

# HONGOS AISLADOS DESDE SEDIMENTOS DEL LAGO RIÑIHUE Y AFLUENTES, X REGION (CHILE)

(Fungi isolated from sediments of Riñihue lake and tributary, X Region (Chile) )

Eduardo Valenzuela, Claudio Santibañez,  
Sergio Leiva & Hector García.

Instituto de Microbiología. Facultad de Ciencias,  
Universidad Austral de Chile Casilla 167, Valdivia, Chile.

**Palabras clave:** hongos, taxonomía, actividad enzimática, sedimentos acuáticos.

**Key word:** fungi, taxonomy, enzymatic activities, aquatic sediments.

## RESUMEN

Se realizó un estudio taxonómico y enzimático cualitativo de hongos aislados desde sedimentos del lago Riñihue, seis tributarios (Laboratorio, Quilahuentru, Riñihue, La Peña, Remehue y Triu-triu) y un efluente del río San Pedro. En estos lugares se tomaron muestras a profundidades de 1 a 205 m, dependiendo de la estación de muestreo. Los sedimentos se procesaron por el método de las diluciones seriadas y se sembraron en AEM al 2%. Las cepas aisladas se identificaron taxonómicamente y se determinó la actividad de enzimas de interés lignocelulolítico. Se aislaron 82 cepas, correspondientes a 30 géneros, 37 especies y 2 micelios estériles; todas correspondieron a hongos de origen terrestre. Se aislaron por primera vez en Chile, las especies *Aspergillus brunneo-uniseriatus*, *Chaunopycnis alba*, *Eupenicillium euglaucum*, *Eupenicillium javanicum*, *Pseudeurotium zonatum*. Del total de cepas aisladas 73 presentaron potenciales enzimáticos para celulasa, 55 para enzimas del complejo lignina, 26 para proteasa y 34 para amilasa. Entre las enzimas del complejo lignina, citocromo oxidasa se presentó la mayor cantidad de cepas positivas (40) y tirosinasa la menor (4 cepas). *Fusarium oxysporum* presentó el mayor potencial lignolítico, pues fue positivo para todas las enzimas del complejo lignina.

## INTRODUCCION

Desde agua y sedimento de diferentes sistemas dulceacuícolas del mundo se han realizado estudios para determinar los hongos presentes, su distribución y rol ecológico. Mishra (1995), al analizar la distribución de hongos del lago Gujar en India, determinó que presentaban una distribución agregada y que las formas fúngicas

## SUMMARY

A taxonomic and enzymatic qualitative study on fungi isolated from 6 tributary of Riñihue lake (Laboratorio, Quilahuentru, Riñihue, La Peña, Remehue and Triu-triu) and from an effluent of San Pedro river was performed. In this places, sediment samples were collected at depths from 1 to 205 m, depending on the sampling station. Sediments were processed by the method of series of dilution and fungi were isolated in AEM 2% media. Strains isolated were identified taxonomically and their lignocellulolytic enzymes determined. Eighty two strains were isolated, belonging to 30 genera, 37 species and 2 sterile mycelia, typical of terrestrial fungi. The following species were isolated for the first time in Chile *Aspergillus brunneo-uniseriatus*, *Chaunopycnis alba*, *Eupenicillium euglaucum*, *Eupenicillium javanicum*, *Pseudeurotium zonatum*. Out of the whole 73 strains isolated, all of them revealed enzymatic potentials for cellulase, 55 for enzymes of the lignin complex, 26 for protease and 34 for amylase. Among the enzymes of the lignin complex, cytochrome oxidase showed the greatest number of positive strains (40 strains) while tyrosinase the smallest (4 strains). *Fusarium oxysporum* exhibited the highest lignolytic potential since it turned out to be positive for all the enzymes of the lignin complex.

dematiáceas y cleistoteciales dominaban sobre las micro-nematosas, aislandose: *Alysidium* sp, *Arthrinium phaeospermum*, *Gliomastix murorum*, *Thermomyces* sp, *Varicosporium elodae*, *Thielavia terricola* y *Westerdykella multisporea*. Quinn (1984), estudió la distribución espacial de los hongos en sedimentos del lago Lough Neagh en Irlanda y determinó que dominaban los hongos pertenecientes a los géneros *Aspergillus*,



*Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* y *Saprolegnia*, además de una gran cantidad de **Sphaeropsidales**. En cuanto a la distribución vertical en el sedimento, la mayor cantidad de hongos se situó en los dos primeros centímetros. En Chile se han realizado escasos trabajos micológicos de aguas continentales. Burgos y Riffart (1982), entregaron una lista de 17 hongos acuáticos y 4 especies terrestres, aislados desde material orgánico muerto colectado en ríos y lagos de la Provincia de Osorno; entre los hongos terrestres aislaron *Circinella rigida*, *Fusarium* sp y *Mucor* sp. Por su parte, Burgos & Castillo (1986), compararon dos sectores del río Damas (Osorno), con aguas limpias y contaminadas para determinar la diversidad de **Hyphomycetes** acuáticos que colonizaban las hojas de sauce; concluyendo que las condiciones de contaminación orgánica del río Damas son limitantes para el desarrollo de los **Hyphomycetes**. Piontelli et al. (1983), estudiaron la distribución de **Hyphomycetes** en el estero Limache, un afluente del río Aconcagua y su relación con algunas variables medioambientales, aislando especies fúngicas terrestres de los géneros *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Trichoderma* e **Hyphomycetes** acuáticos como *Alastopora acuminata*, *Flagelospora penicillioides*, *Tetracladium marchalianum* y *Tricelophorus monosporus*.

Como una forma de aportar al conocimiento de los hongos que se encuentran en los cuerpos de agua a nivel nacional, se planteó aislar y determinar taxonómicamente los hongos que colonizan sedimentos del Lago Riñihue, seis tributarios y un efluente en la X Región de Chile. Además, determinar cualitativamente los potenciales enzimáticos de las cepas fúngicas aisladas.

## MATERIALES Y METODOS

### 1.- Recolección de muestras de sedimentos:

En Diciembre de 1997, se recolectaron mediante una draga Emery, muestras de sedimento en tres sectores (Comohue, Desague y Trilahue) del lago Riñihue X Región de Chile (39°50'S 72°20'W) a las profundidades de 15 a 205 m. También se recolectaron muestras de sedimento a 1 m de profundidad desde 6 afluentes (arroyos: Laboratorio, Quilahuentru y Riñihue y esteros: La Peña, Remehue y Triu-Triu) y del efluente, río San Pedro. Las muestras de 200 g de sedimento se depositaron individualmente en botellas estériles y se llevaron de inmediato al Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile para su procesamiento.

### 2.- Obtención de cultivos fúngicos e identificación taxonómica:

Se pesaron 10 g de cada una de las muestras de sedimento (por triplicado e individualmente) y se depositaron en matraces con 100 mL de agua estéril del lugar de

muestreo, luego de agitación a 1.500 rpm en un agitador orbital por 25 min se realizaron diluciones seriadas. Utilizando la técnica de vertido en placa, 1 mL de cada dilución se sembró individualmente y por triplicado en placas Petri con agar extracto de malta al 2% (AEM 2%), adicionado de estreptomicina (25 µg mL<sup>-1</sup>) y penicilina (50 µg mL<sup>-1</sup>). Las placas sembradas se incubaron a 22 ± 2 °C por 15 días; las colonias que se desarrollaron, se repicaron en tubos que contenían AEM al 2 % sin antibióticos y se cultivaron bajo las mismas condiciones. La pureza de los cultivos se determinó mediante observación microscópica. Los cultivos puros obtenidos se conservaron en cámara fría a 4°C hasta su identificación. Para la determinación taxonómica las cepas fúngicas se sembraron en placas con AEM al 2 % e incubaron a 22 ± 2°C hasta por 30 días. De acuerdo a los criterios de Stalpers (1978), se registró el tamaño, textura y color de las colonias. La caracterización microscópica se realizó mediante preparaciones en fresco, utilizando H<sub>2</sub>O destilada y lactofenol como líquidos de montaje. Para la identificación de las cepas hasta nivel genérico, se confrontaron las características macro-microscópicas observadas con los esquemas propuestos por von Arx (1981). Para determinar las especies se utilizaron distintas monografías, entre otras: Barnett et al. (1990), para levaduras; Ellis (1971 y 1976) para hongos Dematiaceos; Ramírez (1982) para *Penicillium*; Raper & Fennell (1965) para *Aspergillus*; Rifai (1969) para *Trichoderma* y Zycha et al. (1969) para Mucorales.

### 3.- Determinación enzimática cualitativa de cepas fúngicas:

En cada una de las cepas obtenidas en cultivo puro, se determinaron en forma individual 8 enzimas. Para la detección de citocromo oxidasa, lacasa (1 y 2), peroxidasa y tirosinasa se siguió el procedimiento descrito por Stalper (1978); para ello el micelio de la cepa en estudio se sembró por triplicado en placas Petri con AEM 2%, tras lo cual se incubaron a 25 °C por 14 días. Transcurrido el período de incubación, se detectaron las enzimas depositando en el margen de las colonias 0.05 mL de las soluciones indicadoras y se observaron los cambios de color. Citocromo oxidasa se detectó con el reactivo tetrametil-p-fenildiamina hidrógeno clorhídrico disuelto en solución acuosa de ácido ascórbico. Lacasa (1) se detectó con α-naftol 0.1 M en etanol al 96%. Lacasa (2) con benzidina 0.1 M en etanol 96%. Peroxidasa con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 0.4% y pirogallol al 1% en partes iguales y tirosinasa con reactivo tirosina 0.1 M en etanol al 96%. Para la detección de amilasa, celulasa y proteasa se utilizaron las técnicas modificada de Pochon & Tardieux (1965). Para amilasa las cepas se cultivaron en agar almidón al 2 %, tras el período de incubación se agregó al cultivo solución de lugol al 1%, un color marrón alrededor o bajo la colonia indica la presencia de la enzima.



Para la detección de celulasa las cepas se cultivaron en agar celulosa al 2%, el crecimiento del hongo en el medio de cultivo indica la producción de la enzima. La proteasa se detectó cultivando las cepas en tubos con medio gelatina al 12 %, incubados a temperatura ambiente por 14 días, la licuefacción del medio indica la presencia de la enzima.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Se aislaron un total de 82 cepas, las cuales se agruparon en 49 taxa fúngicas y 2 micelios estériles. El mayor número de cepas fúngicas (44) y la mayor diversidad de taxa (35) se determinaron en las muestras de sedimentos recolectadas en el lago Riñihue y el menor número de cepas fúngicas (2) y la menor diversidad (2) se determinaron en las muestras de sedimentos recolectadas en los afluentes estero La Peña y estero Triu-Triu (Tabla 1). Esto podría deberse a que durante la época de muestreo no ocurre el proceso de inversión de las aguas y tampoco existe un aporte significativo de agua por deshielo de nieve.

Taxonómicamente la mayoría de los hongos aislados pertenecen a los denominados hongos mitospóricos (21 géneros), la minoría a *Ascomycota* (5 géneros) y *Zigomycota* (4 géneros). El mayor número de cepas (17) pertenecen al género *Penicillium* seguido de los géneros *Phoma* (9), *Acremonium* (7), *Trichoderma* (5), *Aspergillus* (4), *Cylindrocarpon* (4) y *Mortierella* (4). Estos resultados taxonómicos semejan parcialmente a los de Quinn (1984), en lo que respecta a la dominancia de hongos mitospóricos, quien al estudiar muestras de sedimentos del lago Lough Neagh en Irlanda, determinó que dominaban los hongos de los géneros *Penicillium* seguido de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Saprolegnia* y *Sphaeropsidales*. Los resultados del presente estudio difieren de lo informado por Quinn (1984), en lo que respecta a *Saprolegnia* y *Sphaeropsidales*, el primero de ellos no fue aislado y los últimos se aislaron en baja frecuencia, estando representado sólo por 5 de los 21 géneros de hongos mitospóricos; *Chaunopycnis*, *Microsphaeropsis*, *Myrothecium*, *Phoma* y *Truncatella*.

Los resultados obtenidos también difieren de los de Mishra (1995), quien tras analizar la distribución de hongos del lago Gujar en India determinó que las formas fúngicas dematiáceas y cleistoteciales dominaban sobre las micronematosas. En el presente estudio, si bien se aislaron algunos dematiáceos, por ejemplo *Cladosporium*, *Mammaria*, *Scytalidium* y *Truncatella*, éstos no dominaron y en lo que respecta a las formas cleistoteciales del total de taxa, sólo se aislaron especies pertenecientes a 5 géneros, *Chaetomium*, *Eupenicillium*, *Pseudeurotium*, *Westerdykella* y *Talaromyces*. Por otra parte, los resultados obtenidos en el presente estudio sólo se pueden comparar parcialmente con algunos trabajos semejantes reali-

Tabla 1. Cepas fúngicas aisladas desde muestras de sedimentos del lago Riñihue, seis afluentes y un efluente

TAXA	Número de cepas							
	LR	AL	AQ	AR	EP	ER	ET	RS
<i>Absidia cylindrospora</i>	2	0	0	0	0	0	0	0
<i>Acremonium bisepalum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Acremonium tubakii</i>	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Acremonium</i> spp.	3	2	0	0	0	0	0	0
<i>Arthrinium phaeospermum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>A. brassicae-rubens</i>	2	0	0	0	0	0	0	0
<i>A. viride-nutans</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Budleria pseudointiba</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chaetomium globosum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chaunopycnis alba</i>	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Clad. cladosporioides</i>	1	1	0	0	0	0	0	1
<i>Cylind. destructans</i>	0	0	1	1	0	1	0	1
<i>Erenomyces langeronii</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eupenicillium javanicum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eupenicillium euglaucum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fusarium oxysporum</i>	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Gongronella butleri</i>	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Heteroconium chaetosporum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mammarius echinobotryoides</i>	2	0	0	0	0	0	0	0
<i>Microsphaeropsis</i> sp.	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Mortierella nana</i>	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Mortierella vinacea</i>	1	0	0	0	0	1	0	0
<i>Myrothecium noronhai</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Paecilomyces farinosus</i>	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Penicillium expansum</i>	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Penicillium parvum-herpici</i>	3	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium verrucosum</i>	1	0	0	0	0	0	1	0
<i>Pen. serie Atro-sanguineum</i>	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Pen. serie Citrinum</i>	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Pen. serie Herpici</i>	1	0	0	1	0	0	0	0
<i>Pen. serie Janthinellum</i>	1	0	0	0	0	1	0	0
<i>Pen. serie Purpureogenum</i>	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Pen. serie Raistrickii</i>	1	0	0	1	0	0	0	0
<i>Pen. serie Restrictum</i>	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Pen. serie Thomii</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Phoma</i> spp.	2	4	1	0	0	1	1	0
<i>Pseudeurotium zonatum</i>	2	0	0	0	0	0	0	0
<i>Scopulariopsis</i> sp.	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Scytalidium lignicolum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Talaromyces flavus</i>	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Trichoderma humatum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Trichoderma koningii</i>	1	0	1	0	0	0	0	0
<i>Trichoderma polysporum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Trichoderma viride</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Trichosporon pulchellum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Truncatella angustata</i>	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Westerdykella multidispora</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Zygorhynchus heterogamus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
Micelios estériles	1	0	0	0	0	1	0	0
Total de cepas	44	11	7	5	2	5	2	6

LR = lago Riñihue (Comohue, Desague y Trilahue). AL = arroyo Laboratorio, AQ = arroyo Quilahuentru, AR = arroyo Riñihue, EP = estero La Peña, ER = estero Remehue, ET = estero Triu-Triu, RS = río San Pedro.



zados a nivel nacional y local, pues son escasos los trabajos específicos sobre hongos aislados desde sedimentos de lagos. Si se compara el número (49 taxa en total) y la diversidad fúngica determinada en el presente estudio con lo indicado por Burgos & Riffart (1982), para los hongos aislados (21 taxa) desde material orgánico muerto (madera, hojas, insectos) colectados en ríos y lagos de la Provincia de Osorno existen amplias diferencias. Además, sólo 4 de los 21 taxa aislados por Burgos & Riffart (1982) son consideradas como típicas de suelo, lo que es inverso a los resultados del presente estudio donde todas las taxa aisladas se consideran típicas de suelo. Al comparar los resultados del presente estudio con el de Burgos & Castillo (1986), se llega a conclusiones semejantes.

En lo que respecta a algunos de los taxa determinados en esta investigación, los resultados concuerdan con lo indicado por Piontelli *et al.* (1983), quienes estudiaron la distribución de Hyphomycetes en el estero Limache, estos autores, aislaron especies fúngicas terrestres pertenecientes a los géneros *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Trichoderma*.

Desde una perspectiva taxonómica es importante hacer notar que por primera vez se aislaron en Chile las especies, *Aspergillus brunneo-uniseriatus*, *Chaunopycnis alba*, *Eupenicillium euglaucum*, *Eupenicillium javanicum*, *Pseudeurotium zonatum*, cuyas características principales se indican a continuación.

***Aspergillus brunneo-uniseriatus*** Singh & Bakshi: de esta especie se aislaron dos cepas desde los sedimentos recolectados a 160 y 205 m de profundidad respectivamente, en el Lago Riñihue. Las cepas en AEM al 2% a los 7 días de cultivo forman colonias de 7 mm de diám., de color azul-verdoso oscuro y el margen blanco-grisáceo. Textura flocosa. Reverso amarillo pálido. Conidióforos sobre 200  $\mu$ m de largo y 2.6  $\mu$ m de diám., lisos, septados y se originan desde el sustrato. Vesícula aspergilar de 7,8 - 10  $\mu$ m de diám., subglobosa, lisa, hialina. Fiálides de 7,8 - 9  $\mu$ m, uniseriadas, lisas, hialinas. Conidios de 3 - 4  $\mu$ m de diám., equinulados de color verde.

De acuerdo a Raper & Fennell (1965) *A. brunneo-uniseriatus* pertenece al grupo Ornatus (Subgénero Ornati) por sus cabezas conidiales radiales de color azul-verdoso, conidióforos lisos y fiálides uniseriadas. La especie se caracteriza por el color azul-verdoso de la colonia, por la disposición de las fiálides y por sus conidios fuertemente equinulados.

***Chaunopycnis alba*** von Arx: de esta especie se aisló una cepa desde el sedimento recolectado a 1 m de profundidad en la estación de muestreo estero La Peña. La cepa en AEM al 2% a los 14 días de cultivo forma colonias

de 60 mm de diám., de color blanco. Textura aterciopelada con escaso micelio aéreo y en la superficie con desarrollo de paquetes de hifas entrelazadas en forma de esclerocios de 82 - 300  $\mu$ m de diám. Fiálides de 6,5 - 7,8 x 2,6 - 3  $\mu$ m, lisas, hialinas. Conidios de 1,5-2 x 2-2,6  $\mu$ m, ovalados, aguzados en un extremo, lisos, hialinos, en falsas cabezas apicales sobre las fiálides.

La especie en estudio fue ratificada por el Centraalbureau voor Schimmelcultures de Holanda. De acuerdo a la literatura consultada existen dos especies descritas del género *Chaunopycnis* que han sido aisladas desde suelo en Suiza.

***Eupenicillium euglaucum*** (van Beyma) Stolk & Samson: de esta especie se aisló una cepa desde el sedimento recolectado a 65 m de profundidad en la estación de muestreo Comohue del Lago Riñihue. La cepa forma en AEM al 2% a los 14 días de cultivo colonias de 30 mm de diám., con escaso micelio aéreo en la juventud, de color amarillo pálido tornándose de color cremoso por los cleistotecios y textura costrosa. Cleistotecios de 100 - 300  $\mu$ m de diám., de color crema y consistencia dura. Ascosporas de 6,5 x 7,8  $\mu$ m de diám., esféricos, hialinos. Ascosporas de 2,6 - 3,9  $\mu$ m de diám., lenticulares, lisas, hialinas, con dos bandas ecuatoriales lisas. Conidióforos de 6,5 - 15 x 2 - 2,6  $\mu$ m, lisos, hialinos, simples, algunos con ramificación, con 2 a 3 métulas apicales divergentes. Fiálides de 5,5 - 7,5 x 2,6  $\mu$ m de diám., apicalmente aguzadas, lisas, hialinas. Conidios de 2,6  $\mu$ m de diám., esféricos, rugosos, hialinos.

Según Stolk & Samson (1983) *E. euglaucum* pertenece a la sección Pinetorum por presentar entre sus características ascosporas lenticulares con bandas ecuatoriales lisas, conidióforo simple o ramígeno y conidias rugosas. El anamorfo de *E. euglaucum* es *Penicillium citreonigrum*.

***Eupenicillium javanicum*** (van Beyma) var. ***Javanicum***: de esta especie se aisló una cepa desde el sedimento recolectado a 65 m de profundidad en la estación de muestreo Comohue del Lago Riñihue. La cepa forma en AEM al 2% a los 14 días de cultivo colonias de 60 mm de diám., con escaso micelio aéreo de color amarillo pálido y abundantes cleistotecios de 100 - 200  $\mu$ m de diám., de color café pálido y paredes duras, con textura costrosa. Ascosporas de 7,8 - 9,1 x 10 - 13  $\mu$ m., lisos, hialinos que nacen desde hifas en cadenas. Ascosporas de 3,9 - 5 x 3,9  $\mu$ m, lenticulares, espinulosas, hialinas. Conidióforos de 13 - 30 x 2,6  $\mu$ m, lisos, hialinos con 1 a 2 ramificaciones. Fiálides de 5 - 6,5 x 2,6  $\mu$ m, lisas, hialinas. Conidios de 26 - 3,9  $\mu$ m de diám., lisos, hialinos.

De acuerdo a Domsch *et al.* (1980), *E. javanicum* es una especie de amplia distribución mundial, ha sido aislada desde distintos tipos de suelo, sedimentos estuarinos y especies arbóreas como *Eucaliptus macula*.



Ueda (1980), en Japón aisló esta especie desde un río contaminado con desechos domésticos. Stolk & Samson (1983), consideran que *Eupenicillium zonatum*, *E. brefeldianum*, *E. ehrlichii* y *E. ludwigii* son sinónimos de *E. javanicum*, pues presentan características macro-microscópicas similares, aunque el rango de las ascosporas varía entre 2,5 - 3 x 2 - 2,5  $\mu\text{m}$ , en comparación con las ascosporas de *E. javanicum*, cuyo rango es 3,7 - 4,8 x 3 - 4  $\mu\text{m}$ .

*Pseudeurotium zonatum* van Beyma: de esta especie se aislaron dos cepas desde el sedimento recolectado a 120 m de profundidad en la estación de muestreo Desague del Lago Riñihue. Las cepas forman en AEM al 2% a los 14 días de cultivo, colonias de 25 mm de diám., de color blanco-grisáceo, tornándose de color negro con la formación de los cuerpos fructíferos. Textura costrosa con escaso micelio aéreo. Reverso de color negro. Cleistotecios de 90 - 150  $\mu\text{m}$  de diám., de color café-oliva, de paredes duras, no ostiolado. Ascosp. de 6,5  $\mu\text{m}$  de diám., esféricos, hialinos con 8 ascosporas. Ascosporas de 3,9  $\mu\text{m}$  de diám., esféricas, lisas y de color café-oliva al madurar. Células conidiógenas de 7 - 13 x 2,6  $\mu\text{m}$ , lisas, hialinas con denticulos apicales. Conidios de 3,9 - 6,5 x 2,6 - 3,9  $\mu\text{m}$ , globosos, lisos, hialinos.

Malloch & Cain (1970), indican que *P. zonatum* pertenece a la familia *Pseudeurotiaceae* por presentar ascosporas redondas, lisas de color café y cleistotecios de paredes angulares. Estos mismos autores señalan que *Pseudeurotium ovale* es semejante a *P. zonatum*, pero difiere por presentar ascosporas ovaladas. Domsch et al. (1980), indican que *P. zonatum* ha sido aislado de una gran variedad de suelos de distintas partes del mundo y Ueda (1980), señala que esta especie ha sido aislada en Japón desde sedimentos del río Nagasaki contaminados con desechos domésticos.

Los resultados de la determinación enzimática cualitativa de las cepas fúngicas aisladas, se presentan en Tabla 2. La totalidad de las cepas ensayadas presentaron potenciales enzimáticos para una u otra de las enzimas determinadas (Tabla 2). Del total de cepas ensayadas (82), el 89% (73) presentaron potenciales enzimáticos para celulasa. Entre las cepas se encuentran algunas pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Penicillium* y *Trichoderma*, lo que concuerda con Au et al., (1992) quienes determinaron una gran diversidad de hongos capaces de degradar la celulosa de hojas de *Beuhinia purpurea*, depositadas en un río contaminado en Hong Kong. Ueda (1980), también determinó hongos de los géneros *Penicillium* y *Trichoderma* con potenciales celulolíticos en muestras de sedimento del río Nagasaki (Japón) y Domsch et al. (1980), determinaron en distintas partes del mundo, en muestras de suelos, pantanos, ríos y lagos con

Tabla 2. Determinación enzimática cualitativa de cepas fúngicas aisladas desde muestras de sedimentos del lago Riñihue, seis afluentes y un efluente

TAXA	Enzimas (número de cepas positivas)							
	A	B	C	D	E	F	G	H
<i>Absidia cylindrospora</i>	1	2	0	1	0	0	0	0
<i>Acremonium bisepalum</i>	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Acremonium tubakii</i>	0	1	0	0	0	0	1	0
<i>Acremonium</i> spp.	2	4	3	0	0	1	1	0
<i>Arthrinium phaeospermum</i>	0	0	1	1	1	1	0	0
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1	1	0	0	0	0	0	0
<i>A. brunnescens</i>	2	2	0	1	0	0	1	0
<i>Aspergillus viridi-nutans</i>	1	1	0	0	0	0	0	0
<i>Buller's pteridanthus</i>	1	1	1	1	1	1	0	0
<i>Chaetomium globosum</i>	0	1	1	1	1	0	0	0
<i>Chaetomyces alba</i>	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Clad. cladosporioides</i>	0	4	4	1	0	2	4	0
<i>Cylind. destructans</i>	3	2	3	3	1	0	3	0
<i>Eremomyces langeronii</i>	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Eupenicillium javanicum</i>	0	1	0	0	1	1	0	0
<i>Eupenicillium englaucum</i>	0	1	1	0	0	0	1	0
<i>Fusarium oxysporum</i>	1	0	1	1	1	1	1	1
<i>Gongronella butleri</i>	1	2	0	0	0	0	0	0
<i>Heteroconium chaetospira</i>	0	1	1	0	0	0	0	0
<i>Mammarius echinobotryoides</i>	1	2	2	0	0	0	0	0
<i>Microsporus sp.</i>	0	1	1	1	1	0	1	0
<i>Mortierella nana</i>	0	1	2	0	0	0	0	0
<i>Mortierella vinacea</i>	0	2	1	1	0	0	0	0
<i>Myrothecium roridum</i>	0	1	1	1	1	0	0	1
<i>Paecilomyces furiosus</i>	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium expansum</i>	1	1	0	0	0	0	1	0
<i>Penicillium purp-herquel</i>	3	3	0	0	0	0	3	0
<i>Penicillium verrucosum</i>	1	2	0	0	0	0	1	0
<i>Pen. serie atro-sanguineum</i>	1	1	1	0	0	0	1	0
<i>Penicillium serie Citrinum</i>	0	1	0	0	0	0	1	0
<i>Penicillium serie Herquel</i>	2	2	0	0	0	0	0	0
<i>Pen. serie Janthinelum</i>	2	2	0	0	0	0	0	1
<i>Pen. serie Pupurogenum</i>	1	1	0	0	0	0	1	0
<i>Pen. serie Raistrickii</i>	0	2	1	1	0	1	0	0
<i>Pen. serie Restrictum</i>	1	1	0	0	0	0	1	0
<i>Pen. serie Thomii</i>	0	1	1	1	1	1	0	0
<i>Phoma</i> spp.	0	8	4	7	8	2	0	0
<i>Pseudeurotium zonatum</i>	2	2	2	1	0	1	2	0
<i>Scopulariopsis</i> sp.	1	0	0	1	0	0	0	0
<i>Scytalidium lignicola</i>	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Talaromyces flavus</i>	1	1	1	1	1	0	0	1
<i>Trichoderma hamatum</i>	0	1	0	0	0	0	1	0
<i>Trichoderma koningii</i>	0	2	1	0	0	1	0	0
<i>Trichoderma polysporum</i>	1	1	1	0	0	1	0	0
<i>Trichoderma viride</i>	1	1	0	0	0	1	1	0
<i>Trichosporon pulchrum</i>	0	1	1	0	0	0	0	0
<i>Truncatella angustata</i>	1	1	1	1	1	0	0	0
<i>Westerdykella multispore</i>	0	1	1	1	1	1	0	0
<i>Zygorrhynchus heterogamus</i>	0	1	0	0	1	0	0	0
Micelios estériles	1	2	1	1	0	0	0	0
Total de cepas positivas	34	73	40	28	21	17	26	4
% total de cepas positivas	42	89	49	34	26	20	32	5

A = amilasa, B = celulasa, C = citocromo oxidasa, D = lacasa 1, E = lacasa 2, F = peroxidasa, G = proteasa, H = tirosinasa



un alto contenido de materia orgánica vegetal y animal muerta, el predominio de hongos pertenecientes a los mismos géneros del presente ensayo con potenciales para celulasas. Se determinó un alto porcentaje de cepas positivas (Tabla 2) para algunas de las enzimas del complejo lignina (citocromo oxidasa, lacasas, peroxidasa y tirosinasa), siendo la enzima citocromo oxidasa la detectada con mayor frecuencia 49% (40 cepas) y tirosinasa con menor frecuencia 5% (4 cepas). Estos resultados son semejantes a los indicados por Zare-Maivan & Shearer (1988), quienes determinaron en todos los hongos aislados desde ambientes acuáticos (10 Ascomycetes, 7 Deuteromycetes y un Oomycetes) la enzima peroxidasa y en menor porcentaje tirosinasa. Por su parte, Rohrmann & Molitoris (1992), estudiaron los potenciales enzimáticos de 40 hongos aislados desde ambientes marinos; la mayoría (Ascomycetes, Basidiomycetes y Deuteromycetes), presentaron potencial celulolítico. Entre las enzimas del complejo lignina se determinó la peroxidasa en casi todas las cepas estudiadas, en cambio, la tirosinasa se determinó en menor cantidad (sólo un 35% de las cepas fueron positivas). Por su parte, la enzima lacasa resultó positiva sólo en las cepas de Ascomycetes y Basidiomycetes.

La alta proporción de cepas con potenciales lignocelulolíticos determinada en el presente estudio sugeriría en forma indirecta que al lago Riñihue deben ingresar altas cantidades de restos vegetales y material particulado, rico en celulosa y lignina, desde el suelo circundante, estas dos sustancias no son consumidas directamente por los organismos acuáticos quienes no poseen la capacidad enzimática para su degradación. Rheinheimer (1987), señala que la lignina por su lenta degradación puede aumentar en lagos pequeños, por su parte Burgos & Riffart (1982), Godfrey (1983) y Sridhard & Bärlocher (2000), han señalado que los microorganismos, especialmente los hongos en los cuerpos de agua poco profundos (rios, ca-

nales y lagunas) son de vital importancia en la hidrólisis de lignina y celulosa, transformándolas en sustancias fácilmente digeribles para los invertebrados acuáticos. Es posible que algunos de los hongos aislados desde los efluentes y afluentes del lago Riñihue cumplan esta función, pero queda la duda si los aislados desde sedimentos profundos del lago, se encuentren activos y degraden estos compuestos, pues las condiciones físico-químicas, en especial la baja concentración de oxígeno, sugiere más bien un estado de latencia de éstos. Debe destacarse que en muchas de estas muestras se apreció un profundo olor a hidrógeno sulfurado.

Por último es importante hacer notar que entre los hongos aislados en el presente estudio se determinaron cepas de *Phoma* spp. y *Aspergillus fumigatus*. de acuerdo a Heenn et al. (1983), estos hongos han ocasionado problemas en cultivos de salmonídeos al ingerir alimentos contaminados con ellas. *Phoma herbarum* se ha aislado desde riñón de salmones produciendo granulomatosis masiva, en tanto que la ingestión de toxinas producidas por *A. fumigatus* ha producido problemas hepáticos a peces.

Debe destacarse el segundo aislamiento de *Aspergillus viridi-nutans* Mc.Lennan, Duker & Thrower: detectado en el país, porque aporta nuevos datos biogeográficos de esta especie de distribución restringida. Nuestra descripción coincide con la reportada desde suelos desérticos del norte chileno cerca de la ciudad de Tocopilla (Piontelli, 2000).

## AGRADECIMIENTOS

Al proyecto DID-UACH S 200013 por financiar parte del presente estudio y al Dr. Eduardo Piontelli por su ayuda y material bibliográfico enviado.

## REFERENCIAS

- Arx, J. von (1981). The genera of fungi sporulating in pure culture. J. Cramer. Germany.
- Au, D.; Hodgkiss, I. & Vrijmoed, L. (1992). Fungi and cellulolytic activity associated with decomposition of *Beuhinia purpurea* leaf litter in a polluted and unpolluted Hong Kong waterway. Canadian Journal of Botany 70:1071-1079
- Barnett, J.; Paine, R. & Yarrow, D. (1990). Yeast: characteristics and identification. Cambridge University Press
- Burgos, J. & Riffart, G. (1982). Hongos saprobios en Chile: Ambiente limnico. Noticiero mensual Museo Nacional de Historia Natural de Chile 1:306-307
- Burgos, J. & Castillo, P. (1986). Hyphomycetes acuáticos como indicadores de contaminación. Biota 2:1-10
- Domsch, K.; Gams, W. & Anderson, T. (1980). Compendium of soil fungi. Academic Press, London.
- Ellis, M. (1971). Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England.
- Ellis, M. (1976). More Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England.
- Godfrey, B. (1983). Growth of two terrestrial microfungi on submerged older leaves. Transactions of the British mycological Society 81:418-421
- Heenn, K.; Monahan, R. & Utter, F. (1993). Salmon aquaculture. Blackwell Scientific Publications, Great Britain.

- Malloch, D. & Cain, R. (1970). Five new genera in the family Pseudeurotiaceae. Canadian Journal of Botany 66:1929-1932
- Mishra, R. (1995). Distribution of microfungi in the transitional zone of subtropical lake in India. Canadian Journal of Botany 73:512-516
- Morohoshi, N.; Honda, S. & Haraguchi, T. (1988). Degradation of lignin by the extracellular enzymes of *Coriolus versicolor*. Bulletin of the Experimental Forests.
- Piontelli, E.; Toro, M. & Manríquez, J. (1983). Hyphomycetes acuáticos en Chile. Estudios en el estero Limache, un afluente del río Aconcagua. Boletín Micológico 1:120-136
- Piontelli, E. (2000). Notas micológicas IV. Nuevos registros de hongos mitospóricos de suelos chilenos. Boletín Micológico 15: 93-99
- Pochon, J. & Tardieux, P. (1965). Técnicas de análisis en microbiología de suelo. Editorial T. E. I (Técnica e Investigación) Burgos, España.
- Quinn, J. (1984). Seasonal occurrence of yeast and other fungi in a freshwater lake. Transactions of the British mycological Society 81:53-58
- Ramírez, C. (1982). Manual and atlas of the Penicillia. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam.
- Raper, K. & Fennell, D. (1965). The genus *Aspergillus*. The Williams & Wilkins Company. Baltimore U. S. A.
- Rheinheimer, G. (1987). Microbiología de las aguas. Editorial Acriba S. A. España.
- Rifai, M. (1969). A revision of the genus *Trichoderma*. Mycological Papers 116:1-56
- Rohrmann, S. & Molitoris, P. (1992). Screening for wood-degrading enzymes in marine fungi. Canadian Journal of Botany 70: 2116-2123
- Sridhar, K. & Bärlocher, F. (2000). Initial colonization, nutrient supply, and fungal activity on leaves decaying in streams. Applied and Environmental Microbiology 66:1114-1119
- Stalpers, J. (1978). Identification of wood-inhibiting Aphyllophorales in pure culture. Studies in Mycology 16:1-248
- Stolk, A. & Samson, R. (1983). The Ascomycetes genus *Eupenicillium* and related *Penicillium* anamorphs. Studies in Mycology 23:1-149
- Ueda, S. (1980). A mycofloral study on river sediments in Nagasaki, Japan. Transactions of the British mycological Society 21:495-504
- Zare-Maivan, H. & Shearer, C. (1988). Extracellular enzyme production and cell wall degradation by freshwater lignicolous fungi. Mycologia 80:365-375
- Zycha, H.; Siepmann, R. & Linnemann, G. (1969). Mucorales eine beschreibung aller gattungen und arten dieser pilzgruppe. Verlag von J. Cramer, Lehre. Germany.