gramos de hojarasca de cada malla se trataron individualmente para mezclar con 90 mL de agua destilada estéril para luego triturar en un omnimixer a

16.000 rpm por 20 min. A continuación se extrajo 1 mL de la suspensión y se depositó en un tubo que contenía 9 mL de agua destilada estéril. A partir de este tubo se hicieron diluciones seriadas hasta 10⁻⁷. Luego, 1 mL de cada dilución se sembró individualmente y por triplicado en agar extracto de malta Merck (AEM al 2 %), pH 5.5, con adición de sulfato de estreptomina (25 µg mL⁻¹) y sulfato de penicilina (50 µg mL⁻¹). Los cultivos se incubaron a 23 ± 2 °C por 15 días y las colonias que se desarrollaron se repicaron en AEM y se cultivaron bajo las mismas condiciones. Estas condiciones de cultivo fueron estándares para todos los ensayos. Para la identificación de las cepas fúngicas se confrontaron las características macro-microscópicas y culturales con los esquemas propuestos en distintas monografías. La taxonomía siguió a Domsch et al. (1980) para Moniliales, Ramírez (1982) para *Penicillium* sp., Raper & Fennell (1965) para *Aspergillus* sp., Rifai (1969) para *Trichoderma* sp., Ellis (1971, 1976) para hongos dematiáceos, Zycha et al. (1969) para Mucorales y a Barnett et al. (1990) para levaduras. Aquellos cultivos que no esporularon después de 1 mes de incubación se consideraron como micelios estériles.

Determinación enzimática cualitativa en microhongos aislados

Para la determinación cualitativa de las enzimas se seleccionaron 173 cepas, teniendo como criterio que el número elegido para cada taxón fuera proporcionalmente representativo al número total de cepas aisladas. A cada cepa se le determinaron por triplicado 11 enzimas involucradas en los procesos degradativos de los principales constituyentes de la hojarasca (almidón, celulosa, lignina, pectina y proteínas). Con la excepción de la determinación de proteasa y pectinasa, cada unas de las cepas se cultivaron a 23 °C por 14 días.

La detección de citocromo oxidasa, esterasa, fosfatasa, lacasa, peroxidasa y tirosinasa siguió los procedimientos de Taylor (1974) y Stalpers (1978). En el margen de colonias en AEM se agregaron 0.05 mL de soluciones indicadoras específicas y se observaron los cambios de color. De esta forma, la detección de citocromo oxidasa se realizó con una solución de tetrametil-p-fenilendiamina dihidrocloruro, para esterasa una solución de acetato α-naftol, para fosfatasa solución de α-naftol fosfato acuoso, para lacasa solución de α-naftol 0,1 M, para peroxidasa solución de H₂O₂ al 0,4 % y pirogalol al 1 % en partes iguales y para tirosinasa una solución de tirosina 0,1 M.

La detección de oxidasas extracelulares se determinó por el test de Bavendamm, en el cual las cepas se cultivaron en AEM al 2 % suplementado con ácido tánico al 0,5 %. La presencia de esta enzima es indicada por la aparición de un color café bajo o alrededor de la colonia.

Para la detección de amilasa, celulasa, proteasa y pectinasa se usaron las técnicas modificadas de Pochon & Tardieux (1965). Los medios de cultivos se prepararon utilizando reactivos Merck. Para amilasa las cepas se cultivaron en agar almidón al 2 %. Después de la incubación se agregó solución de yoduro al 1 %. Una zona clara alrededor de la colonia indica la presencia de enzimas amilolíticas. Para la detección de enzimas celulolíticas las cepas se cultivaron en agar celulosa al 2 %, donde el crecimiento de las cepas en este medio indica la posesión de enzimas celulolíticas. La producción de enzimas proteolíticas se determinó cultivando las cepas en tubos con medio gelatina al 12 %, incubando a temperatura ambiente por 14 días, donde la licuefacción del medio indica la presencia de proteasas. La actividad de pectinasa se determinó cultivando las cepas en tubos con medio pectina de manzana e incubando a temperatura ambiente por 14 días, período en el cual la fluidización de la pectina se considera indicador de enzimas pectinolíticas.

Para estimar los potenciales enzimáticos de cada grupo taxonómico, se calculó un porcentaje ponderado, considerando el número de cepas con actividad de una determinada enzima con respecto al total de cepas positivas para dicha enzima. Un procedimiento similar se desarrolló para estimar la variación estacional de cada potencial enzimático.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variación estacional de la micobiota

En la Tabla 1 se presenta el listado y abundancia de los taxa identificados de las hojas senescentes y en descomposición de *N. pumilio*. Se aislaron un total de 338 cepas, correspondientes a 74 taxa fúngicas. La micobiota de las hojas senescentes antes de su caída presentó el mayor número de taxa (33), sin observarse claras dominancias individuales. Los hongos incluyen a *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Epicoccum nigrum*, *Mortierella ramanniana* var. *angulisporea*, *Penicillium* sp., *Phialophora* grupo *hoffmannii* (A, B y C). Estas especies corresponderían a saprófitos primarios, categoría que incluye aquellos hongos que se encuentran en el follaje y que son los

colonizadores iniciales después de la abscisión (Stone et al. 1996, Frankland 1998). Una proporción de estos hongos aislados en *N. pumilio* ya se han reportado como saprófitos primarios desde el follaje de otras especies e.g., *C. cladosporioides* en *Nothofagus dombeyi* (Gamundi et al. 1987), *A. alternata* desde *Nothofagus truncata* (Ruscoe 1971) y *E. nigrum* en el follaje de *Acer saccharum* Marsh. (Kuter 1986). Estos microhongos poseen adaptaciones que les permiten enfrentar las condiciones desfavorables existentes en las superficies foliares, como la formación de esporas pigmentadas y multicelulares de *A. alternata* y *E. nigrum* y los microsclerocios de *C. cladosporioides* (Stone et al. 1996).

Las especies de *Phialophora* fueron un importante componente de la micobiota presente en las hojas senescentes de *N. pumilio*, donde *Ph.* grupo *hoffmannii* (A, B y C) fue el principal taxon. Esta alta proporción de *Phialophora* sp. en los estados pioneros, parece ser una particularidad de la sucesión en *N. pumilio*. Una situación similar sólo ha sido reportada por Frankland (1966), quien aisló a *Phialophora* sp. en el 30 % de los estipes de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.

La micocenosis de la hojarasca de 3 meses de edad (junio) fue dominada por *Aspergillus cervinus*, *Hormonema prunorum* y *Mortierella vinacea*, especies ausentes en las hojas senescentes. En la hojarasca de 6 meses (septiembre) la especie representativa fue *Trichoderma polysporum* y en menor grado *Trichoderma viride*, ambas ausentes en los estados pioneros de la sucesión. Sin embargo, *A. alternata*, *C. cladosporioides*, *E. nigrum*, *Ph.* grupo *hoffmannii* y *Trichoderma hamatum* son ejemplos de hongos que colonizan las hojas en el árbol y persisten después que éstas han tomado contacto con el piso del bosque (Frankland 1998).

La mayoría de los microhongos que con frecuencia se aislan del suelo alcanzaron sus mayores abundancias en la hojarasca incubada 12 meses, e.g., *Penicillium* y *Trichoderma*. De acuerdo a Hudson (1968), estos hongos se encuentran ampliamente distribuidos en suelos, particularmente en los substratos vegetales reducidos y/o parcialmente descompuestos. Aunque algunas especies de *Trichoderma* están presentes al inicio de la sucesión, la mayor contribución de este taxón se registró a los 6 meses de incubación in situ. *Trichoderma polysporum* presentó en septiembre su mayor abundancia relativa, mientras que *Trichoderma hamatum* y *Trichoderma longibrachiatum* lo hicieron a los 6 y 12 meses de incubación, respectivamente. Estos resultados son comparables a los obtenidos por Boois (1976) en la hojarasca de *Quercus petraea*, donde la mayo-

ría de los hongos del suelo se aislaron 6 meses después de incubadas las hojas en el suelo del bosque, alcanzando la mayor frecuencia *Trichoderma* sp. en la hojarasca de 1 año de edad.

El dominio de *Mortierella ramanniana* var. *angulispora* a los 9 meses de incubación concuerda con lo reportado en otras sucesiones fúngicas

(Boois 1976), donde los Mucorales son uno de los principales componentes de la micobiota que habita la hojarasca con un alto grado de descomposición, siendo infrecuente su aislamiento en tejidos vivos y hojarasca joven. En bosques de *Nothofagus dombeyi*, Gamundi et al. (1987) reportan a *Mucor circinelloides* entre los hongos

TABLA 1

Abundancia de especies (total de cepas) de hojas senescentes y hojarasca de *Nothofagus pumilio* (junio 1997-marzo 1998), Antillanca, Parque Nacional Puyehue

Abundance of species (total isolates) of senescent leaves and leaf litter of *Nothofagus pumilio* (June 1997-March 1998), Antillanca, Puyehue National Park

Especie/categoría	Número de cepas				
	Hojas senescentes	Junio 1997	Septiembre 1997	Diciembre 1997	Marzo 1998
Moniliales					
<i>Acremonium</i> sp.					2
<i>Acremonium roseolum</i>	2				
<i>Alternaria alternata</i> aggr.	3	4			9
<i>Arthrimum</i> , anamorfo de <i>Apiospora montagnei</i>	3			1	
<i>Arthrimum phaeospermum</i>	2				
<i>Aspergillus cervinus</i>		6			
<i>Aspergillus fumigatus</i>					2
<i>Aspergillus gracilis</i>	1				
<i>Aspergillus niger</i>	3	1	1		
<i>Beauveria bassiana</i>					1
<i>Cladosporium</i> sp.	2				
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	3		2	1	12
<i>Clonostachys rosea</i>				1	
<i>Geotrichum</i> sp.					1
<i>Hormonema prunorum</i>		11	4	3	5
<i>Lecythophora</i> sp. A	2				
<i>Lecythophora</i> sp. B		2			
<i>Lecythophora</i> sp. C		1		1	
<i>Malbranchea pulchella</i>	1				
<i>Penicillium canescens</i>	1			2	
<i>Penicillium chrysogenum</i>					5
<i>Penicillium commune</i>		4	1		
<i>Penicillium decumbens</i>					2
<i>Penicillium expansum</i>	1				
<i>Penicillium glabrum</i>		1	3		1
<i>Penicillium janthinellum</i>			1		1
<i>Penicillium para-herquei</i>		1			14
<i>Penicillium purpurogenum</i>	1				
<i>Penicillium raistrickii</i>			1		
<i>Penicillium</i> sp. serie <i>citrinum</i>		1			
<i>Penicillium</i> sp. serie <i>raistrickii</i>					5
<i>Penicillium</i> sp. serie <i>restrictum</i>				7	
<i>Penicillium simplicissimum</i>				1	
<i>Penicillium thomii</i>		1	2		
<i>Phialophora</i> grupo <i>hoffmannii</i> A	1	2	4		
<i>Phialophora</i> grupo <i>hoffmannii</i> B	2			4	
<i>Phialophora</i> grupo <i>hoffmannii</i> C	4				
<i>Phialophora lignicola</i>	1				
<i>Phialophora malorum</i>	1				
<i>Sclerotium</i> sp.					1
<i>Tolypocladium microsporum</i>					6

más frecuentes en la hojarasca de 2 años de edad. Probablemente, los Mucorales utilizaron compuestos carbonados simples, derivados de la acción sobre la hojarasca de hongos celulolíticos (e.g., *Arthrinium*, *Cladosporium*, *Trichoderma*) y ligninolíticos (e.g. *Hormonema prunorum* y

Phialophora). En substratos vegetales, géneros como *Absidia*, *Mortierella* y *Mucor* se definen como "hongos sacarolíticos" y usualmente se asocian a taxa descomponedoras de compuestos recalcitrantes, asimilando los subproductos de su degradación (Visser & Parkinson 1975).

TABLA 1
(continuación)

Especie/categoría	Número de cepas				
	Hojas senescentes	Junio 1997	Septiembre 1997	Diciembre 1997	Marzo 1998
<i>Trichoderma koningii</i>		3			
<i>Trichoderma hamatum</i>	2	3		3	2
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>			2		6
<i>Trichoderma polysporum</i>		5	20		14
<i>Trichoderma viride</i>			4		3
Mucorales					
<i>Mortierella nana</i>		3			
<i>Mortierella ramanniana</i> var. <i>angulispora</i>	3	5		11	6
<i>Mortierella vinacea</i>		7	3		
<i>Mucor hiemalis</i>			1		5
Melancoliales					
<i>Epicoccum nigrum</i>	3		2		1
<i>Truncatella truncata</i>			4		
Sphaeropsidales					
<i>Robillarda sessilis</i>			4		
Dothideales					
<i>Leptosphaerulina</i> sp.	1				
Eurotiales					
<i>Eurotium chevalieri</i>		1			
Sphaeriales					
<i>Gelasinospora retispora</i>	3	3			
Levaduras					
<i>Cryptococcus albidus</i>					1
<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	4				
Micelios estériles					
Micelio estéril A	1		2		
Micelio estéril B			3		
Micelio estéril C	2				
Micelio estéril D	2				
Micelio estéril E	2				
Micelio estéril F	1		1		
Micelio estéril G	1				
Micelio estéril H	1				
Micelio estéril I	1				
Micelio estéril J	1				
Micelio estéril K		1			
Micelio estéril L			1		
Micelio estéril M			1		
Micelio estéril N				1	
Micelio estéril O					1
Micelio estéril P					1

El género *Penicillium* fue un colonizador permanente de la hojarasca, presentando sus mayores abundancias a los 12 meses de incubación y cuyas poblaciones en los dos últimos trimestres fueron dominadas por *Penicillium* sp. serie *restrictum* y *P. para-herquei*. Al comparar otras sucesiones también se observa a *Penicillium* sp. en la hojarasca en avanzado estado de descomposición, a menudo junto a Mucorales y *Trichoderma* sp. (Frankland 1998). El rol de los Mucorales y *Penicillium* sp. en la hojarasca de *N. pumilio* sería el de saprófitos secundarios, cuya existencia se basa en su rápido crecimiento y capacidad para utilizar compuestos carbonados simples. Igualmente, pueden utilizar los productos derivados de la degradación de celulosa y lignina (Kuter 1986).

Los micelios estériles fueron importantes colonizadores de las hojas de *N. pumilio*, especialmente en las hojas senescentes y en la hojarasca de 6 meses de incubación. Ruscoe (1971) encontró altas frecuencias de hongos hialinos y dematiáceos estériles en el interior de hojas vivas, senescentes y hojarasca de *N. truncata*, sugiriendo que estos hongos pueden ser patógenos.

Potenciales enzimáticos

El estudio de las capacidades enzimáticas de los hongos que habitan la hojarasca, permite deter-

minar sus potenciales degradativos y proporciona una base fisiológica a la sucesión observada. En este sentido, la detección de enzimas en medios sólidos permite probar en forma rápida los potenciales degradativos de una gran cantidad de hongos y así comparar sus capacidades enzimáticas (Kjoller et al. 2000). En la Tabla 2 se comparan los potenciales enzimáticos de los grupos taxonómicos asociados a las hojas senescentes y hojarasca de *N. pumilio*. Los Moniliales exhibieron la mayor capacidad enzimática, mientras que la menor la presentaron Sphaeropsidales y levaduras. Estos resultados se corresponden con los informados por Gochenaur (1984) en su estudio enzimático de la micobiota en bosques de *Betula* y *Quercus*, donde Moniliales y *Penicillium* fueron los taxa más destacados. En el presente estudio los Moniliales presentaron los mayores potenciales para todas las enzimas ensayadas y se destaca como el único taxon que presentó actividad para esterasa. El potencial ligninolítico fue variable entre las taxa. Así, los micelios estériles presentaron altos potenciales para lacasa, oxidasa extracelular y peroxidasa. Por el contrario, dichas actividades fueron bajas o no se detectaron en *Penicillium* sp. y Mucorales.

En la Tabla 3 se muestran los potenciales de degradación enzimáticos de los 74 taxa. En los Moniliales las especies enzimáticamente más versátiles fueron *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Hormonema*

TABLA 2

Potenciales enzimáticos (porcentaje ponderado) de los grupos taxonómicos aislados desde hojas senescentes y hojarasca de *Nothofagus pumilio*, Antillanca, Parque Nacional Puyehue.

Enzymatic potentials (weighed porcentaje) of taxonomic groups isolated from senescent leaves and leaf litter of *Nothofagus pumilio*, Antillanca, Puyehue National Park

Taxa/categoría	Cepas ensayadas	Potencial enzimático (%)										
		Ami	Cel	Cit	Est	Fos	Lac	Oxi	Pec	Per	Pro	Tir
Deuteromycetes												
Moniliales	84	52,0	51,0	61,5	100	47,1	67,6	61,6	56,8	75,4	53,2	66,7
(- <i>Penicillium</i>)												
<i>Penicillium</i> spp.	31	21,3	21,4	11,5	0	0	0	4,1	21,1	7,3	19,0	0
Melancoliales	8	6,3	4,8	0	0	0	0	11,0	6,3	0	7,6	33,3
Sphaeropsidales	3	2,4	2,1	0	0	0	0	4,1	0	0	0	0
Micelios estériles	19	8,7	7,6	23,1	0	41,2	27,0	16,4	11,6	11,6	10,1	0
Levaduras	4	0,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Zygomycetes												
Mucorales	20	7,1	11,7	0	0	0	0	1,4	2,1	4,4	6,3	0
Ascomycetes	4	1,6	1,4	3,8	0	11,8	5,4	1,4	2,1	1,5	3,8	0
Total cepas	173	127	145	26	2	17	37	73	95	69	79	3

Ami = amilasa, Cel = celulosa, Cit = citocromo oxidasa, Est = esterasa, Fos = fosfatasa, Lac = lacasa, Oxi = oxidasa extracelular, Pec = pectinasa, Per = peroxidasa, Pro = proteasa, Tir = tirosinasa

prunorum, *Phialophora* grupo *hoffmannii* C y *Phialophora malorum*. Con respecto a *C. cladosporioides* la producción de proteasa, amilasa, pectinasa y oxidasa ha sido documentada por Domsch et al. (1980) y Kjøller & Struwe (1980). Sin embargo, el alto potencial celulolítico contrasta con lo señalado por Kjøller & Struwe (1980) al estudiar los potenciales enzimáticos de la micobiota asociada a hojas de *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn., donde no detectaron esta actividad en *C. cladosporioides*, mientras que en *Cladosporium herbarum* se restringió a cepas aisladas inmediatamente después de la caída de las hojas. Por su parte, Domsch et al. (1980) señalan que *C. cladosporioides* presenta una baja capacidad celulolítica. Referente a las cepas de *A. alternata* todas mostraron actividad para celulasa, lo cual concuerda con los resultados de Hogg & Hudson (1966), quienes observaron una alta actividad celulolítica en cepas de *Alternaria tenuis* (= *A. alternata*) aisladas desde hojas de *Fagus sylvatica*. Asimismo, se ha demostrado en especies de *Alternaria* la producción de amilasa, proteasa, pectinasa y oxidasa (Kjøller & Struwe 1980, Rosenbrock et al. 1995). Hongos como *A. alternata*, *C. cladosporioides* y *Hormonema prunorum* se pueden definir como generalistas (Gochenaur 1984) y con potencial para degradar los principales constituyentes de las hojas de *N. pumilio*, propiedad esencial para su persistencia a lo largo del estudio. Al respecto, Dilly & Irmiler (1998) encontraron que hongos con una pobre capacidad enzimática (ausencia de amilasa y proteasa) estaban presentes sólo en los primeros estadios sucesionales de la hojarasca de *Alnus glutinosa*.

Como se observa en la Tabla 3, en la mayoría de las especies de *Trichoderma* se determinaron potenciales enzimáticos para amilasa y celulasa, y en menor grado para las enzimas del complejo lignina, siendo *T. hamatum* la especie más versátil. El género *Trichoderma* es conocido por su capacidad para degradar la celulosa (Domsch et al. 1980, Singh & Steinke 1992), aunque también se ha demostrado la producción de amilasa, proteasa y pectinasa (Domsch et al. 1980).

Para *Penicillium* sp., los potenciales de amilasa, celulasa, pectinasa y proteasa fueron los más importantes, similar a lo obtenido por Gochenaur (1984). El potencial ligninolítico fue limitado, detectándose sólo una o dos enzimas en *Penicillium chrysogenum*, *P. commune*, *P. janthinellum*, *P. serie restrictum* y *P. thomii* y ausencia de esterasa, fosfatasa, lacasa y tirosinasa. Por su parte, los Mucorales utilizaron compuestos simples, principalmente almidón (todas las especies) y en menor grado pectina (*Mortierella*

vinacea y *Mucor hiemalis*). En contraste, el potencial para las enzimas del complejo lignina fue bajo, limitándose a las actividades de peroxidasa y oxidasa extracelular en algunas cepas de *M. ramanniana* var. *angulispora* y *M. hiemalis*, respectivamente. Esta baja capacidad ligninolítica de los Mucorales también se describe en los trabajos de Rosenbrock et al. (1995) y Kjøller & Struwe (1980). Rosenbrock et al. (1995) no detectaron actividad para lacasa en *Mucor* spp y *Rhizopus stolonifer*. A su vez, Kjøller & Struwe (1980) sólo detectaron oxidasas en cepas de *Mortierella* aisladas 7 meses después de la caída de las hojas. Por último, en el grupo de los micelios estériles, los más activos fueron el micelio dematiáceo B y los micelios blancos L y N. Todos ellos demostraron potencial ligninolítico, detectándose las actividades de lacasa, oxidasa extracelular y peroxidasa.

En la Fig. 1 se presenta la variación anual de los potenciales enzimáticos, donde la mayoría mostró un comportamiento similar durante el estudio. Todos los potenciales enzimáticos mostraron los más altos valores en las cepas aisladas de las hojas senescentes y una disminución los mismos en las cepas de junio. Esto concuerda con la fuerte disminución en el contenido de sustancias solubles y celulosa durante los primeros meses de descomposición de la hojarasca (Kjøller & Struwe 1980).

El almidón se encuentra contenido en la fracción soluble de las hojas y es rápidamente asimilado por las poblaciones microbianas. Asimismo, la utilización de celulosa va siempre acompañada por la capacidad de utilizar al menos pectina o almidón (Kjøller & Struwe 1980). El potencial de amilasa presentó la segunda más alta actividad, con valores entre 20,2 % en las cepas aisladas de las hojas senescentes y 9,3 % en las cepas aisladas en diciembre. Rosenbrock et al. (1995) también observaron una elevada actividad amilolítica durante la descomposición de la hojarasca de *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn., lo que para estos autores demuestra que esta enzima es común en los hongos que colonizan la hojarasca.

La mayor actividad enzimática detectada en las cepas fúngicas correspondió a celulasa, la que fluctuó entre 20,8 % en las cepas aisladas de las hojas senescentes y 11,6 % en las cepas aisladas en diciembre, comportamiento que concuerda con los resultados de Kjøller & Struwe (1980).

La producción de enzimas microbianas es afectada no sólo por la naturaleza química de la hojarasca y los requerimientos nutricionales de los microorganismos, sino también por condiciones ambientales (Kshatriya et al. 1992). Se ha demostrado que la actividad celulolítica está

TABLA 3

Potenciales enzimáticos de los 74 taxa fúngicas aisladas desde hojas senescentes y hojarasca de *Nothofagus pumilio*, Antillanca, Parque Nacional Puyehue

Enzymatic potentials of 74 fungal taxa isolated from senescent leaves and leaf litter of *Nothofagus pumilio*, Antillanca, Puyehue National Park

Especie/Categoría	Cepas ensayadas	Ami	Cel	Cit	Est	Fos	Lac	Oxi	Pec	Per	Pro	Tir
<i>Acremonium</i> sp.	1	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-
<i>Acremonium roseolum</i>	1	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>Alternaria alternata</i> aggr.	6	+	+	v	-	v	v	+	+	v	v	v
<i>Arthrinium</i> , anamorfo de <i>Apiospora montagnei</i>	3	+	+	-	-	-	v	-	v	v	v	-
<i>Arthrinium phaeospermum</i>	1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Aspergillus cervinus</i>	5	v	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	+	+	-	-	-	-	v	v	-	v	-
<i>Aspergillus gracilis</i>	1	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	3	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>Beauveria bassiana</i>	1	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-
<i>Cladosporium</i> sp	1	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	6	v	+	v	-	-	v	+	+	+	+	-
<i>Cryptococcus albidus</i>	1	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Epicoccum nigrum</i>	6	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	v
<i>Eurotium chevalieri</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Gelasinospora retispora</i>	2	v	v	-	-	+	v	-	v	v	+	-
<i>Geotrichum</i> sp.	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Clonostachys rosea</i>	1	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>Hormonema prunorum</i>	5	+	+	+	v	v	+	+	+	+	v	-
<i>Lecythophora</i> sp. A	2	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-
<i>Lecythophora</i> sp. B	1	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
<i>Lecythophora</i> sp. C	1	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Leptosphaerulina</i> sp	1	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-
<i>Malbranchea pulchella</i>	1	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Micelio estéril A	2	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-
Micelio estéril B	2	-	+	v	-	v	+	+	v	v	-	-
Micelio estéril C	1	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Micelio estéril D	1	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-
Micelio estéril E	1	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-
Micelio estéril F	2	-	+	-	-	v	+	v	v	v	-	-
Micelio estéril G	1	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-
Micelio estéril H	1	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Micelio estéril I	1	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Micelio estéril J	1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Micelio estéril K	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Micelio estéril L	1	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-
Micelio estéril M	1	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-
Micelio estéril N	1	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
Micelio estéril O	1	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Micelio estéril P	1	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
<i>Mortierella nana</i>	1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mortierella ramanniana</i> var. <i>angulispora</i>	12	v	v	-	-	-	-	-	-	v	v	-
<i>Mortierella vinacea</i>	3	+	+	-	-	-	-	-	v	-	-	-
<i>Mucor hiemalis</i>	4	v	+	-	-	-	-	v	v	-	+	-
<i>Penicillium canescens</i>	2	+	+	-	-	-	-	-	v	-	v	-
<i>Penicillium chrysogenum</i>	1	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-
<i>Penicillium commune</i>	3	+	+	v	-	-	-	-	+	+	v	-
<i>Penicillium decumbens</i>	1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Penicillium expansum</i>	1	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Penicillium glabrum</i>	4	+	+	-	-	-	-	-	v	-	+	-
<i>Penicillium janthinellum</i>	2	+	+	-	-	-	-	v	v	-	v	-

TABLE 3
(continuación)

Especie/Categoría	Cepas ensayadas	Ami	Cel	Cit	Est	Fos	Lac	Oxi	Pec	Per	Pro	Tir
<i>Penicillium para-herquei</i>	3	v	+	-	-	-	-	-	v	-	-	-
<i>Penicillium purpurogenum</i>	1	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Penicillium raistrickii</i>	1	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>Penicillium</i> sp. serie <i>citrinum</i>	1	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp. serie <i>raistrickii</i>	2	+	+	-	-	-	-	-	+	-	v	-
<i>Penicillium</i> sp. serie <i>restrictum</i>	5	+	+	-	-	-	-	-	v	v	v	-
<i>Penicillium simplicissimum</i>	1	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium thomii</i>	3	v	+	-	-	-	-	v	v	v	+	-
<i>Phialophora</i> grupo <i>hoffmannii</i> A	3	v	v	-	-	-	-	+	-	v	-	-
<i>Phialophora</i> grupo <i>hoffmannii</i> B	5	+	+	-	-	-	v	+	+	v	v	-
<i>Phialophora</i> grupo <i>hoffmannii</i> C	2	+	v	+	-	+	+	+	v	+	+	-
<i>Phialophora lignicola</i>	1	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-
<i>Phialophora malorum</i>	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Robillarda sessilis</i>	3	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Sclerotium</i> sp.	1	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-
<i>Tolypocladium microsporium</i>	1	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Trichoderma hamatum</i>	4	v	+	-	-	-	v	v	v	v	v	-
<i>Trichoderma koningii</i>	1	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	4	v	+	-	-	-	-	v	+	v	-	-
<i>Trichoderma polysporum</i>	14	v	+	-	-	-	v	-	v	+	v	-
<i>Trichoderma viride</i>	3	+	+	-	-	-	-	v	+	+	-	-
<i>Truncatella truncata</i>	2	+	v	-	-	-	-	+	-	-	-	-

(+): 100 % de las cepas son positivas; (v) menos del 90 % de las cepas son positivas; (-) todas las cepas son negativas

Ami = amilasa, Cel = celulasa, Cit = citocromo oxidasa, Est = esterasa, Fos = fosfatasa, Lac = lacasa, Oxi = oxidasa extracelular, Pec = pectinasa, Per = peroxidasa, Pro = proteasa, y Tir = tirosinasa

correlacionada positivamente con el contenido de humedad de la hojarasca (Kshattriya et al. 1992, Joshi et al. 1993). En esta línea, la menor actividad celulolítica observada en las cepas aisladas en diciembre (11,6 %) se corresponde con los resultados de Rosenbrock et al. (1995) quienes observan una disminución de la actividad de celulasa en verano, atribuido a la menor humedad ambiental.

La variación experimentada por el potencial de pectinasa es similar a la reportada por Kjølner & Struwe (1980) y Rosenbrock et al. (1995) en *Alnus glutinosa*. En efecto, la disminución del potencial desde el máximo en las cepas aisladas en las hojas senescentes (13,9 %) a junio (8,7 %), indica la degradación inicial de la fracción péctica. Por su parte, el aumento del potencial en las cepas aisladas en septiembre y marzo sugiere la degradación tardía de fracciones pécticas resistentes a la descomposición.

La variación en el potencial de proteasa es similar a la registrada por Kjølner & Struwe (1980) y Rosenbrock et al. (1995) e indicaría la existencia de dos fracciones proteicas en la hojarasca. La disminución de la actividad proteolítica en las

cepas aisladas en junio apunta a la reducción de una fracción soluble. Por su parte, el incremento de la actividad en las cepas aisladas en septiembre indicaría la descomposición tardía de proteínas insolubles (Rosenbrock et al. 1995).

La lignina es el compuesto aromático más abundante en la naturaleza y es probablemente el más recalcitrante. Su resistencia a la degradación es consistente con sus funciones de dar rigidez a las plantas vasculares y proteger sus polisacáridos estructurales (celulosa y hemicelulosa) de las enzimas degradativas. Ya que es un polímero muy ramificado, los mecanismos ligninolíticos deben ser extracelulares. Igualmente, la presencia de enlaces estables éster y carbono-carbono, indica que estos mecanismos deben ser oxidativos más que hidrolíticos. Además, la lignina es insoluble en agua, lo cual limita su biodisponibilidad a los agentes ligninolíticos y determina que la ligninólisis sea un proceso lento (Hammel 1997). En el presente estudio las enzimas ligninolíticas detectadas más importantes fueron oxidasa extracelular y peroxidasa, las cuales mostraron los mayores índices en las cepas aisladas de las hojas senescentes y en septiembre. Al respecto,

Kjøller & Struwe (1980) en *Alnus glutinosa*, también reportan una importante población de hongos productores de oxidasas extracelulares en los estados pioneros de la sucesión.

El potencial de lacasa fue menor, con un máximo en las cepas aisladas de las hojas vivas (6,9 %). Estudios cuali-cuantitativos han determinado una baja actividad de lacasas en la microbiota aislada de la hojarasca. Rosenbrock et al. (1995) observaron un bajo porcentaje de cepas con potencial de lacasa, con un máximo cercano al 14 %

en la hojarasca de 4 meses de edad. Por su parte, Criquet et al. (1999), mediante una metodología que consideró la extracción y cuantificación de la actividad de lacasas en la hojarasca de *Quercus ilex* L., determinaron que estas enzimas se encontraban en muy bajas concentraciones.

El potencial de citocromo oxidasa fue bajo en todos los muestreos, fluctuando entre 4,1 y 2,3 % en las cepas aisladas en las hojas senescentes y aquellas aisladas en diciembre, respectivamente. La actividad de fosfatasa fue mayor en los hongos

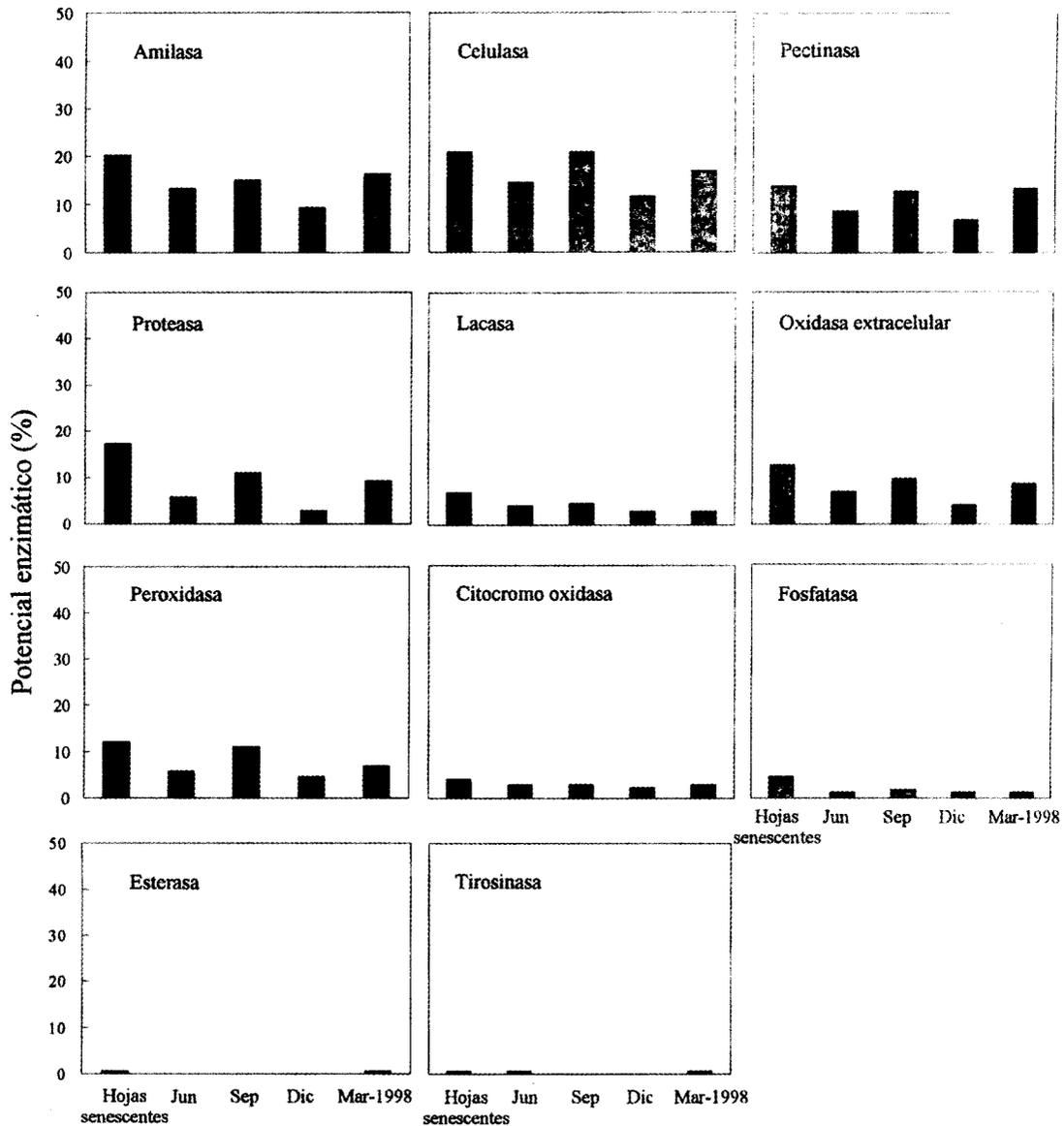


Fig. 1: Porcentaje de cepas microfungias con potenciales de degradación enzimáticos durante la descomposición de la hojarasca de *Nothofagus pumilio*, Antillanca, Parque Nacional Puyehue. El porcentaje se calculó en relación al total de cepas ensayadas (173).

Percentage of microfungial isolates with enzymatic degradation potentials during the decomposition of *Nothofagus pumilio* leaf litter, Antillanca, Puyehue National Park. The percentage was calculated in relation to the total number of tested isolates (173).

aislados al inicio de la sucesión (4,1 %), manteniéndose el resto del año con valores bajo el 3 %. El potencial de esterasa presentó sólo un 0,6% en las cepas aisladas en hojas senescentes y marzo, mientras que el potencial de tirosinasa presentó igual porcentaje en las cepas aisladas en las hojas senescentes y aquellas aisladas en la hojarasca incubada por 3 y 12 meses, respectivamente. La débil actividad de tirosinasa está de acuerdo con los resultados de Criquet et al. (1999), quienes no detectaron esta enzima en la hojarasca de *Quercus ilex*.

Durante el curso de la degradación de la hojarasca diferentes grupos de microorganismos interactúan de forma compleja (Kjøller et al. 2000). Al analizar la diversidad de la micobiota en conjunto con sus actividades enzimáticas es una forma de conocer no sólo como varía la estructura de la comunidad microfúngica durante el proceso de descomposición, sino también la función de las poblaciones microbianas del suelo. Los resultados de este estudio muestran que a lo largo de la degradación de la hojarasca de *N. pumilio* se producen cambios en la composición de la comunidad microfúngica, lo cual se refleja en las variaciones de las actividades enzimáticas. No obstante, sólo al estudiar los potenciales enzimáticos en concomitancia con los cambios de los componentes químicos de la hojarasca (e.g. sustancias solubles, celulosa y lignina) permitirá explicar en mejor forma la sucesión en la comunidad fúngica.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por los proyectos FONDECYT 1970707 y DID-UACH 200013. Deseamos agradecer al Club Andino Antillanca y a la Corporación Nacional Forestal (X Región) por el apoyo logístico y autorización otorgadas y al Sr. Nicolás Pacheco, guardaparques de CONAF, por su valiosa asistencia en terreno. Se agradece los comentarios críticos de dos revisores anónimos que permitieron mejorar substancialmente la presentación del manuscrito.

LITERATURA CITADA

- BARNETT JA, RW PAYNE & D YARROW (1990) Yeasts: characteristics and identification. Second edition. Cambridge University Press, Cambridge, England. 1002 pp.
- CRIQUE T S, S TAGGER, G VOGT, G IACAZIO & J LE PETIT (1999) Laccase activity of forest litter. *Soil Biology & Biochemistry* 31: 1239-1244.
- DE BOOIS HM (1976) Fungal development on oak leaf litter and decomposition potentialities of some fungal species. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol* 13: 437-448.
- DI CASTRI F & ER HAJEK (1976) Bioclimatología de Chile. Vicerrectoría Académica, Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 128 pp.
- DILLY O & U IRMLER (1998) Succession in the food web during the decomposition of leaf litter in a black alder (*Alnus glutinosa* L. (Gaertn.)) forest. *Pedobiologia* 42: 109-123.
- DOMSCH KH, W GAMS & TH ANDERSON (1980) Compendium of soil fungi. Vol. I. Academic Press Ltd., London, England. 859 pp.
- ELLIS MB (1971) Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England. 608 pp.
- ELLIS MB (1976) More dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England. 507 pp.
- FRANKLAND JC (1966) Succession of fungi on decaying petioles of *Pteridium aquilinum*. *Journal of Ecology* 54: 41-63.
- FRANKLAND JC (1998) Fungal succession-unravelling the unpredictable. *Mycological Research* 102: 1-15.
- GAMUNDI IJ, AM ARAMBARRI & HA SPINEDI (1987) Sucesión fúngica en la hojarasca de *Nothofagus dombeyi*. *Revista del Museo de La Plata, Sección Botánica (Argentina)* 14: 89-116.
- GOCHENAUR SE (1984) Fungi of a Long Island oak-birch forest. II. Population dynamics and hydrolase patterns for the soil penicillia. *Mycologia* 76: 218-231.
- GODEAS AM, AM ARAMBARRI, IJ GAMUNDI & HA SPINEDI (1985) Descomposición de la hojarasca en el bosque de lenga (*Nothofagus pumilio*). *Ciencia del Suelo* 3: 68-77.
- GODOY R, C OYARZÚN & J BAHAMONDES (1999) Flujos hidroquímicos en un bosque de *Nothofagus pumilio* en el Parque Nacional Puyehue, sur de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 72: 579-594.
- HAMMEL KE (1997) Fungal degradation of lignin. En: Cadisch G & KE Giller (eds) *Driven by nature: plant litter quality and decomposition*: 33-45. Commonwealth Agricultural Bureaux International, Wallingford, England.
- HILDEBRAND-VOGEL R, R GODOY & A VOGEL (1990). Subantarctic-Andean *Nothofagus pumilio* forest. *Vegetatio* 89: 55-68.
- HOGG BM & HJ HUDSON (1966) Micro-fungi on leaves of *Fagus sylvatica*. *Transactions of the British Mycological Society* 49: 185-192.
- HUDSON HJ (1968) The ecology of fungi on plant remains above the soil. *The New Phytologist* 67: 837-874.
- JENSEN V (1974) Decomposition of angiosperm tree leaf litter. En: Dickinson CH & CJF Pugh (eds) *Biology of plant litter decomposition I*: 69-104. Academic Press, London, England.
- JOSHI SR, GD SHARMA & RR MISHRA (1993) Microbial enzyme activities related to litter decomposition near a highway in a sub-tropical forest of north east India. *Soil Biology & Biochemistry* 25: 1763-1770.

- KJØLLER A & S STRUWE (1980) Microfungi of decomposing red alder leaves and their substrate utilization. *Soil Biology & Biochemistry* 12: 425-431.
- KJØLLER A, M MILLER, S STRUWE, V WOLTERS & A PFLUG (2000) Diversity and role of microorganisms. En: Schulze ED (ed) *Carbon and nitrogen cycling in European forest ecosystems*: 382-402. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- KSHATTRIYA S, GD SHARMA & RR MISHRA (1992) Enzyme activities related to litter decomposition in forests of different age and altitude in north east India. *Soil Biology & Biochemistry* 24: 265-270.
- KUTER GA (1986) Microfungal populations associated with the decomposition of sugar maple leaf litter. *Mycologia* 78: 114-126.
- PERALTA P (1975) Tipificación de algunos suelos en algunas formaciones botánicas de la Cordillera de los Andes. *Boletín Técnico de la Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Chile* 31: 44-50.
- POCHON J & P TARDIEUX (1965) Técnicas de análisis en microbiología de suelo. Editorial Técnica e Investigación, Burgos, España. 116 pp.
- RAMIREZ C (1982) *Manual and atlas of the Penicillia*. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, The Netherlands. 874 pp.
- RAPER KB & DIFENNELL (1965) *The genus Aspergillus*. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, Maryland. 686 pp.
- RIFAI MA (1969) A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers* 116: 1-56.
- ROSENBRÖCK P, F BUSCOT & JC MUNCH (1995) Fungal succession and changes in the fungal degradation potential during the initial stage of litter decomposition in a black alder forest (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.). *European Journal of Soil Biology* 31: 1-11.
- RUSCOE QW (1971) Mycoflora of living and dead leaves of *Nothofagus truncata*. *Transactions of the British Mycological Society* 56: 463-474.
- SALAZAR A (1998) Aporte y velocidad de descomposición de la hojarasca en bosque de lenga (*Nothofagus pumilio* (Poepp. Et Endl.) Krasser), Antillanca, 40° S. Tesis de Ingeniería Forestal, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. 93 pp.
- SCHINNER F & R SONNLEITNER (1996) *Bodenökologie: Mikrobiologie und Bodenenzymatik*. Springer, Berlin, Germany. 450 pp.
- SINGH N & TD STEINKE (1992) Colonization of decomposing leaves of *Bruguiera gymnorrhiza* (Rhizophoraceae) by fungi, and in vitro cellulolytic activity of the isolates. *South African Journal of Botany* 58: 525-529.
- STALPERS JA (1978) Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture. *Studies in Mycology* 16: 1-248.
- STEBUBING L, R GODOY & M ALBERDI (2001) *Métodos de ecología vegetal*. Editorial Universitaria S.A., Santiago, Chile. 350 pp.
- STONE JK, MA SHERWOOD & GC CARROLL (1996) Canopy microfungi: function and diversity. *Northwest Science* 70: 37-45.
- TAYLOR TB (1974) Biochemical tests for identification of mycelial cultures of Basidiomycetes. *Annals of Applied Biology* 78: 113-123.
- VEBLEN TT, C DONOSO, T KITZBERGER & AJ REBERTUS (1996) Ecology of southern Chilean and Argentinian *Nothofagus* forests. En: Veblen TT, RS Hill & J Read (eds) *The ecology and biogeography of Nothofagus forests*: 293-353. Yale University Press, New Haven, Connecticut.
- VISSER S & D PARKINSON (1975) Fungal succession on aspen poplar leaf litter. *Canadian Journal of Botany* 53: 1640-1651.
- WATSON ES, DC McCLURKIN & MB HUNEYCUTT (1974) Fungal succession on loblolly pine and upland hardwood foliage and litter in north Mississippi. *Ecology* 55: 1128-1134.
- ZYCHA H, R SIEPMANN & G LINNEMANN (1969) *Mucorales*. Verlag von J. Cramer, Lehre, Germany. 355 pp.

Editor Asociado: L. Corcuera

Recibido el 18 de abril de 2000; aceptado el 21 de junio de 2001