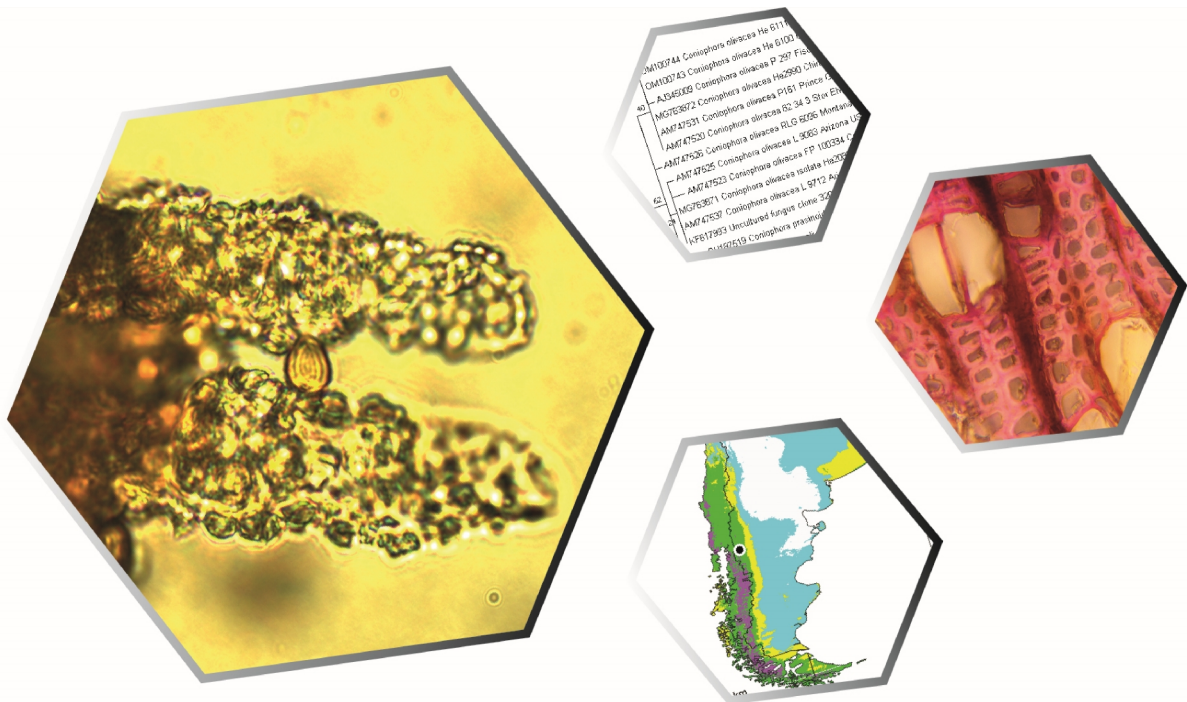




Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco
Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud - Sede Esquel

Predicción del rango de potencial de una especie degradadora de madera dentro del complejo *Coniophora olivacea* (Fr.) P. Karst. en la Patagonia a través de modelos de Máxima Entropía (Maxent)



Alumna. Almonacid Jessica Paola

Director: Dr. Francisco Kuhar

Co Director: Dr. Gonzalo Romano

Profesor asesor: Dra. Alina Greslebin

2022

Índice

| | | |
|------------|--|-----------|
| 1 | Introducción | 3 |
| 2 | Objetivos | 8 |
| 3 | Materiales y métodos | 9 |
| 3.1 | Origen del espécimen | 9 |
| 3.2 | Descripción e identificación del espécimen | 9 |
| 3.3 | Histología e histoquímica | 10 |
| 3.4 | Extracción de ADN | 10 |
| 3.5 | Análisis filogenético | 12 |
| 3.6 | Modelos de distribución de especies: datos de ocurrencia, datos climáticos, modelado de nichos y distribución potencial de la especie con MaxEnt | 14 |
| 4 | Resultados | 20 |
| 4.1 | Identificación macroscópica y microscópica del espécimen | 20 |
| 4.2 | Identificación del sustrato de <i>Coniophora olivacea</i> , colonización y degradación del leño | 21 |
| 4.3 | Histoquímica | 23 |
| 4.4 | Identificación molecular del espécimen y posicionamiento filogenético | 25 |
| 4.5 | Modelado de nicho y predicción del rango de distribución potencial de <i>C. olivacea</i> en Patagonia | 27 |
| 5 | Discusión | 33 |
| 6 | Conclusiones | 36 |
| 7 | Bibliografía | 37 |

Agradecimientos

Quiero agradecer a la universidad, profesores y compañeros con los cuales compartí esta etapa de mi vida que llega a su fin, por todo el apoyo, enseñanzas y el acompañamiento que me han brindado.

Gracias a Oscar, Gonzalo y Fernando por brindarme sus enseñanzas y colaboración para la elaboración de este trabajo.

Gracias Fran por confiar en mí, agradezco tanto que nuestros caminos se cruzaran, trabajar juntos, nuestras charlas, aventuras, momentos compartidos y todo lo que aprendí de vos. No tengo duda alguna de que de no haberte conocido no habría logrado terminar esta carrera.

Gracias Ali por tu ayuda y apoyo como asesora, por brindarme un espacio de trabajo, por tus enseñanzas, pero sobre todo por ser una persona tan cálida, comprensiva y amorosa.

Gracias a mi familia y amigos por todo su apoyo, a mis hermanos Fede, Rocio, Fabi, Nico, Cami, Fede chico y Lilo por ser las personas más hermosas, maduras, valientes que conozco y mi motivación a cumplir mis metas. En especial quiero agradecer a mis tíos Silvia y Marcos y a mi compañero de vida Antuán por siempre estar para mí.

Quiero dedicar esta tesis a mi abuelo y a mi mamá quienes fueron y serán ser las personas más importantes de mi vida, quienes me formaron como la persona que soy, me dieron amor y apoyo incondicional, me enseñaron a no rendirme y a creer en mí. Este trabajo es para ustedes, sé que están orgullosos y se los dedico con todo mi amor.

1- Introducción

El género *Coniophora* (Coniophoraceae, Boletales) agrupa hongos de pudrición castaña de la madera y está distribuido globalmente. La pudrición ocurre tanto en madera utilizada para la construcción como en la naturaleza (Kauserud et al. 2007). *Coniophora arida* (Fr.) P. Karst. y *Coniophora olivacea* (Fr.) P. Karst. han sido citadas en madera muerta de muchas especies arbóreas, tanto en coníferas como en madera dura, y están distribuidas en zonas templadas de todo el mundo. *Coniophora olivacea* también fue citada en un ejemplar vivo de *Picea spp.* en Norte América. Tanto *C. olivacea* como *C. arida* son comunes en bosques de coníferas (Ginns 1982). Junto con *C. puteana* (Schumach.) P. Karst., causan importantes pérdidas económicas de diversas formas, como degradadores de árboles vivos, y frecuentemente en interiores en materiales de construcción, (Kauserud et al. 2007). Chee et al. (1998) reporta altas pérdidas de peso en cultivos de estado sólido de madera de *Pinus radiata* producidos por *C. olivacea* junto con otras cepas de hongos de pudrición castaña. Da Costa et. al. (1967) remarca la capacidad vigorosa del ataque de esta especie en una amplia diversidad de especies de madera, en un amplio número de tipos de servicios, incluidas especies de madera dura como *Eucalyptus marginata* en el oeste de Australia. También reportan que la densidad de la madera fue significativamente afectada solo por *C. olivacea* mientras que no lo fue para otras especies de hongos testeadas. Rudman (1966) probó que la albura de muchas especies de árboles es uniformemente susceptible al ataque de este hongo. Asimismo, *C. olivacea* es capaz de formar cordones miceliars (Stalper 1978), esta característica sugiere la posibilidad de infección a través del suelo de un tronco a otro, que podría causar patrones agregados como *Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink (Dickman & Cook 1989; Bruhn et al. 1996). Además, *C. olivacea* produce eficientemente basidiosporas, pero el rol infeccioso de cada forma de diseminación es todavía desconocido (Edman 2001).

Los hongos de pudrición castaña afectan las estructuras poliméricas de la holocelulosa de la madera, a las que atacan selectivamente mediante sustancias degradantes de naturaleza enzimática secretadas por las hifas. Al mismo tiempo, modifican la estructura de las celulosas y ligninas (en menor medida) a través de un método no enzimático (Goodell et al 2008). En las etapas iniciales de la invasión

de la madera los hongos de pudrición castaña producen radicales hidroxilo de gran poder destructivo a través de reacciones extracelulares de Fenton. Estas involucran compuestos fenólicos segregados por los hongos que actúan como quelantes de hierro férrico y fuentes de electrones para la reducción de hierro, promoviendo así reacciones mediadas (Goodell et al. 1997). Estos radicales producen la escisión de los enlaces glucosídicos de la holocelulosa y la desmetilación, despolimerización y polimerización de la lignina (Arantes & Goodell 2014). Mediante estas reacciones el hongo puede acceder finalmente a la fuente de carbohidratos constituida por la celulosa y hemicelulosa, desplegando un sistema de enzimas hidrolíticas formados principalmente por celobiohidrolasas, endoglucanasas y beta-glucosidasas (Eriksson et al. 2012).

Los recursos, tanto biológicos como físicos y químicos, que los hongos de pudrición castaña utilizan afectan la estructura de la madera incluso en los estados iniciales de pudrición, comprometiendo su resistencia mecánica, inclusive sin que se detecte pérdida de peso significativa. La necesidad de efectuar un diagnóstico temprano del ataque del hongo a la madera se vuelve imperiosa y al mismo tiempo compleja ya que muchas veces en estados iniciales no se manifiesta evidencia exterior alguna (Arantes & Goodell 2014). Dentro de los organismos degradadores de la madera los hongos de pudrición castaña son los que mayor daño producen a la industria de la madera mientras que su rol ecológico resulta crucial para el mantenimiento del ciclo de carbono y el mantenimiento de los bosques, principalmente de coníferas (Goodell et al. 2003, Zabel & Morrell 2012).

Coniophora arida y *C. puteana* han sido registradas previamente en Patagonia (Greslebin 2002), donde *C. arida* muestra una amplia distribución. Sin embargo, no existen registros de *C. olivacea* en Patagonia a excepción del ejemplar colectado en la región de Epujén en 2017, objeto del presente trabajo.

En Patagonia las plantaciones de coníferas exóticas son el mayor recurso explotado actualmente de la industria maderera y forestal. La introducción de estas especies representa un beneficio socioeconómico pero acarrea riesgos ambientales y económicos ambientales (Richardson 1998). Entre los costos ambientales se incluyen cambios en el suelo, hidrología (Jobbágy et al. 2013), pérdida de biodiversidad, incremento de la biomasa vegetal, fragmentación de

hábitats nativos y alteraciones a la biota nativa (Armstrong & Van Hensbergen 1996). En las últimas décadas el impacto y manejo de estas plantaciones han sido motivo de múltiples estudios en las que se cuestiona el potencial invasivo de las diferentes especies de pinos tanto en Patagonia como en el hemisferio sur (Richardson et al. 1994; Armstrong & Hansbergen 1996; Peña & Pauchard 2001; Richardson 2008; Dezzotti et al. 2009), el rol en los devastadores incendios que afectaron y afectan los bosques de Patagonia (Nuñez & Raffaele 2007; Cobar Carranza 2013; Raffaele et al. 2015) y la presencia de diversos patógenos asociados a estas especies entre las que se incluyen insectos (como el caso de la avispa *Sirex* (FAO 2007)) y los principales patógenos forestales: los hongos (Pildain & de Errasti 2001).

Estudios indican que *Phytophthora austrocedri*, el patógeno causante del síndrome conocido como “Mal del Ciprés”, ocasiona gran mortandad de *Austrocedrus chilensis* en Patagonia (Greslebin & Hansen 2010). Es un patógeno exótico introducido y probablemente vinculado a la introducción de especies exóticas leñosas que se practicó entre 1920 y 1930 en Isla Victoria, Neuquén (Vélez et al. 2014). Actualmente ya se han promovido estrategias destinadas a restringir la dispersión de *P. austrocedri* (Giordana et al. 2020) que incluyen restricciones en el turismo y ganadería en determinadas zonas o incluso tratamientos químicos (Silva et al. 2016).

Dada la naturaleza compleja y multicausal de las invasiones biológicas, predecir el comportamiento de una especie exótica recién llegada en un área determinada es, al menos, un desafío (Desprez-Loustau et al. 2007). Sobre todo cuando este comportamiento también está asociado con las especies vegetales que podrían actuar como huéspedes, socios, o reservorios de la entidad fúngica (p. ej., Dickie et al. 2017). Sin embargo, debido a que la introducción de especies representa uno de los principales factores en la actual crisis de biodiversidad afectando los ecosistemas (Olden et al. 2004; Clavero & García-Berthou 2005; Vilà et al. 2010) y generando enormes pérdidas económicas (Pimentel et al. 2005), se han generado valiosas herramientas para abordar la problemática. Entre estas herramientas se encuentran los modelos de distribución de especies (SDM), también conocido como modelos de nicho ecológico (ENM), con los que se relacionan ubicaciones

conocidas de una especie con las características geográficas ambientales de los sitios y en base a ello permite identificar regiones con condiciones ambientales donde la especie introducida puede establecerse exitosamente (Di Febbraro 2013).

Los datos de solo presencia de una especie son los más comunes y más fácilmente disponibles, tanto en herbarios como en bases de datos, y representan más de un siglo de contribuciones científicas. Los modelos de distribución de especies han maximizado la utilización de este recurso. En esta línea, los modelos de máxima entropía (MaxEnt) han demostrado ser eficientes en la estimación de las distribuciones geográficas potenciales de las especies al fusionar datos de solo presencia de la especie con información ambiental (Phillips et al. 2006; Yuan et al. 2015); y también han demostrado responder eficientemente cuando el tamaño de la muestra es pequeño (Wisz et al. 2008). Estos factores, sumados a la simplicidad de su manejo, hacen de MaxEnt la herramienta de SDM más utilizada en la actualidad.

El espécimen recolectado identificado como *C. olivacea* es, hasta donde se sabe, el primer y único registro de esta especie en el sur de América del Sur. Dado que la Patagonia andina tiene una larga historia de cultivo de especies exóticas de árboles (p. ej: *Pinus* spp., *Pseudotsuga menziesii*, entre otras), y también una tradición de cría de animales, es probable que se produzcan eventos de introducción de especies exóticas de hongos. Además, el intenso trabajo de campo realizado en las últimas décadas por muchos micólogos con el objetivo de evaluar en profundidad la riqueza de Aphylliphorales de la región no detectó esta especie (por ejemplo, Greslebin & Rajchenberg 2003).

Coniophora olivacea ha demostrado ser capaz de producir daños significativos en la estructura de la madera, aunque no afecte principalmente a los árboles vivos. Como la madera es el material de construcción dominante en la región, especialmente en la región chilena de los Andes, se necesita información confiable como base para futuros programas de manejo.

La correcta identificación de las especies es crucial para la implementación de control biológico, diagnóstico y prevención de enfermedades y la detección de invasores y especies plagas. Un desafío adicional con respecto a la identificación

de *C. olivacea* es la presencia de clados admitidos dentro de esta especie (Kausserud et al. 2007). Dado que esta diversidad es morfológicamente críptica, solo las metodologías moleculares pueden posicionar un espécimen en este esquema. En el futuro, los estudios que requieran evaluar diferentes comportamientos (por ejemplo en la degradación, en la dispersión, o en la infectividad) pueden necesitar tener en cuenta esta diversidad oculta. Tradicionalmente las especies de basidiomycetes se clasificaron en base a la morfología de los basidiomas. Sin embargo estas estructuras representan sólo una corta fase en el desarrollo del ciclo de vida, incluso muchos basidiomas son similares y presentan escasos caracteres diferenciales. En pocas palabras presentan fenotipos limitados para la caracterización de especies y es por ello que la identificación de especies crípticas es cada vez más recurrente en el reino fúngico con el advenimiento de las metodologías moleculares. Por otro lado, no identificar especies crípticas de degradadores exóticos puede complicar los esfuerzos hacia la erradicación y control. También es importante entender la riqueza de especies dado que estas pueden responder a las medidas de control de manera distinta (Bickford et al. 2007).

El objetivo de este trabajo es brindar información confiable sobre la identidad, el hospedante y la distribución potencial de *C. olivacea*, reportada aquí como nuevo registro para la Patagonia, de manera que se puedan tomar decisiones futuras sobre el manejo y prevención de una posible invasión, y los consecuentes daños.

2- Objetivos:

- Estudiar y describir el ejemplar de *Coniophora olivacea* tanto macroscópicamente como microscópicamente.
- Analizar y describir la localización de las hifas y la alteración producida por las mismas en la madera con técnicas de histoquímica. Analizar e identificar la especie de los detritos leñosos degradados por el hongo.
- Determinar la identidad molecular, definir la posición filogenética y la relación con los grupos infraespecíficos dentro de *C. olivacea* del espécimen.
- Predecir el potencial de distribución de *Coniophora olivacea* en Patagonia.

3- Materiales y métodos

3.1 Origen del espécimen

El material micológico utilizado en este trabajo consiste en un basidioma sobre sustrato leñoso (fragmento de madera sobre suelo) recolectado en las inmediaciones del Lago Epuyén en el sector conocido como monasterio abandonado, sitio que se compone de bosque andino patagónico y plantaciones forestales de pináceas. Las coordenadas del sitio específico del muestreo corresponden a $42^{\circ}13'05.0''S$ $71^{\circ}29'46.0''O$ (Fig. 1). Posteriormente fue secado y depositado en el fungario del Museo Botánico de Córdoba (CORD) como CORD-FK16004.



Figura 1: Punto geográfico de recolección del espécimen CORD - FK16004

3.2 Descripción e identificación del espécimen

La descripción macroscópica se realizó registrando las características macro morfológicas del espécimen como el color, forma, tamaño del basidioma, textura

del himenio y sustrato en el que se encuentra. Para la correcta detección de estos caracteres se utilizó lupa (Leica EZ4) mientras que la para la microscopia se utilizaron preparados con cortes del basidioma y solución de hidróxido de potasio (KOH) en microscopio óptico (Leica DM500) para poder observar las estructuras principales del hongo como hifas, basidiomas, esporas, cistidios y presencia de cristales característicos de la especie.

3.3 Histología e histoquímica

Se realizaron cortes con micrótopo de secciones (de 10 μm de grosor) transversales, longitudinales y radiales del leño sobre el que se encuentra el degradador. Se les realizó una tinción con azul de algodón que consiste en blanquear las secciones del leño con peróxido de hidrógeno 30% por 1:30 h, posteriormente se enjuaga con agua destilada 3 o 4 veces, se tiñe con azul de algodón dejando actuar el tinte por 24 horas para finalmente enjuagar con agua destilada nuevamente y montar las secciones en un portaobjetos, fijando el preparado con lactoglicerol. Luego se analizaron en microscopio óptico para observar las características morfológicas principales, tanto de la madera como de las hifas del degradador, y la forma en la que las hifas se encuentran dentro de la estructura del leño.

Los análisis histoquímicos se llevan a cabo para la detección de carbohidratos, lignina y otros compuestos fenólicos en el leño afectado. Para comparar se utilizaron secciones tanto del leño sano como del afectado. Se realizaron tinciones a las secciones de leño siguiendo los procedimientos específicos mencionados por Krishnamurthy (1988). La detección de lignina se llevó a cabo con el reactivo de Wiesner siguiendo los pasos especificados por Tapia (2014) mientras para contrastar lignina de polifenoles y carbohidratos se utilizó azul de toluidina siguiendo los pasos descritos por Rivera et al. (1999).

3.4 Extracción de ADN

Se realizó una extracción de ADN del basidioma utilizando el kit GenElute Plant GenomicDNA Miniprep Kit (SigmaAldrich) siguiendo las instrucciones del fabricante. Para obtener la confirmación de la presencia de ADN se realizó una electroforesis en gel de agarosa, para ello se utilizó una cuba de electroforesis, se

preparó una solución buffer con 350 ml de solución buffer para cuba, 343 ml de agua destilada y 7 ml de TEA x50. Un gramo (1 g) de agarosa se disolvió en 50 ml de esta solución buffer, se procedió a hervir 3 veces, templar y luego volcar en la cama de electroforesis, colocando el peine correspondiente para marcar las calles de sembrado. Una vez solidificado el gel de agarosa el peine se retiró, se colocó en la cuba y se llenó con el resto de solución buffer. Se sembró una muestra de 2 µl de ADN y 2 µl GELRED y el buffer de carga. En otra calle se sembraron 4 µl del marcador de peso molecular y se aplicó un campo eléctrico de 90 voltios durante 40 minutos. Posteriormente se analizó si la extracción fue exitosa en un transiluminador de luz UV mediante la intensidad de las bandas.

Confirmada la presencia de ADN post extracción se procedió a utilizar primers ITS1F/ITS4 para amplificar la región rDNA ITS1-5.8S-ITS2 (ITS), la cual está ampliamente recomendada para el reconocimiento de especies de basidiomycetes por sus propiedades moleculares, rendimiento y variabilidad entre especies morfológicamente distintas (White et al. 1990; Gardes & Bruns 1993).

La reacción de PCR se realizó en un volumen total de 25 µl siendo los componentes: 1 µl de la solución de ADN previamente extraído, 0,2 µl de Taq polimerasa (5 U/µl) , 1 µl de dNTPs (10mM) , 1 µl de buffer (10X), 1 µl de ITS1F, 1 µl de ITS4, 0,75 µl de MgCl₂ (25 mM), y completando el volumen final con agua ultra pura. Se colocó en termociclador REExtract-N-Amp PCR ReadyMix (SigmaAldrich) bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial 94°C por 4 minutos, 36 ciclos de 30 segundos a 94°C, 45 segundos a 55 y 70 segundos a 72°C y una extensión final de 10 minutos a 72°C.

Se llevó a cabo una nueva electroforesis para confirmar que el producto de la PCR se amplificó correctamente y que efectivamente la región ITS es la replicada. Para esta nueva corrida se preparó la cama de gel de agarosa tal cual se especificó anteriormente, esta vez sembrando µl del resultado de la PCR más 2 µl de GELRED, 4 µl de marcador de peso molecular y por último un control negativo de PCR cada uno de ellos en una calle respectivamente. Se efectuó la electroforesis a 90 voltios durante 40 minutos y observó el resultado en transiluminador analizando la intensidad, definición (banda única sin barridos), de las bandas y la

distancia recorrida en comparación tanto del control como del marcador de peso molecular.

La región amplificada se envió para ser purificada y secuenciada por Macrogen (Seúl, Corea del Sur) con el primer ITS4 para ITS. Las secuencias se editaron con BIOEDIT 7.2 descartando las partes ambiguas de los extremos y conservando los datos en formato FASTA. La nueva secuencia generada fue subida a GenBank NCBI con el número de acceso ON832657. Se consultó por secuencias ITS de las especies identificadas con mayor similitud en GenBank NCBI (<http://www.ncbi.nlm.gov>) con la opción MEGABLAST (Zhang et al. 2000).

3.5 Análisis filogenético

Para los análisis filogenéticos se utilizó la secuencia de ITS obtenida y las secuencias disponibles en Genbank que mostraron altos porcentajes de similitud, certificadas y publicadas. Las secuencias disponibles publicadas por Kauserud et al. (2007) para *C. olivacea* se utilizaron para determinar si existe relación del ejemplar estudiado con los subclados establecidos en su publicación. Secuencias certificadas de otras especies emparentadas con *C. olivacea* se utilizaron para dar soporte al clado y especímenes del género *Leucogyrophana* se usaron como grupo externo, todas las secuencias se obtuvieron de GenBank. El detalle de los datos utilizados se especifica en la tabla 1.

Post selección de datos se realizó un alineamiento múltiple de secuencias con la estrategia L-INS-i (Método de refinamiento iterativo) cómo se implementa en MAFFT 7.0 (Kato and Standley 2013) sin edición adicional. El modelo de sustitución nucleotídica se seleccionó con jModelTest 2.1 (Darriba et al. 2012) con criterio de información Akaike (AIC) como parámetro de decisión.

Para la inferencia filogenética se aplicó el análisis de máxima verosimilitud (ML) en PHYML cómo se implementan en la plataforma bioinformática francesa (<http://www.atgc-montpellier.fr/phyml/>) siguiendo instrucciones especificadas por Guindon et al (2010). El árbol de máxima verosimilitud se elaboró con un bootstrap de 1000 repeticiones. Se calculó e implementó Bootstrap resampling method (BS) en PHYML (1000 réplicas con 10 secuencias de adición aleatoria e intercambio de TBR) y análisis de inferencia bayesiana B/MCMC con MrBayes (Huelsenbeck &

Ronquist 2001) con 7.000.000 generaciones iniciando con un árbol aleatorio y utilizando 4 cadenas simultáneas. Las primeras 100.000 se descartaron como burn-in. TRACER1 (<http://evolve.zoo.ox.ac.uk/software.html/tracer/>) se utilizó para asegurar que la estacionariedad se logró después de las primeras 100.000 generaciones.

Tabla 1: Números de acceso de GenBank, Certificado y País de origen de cada espécimen utilizado para la construcción del árbol filogenético

| GenBank | Especie | Certificado | País de Origen |
|----------------|----------------------------------|--------------------|-----------------------|
| AJ518879 | <i>Coniophora marmorata</i> | P158 | Alemania |
| AM747518 | <i>Coniophora olivacea</i> | MUCL 20566 | Alemania |
| AM747520 | <i>Coniophora olivacea</i> | 82/34/3 | Noruega |
| AM747523 | <i>Coniophora olivacea</i> | FP100334 | USA |
| AM747529 | <i>Coniophora olivacea</i> | DAOM 216045 | Canadá |
| AM747530 | <i>Coniophora olivacea</i> | FPL1 | UK |
| AM747533 | <i>Coniophora olivacea</i> | MD204 | USA |
| AM946632 | <i>Coniophora marmorata</i> | FPRL 410 | UK |
| AM747527 | <i>Coniophora olivacea</i> | FP105383 | USA |
| ON832657 | <i>Coniophora olivacea</i> | FK16004 | Argentina |
| DQ202271 | <i>Coniophora arida</i> | AFTOL-ID 698 | USA |
| FJ790314 | <i>Coniophora opuntiae</i> | AH31855 | España |
| GU187516 | <i>Coniophora olivacea</i> | FP104386 | USA |
| GU187527 | <i>Leucogyrophana arizonica</i> | RLG-9902 | USA |
| GU187532 | <i>Leucogyrophana olivascens</i> | HHB-11134 | USA |
| HF921467 | <i>Coniophora fusispora</i> | 15702Tell | España |

| | | | |
|----------|----------------------------------|----------------|------------|
| HG326617 | <i>Coniophora eremophila</i> | 19021Tell | España |
| HG326618 | <i>Coniophora eremophila</i> | MAFungi 86372 | Cape Verde |
| MG763873 | <i>Coniophora hanoiensis</i> | He5197 | Vietnam |
| MG763874 | <i>Coniophora hanoiensis</i> | He5202 | Vietnam |
| MG763875 | <i>Coniophora arida</i> | He4658 | Vietnam |
| MW192497 | <i>Coniophora</i> sp. | He6920 | Vietnam |
| MW192498 | <i>Coniophora</i> sp. | He6926 | Vietnam |
| OL898499 | <i>Coniophora olivacea</i> | MUCL 20566 | Alemania |
| OM972325 | <i>Leucogyrophana olivascens</i> | S.D.Russell 54 | USA |
| GU066829 | <i>Coniophora puteana</i> | LMSA1.03.047 | Francia |
| JQ765680 | <i>Coniophora puteana</i> | ISOL01 | Suecia |

3.6 Modelos de distribución de especies: datos de ocurrencia. Datos climáticos, modelado de nichos y distribución potencial de la especie con MaxEnt

Para determinar el rango de distribución potencial de *C. olivacea* en el mundo y especialmente en la región patagónica se aplicó el modelo de nicho ecológico (ENM). Estos modelos correlativos son capaces de calcular la respuesta de una especie al entorno, y utilizando supuestos bien establecidos se puede inferir rangos geográficos, idoneidad ambiental o requisitos de nicho (Franklin 2010; Peterson et al. 2011). Las coordenadas geográficas (latitud y longitud) de *C. olivacea* no originadas en este trabajo fueron obtenidas de Global Biodiversity Information Facility (GBIF website: www.gbif.org) y de las búsquedas de secuencias ITS con BLAST en bases de datos públicas que fueron incluidas en el análisis filogenético.

Solo los registros obtenidos desde 1950 fueron utilizados, ya que a partir de ese año se encuentran disponibles los primeros datos de las variables. La base de datos se curó verificando que se trate de colecciones documentadas y con autor.

Para evitar el efecto de autocorrelación espacial en el ENM se eliminaron los puntos que estuvieran a menos de 30 km de distancia utilizando el paquete de R “Wallace” v1.0.6.1 (Kass et al. 2018) implementado en R V3.6.1. Luego de estos ajustes se obtuvo una base de datos de 113 registros distribuidos en todos los continentes a excepción de Antártida (Tabla 2).

Tabla 2: Fuente, coordenadas e identidad del especialista que determinó el espécimen de ubicaciones utilizadas en el modelado de nicho de *C. olivacea*

| Fuente | ID | Determinado por | Latitud | Longitud |
|--------|------------|----------------------------------|----------|-----------|
| GBIF | 2853840061 | N. Nguyen | -43.3667 | -122.0550 |
| GBIF | 2853817742 | Leif Ryvarden | -42.6833 | -95.1651 |
| GBIF | 1803055872 | Larsen, J.M. | -42.3250 | -89.0226 |
| GBIF | 2468717113 | Leif Ryvarden | -37.8167 | -83.5569 |
| GBIF | 2872775370 | Weresub, L.K. | -37.5167 | -83.0383 |
| GBIF | 1929804531 | Cain, R.F. | -36.4931 | -82.8524 |
| GBIF | 78480752 | Weresub, L.K. | -36.4800 | -79.8667 |
| GBIF | 78480725 | Weresub, L.K. | -33.3650 | -75.9713 |
| GBIF | 3110699572 | G. Gruhn | -31.9610 | -52.9281 |
| GBIF | 31921821 | Penteado, VL | -31.9610 | -47.2314 |
| GBIF | 78480990 | M. T. Telleria | -22.4872 | -7.9800 |
| GBIF | 3128717799 | M.T .Telleria | -15.9754 | -7.5600 |
| GBIF | 1046448598 | M.T. Telleria | 8.9713 | -6.8700 |
| GBIF | 1046448588 | S. Pérez Gorjón | 30.2496 | -6.0500 |
| GBIF | 1046448584 | N. Rodríguez Ramos | 37.0300 | -5.7000 |
| GBIF | 78480692 | Pérez-Daniëls, P. | 37.5900 | -4.8209 |
| GBIF | 78480750 | De Esteban J. | 37.7573 | -4.4358 |
| GBIF | 78480751 | M.Dueñas | 37.9300 | -3.6800 |
| GBIF | 2640619325 | Guerra, A. | 37.9700 | -3.4882 |
| GBIF | 2640611323 | M.T.Telleria | 38.5045 | -2.8500 |
| GBIF | 3128711770 | K.Hjortstam | 40.4400 | -2.2900 |
| GBIF | 3128712088 | Riezu J.M. | 40.4400 | -2.1423 |
| GBIF | 3022691275 | Martin J. | 40.4400 | -1.4509 |
| GBIF | 1412705076 | Leif Ryvarden | 40.5900 | -0.6089 |
| GBIF | 3120315712 | Melo & Salcedo | 41.3400 | 4.8144 |
| GBIF | 3119888857 | Leif Ryvarden | 41.4100 | 5.6849 |
| GBIF | 3119941694 | Jean Keller | 41.7449 | 7.0766 |
| GBIF | 3120085534 | Keller Jean | 41.7449 | 7.0820 |
| GBIF | 3120083547 | Mykologische Gesellschaft Luzern | 42.8330 | 8.0603 |
| GBIF | 1935675408 | Tom Hellik Hofton | 43.0205 | 8.1391 |
| GBIF | 2580067375 | Even Høgholen | 43.9667 | 8.2132 |
| GBIF | 1935674992 | Finn Oldervik | 45.5582 | 8.3158 |

| | | | | |
|------|------------|------------------------------------|---------|---------|
| GBIF | 2640622329 | Kilian Mühlebach | 45.8390 | 8.4596 |
| GBIF | 1935675508 | Gian-Felice Lucchini | 45.8390 | 8.5111 |
| GBIF | 2464714773 | Thomas Læssøe | 46.1528 | 8.6163 |
| GBIF | 2464715470 | Geir Gaarder, B. Bredesen | 46.3825 | 8.9995 |
| GBIF | 2464715186 | Eleno Zenone | 46.3838 | 9.0153 |
| GBIF | 3022675674 | Geir Gaarder | 46.9750 | 9.1313 |
| GBIF | 3022678099 | Leif Ryvarden | 47.0853 | 9.3892 |
| GBIF | 3022678092 | Even Høggholen | 47.1264 | 9.4323 |
| GBIF | 125721900 | Even W. Hanssen | 47.1948 | 9.4771 |
| GBIF | 3022691280 | Gaute Mohn Jensen | 47.3250 | 9.6800 |
| GBIF | 3022711521 | Egil Bendiksen, Klaus Høggholen | 49.0760 | 9.8276 |
| GBIF | 3022710706 | Jan Vesterholt | 49.0760 | 9.9203 |
| GBIF | 3022660912 | Baici & Horak | 49.0760 | 10.2184 |
| GBIF | 3022670965 | Leif Ryvarden | 51.1364 | 10.5434 |
| GBIF | 2332466434 | Egil Bendiksen, Klaus Høggholen | 54.6592 | 10.6756 |
| GBIF | 2592349870 | Leif Ryvarden | 54.6592 | 10.6958 |
| GBIF | 2332386590 | Hofton, Tom H. | 56.0200 | 11.3122 |
| GBIF | 2332484109 | Viacheslav Spirin | 56.0477 | 11.3900 |
| GBIF | 3022678738 | L. Ryvarden | 57.8083 | 11.6876 |
| GBIF | 2332380451 | Leif Ryvarden | 58.0167 | 11.9530 |
| GBIF | 2332484110 | Leif Ryvarden | 58.2670 | 12.0205 |
| GBIF | 2332499532 | Halvor Solheim | 58.2808 | 12.1902 |
| GBIF | 3022677158 | Thomas Læssøe | 59.0407 | 12.5515 |
| GBIF | 2332484140 | Leif Ryvarden | 59.5106 | 13.2995 |
| GBIF | 2332329295 | Leif Ryvarden | 59.6542 | 13.8343 |
| GBIF | 2332330958 | Michelitsch Siegmond | 59.6696 | 13.8917 |
| GBIF | 2332484094 | L. Ryvarden | 59.7348 | 13.9566 |
| GBIF | 2332484137 | L. Ryvarden | 59.9492 | 14.4268 |
| GBIF | 2332484088 | Gro Gulden, J. Eriksson | 60.1817 | 15.5935 |
| GBIF | 2332484086 | Gunnar Kristiansen | 60.1879 | 19.7542 |
| GBIF | 2332328417 | Leif Ryvarden | 60.2405 | 21.9905 |
| GBIF | 2332484099 | Leif Ryvarden | 60.5576 | 23.7227 |
| GBIF | 2332484100 | K. Juutilainen | 60.6690 | 24.2320 |
| GBIF | 2332484097 | Erast Parmasto | 60.7622 | 24.7000 |
| GBIF | 3022710206 | Leif Ryvarden | 60.7711 | 24.7060 |
| GBIF | 2332471091 | Kulju, Matti | 60.8157 | 25.0803 |
| GBIF | 2332484085 | Leif Ryvarden | 60.9684 | 25.3705 |
| GBIF | 1052045733 | Erast Parmasto | 61.1078 | 26.0733 |

| | | | | |
|---------|------------|------------------------------|----------|----------|
| GBIF | 2332381834 | Erast Parmasto | 61.1969 | 27.0167 |
| GBIF | 2332382904 | Erast Parmasto | 61.2661 | 27.3217 |
| GBIF | 2332382048 | Moilanen, Aki | 61.2885 | 27.6367 |
| GBIF | 2332484089 | Kulju, Matti | 61.3041 | 27.9667 |
| GBIF | 3460838722 | Kulju, Matti | 61.5546 | 28.4940 |
| GBIF | 2332444819 | Leif Ryvarden | 61.5841 | 28.9949 |
| GBIF | 773226377 | Kulju, Matti | 61.6537 | 29.2642 |
| GBIF | 3460843518 | E.Parmasto | 61.7167 | 29.7911 |
| GBIF | 2332399347 | Lehtonen Hannu | 61.7291 | 30.3716 |
| GBIF | 3441197293 | M. Kirsi | 61.7413 | 30.4114 |
| GBIF | 2332460790 | Viacheslav Spirin scr. | 61.7453 | 35.5262 |
| GBIF | 2991518006 | Alexander Ordynets | 61.7694 | 36.9845 |
| GBIF | 2332445204 | Alexander Ordynets | 63.0420 | 37.8528 |
| GBIF | 3441185087 | Leif Ryvarden | 63.0432 | 38.5651 |
| GBIF | 3022706988 | Erast Parmasto | 63.0842 | 50.7887 |
| GBIF | 3022660067 | Erast Parmasto | 63.1253 | 53.9975 |
| GBIF | 3713361932 | Ain Raitviir | 63.2220 | 55.9065 |
| GBIF | 3107784828 | Erast Parmasto | 63.9944 | 78.5390 |
| GBIF | 2332329461 | Erast Parmasto | 64.0315 | 80.3301 |
| GBIF | 3713366539 | Erast Parmasto | 64.1358 | 87.6215 |
| GBIF | 3022678766 | Erast Parmasto | 64.2939 | 89.3966 |
| GBIF | 3713359652 | Erast Parmasto | 64.6526 | 93.4100 |
| GBIF | 3107787449 | Erast Parmasto | 64.6922 | 93.8500 |
| GBIF | 3460839026 | N.L. Bougher | 64.6922 | 115.8229 |
| GBIF | 2569344336 | Erast Parmasto | 64.7388 | 123.3742 |
| GBIF | 2332484113 | Erast Parmasto | 65.2961 | 124.9180 |
| GBIF | 2332484108 | Leif Ryvarden | 65.4551 | 127.9663 |
| GBIF | 1324376586 | Erast Parmasto | 66.3129 | 134.0667 |
| GBIF | 2332458095 | Erast Parmasto | 66.7660 | 136.5833 |
| GBIF | 2332484111 | Erast Parmasto | 67.8899 | 137.5000 |
| GBIF | 3022678668 | Erast Parmasto | 68.7227 | 142.6847 |
| GenBank | AJ344112 | Olaf Schmidt et al., 2002 | 48.8569 | 2.3513 |
| GenBank | ON832657 | Este trabajo | -42.2181 | -71.4961 |
| GenBank | AM747520 | Kauserud,H. et al., 2007 | 1.635 | 10.8741 |
| GenBank | AJ345009 | Olaf Schmidt et al., 2002 | 48.8409 | 11.4395 |
| GenBank | AM747519 | Kauserud,H. et al., 2007 | 52.5166 | 13.3833 |
| GenBank | AM747527 | Kauserud,H. et al., 2007 | 42.38 | 72.2282 |
| GenBank | GU187516 | Binder,M. et al., 2010 | 39.0276 | 76.9039 |

| | | | | |
|---------|----------|-----------------------------|---------|----------|
| GenBank | AM747528 | Kauserud,H. et al., 2007 | 35.5481 | 79.6967 |
| GenBank | AM747526 | Kauserud,H. et al., 2007 | 47.0331 | 109.2266 |
| GenBank | AM747537 | Kauserud,H. et al., 2007 | 34.3131 | 111.1993 |
| GenBank | AM747533 | Kauserud,H. et al., 2007 | 44.0384 | 120.0599 |
| GenBank | AM747531 | Kauserud,H. et al., 2007 | 53.9218 | 122.7267 |

Se utilizó un set de 19 variables bioclimáticas y una variable de elevación procedentes de la base de datos WorldClim 2 (<http://www.worldclim.org>) con 2,5 arc-min (aprox. 5 km) de resolución abarcando todo el planeta (Hijmans et al. 2005). Es altamente aceptado que las variables de este tipo son efectivas y suficientes para determinar si el ambiente es favorable para la presencia de la especie (Guisan & Zimmermann 2000).

Para minimizar el sesgo de ajuste de los modelos producido por la covarianza entre variables se aplicó correlación de Pearson, el cual es el proceso estadístico más común para medir la fortaleza de las relaciones entre dos variables continuas. Este proceso nos permitió eliminar las variables más correlacionadas y para ello se utilizó R v3.6.1.

Una vez eliminadas las variables correlacionadas ($r > 0,7$), se obtienen seis variables climáticas: Bio1 (temperatura media anual), Bio2 (rango diurno medio), Bio4 (rango de temperatura anual), Bio11 (precipitaciones del mes más seco), Bio12 (precipitación anual), Bio15 (estacionalidad de las precipitaciones) y la variable de elevación (Tabla 3).

Las opciones por defecto fueron seleccionadas para el análisis realizado en MaxEnt, incluyendo auto-características, un máximo de 500 iteraciones, 100 réplicas para asegurar resultados viables, y un muestreo aleatorio simple de 10.000 puntos de background con una convergencia límite de 10^{-5} y un multiplicador de regularización de 1. Utilizamos K-fold cross-validation para testear el rendimiento del modelo, para ello los datos se dividen entre prueba y entrenamiento, los datos de entrenamiento se dividen en k grupos denominados pliegues, aproximadamente

cada grupo del mismo tamaño, k-1 grupos son utilizados para el set de datos de entrenamiento mientras el grupo restante se utiliza para validar el modelo, este proceso se repite en cada iteración utilizando en cada una un grupo distinto como validación. Básicamente consiste en testear el modelo a través de diferentes combinaciones de datos.

Los modelos finales se obtienen con salida logística y fueron guardados en ASCII formato raster e importados a QGIS “Geographic Information System” versión 3.4.12 (2019). El modelo promedio se proyectó geográficamente dividiendo la probabilidad de ocurrencia en las siguientes cinco categorías: valores inferiores al valor umbral se consideran ausentes, umbral "bajo" $-0,25$, “medio” $0,25-0,5$, “alto” $0,5-0,75$ y “muy alto” $>0,75$. Los valores del área debajo de la curva (AUC) característica operativa del receptor (ROC) (Peterson et al., 2008; Elith & Leathwick 2009), se utilizaron para la evaluación de la precisión de la predicción del modelo. El AUC es un buen indicador del grado de bondad del modelo, ya que se interpreta como la probabilidad de que las instancias positivas y negativas se hayan clasificado de forma correcta (Phillips et al. 2004). La importancia de las variables para los ENM se evaluó en función del valor de permutación, prueba de Jackknife y las curvas de respuesta calculadas por MaxEnt (Phillips et al. 2017).

Tabla 3: Variables bioclimáticas y variables de elevación seleccionadas post correlación de Pearson (Correlación $r > 0.7$) procedentes de la base de datos WorldClim 2.

| Abreviatura | Variables |
|-------------|---------------------------------------|
| Bio1 | Temperatura media anual |
| Bio2 | Rango diurno medio |
| Bio4 | Rango de temperatura anual |
| Bio11 | Precipitaciones del mes más seco |
| Bio12 | Precipitación anual |
| Bio15 | Estacionalidad de las precipitaciones |
| ELV | Variable de elevación |

4- Resultados

4.1 Identificación macroscópica y microscópica del espécimen

Basidioma: Efuso, tenuemente membranáceo a veces haciéndose crustoso o despegándose cuando seco, hasta 0,3-0,5 mm de grosor. El himenóforo es liso a ligeramente tuberculado, pubescente, marrón grisáceo a marrón oliváceo, engrosado y compacto. El subículo es más tenue, menos denso, castaño a castaño oscuro. Los márgenes abruptos o adelgazados, a menudo bisoideo fimbriado, degradándose hasta alcanzar color blanco en los extremos (Fig. 2A)

Sistema Hifal: monomítico, hifas con septos simples. Hifas subiculares de 2,5 a 7 μm a menudo ramificadas, de paredes delgadas, hialinas o de paredes gruesas y coriáceas. Hifas Subhimeniales de 2,5 a 5 μm de ancho, en su mayoría de paredes delgadas y sub-hialinas, a veces con paredes engrosadas y de color amarillento a ocráceo.

Cistidios (septocistidios): numerosos, cilíndricos, con ápice obtuso o ligeramente cónico o, menos frecuentemente, clavados u obclavados, con número de septos variable (10-20); generalmente de forma algo irregular y comprimidos en algunos tabiques, normalmente de hasta 250 (400) μm de largo y de 8–16 μm de ancho, sobresaliendo hasta 100 (200) μm . En su mayoría con paredes gruesas y ocráceas, rara vez castañas, normalmente con paredes delgadas, hialinas en la celda apical distal. A menudo los cistidios proyectados se encuentran fuertemente incrustados, a veces solo escasamente, algunos segmentos de hifas también pueden estar incrustados (Fig. 2D)

Basidios: estrechamente claviformes a largamente cilíndricos, frecuentemente más alargados en la base, sinuosos, de 30-60 (80) x (6) 7-9 μm ; con 4 esterigmas de hasta 8 μm de largo (Fig. 2B)

Basidiosporas: Elipsoidales a estrechamente elipsoidales con un lado adaxial aplanado, pueden observarse ovoides en vista frontal, con 8-10(11) x 4-5(5,5) μm hasta 10-13(14) x 5-7(8) μm , lisas, de paredes gruesas, amarillentas a ocráceas, a veces ligeramente oliváceas (Figura 2C).

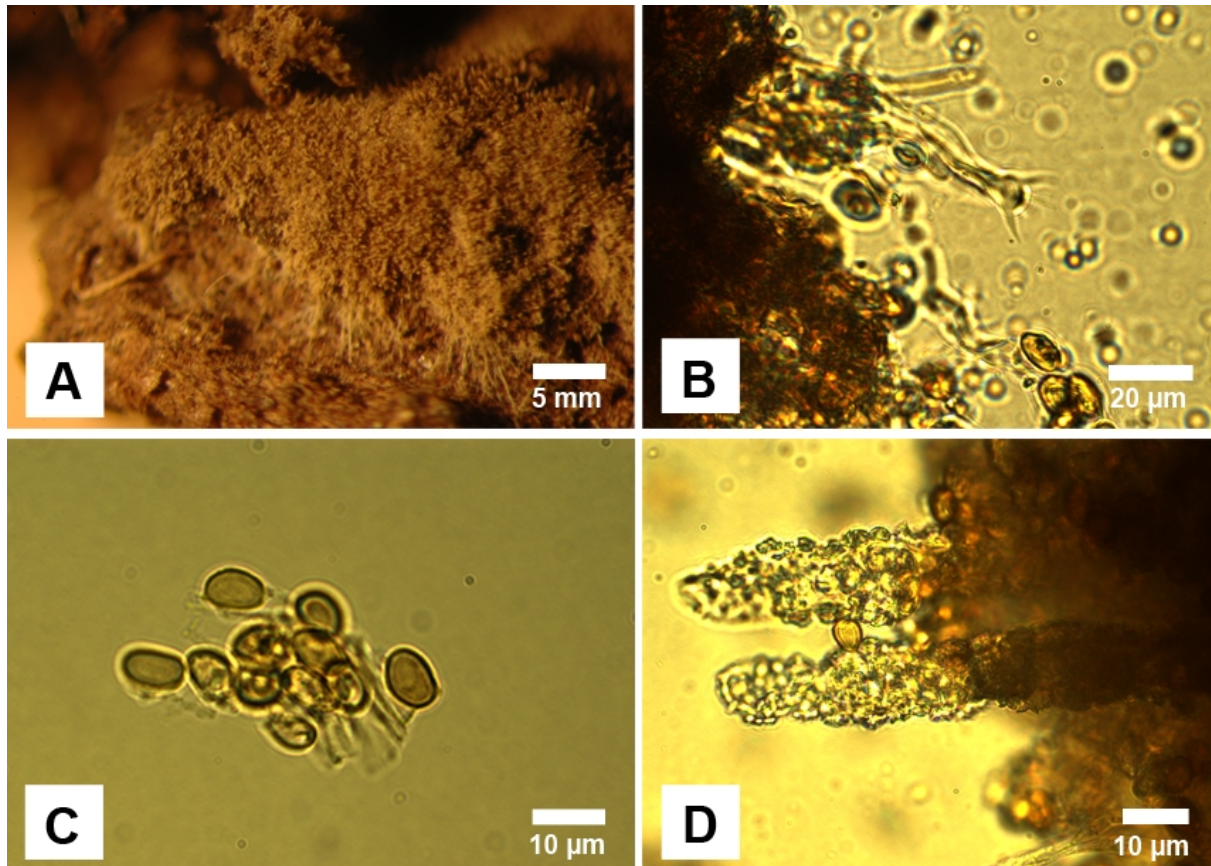


Figura 2: Macroscopía y microscopía de *Coniophora olivacea*: A: Vista del basidioma en lupa (Leica EZ4), se observan las características membranosas pubescentes de la fructificación así como los bordes se tornan ligeramente claros hasta blanquecinos. B: Basidio claviforme con 4 esterigmas C: Basidiosporas elipsoidales, sin ornamentos y de paredes gruesas. D: Cistidios proyectados con una gran cantidad de incrustaciones.

4.2 Identificación del sustrato de *Coniophora olivacea*, colonización y degradación del leño

Identificación del sustrato:

El sustrato de madera en la que se encontró el basidioma de *C. olivacea* presentó las siguientes características: En sección transversal se observó porosidad difusa, con vasos solitarios o agrupados en radios múltiples cortos y alguno largo, colonizados por abundantes hifas (Fig. 3C). También se observaron sectores con fibras o radios parenquimáticos (tejido desintegrado). En sección radial, radios de coloración rojiza y con contenido. Vasos con abundantes hifas. En sección tangencial se observan radios casi exclusivamente uniseriados, con

procumbencias y contenidos. Elementos vasculares con septos oblicuos y puntuaciones intervasculares opuestas y escalariformes. También se han observado elementos vasculares con un gran número de hifas (Fig. 3 A, D y E).

De acuerdo con nuestro estudio, las características anatómicas son comparativamente coincidentes con *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst., madera que posee porosidad difusa, vasos solitarios o agrupados, en series múltiples radiales cortas y largas (Rivera 1988). En la sección tangencial presenta septos oblicuos y en la sección radial placas perforadas simples, limítrofes, subterminales, con puntuaciones intervasculares opuestas con aureola circular a elíptica y a menudo escalariforme. Radios casi exclusivamente uniseriados, con células procumbentes (Tortorelli 2009).

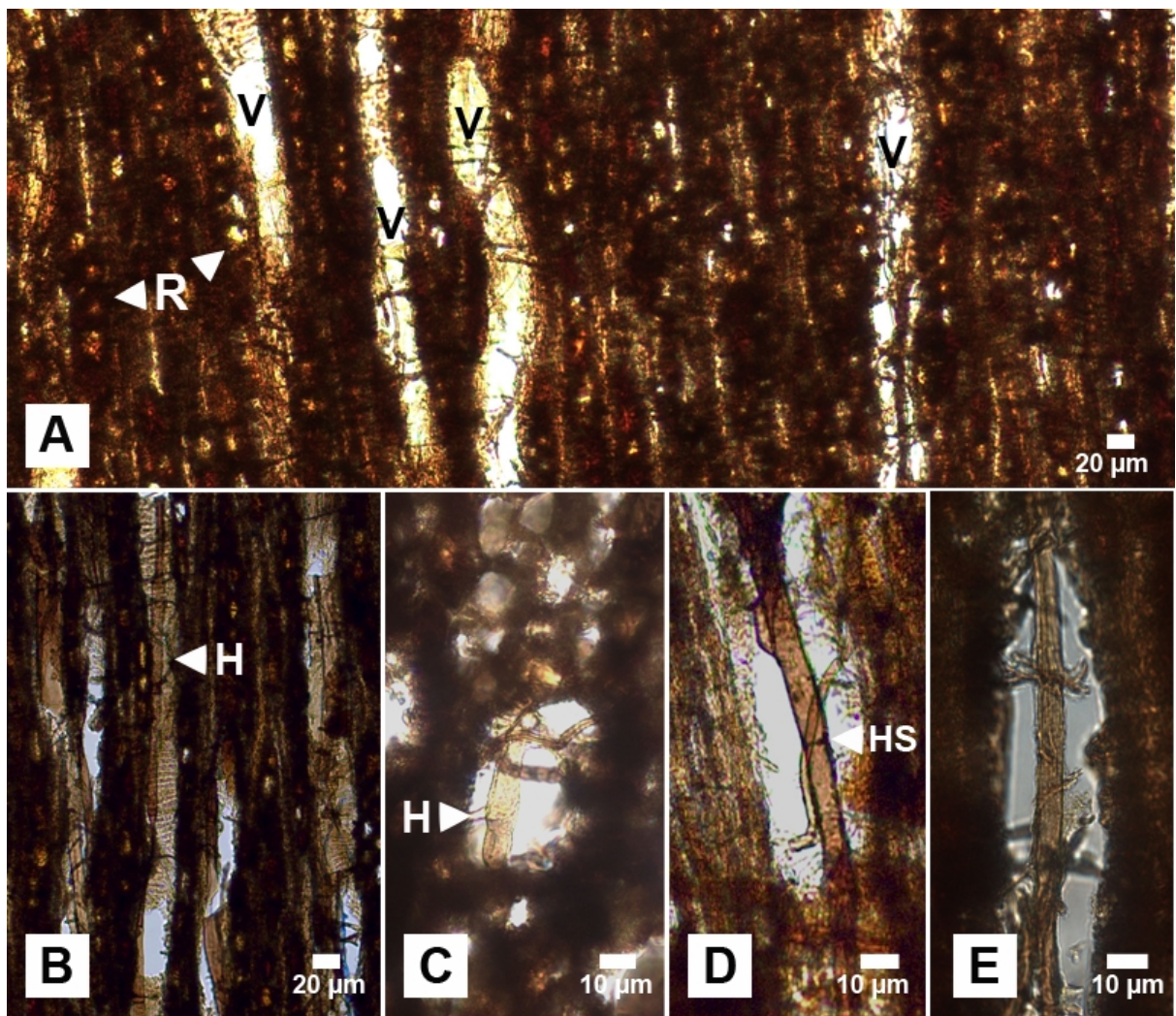


Figura 3: Secciones del leño de *Nothofagus dombeyi* afectado por *Coniophora olivacea* (tinción con azul de algodón). A: Sección tangencial en la que se observan los vasos (V) y radios (R) de coloración marrón debido a la degradación producida por *Coniophora olivacea*. B: Detalle de la degradación de los vasos y las puntuaciones de los mismos por parte del hongo. C: Sección transversal en la que se observa una hifa de *C. olivacea* colonizando en sentido radial. D: Sección tangencial donde se observa una hifa de *C. olivacea* en un vaso, con la presencia de un septo simple en la misma (HS). E: Sección tangencial donde se observa el desarrollo de hifas (H) de *C. olivacea* dentro del vaso. (V)= vasos; (R)= radios xilemáticos; (H)=hifas, (HS)= septo simple en hifa.

4.3 Histoquímica

Detección de lignina

En secciones transversales la madera no infectada dio positivo en el test de detección de lignina, tanto las fibras como los radios se colorearon de color rojo/rosa (Fig. 4A), mientras que la madera afectada por *C. olivacea* no muestra reacción positiva para la lignina. Se observaron fibras con paredes finas y deformadas, algunas fibras contienen pequeños restos de lignina (L). Los radios muestran coloraciones ocres con contenidos rojizos (Fig. 4B). En sección longitudinal de la madera no infectada las fibras y las paredes de los vasos se tiñeron de rojo/rosa (presencia de lignina) (Fig. 4C). La madera afectada se observó con todos sus elementos en coloración marrón, lo que indicó una reacción negativa para la lignina (Fig. 4D).

Detección de compuestos fenólicos

Madera no infectada: en la sección transversal las fibras presentaron coloración azul, indicando la presencia de lignina, los radios se colorearon de verde con contenidos oscuros. Algunos vasos con depósitos se tornaron rosa lo que indica la presencia de carbohidratos (Fig. 4E). En sección tangencial longitudinal se observan en detalle las paredes de los vasos con perforaciones intervasculares en azul al igual que fibras (Fig. 4G).

Madera infectada: en la sección transversal se observaron paredes delgadas y fibras de color oscuro y los radios con células agrandadas y de color ocre con

depósitos (Fig. 4F). Situación similar se observó en la sección tangencial, donde vasos deformados fueron observados (Fig.4H).

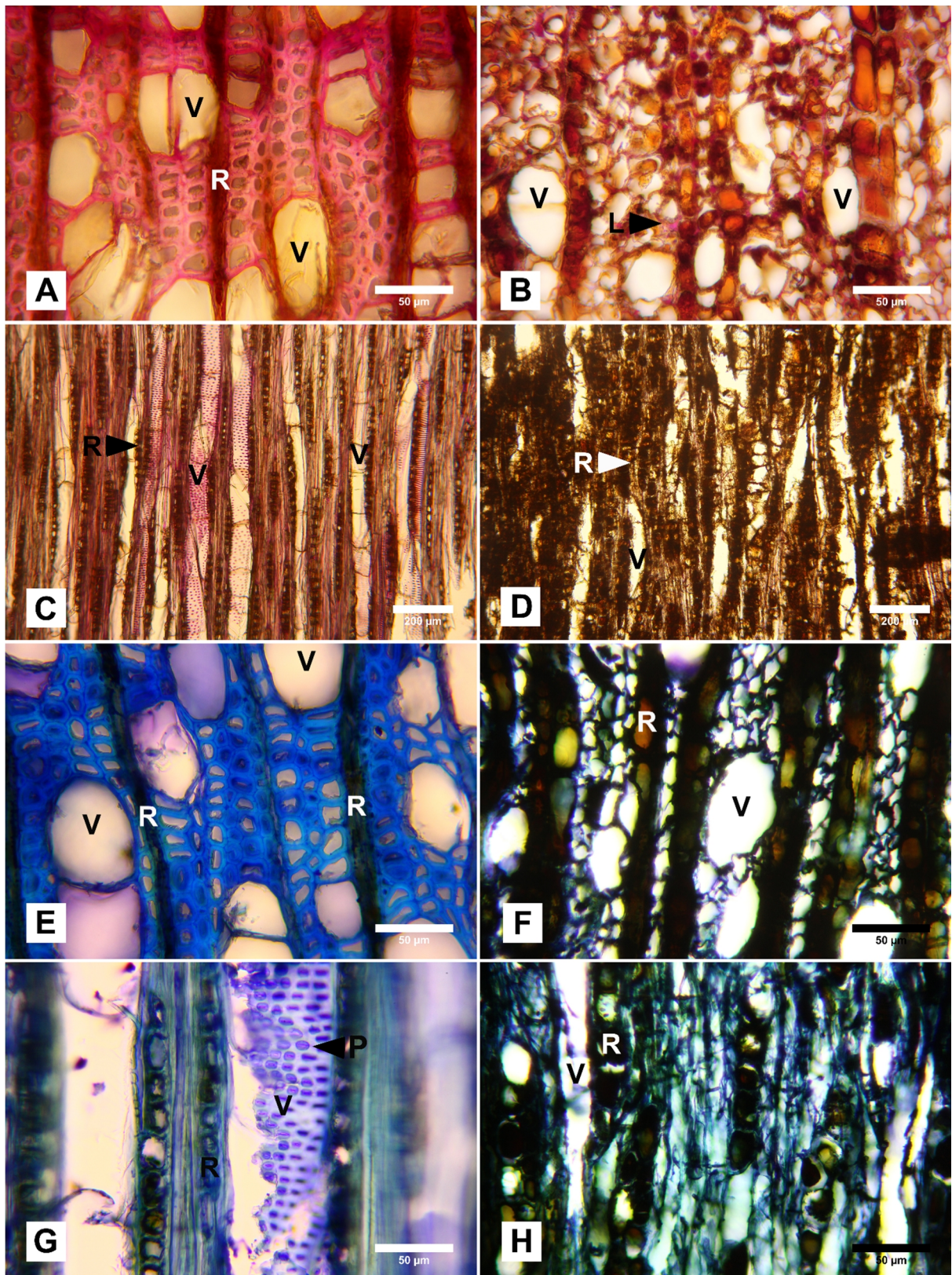


Figura 4: Histoquímica del leño sano (A,C,E,G) y afectado (B, D, F, H) de *Nothofagus dombeyi* por *Coniophora olivacea*.

A-D tinción con floroglucinol: A: sección transversal de leño sano donde se observan fibras y radios de coloración rojiza (reacción positiva de lignina). **B:** leño afectado sin coloración en radios y fibras (reacción negativa de lignina). **C:** sección longitudinal tangencial se observan las fibras y paredes de los vasos de coloración rojo/rosa reaccionando positivamente a la lignina. **D:** leño afectado donde se observa coloración marrón en fibras y radios (reacción negativa para lignina).

E-H tinción con azul de toluidina. E: detalle de la sección transversal de leño sano donde se observan las fibras de color azul y radios de coloración verdosa con contenidos oscuros. **F:** en el leño afectado las fibras se ven de color oscuro, de paredes finas y deformadas. Los radios de color ocre con contenidos oscuros y células deformadas (ensanchadas). **G:** Sección longitudinal tangencial de leño sano donde se observa de color azul las fibras y las puntuaciones de los vasos. Los radios presentan coloración verdosa con contenidos oscuros. **H:** Leño afectado donde se observan las fibras de color oscuro y paredes finas. Los radios con células ensanchadas y contenidos oscuros.

(L) = lignina; (V) = vasos; (R) = radios; (P) = perforaciones intervasculares.

4.4 Identificación molecular del espécimen y posicionamiento filogenético

El ADN obtenido post PCR se observó de calidad y arrojó una única banda consistente en comparación al marcador de peso molecular con el segmento ITS amplificado. El modelo de Kimura de dos parámetros con distribución Gamma de frecuencias (K2 +G Kimura 1980) fue el mejor modelo evolutivo de sustitución para los árboles generados. Los análisis realizados reafirman la identificación morfológica del espécimen FK16004 como *Coniophora olivacea* (Fr.) P. Karst. y también definen con buen soporte que el espécimen está relacionado con el grupo 4 dentro del esquema propuesto por Kauserud et al. (2007). Este grupo consiste en secuencias de colecciones recolectadas en Columbia Británica (Canadá) y en UK, pero se requieren de estudios más complejos antes de proponer a estas localidades como el origen de la cepa introducida en Patagonia. El grupo 5 no se ha recuperado del conjunto de datos ya que no se recuperaron secuencias disponibles que lo representen de las bases de datos públicas.

Los árboles obtenidos a partir de los análisis de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana arrojaron filogenias congruentes.

El árbol de verosimilitud mayor (Fig. 5) demuestra que las secuencias de *Coniophora olivacea* forman un clado con buen soporte, el árbol de máxima verosimilitud arrojó un Bootstrap significativo (75%) y un PP bayesiano (0,97). El resto de las secuencias seleccionadas e identificadas como otras especies del género *Coniophora* como *C. opuntiae*, *C. hanoiensis*, *C. marmorata*, *Coniophora* sp., *C. puteana*, *C. arida* y *C. fuispora* conforman los clados afines a *C. olivacea*, mientras que las secuencias de *Leucogyrophana* spp. forman el grupo externo y la raíz del árbol.

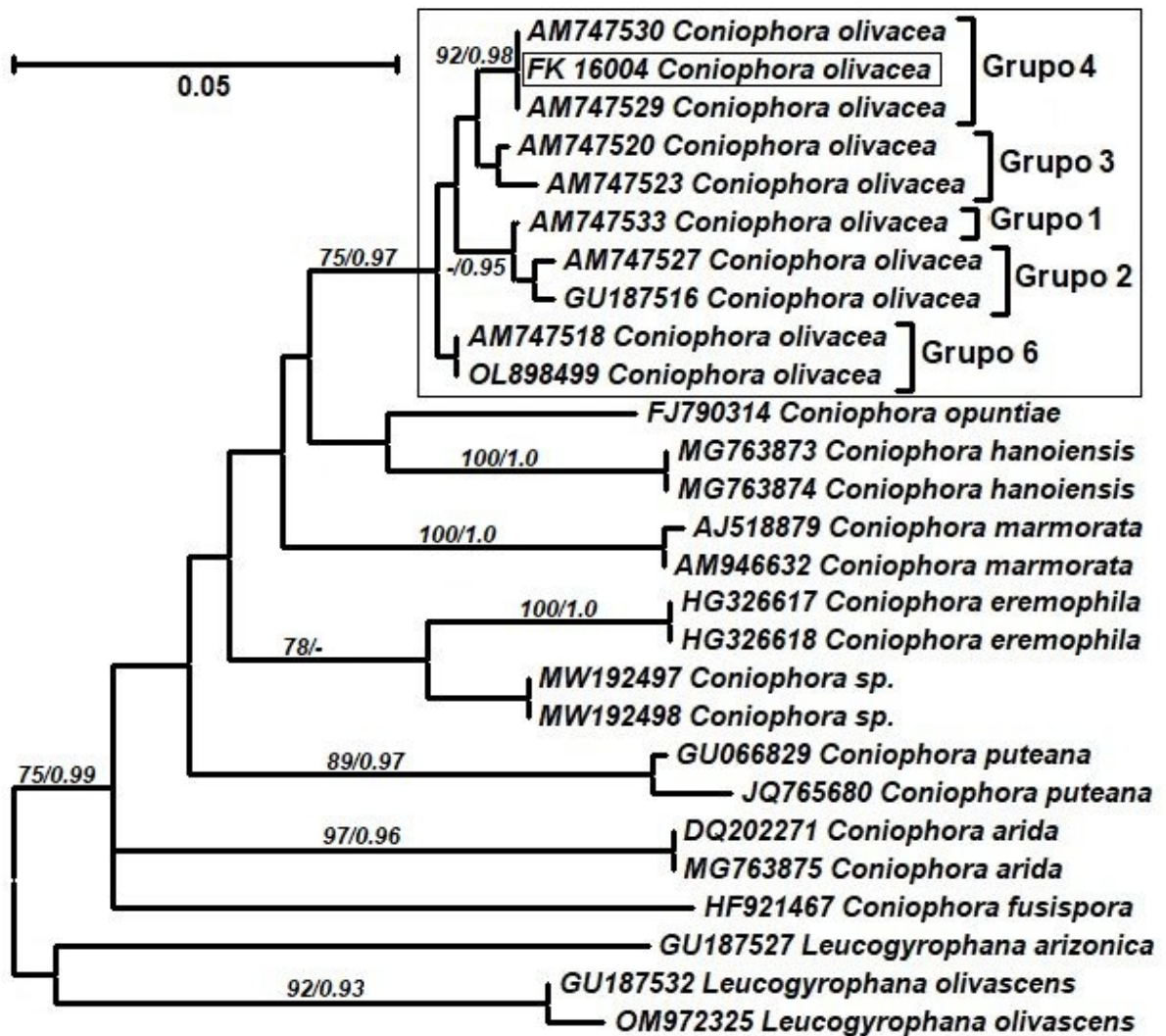


Figura 5: Árbol de Máxima verosimilitud de secuencias ITS mostrando bootstrap significativo debajo de las ramas (>75%) y significativo PP Bayesiano debajo (>0.95). Grupos intraespecíficos indicados en *C. olivacea* se corresponde con los clados crípticos definidos por Kauserud et al. (2007). El Grupo 5 no fue representado debido a la falta de disponibilidad de secuencias representativas.

4.5 Modelado de nicho y predicción del rango de distribución potencial de *C. olivacea* en Patagonia

El modelo de distribución potencial de *C. olivacea* demostró un alto poder predictivo, como lo muestra el área debajo de la curva (AUC) (μ : 0,902; SD: 0,114). Los mapas obtenidos de ENM demostraron como la idoneidad del hábitat se distribuye mundialmente (Fig. 6) y en la región Patagónica (Fig. 7). En general, las áreas adecuadas se localizaron en Europa, Norte y Sur de América, Australia y el Este de Asia. El modelo también predice áreas idóneas para Argentina y Chile lo que representa regiones geográficas con condiciones climáticas y de elevación aptas para el establecimiento de *C. olivacea*. Las áreas con altos valores de adecuación ($> 0,5$), representan aproximadamente 629.053 km² del área total de Argentina y Chile (Fig. 7). De acuerdo a este modelo, las principales variables que explican la presencia de la especie son Bio12 (precipitación anual) y Bio1 (temperatura anual media) contribuyendo juntas con un 81,6% (Tabla 4). Considerando la importancia de la permutación, Bio 12 y Bio1 también representan la máxima influencia en el modelo y contribuyen en un 82,6 %. El resultado de la prueba Jackknife mostró que Bio1 tiene la información más útil por sí misma y la mayor parte de la información que no está presente en otras variables (Tabla 5). En general la adecuación del hábitat resultó alta en áreas con una temperatura media anual (Bio1) entre los 0°C y los 10°, y valores de precipitación (Bio12) en el rango de 500-1.500 mm³ (Fig. 8). La distribución potencial se extiende en áreas con bajo rango de temperatura diurna (Bio2) y bajo rango de temperatura anual (Bio4) (Fig. 9); y en áreas donde las temperaturas más frías están entre -10°C y 0°C (Bio11) y baja estacionalidad de precipitaciones (Bio15) (Fig. 9). Las zonas más adecuadas se encuentran por debajo de los 1000 m.s.n.m. con una temperatura media anual de alrededor de 10°C (Fig. 9).

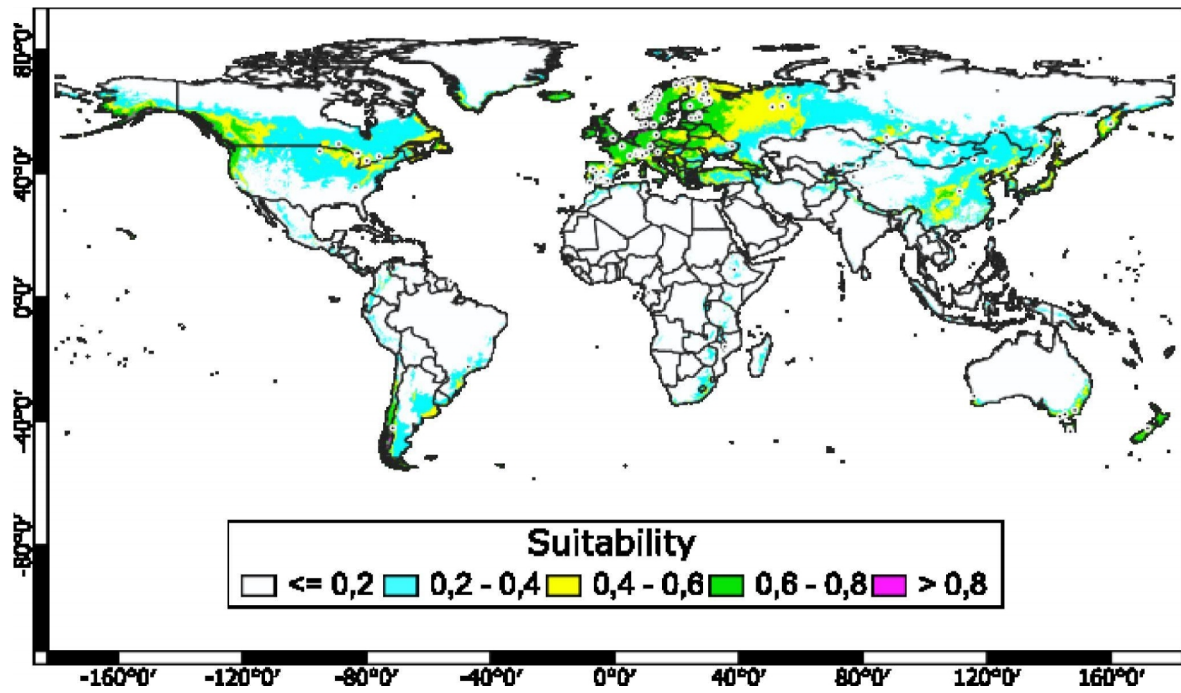


Figura 6: Distribución del hábitat adecuado de *C. olivacea* en todo el mundo. El valor de idoneidad representa la probabilidad de distribución prevista (en valor logístico) para las capas climáticas y de elevación utilizadas en el modelado de nichos. Los especímenes de *C. olivacea* están marcados con un punto negro.

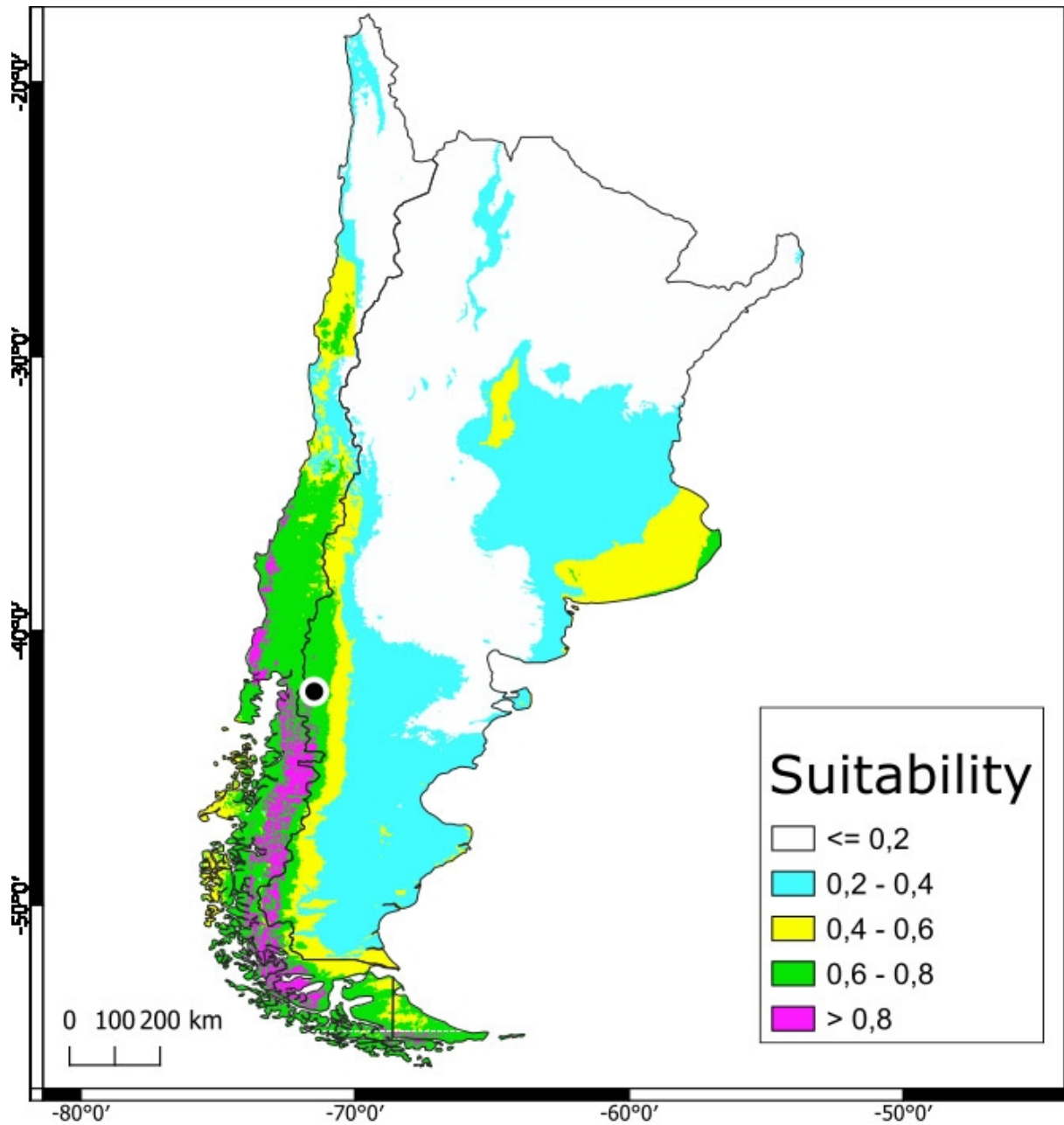


Figura 7: Distribución del hábitat idóneo de *C. olivacea* en Argentina y Chile. El valor de idoneidad representa la probabilidad de distribución prevista (en valor logístico) para las capas climáticas y de elevación utilizadas en el modelado de nichos. Ejemplar de *C. olivacea* recolectado en la Patagonia marcado con un punto negro.

Tabla 4: Contribución de cada variable ambiental utilizada para predecir la distribución geográfica potencial de *C. olivacea*. Los valores mostrados representan el promedio de 100 repeticiones. Los valores en negrita indican cargas más altas.

| | Variable | <i>C. olivacea</i> |
|-----------------------------|-----------------------------------|--------------------|
| n | | 100 |
| AUC ± SD | | 0.91 ± 0.09 |
| Contribución porcentual (%) | Bio1 | 43,1 |
| | Bio2 | 4,5 |
| | Bio4 | 3,7 |
| | Bio11 | 7,1 |
| | Bio12 | 38,5 |
| | Bio15 | 0,4 |
| | Elv | 2,7 |
| | Importancia de la permutación (%) | Bio1 |
| Bio2 | | 0,5 |
| Bio4 | | 8,1 |
| Bio11 | | 7 |
| Bio12 | | 3,7 |
| Bio15 | | 0,9 |
| Elv | | 2,8 |

Tabla 5: Jackknife de ganancia de entrenamiento regularizado para *C. olivacea*. Con una sola variable, el valor aumenta a medida que la propia variable contiene más información. Sin la variable, el valor disminuye ya que la información de la variable faltante no está presente en las otras variables.

| Jackknife de ganancia formativa regularizada | | | |
|--|-------------------|--------------|--------------|
| Abreviatura variable | Con solo variable | Sin variable | Sin variable |
| Bio1 | 0,99 | 1,29 | 1,37 |
| Bio2 | 0,07 | 1,34 | |
| Bio4 | 0,11 | 1,37 | |
| Bio11 | 0,87 | 1,37 | |
| Bio12 | 0,65 | 1,33 | |
| Bio15 | 0,43 | 1,37 | |
| Elv | 0,14 | 1,33 | |

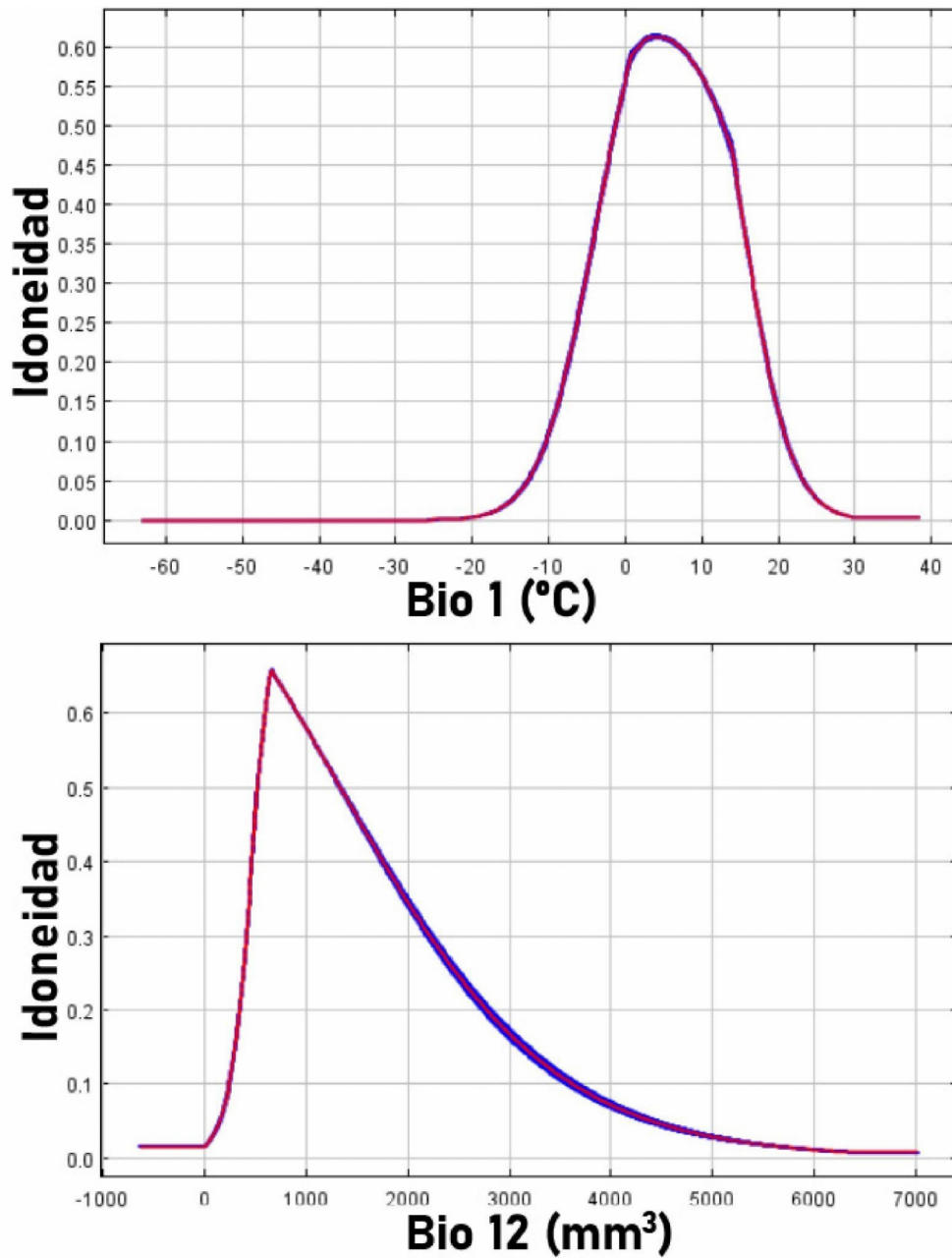


Figura 8: Curvas de respuesta de las variables ambientales de mayor importancia en el modelado de distribución del hábitat para *C. olivacea*; Temperatura media anual (Bio1) y precipitación anual (Bio12). El valor de idoneidad representa la probabilidad de distribución prevista (en valor logístico).

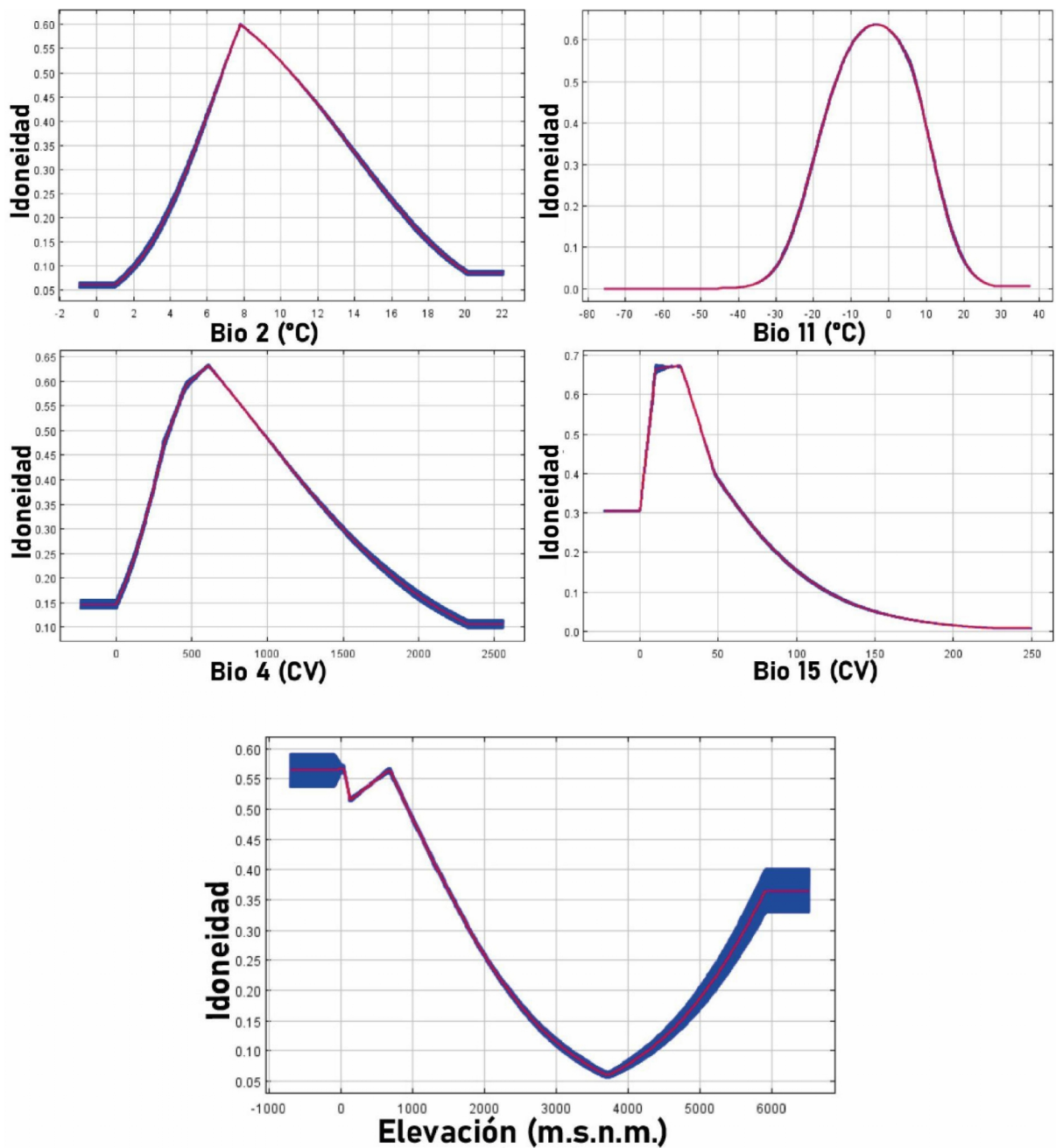


Figura 9: Curvas de respuesta de rango diario medio (Bio2), rango de temperatura anual (Bio4), precipitación del mes más seco (Bio11), estacionalidad de las precipitaciones (Bio15) y elevación (ELV) en el modelado de distribución del hábitat para *C. olivacea*. El valor de idoneidad representa la probabilidad de distribución prevista (en valor logístico).

5- Discusión

Los análisis del espécimen a nivel macroscópico y microscópico se condicen con las descripciones propuestas para *Coniophora olivacea* (p. ej: Bourdot & Galzin 1927; Stalpers 1978; Ginns 1982).

En el presente trabajo los análisis moleculares en conjunto con la descripción macroscópica y microscópica terminan confirmando la identificación a nivel de especie del material micológico estudiado. La posibilidad de establecer una buena relación filogenética entre nuestro espécimen de estudio y las colecciones depositadas en GenBank y publicados por otros autores proveen de evidencia suficiente respecto a la identificación. Sin embargo, considero que un análisis más detallado y exhaustivo de especímenes en mejor estado y de mayor tamaño podría detectar potenciales variaciones morfológicas de interés relacionadas con la posición infraespecífica de materiales patagónicos.

Los análisis histológicos e histoquímicos presentados en este trabajo permitieron detectar la colonización y degradación del sustrato leñoso por parte de *C. olivacea* así como la identificación del sustrato como *Nothofagus dombeyi*. Sin embargo, el estado sumamente avanzado de pudrición del sustrato no permitió hacer inferencias en cuanto a las estructuras específicas que *C. olivacea* ha degradado y que metabolitos están involucrados, ya que tanto la celulosa como la lignina se encontraban muy degradadas. Estos resultados son razonables ya que en la naturaleza raramente un organismo degradador actúa solo, y en la sucesión cadavérica de la madera intervienen muchos organismos que incluyen bacterias, insectos, hongos y factores abióticos que actúan en conjunto (Shortle & Dudzik 2012). Estudios con cultivos en laboratorio y sustrato leñoso no afectado son necesarios para poder obtener información más detallada de la acción de *C. olivacea* en especies nativas de Patagonia.

La correlación de los hongos de pudrición castaña con las coníferas es predominante en el hemisferio norte y parecen estar adaptadas a estas (Gilbertson 1980). Sin embargo, en el hemisferio sur estos hongos son también comunes en angiospermas (Rajchenberg 1989) y es por ello que no es inesperado que la

colección estudiada se encuentre sobre un fragmento de *Nothofagus dombeyi* y que, por lo argumentado, pueda afectar otras especies nativas.

Los resultados filogenéticos de este trabajo concuerdan con topologías realizadas en estudios recientes (p. ej. Blanco et al. 2009) y sugieren que se corresponde con una especie críptica descrita por Kauserud et al. (2007). La identificación a este nivel es esencial para un correcto entendimiento de la riqueza de la especie, la conservación y los planes de manejo (Balasundaram et al. 2015). Más colecciones genotipificadas permitirían un análisis de la distribución de la especie teniendo en cuenta esta diversidad intraespecífica. Sin embargo, actualmente los análisis son inviables debido al número de registros necesario para realizar una predicción del rango de distribución respaldada.

En cuanto al rango potencial de la especie, la idoneidad de hábitat más alta (>0,8) para *C. olivacea* parece dominar los bosques húmedos en latitudes superiores a 35° en el lado chileno de los Andes. En la región Argentina, la mayor idoneidad es más restrictiva y sólo limitada a valles húmedos en la provincia de Chubut, Santa Cruz y Tierra del Fuego. La estacionalidad de las lluvias parece ser determinante y disminuiría levemente la idoneidad del hábitat en el resto de la Patagonia andina. Esta variable también ha demostrado ser muy influyente para explicar la distribución de agaricoides en esta región (Romano et al. 2017). Gran parte de la Patagonia Andina muestra una alarmante idoneidad de hábitat con un valor por encima de 0,6, lo que puede representar un riesgo, no solo por el uso generalizado de la madera, sino también para el bosque nativo.

Esta alta idoneidad apoya la idea de que la colección pertenece a una especie recientemente introducida. Las chances de que esta especie haya permanecido inadvertida, a pesar de los enormes esfuerzos de muestreo en las últimas décadas, son muy bajas; especialmente considerando las intensas campañas dedicadas a registrar hongos corticioides en esta región (p. ej. Gallo et al. 2021). Además, el hecho de que la ubicación de la colección estudiada tenga una larga historia de silvicultura y manejo forestal podría indicar una introducción reciente.

Un tema importante de discusión en este trabajo es el potencial rol de *C. olivacea* como un patógeno de la madera. Existen artículos que demuestran su rol como

podridor basal en bosques templados y fríos (Worrall & Nakasone 2009) y también como podredumbre de ramas y tallos (Aref'ev 1991). Aunque es demasiado precipitado sugerir que esta especie puede actuar como un patógeno en Patagonia, el hecho de que la colección se encuentre asociada a una especie de árbol nativa junto con los altos valores de idoneidad del hábitat indican que esta posibilidad requiere ser analizada. En un futuro una inspección de los árboles vivos en las áreas cercanas a la locación de la colección presentada en este estudio puede proveer de información valiosa relacionada a este tema. La verificación de una patogenicidad potencial en especies nativas requeriría de acciones inmediatas para la restricción de la posible propagación de este descomponedor de madera, dado el amplio rango de especies donde puede desarrollarse (Da Costa et al. 1961).

6- Conclusiones

Esta investigación tuvo entre sus objetivos reportar la presencia de *C. olivacea* en Patagonia y, en base a los estudios realizados, se pudo confirmar la identidad de la colección lo que representa el primer registro de esta especie en Argentina y para América del Sur.

Mediante las técnicas de histología e histoquímica se pudo confirmar que el espécimen de estudio se encuentra fructificando y degradando un fragmento de madera de *Nothofagus dombeyi*, conocido por los nombres comunes de coihue, coigüe o coihue común, una especie arbórea endémica de los bosques templados del sur de Chile y suroeste de Argentina.

Los análisis moleculares no solo permitieron establecer una relación filogenética del espécimen con las colecciones obtenidas de la base de datos GenBank, observándose la conformación de un clado con buen soporte para la especie de *C. olivacea*, sino que también se pudo establecer una relación cercana al grupo 4 intraespecífico descrito por Kauserud et al. (2007).

El modelo de ENM nos permitió identificar áreas en Patagonia con condiciones ambientales similares a las imperantes donde la especie se encuentra actualmente establecida. Aunque existen factores determinantes que no se analizaron en este estudio, consideramos que las variables climáticas y topográficas utilizadas proveen de modelos confiables.

Este estudio provee información y conclusiones respecto de la presencia de *C. olivacea* en Patagonia, y pone a prueba métodos de estudio de rango de distribución potencial que podrían ser de gran valor como herramientas de toma de decisión para el manejo de especies fúngicas invasoras.

Financiamiento

Este trabajo se llevó a cabo con financiamiento del MINCyT por medio del subsidio PICT 2018 3781 adjudicado a FK

7- Bibliografía

Arantes, V., & Goodell, B. (2014). Current understanding of brown-rot fungal biodegradation mechanisms: a review. *Deterioration and protection of sustainable biomaterials*, 3-21.

Aref'ev, S. P. (1991). Xylotrophic fungi-the causal agents of Siberian pine (*Pinus sibirica* Du Tour) rot in the central taiga region of the Irtysh river basin. *Mikologiya i Fitopatologiya*, 25(5), 419-425.

Armstrong, A. J., & Van Hensbergen, H. J. (1996). Impacts of afforestation with pines on assemblages of native biota in South Africa. *South African Forestry Journal*, 175(1), 35-42.

Balasundaram, S. V., Engh, I. B., Skrede, I., & Kauserud, H. (2015). How many DNA markers are needed to reveal cryptic fungal species?. *Fungal Biology*, 119(10), 940-945.

Bickford, D., Lohman, D. J., Sodhi, N. S., Ng, P. K., Meier, R., Winker, K., ... & Das, I. (2007). Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in ecology & evolution*, 22(3), 148-155.

Blanco, M. N., Moreno, G., Checa, J., Platas, G., & Peláez, F. (2009). Taxonomic and phylogenetic revision of *Coniophora arachnoidea*, *C. opuntiae*, and *C. prasinoides*. *Mycotaxon*, 108(1), 467-477.

Bourdot, H., & Galzin, A. (1927). *Hyménomycètes de France*. Sceaux.

Bruhn, J. N., Mihail, J. D., & Meyer, T. R. (1996). Using spatial and temporal patterns of *Armillaria* root disease to formulate management recommendations for Ontario's black spruce (*Picea mariana*) seed orchards. *Canadian journal of forest research*, 26(2), 298-305.

Chee, A. A., Farrell, R. L., Stewart, A., & Hill, R. A. (1998). Decay potential of basidiomycete fungi from *Pinus radiata*. In *Proc. 51st NZ Plant Protection Conf.* Vol. 235. 1998.

Clavero, M., & García-Berthou, E. (2005). Invasive species are a leading cause of animal extinctions. *Trends in ecology & evolution*, 20(3), 110.

Cóbar Carranza, A. J. (2013). Cambios en el combustible en un bosque de *Araucaria araucana* y *Nothofagus antarctica* invadido por *Pinus contorta* Implicaciones en el régimen de incendios. Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Forestales.

Da Costa, E. W. B., P. Rudman, and F. J. Gay. (1961) Relationship of growth rate and related factors to durability in *Tectona grandis*. *Empire Forestry Review* 40: 308–319.

Da Costa, E. W. B., & Osborne, L. D. (1967). Comparative decay resistance of twenty-six New Guinea timber species in accelerated laboratory tests. *The Commonwealth Forestry Review*, 63-74.

Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. (2012). jModel□ Test 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods* 9:772–772, doi:10.1038/nmeth.2109

Desprez-Loustau, M. L., Robin, C., Buee, M., Courtecuisse, R., Garbaye, J., Suffert, F., ... & Rizzo, D. M. (2007). The fungal dimension of biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(9), 472-480.

Dezzotti, A., Sbrancia, R., Mortoro, A., & Monte, C. (2009). Invasión biológica de *Pinus ponderosa* y *Pinus contorta*: estudio de caso de una plantación en la Patagonia noroccidental. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales*, 18(2), 181-191.

Dickie, I. A., Bufford, J. L., Cobb, R. C., Desprez□Loustau, M. L., Grelet, G., Hulme, P. E., Klironomos, J., Makiola, A., Nuñez, M. A., Pringle, A. & Thrall, P. H., (2017). The emerging science of linked plant–fungal invasions. *New Phytologist*, 215(4), pp.1314–1332.

Dickman, A., & Cook, S. (1989). Fire and fungus in a mountain hemlock forest. *Canadian Journal of Botany*, 67(7), 2005-2016.

Di Febbraro, M., Lurz, P. W., Genovesi, P., Maiorano, L., Girardello, M., & Bertolino, S. (2013). The use of climatic niches in screening procedures for introduced species to evaluate risk of spread: a case with the American eastern grey squirrel. *PloS one*, 8(7), e66559.

Edman, M., & Jonsson, B. G. (2001). Spatial pattern of downed logs and wood-decaying fungi in an old-growth *Picea abies* forest. *Journal of Vegetation Science*, 12(5), 609-620.

Elith J., & Leathwick J. R. (2009). Conservation prioritization using species distribution models. In *Spatial Conservation Prioritization: Quantitative Methods and Computational Tools*, ed. A Moilanen, KA Wilson, HP Possingham. Oxford: Oxford Univ. Press. pp 70–93

Eriksson, K. E. L., Blanchette, R. A., & Ander, P. (2012). *Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components*. Springer Science & Business Media.

Franklin, J. (2010). *Mapping species distributions: spatial inference and prediction*. Cambridge University Press, Cambridge

Gallo, A. L., Silva, P. V., López Bernal, P., Moretto A. S. & Greslebin, A. G. (2021) Fungal diversity, woody debris, and wood decomposition in managed and unmanaged Patagonian *Nothofagus pumilio* forests. *Mycological Progress* volume 20, 1309–1321. <https://doi.org/10.1007/s11557-021-01734-4>

Gardes M, Bruns TD. (1993). ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes—application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol Ecol* 2:113–1

Gilbertson, R. L. (1980). Wood-rotting fungi of North America. *Mycologia*, 72(1), 1-49.

Ginns, J. (1982). A monograph of the genus *Coniophora* Aphyllophorales, Basidiomycetes. *Opera Botan* 61:1–61.

Giordana, G., Kitzberger, T., & La Manna, L. (2020). Anthropogenic factors control the distribution of a southern conifer Phytophthora disease in a peri-urban area of northern Patagonia, Argentina. *Forests*, 11(11), 1183.

Goodell, B., Jellison, J., Liu, J., Daniel, G., Paszczynski, A., Fekete, F.,... & Xu, G. (1997). Low molecular weight chelators and phenolic compounds isolated from wood decay fungi and their role in the fungal biodegradation of wood. *Journal of Biotechnology*, 53(2-3), 133-162.

Goodell, B. (2003). Brown-rot fungal degradation of wood: our evolving view. *Wood Deterioration and Preservation-Advances in Our Changing World-*, 97-118.

Goodell, B., Qian, Y., & Jellison, J. (2008). Fungal decay of wood: soft rot—brown rot—white rot. In *ACS symposium series* (Vol. 982, pp. 9-31). Oxford University Press.

Greslebin, A. G. (2002). Fungi, Basidiomycota Aphylophorales: Coniophoraceae, Corticiaceae, Gomphaceae, Hymenochaetaceae, Lachnocladiaceae, Stereaceae, Thelephoraceae, Tulasnellales: Tulasnellaceae.

Greslebin, A. G., & Rajchenberg, M. (2003). Diversity of Corticiaceae sens. lat. in Patagonia, southern Argentina. *New Zealand Journal of Botany*, 41(3), 437–446.

Greslebin, A. G., & Hansen, E. M. (2010). Pathogenicity of *Phytophthora austrocedrae* on *Austrocedrus chilensis* and its relation with mal del ciprés in Patagonia. *Plant Pathology*, 59(4), 604-612.

Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., & Gascuel, O. (2010). New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic biology*, 59(3), 307-321

Guisan, A., & Zimmermann, N. E. (2000). Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological modelling*, 135(2-3), 147-186.

Hijmans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, P. G., & Jarvis, A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International journal of climatology*, 25(15), 1965-1978.

Huelsenbeck, J. P., & Ronquist, F. (2001). MrBayes: bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17:754–755, doi:10.1093/bioinformatics/17.8.754

Jobbágy, Eg; Am Acosta & Md Noretto (2013). Rendimiento hídrico en cuencas primarias bajo pastizales y plantaciones de pino de las sierras de Córdoba (Argentina). *Ecol. Austral*, 23:87-96.

Kass, J. M., Vilela, B., Aiello-Lammens, M. E., Muscarella, R., Merow, C., & Anderson, R. P. (2018). Wallace: A flexible platform for reproducible modeling of species niches and distributions built for community expansion. *Methods in Ecology and Evolution*, 9(4), 1151-1156.

Katoh K, Standley DM. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software 7: improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol* 30:772–780, doi:10.1093/molbev/mst010

Kauserud, H., Shalchian-Tabrizi, K., & Decock, C. (2007). Multilocus sequencing reveals multiple geographically structured lineages of *Coniophora arida* and *C. olivacea* (Boletales) in North America. *Mycologia*, 99(5), 705-713.

Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of molecular evolution*, 16(2), 111-120.

Krishnamurthy, K. V. (1988). *Methods in plant histochemistry*. S. Viswanathan. Printers & Publishers. India. 90 p.

Núñez, M. A., & Raffaele, E. (2007). Afforestation causes changes in post-fire regeneration in native shrubland communities of northwestern Patagonia, Argentina. *Journal of Vegetation Science*, 18(6), 827-834.

Olden, J. D., Poff, N. L., Douglas, M. R., Douglas, M. E., & Fausch, K. D. (2004). Ecological and evolutionary consequences of biotic homogenization. *Trends in ecology & evolution*, 19(1), 18-24.

Peña, E., & Pauchard, A. (2001). Coníferas introducidas en unidades del SNASPE: un riesgo para la biodiversidad. *Bosque Nativo*, 30(1), 3-7. Repositorio UDEC. <http://repositorio.udec.cl/jspui/handle/11594/1617>

Peterson, A. T., Papes, M., & Soberon, J. (2008). Rethinking receiver operating characteristic analysis applications in ecological niche modeling. *Ecological Modelling*, 213, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2007.11.008>

Peterson, A. T., Soberón, J., Pearson, R. G., Anderson, R. P., Martínez-Meyer, E., Nakamura, M., & Araújo, M. B. (2011). Ecological niches and geographic distributions (MPB-49). In *Ecological Niches and Geographic Distributions (MPB-49)*. Princeton University Press.

Phillips, S. J., Dudík, M., & Schapire, R. E. (2004, July). A maximum entropy approach to species distribution modeling. In *Proceedings of the twenty-first international conference on Machine learning* (p. 83). ACM.

Phillips, S. J., Anderson, R. P., & Schapire, R. E. (2006). Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological modelling*, 190(3-4), 231-259.

Phillips S. J., Dudík M., & Schapire R. E. (2017). Maxent Software for Modeling Species Niches and Distributions (Version 3.4.0). Available at: http://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent/

Pildain, M. B., & de Errasti, A. (2011). Hongos patógenos de pinos en la Patagonia y su asociación con plagas entomológicas. *Manejo integrado de plagas forestales. Serie técnica*, pp. 1-14

Pimentel, D., Zuniga, R., & Morrison, D. (2005). Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecological economics*, 52(3), 273-288.

- Raffaele, E., Núñez, M. A., & Relva, M. A. (2015). Plantaciones de coníferas exóticas en Patagonia: los riesgos de plantar sin un manejo adecuado. *Ecología austral*, 25(2), 89-92.
- Rajchenberg, M. (1989). Polyporaceae (Aphylophorales, Basidiomycetes) from southern South America: a mycogeographical view. *Sydowia*, 41(291).
- Rudman, P. (1966). Decay resistance in the Cypress pines. *Australian Forestry*, 30(4), 279-282. Da Costa, E. W. B., & Osborne, L. D. (1967). Comparative decay resistance of twenty-six New Guinea timber species in accelerated laboratory tests. *The Commonwealth Forestry Review*, 63-74.
- Richardson, D. M., Williams, P. A., & Hobbs, R. J. (1994). Pine invasions in the Southern Hemisphere: determinants of spread and invadability. *Journal of biogeography*, 511-527.
- Richardson, D. M. (1998). Forestry trees as invasive aliens. *Conservation biology*, 12(1), 18-26.
- Richardson, D. M., & Kluge, R. L. (2008). Seed banks of invasive Australian Acacia species in South Africa: role in invasiveness and options for management. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 10(3), 161-177.
- Rivera, S. M. (1988). Revisión xilológica del género *Nothofagus* Bl.(Fagaceae) para la Argentina. *Monografías de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 4: 73-84.
- Rivera Nava, L., Quintanar I. & Perez Olvera, C. (1999). Comparación histoquímica de albura y duramen de tres especies de *Quercus*. *Madera y Bosques* 5(1):27-41.
- Romano, G.M.; Greslebin, A.G. & Lechner, B.E. 2017. Modelling agaricoid fungi distribution in Andean forests of Patagonia. *Nova Hedwigia* 105(1–2): 95–120.
- Shortle, W. C., & Dudzik, K. R. (2012). Wood decay in living and dead trees: a pictorial overview. *Gen. Tech. Rep. NRS-97*. Newtown Square, PA: US

Department of Agriculture, Forest Service, Northern Research Station. 26 p., 97, 1-26.

Silva, P. V., Vélez, M. L., Hernández Otaño, D., Nuñez, C., & Greslebin, A. G. (2016). Action of fosetyl-al and metalaxyl against *Phytophthora austrocedri*. *Forest Pathology*, 46(1), 54-66.

Stalpers, J. A. (1978). Identification of wood-inhabiting fungi in pure culture. *Studies in mycology*, 16, 1-248

Tapia-Torres, N. A., de la Paz-Pérez-Olvera, C., Román-Guerrero, A., Quintanar-Isaías, A., García-Márquez, E., & Cruz-Sosa, F. (2014). Histoquímica, contenido de fenoles totales y actividad antioxidante de hoja y de madera de *Litsea glaucescens* Kunth (Lauraceae). *Madera y bosques*, 20(3), 125-137.

Tortorelli, L. A. (2009). Maderas y bosques argentinos: tomo 1 (No. F50-01). Orientación Gráfica Editora.

Vélez, M. L., Coetzee, M. P. A., Wingfield, M. J., Rajchenberg, M., & Greslebin, A. G. (2014). Evidence of low levels of genetic diversity for the *Phytophthora austrocedrae* population in Patagonia, Argentina. *Plant pathology*, 63(1), 212-220.

Vilá, M., Basnou, C., Pyšek, P., Josefsson, M., Genovesi, P., Gollasch, S., ... & DAISIE partners. (2010). How well do we understand the impacts of alien species on ecosystem services? A pan-European, cross-taxa assessment. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 8(3), 135-144.

Wisz, M. S., Hijmans, R. J., Li, J., Peterson, A. T., Graham, C. H., Guisan, A., & NCEAS Predicting Species Distributions Working Group. (2008). Effects of sample size on the performance of species distribution models. *Diversity and distributions*, 14(5), 763-773.

White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. San Diego, California: Academic Press Inc. p. 315–322.

Worrall, J. J., & Nakasone, K. K. (2009) Forest Insect & Disease Leaflet 150. wounds, 23(8), 11.

Yuan, H. S., Wei, Y. L., & Wang, X. G. (2015). Maxent modeling for predicting the potential distribution of Sanghuang, an important group of medicinal fungi in China. *Fungal Ecology*, 17, 140-145.

Zabel, R. A., & Morrell, J. J. (2012). *Wood microbiology: decay and its prevention..* San Diego: Academic Press, Inc, 476.

Zhang Z, Schwartz S, Wagner L, Miller W. (2000). A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J Comp Biol* 7:203–214. doi:10.1089/10665270050081478

Alumna: Jessica Paola Almonacid

Director: Dr. Francisco Kuhar

Co Director: Dr. Gonzalo Romano