



ARTICULO

Comportamiento *in vitro* del crecimiento micelial de *Amanita rubescens* bajo diferentes niveles de pH y medios de cultivo.Patricio Chung Guin-po^{1*} ¹Instituto Forestal, sede Biobío. Concepción, Chile. pchung@infor.clDOI: <https://doi.org/10.52904/0718-4646.2026.649>

Recibido: 12.12.2025; Aceptado 13.01.2026

RESUMEN

Se estableció cultivos bajo condiciones *in vitro* para estudiar el comportamiento de 4 cepas de la especie ectomicorrícica comestible *Amanita rubescens*, procedentes de 2 regiones de Chile. Se evaluó el efecto de los medios nutritivos PDA (Extracto de Papa, Dextrosa, Agar), MMN (Medio Melin- Norkrans) y BAF (Biotina Aneurina ácido Fólico), en cinco niveles de pH (4,8; 5,3; 5,8; 6,3 y 6,8), sobre las variables crecimiento radial (CR), velocidad media de crecimiento (VMC) y biomasa seca (B). La biomasa varía a nivel de cepas. Los medios con mejores rendimientos en CR y VMC fueron principalmente MMN y BAF a nivel de cepa y especie. Para la variable B fueron los medios BAF y PDA. La cepa IF1008002 fue la que produjo la mayor biomasa seca (B), en tanto que las cepas obtenidas de la región de Los Lagos obtuvieron un mayor rendimiento en B bajo el medio BAF, mientras que las procedentes de la región de Los Ríos lo obtuvieron en medio PDA. Comparaciones entre valores promedios del CD, VCM y B, muestran correlaciones que fluctúan entre medias y altas para las variables estudiadas.

Palabras claves: *Amanita rubescens*, cepas, pruebas de crecimiento, *in vitro*

SUMMARY

In vitro cultures were established to study the behavior of four strains of the edible ectomycorrhizal species *Amanita rubescens*, collected from two regions of Chile. The effect of the nutrient media PDA (Potato Dextrose Agar), MMN (Melin–Norkrans medium), and BAF (Biotin–Aneurin–Folic acid) at five pH levels (4.8, 5.3, 5.8, 6.3, and 6.8) was evaluated on the variables radial growth (RG), mean growth rate (MGR), and dry biomass (B). Biomass varied among strains. The media that showed the best performance in RG and MGR were mainly MMN and BAF at both strain and species levels, whereas for the B variable the best media were BAF and PDA. Strain IF1008002 produced the highest dry biomass (B). In addition, strains obtained from the Los Lagos region showed higher B yields in BAF medium, while those from the Los Ríos region did so in PDA medium. Comparisons among mean values of RG, MGR, and B showed correlations ranging from moderate to high for the variables studied.

Keywords: *Amanita rubescens*, strains, growth testing, *in vitro*

INTRODUCCIÓN

El género *Amanita* es el más grande dentro de la familia *Amanitaceae*, con aproximadamente 650 especies distribuidas en todo el mundo (Cai *et al.*, 2024), estimándose que la familia incluiría entre 900 y 1.000 especies (Tulloss, 2005; Zhang *et al.*, 2015; Cui *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2023). Los hongos del género *Amanita* son mayoritariamente ectomicorrícicos y solo alrededor del 5% de ellos se clasifican como saprófitos. Sus ectomicorizas forman asociaciones mutualistas con más de 10 familias de gimnospermas (principalmente *Pinaceae*) y Angiosperma pertenecientes a *Fagaceae*, *Dipterocarpaceae* y *Fabaceae*, entre otras (Cai *et al.*, 2024), jugando un rol importante en la salud de los ecosistemas forestales (Demkobá *et al.*, 2025), donde forman fructificaciones carnosas tanto comestibles, como tóxicas y alucinógenas (González *et al.*, 2002). En Chile, *Amanita rubescens* se encuentra distribuido entre Concepción y Osorno, asociado a plantaciones con especies exóticas como *Pinus radiata* y *Quercus robur* (Valenzuela *et al.*,

1996); también se indica su presencia en bosques de *Nothofagus dombeyi* comportándose como ectomicorriza (Valenzuela, 2003). Van der Linde *et al.* (2018) y Hutchinson & Pinche (1995) señalan que se encuentra típicamente en lugares con una alta disponibilidad de nitrógeno en los suelos. En tanto que, Lorenzana (2008), menciona en sus investigaciones una gran plasticidad de *A. rubescens* frente a variables como pH y porcentaje de materia orgánica.

Este género incluye a algunos conocidos hongos gourmet como son *A. caesarea*, *A. fulva*, *A. ovoidea*, *A. baccata*, *A. vaginata* y *A. rubescens*, y por otro lado, es el causante sobre el 90% de envenenamientos letales en todo el mundo, principalmente por la especie *A. phalloides* (Demkobá *et al.*, 2025). En Chile, este género está representado por varias especies, algunas descritas como tóxicas como *A. phalloides*, *A. gemmata* var. *toxica* o *A. muscaria*, en tanto que otras han sido reportadas como comestibles, como son los casos de las especies nativas *A. merxmueleri* y *A. diemii* (Salazar, 2016) o la especie introducida *A. rubescens* (Valenzuela *et al.*, 1996; Furci, 2018; Salazar, 2020).

En relación a la especie *Amanita rubescens*, conocida con el nombre vulgar “amanita rojiza” (Grünert & Grünert, 1984), es una especie ectomicorrícica que se introdujo a Chile con *P. radiata* (Garrido & Bresinsky 1985), y de acuerdo a observaciones realizadas por Valenzuela *et al.* (1998;1999) presenta la capacidad de desplazar algunos hongos micorrícicos nativos, como las especies del género *Cortinarius*, observando en sus investigaciones la presencia de ejemplares asociados a *Nothofagus*. Es una especie acidófila y heliófila (Gestión Ambiental de Navarra, 2011), con apariciones en período otoñal o primaveral de sus fructificaciones (Blanco *et al.*, 2007) Las fructificaciones a veces se encuentran en forma aislada y otras en pequeños grupos.

Se caracteriza por poseer un sombrero globoso que cambia a una forma plana, de 10-15 cm de diámetro, marrón a rojizo, con numerosos restos del velo de la volva, en forma de pequeñas placas algodonosas de distribución irregular, blanquecinas, que se tornan marrones. Las láminas son de color blanco, así como sus esporas. El estípite es cilíndrico con un anillo amplio con colores entre blanquecino a rosado; en su base posee una volva del mismo color o ligeramente más saturada (Valenzuela *et al.*, 1996). Posee una carne fibrosa blanca que enrojece al contacto con el aire (Figura 1).



Figura 1: *Amanita rubescens* en Bosque nativo (izquierda) y en Plantaciones de *Pinus radiata* (derecha).

Esta especie es tóxica en crudo, debido a una proteína termolábil llamada rubescenslycina que tiene efecto citolítico sobre las células del organismo, especialmente las del hígado (Odenthal, 1982). De acuerdo a Furci (2018), los cuerpos fructíferos de este hongo son venenosos si se consumen crudos, sin embargo, mediante un tratamiento térmico (cocción en agua y posterior descarte de la misma), es posible su consumo. Valenzuela *et al.* (1996) y Salazar (2020), coinciden en que la especie es comestible después de un adecuado tratamiento térmico, pero desaconsejan su consumo a recolectores inexpertos. Se debe

tener en cuenta que, en general, la biogénesis de metabolitos secundarios en hongos está condicionada principalmente por el tipo de nutrientes que conforman el sustrato y por las condiciones climáticas donde crecen y se desarrollan, lo que puede alterar y cambiar su metabolismo, generando diferencias en la presencia de compuestos bioactivos y su concentración (Jong & Birmingham, 1992; Sánchez, 2017).

Quintero-Corrales *et al.* (2024), sugiere que tras *A. rubescens* existe un complejo de especies que aún no se ha analizado su filogenia y taxonomía.

Además de su potencial importancia económica como PFNM, este hongo está ecológicamente relacionado con los demás componentes de los ecosistemas forestales, por lo que alteraciones naturales o antrópicas en el suelo y en el bosque pueden causar un importante impacto en su supervivencia y fructificación (Santiago-Martínez & Galindo-Flores, 2003).

A. rubescens junto a especies arbóreas principalmente del género *Pinus* han desarrollado una estrategia nutricional que les aseguran un beneficio mutuo a través de la simbiosis ectomicorrícica. La asociación simbiótica raíz-hongo, entre las que se encuentran las ectomicorrizas, es el resultado de la evolución conjunta entre plantas y hongos, siendo una norma más que una excepción en la nutrición de las plantas terrestres (Trappe, 1977; Brundrett & Cairney, 2002). Esta ectomicorriza se forma predominantemente sobre las puntas de las raíces finas del hospedante, distribuyéndose irregularmente a través del perfil del suelo, siendo más abundante en las capas superiores que contienen humus, que en capas inferiores del suelo mineral (Brundrett *et al.*, 1996); ella cumple una importante función en el ciclo de nutrientes de los ecosistemas forestales.

Debido a su extensa red de micelios, la simbiosis ectomicorrícica funciona como un sistema de absorción que se extiende por el suelo proporcionando agua y nutrientes a la planta, en tanto que el hongo recibe azúcares y carbohidratos provenientes de la fotosíntesis de la planta. Este mutualismo aumenta la resistencia de las plántulas a situaciones adversas y brinda protección frente al ataque de hongos patógenos, áfidos y nemátodos. Estos hongos simbioses también proporcionan hormonas estimulantes del crecimiento, contribuyendo a aumentar considerablemente el crecimiento y longevidad de las raíces (Slankis, 1973 *cit. por* Ipinza y Serrano, 1982).

La relación entre hongos ectomicorrícicos y especies forestales, constituye una ventajosa oportunidad para implementar líneas de investigación y desarrollo innovativos, que conjuguen la restauración y enriquecimiento del bosque, mejorando el desempeño de las plantaciones, con la generación de productos intermedios de alto valor económico, ecológico y social, como son los hongos ectomicorrícicos comestibles. No obstante, su producción natural en el bosque es variable, de modo que el interés por obtener una producción alta y estable, ha motivado iniciativas para cultivarlos mediante el establecimiento de plantas inoculadas con cepas fúngicas adaptadas a condiciones medioambientales específicas (Chung, 2020).

Para determinar las condiciones ideales de desarrollo del hongo, se debe realizar investigación y desarrollar una estrategia de cultivo. Se requiere implementar un banco de cepas, elaborar material inoculante de las cepas seleccionadas del hongo, y posteriormente usarlo para su cultivo artificial. Al respecto, el Instituto Forestal ha recolectado, aislado y mantenido una gran cantidad de material fúngico, con el propósito de generar una masa crítica para elaborar productos que puedan generar diversos formatos de material inoculante para ser utilizado en la producción de hongos comestibles.

En este artículo, se entrega información respecto al comportamiento de *A. rubescens* frente a diferentes condiciones controladas de cultivo, buscando aportar conocimiento para optimizar el desarrollo de cultivos y masificación miceliar en laboratorio, para posteriormente proseguir con los trabajos de inoculación de plantas en vivero y su posterior instalación en campo. Bajo este contexto, se evalúa el desempeño en crecimiento radial, velocidad media de crecimiento y biomasa seca de 4 cepas de *A. rubescens*, cultivadas bajo condiciones controladas *in vitro* en 3 medios de cultivo (PDA, MMN y BAF) y 5 niveles de pH (4,8; 5,3; 5,8; 6,3 y 6,8).

MATERIAL Y MÉTODO

Para la realización de este estudio se utilizaron 4 cepas de *Amanita rubescens* procedentes del banco de cepas del Instituto Forestal de Chile (INFOR), previamente recolectadas en rodales de *Pinus radiata*, en 4 localidades de las regiones de Los Ríos y Los Lagos (**Cuadro 1**).

Los cultivos puros fueron obtenidos de acuerdo a la técnica descrita por Molina & Palmer (1982), a partir del sombrero de un esporocarpio joven, cultivado sobre medio MMN, bajo oscuridad y a una temperatura de 23°C.

Cuadro 1. Cepas de *Amanita rubescens* colectadas en bosques de *Pinus radiata*.

Cepa	Lugar de recolección	Coordenadas (UTM)	Tipo de Suelo	Altitud (msnm)	Exposición
IF1007002	Camino a Picoy (Los Lagos)	18G 0665208, 5520857	Limoso	95	Plano
IF1008002	Entrada Las Quemadas (Los Lagos)	18G 0658811, 5498166	Limoso	69	Plano
IF1405003	Camino a la Unión. Sector Los Ulmos (Los Ríos)	18G 0662659, 5559799	Limo arcilloso	299	Plano
IF1409001	Fundo Llancahue (Los Ríos)	18H 0659363, 5586242	Limo arcilloso	307	Sur-Este

En una etapa posterior, el material original aislado de cada cepa fue masificado en discos de Petri con medio BAF, a pH 5,5 e incubados a una temperatura de 23°C en oscuridad. Para ello, se extrajo del material original discos de 5 mm, los que fueron puestos en el centro de placas de Petri con 20 ml del medio de cultivo por 60 días, período en el cual se generó suficiente tejido micelial para ser utilizados en la instalación de este estudio.

Durante el estudio se evaluó el comportamiento de cada cepa en términos de su crecimiento radial (CR) en milímetros; velocidad media de crecimiento (VMC) en mm/día; y producción de biomasa seca (B) en mg, en tres medios de cultivo (PDA, MMN y BAF) con 5 niveles de pH (4,8; 5,3; 5,8; 6,3 y 6,8). La evaluación se efectuó en un ensayo con diseño completamente aleatorizado donde se probó 15 tratamientos de estructura factorial, correspondientes a las combinaciones de los 5 niveles de pH por los 3 medios de cultivo analizados. Cada tratamiento se repitió 5 veces y los resultados se evaluaron mediante análisis de varianza a nivel de cepa y de especie.

Para la instalación del ensayo, los medios de cultivos usados fueron: Extracto de papa dextrosa agar (PDA) (Difco, Becton Dickinson and Company, USA); Melin- Norkrans modificado (MMN) (Marx, 1969); y Biotina Aneurina Ácido Fólico (BAF) (Moser, 1960) (**Cuadro 2**). Los medios de cultivos se esterilizaron en autoclave a 121°C, y 1,2 atm de presión, por 30 minutos, ajustando previamente sus valores respectivos de pH con HCL o KOH 1N y con mediciones realizadas con un peachímetro marca Thermo Scientific Orion modelo Star A111. Finalizado el proceso de esterilización, estos fueron llevados a una cámara de flujo laminar marca Filtromet modelo H24302, de fabricación nacional, donde se vació con jeringa 20 ml de medio en los discos de Petri de 90 x 15 mm usados en el ensayo. Los discos con el medio de cultivo se enfriaron en ambiente estéril hasta su uso. El proceso de instalación de los ensayos se realizó con la ayuda de un sacabocado que permitió obtener segmentos circulares de 5 mm desde los discos conteniendo el material micelial madre. Cada segmento fue colocado en el centro de cada disco de Petri para cada uno de los tratamientos, procediendo luego a sellarlos con cintas de parafilm y posteriormente marcarlos con el nombre de la especie, código de cepa, número de repetición, medio de cultivo, nivel de pH y fecha de instalación. Una vez finalizada la operación de instalación de los ensayos en los discos con sus segmentos miceliales respectivos, estos se ubicaron en una cámara de crecimiento marca Forma Scientific modelo 3744, en oscuridad y a 23°C de temperatura.

Cuadro 2. Formulación de medios BAF, MMN y PDA utilizados para el montaje del ensayo.

Nutrientes	Composición de Medios de Cultivo		
	MMN	BAF	PDA
Carbohidratos	Extracto de levadura	0,2 g	
	Extracto de papa		4 g
	Extracto de Malta	2 g	
	Peptona		2 g
	D - Glucosa	10 g	30 g
Nutrientes minerales	(NH ₄) ₂ HPO ₄	0,25 g	
	FeCl ₃ • 6 H ₂ O		10 mg
	ZnSO ₄ • 7H ₂ O		1 mg
	MnSO ₄ • 4 H ₂ O		5 mg
	KH ₂ PO ₄	0,5 g	0,5 g
	MgSO ₄ • 7H ₂ O	0,15 g	0,5 g
	CaCl ₂	0,05 g	100 mg
	FeCl ₃	1,2 ml (sol. 1%)	
	NaCl	0,025 g	
	Vitaminas	Tiamina HCl	0,01 mg
Biotina			0,001 mg
Ácido Fólico			0,1 mg
Inositol			50 mg
Agua Destilada		1.000 ml	
pH		4,8; 5,3; 5,8; 6,3; 6,8	
Agar		18 g	

Para medir el crecimiento radial (CR) se usó un pie de metro digital marca Ubermann. Cada medición se realizó en 4 direcciones a partir del centro donde se ubicó el disco de micelio, registrándose el crecimiento de las cepas, en cada uno de los discos de cada tratamiento, cada 7 días por un lapso de 60 días. En cada medición de crecimiento radial se descontó el radio correspondiente al segmento de agar inicial utilizado para realizar la inoculación.

Para obtener los valores de biomasa seca (B) al final del período de evaluación, se procedió a extraer desde los discos de Petri, el micelio obtenido junto con el medio con agar. Para eliminar el agar se aplicó la metodología utilizada por [Santiago-Martínez et al. \(2003\)](#), consistente en extraerlo por calentamiento en baño maría, el posterior enjuague de la colonia con agua caliente, y finalmente el secado de la colonia en estufa a 60 °C, hasta peso constante. Luego se procedió a pesar cada muestra, descontando el peso del papel y el peso del material inicial utilizado como inóculo, obteniendo finalmente la biomasa seca producida en cada tratamiento (**Figura 2**).

Para determinar la velocidad media de crecimiento (VMC) de las cepas, los datos obtenidos de mediciones de crecimiento radial cada 7 días por 60 días, se ajustaron mediante una ecuación de regresión para calcular la pendiente de la curva de crecimiento y obtener el promedio de crecimiento del hongo por día ([Santiago- Martínez et al., 1995](#)).

El análisis de los datos se realizó mediante análisis de varianza (ANDEVA), utilizando el software estadístico INFOSTAT versión 2015p. La homogeneidad de varianza se evaluó mediante la prueba de Levene ($P \leq 0,05$). En tanto que el supuesto de normalidad de los residuos se evaluó a través de la prueba de Shapiro-Wilks ($P \leq 0,05$). Para detectar diferencias significativas entre los tratamientos, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ([Montgomery, 1984](#)), con $P \leq 0,05$.



Figura 2. Confección de medios de cultivo (a); Ajuste de pH del medio de cultivo (b); Esterilización del medio (c); Esterilización del ambiente y discos de Petri dentro de Cámara de Flujo Laminar (d); Vaciado de medios a discos de Petri (e); Enfriado de medio de cultivo (f); utilización de sacabocado para obtención de inóculo estándar (g); instalación de inóculos en discos de Petri para cada medio y nivel de pH (h); ubicación de placas de Petri con ensayo en sala de crecimiento (i); medición del crecimiento en base al diámetro en dos ejes (j); separación de agar del micelio para determinar peso seco (k); pesaje de micelio en seco (l).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A Nivel de Cepas

Los resultados de los análisis de varianza para la cepa IF1007002, indican que las variables CR, VMC y B muestran diferencias significativas a muy significativas ($\alpha=0,05$; $0,01$) atribuibles al efecto de los factores medio de cultivo y pH. En la cepa IF1008002, se observó respuestas estadísticamente muy significativas para el efecto del medio de cultivo sobre las tres variables (CR, VMC y B) y respuestas significativas del efecto del pH sobre la VMC. En la cepa IF1405003, hubo un efecto muy significativo del factor pH sobre las variables CR y VMC, efecto muy significativo del medio de cultivo sobre B, y solo significativo sobre VMC y CR. Por último, la cepa IF 1409001 evidenció efectos muy significativos del medio de cultivo sobre las variables CR y VMC, sin embargo, no se detectó efecto del pH sobre ninguna de las tres variables evaluadas (**Cuadro 3**).

Cuadro 3. Significancia estadística del efecto de los factores medio de cultivo y pH sobre las variables respuesta crecimiento radial, velocidad media de crecimiento y producción de biomasa seca, para cuatro cepas de *Amanita rubescens*.

Cepa	Factor	Variables respuesta		
		Crecimiento radial	Velocidad media de crecimiento	Biomasa Seca
IF1007002	Medio	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
	pH	0,0002**	0,0003**	0,0119*
	Medio x pH	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
IF1008002	Medio	<0,0001**	<0,0001**	0,0003**
	pH	0,0761	0,0435*	0,7532
	Medio x pH	0,1099	0,1020	0,1239
IF1405003	Medio	0,0137*	0,0192*	0,0001**
	pH	<0,0001**	<0,0001**	0,4157
	Medio x pH	<0,0001**	<0,0001**	0,0286
IF1409001	Medio	<0,0001**	<0,0001**	0,7931
	pH	0,0398*	0,0334*	0,0126*
	Medio x pH	0,0133*	0,0077**	0,0001**

(*Efectos significativos $p\text{-value} \leq 0,05$; **muy significativos $p\text{-value} \leq 0,01$).

- *Crecimiento Radial (CR)*

De acuerdo al detalle del **Cuadro 4**, en la cepa IF1007002 se observa efecto de la interacción entre pH y medio de cultivo, con un crecimiento mayor en el medio BAF y pH 5,8 y significativamente diferente a lo obtenido a pH 4,8 para este mismo medio, como también por lo logrado en los otros medios. Los valores más bajos fueron obtenidos en el medio PDA a pH 6,8 y 6,3. En la cepa IF1008002 no se observó efecto de la interacción entre factores, tampoco influencia del pH, sólo al medio de cultivo afectó el comportamiento de esta variable, siendo el mayor crecimiento el obtenido en el medio MMN. En la cepa IF1405003 se produjo una interacción significativa entre pH y medio de cultivo, obteniéndose los valores más altos en el medio BAF a pH 5,3, en BAF y PDA a pH 5,8, y en MMN, a cualquier pH, excepto 5,3. Los valores más bajo se obtuvieron en medio BAF y PDA a pH 6,8. En la cepa IF1409001, se observaron efectos significativos dentro de las interacciones entre factores, logrando su mayor valor en el medio MMN a pH 6,3 diferenciándose de forma significativa respecto de lo obtenido en el medio BAF; en el medio PDA no hubo diferencias en los valores obtenidos a pH 5,3 y 5,8.

Observando los orígenes de cada cepa, los valores más altos se lograron en los medios MMN o BAF para las dos localidades analizadas. Por último, del rendimiento promedio total por cepa, se indica que la cepa IF1008002 se diferencia significativamente en relación a los montos totales obtenidos por las otras cepas (**Cuadro 4**).

Cuadro 4. Efecto del medio de cultivo y pH sobre el crecimiento radial (mm) en cuatro cepas de *Amanita rubescens*.

pH	Cepa IF1007002				Cepa IF1008002			
	Medio de Cultivo			Efecto pH	Medio de Cultivo			Efecto pH
	PDA	MMN	BAF		PDA	MMN	BAF	
4.8	13,95 ^d (1,41)	9,88 ^b (0,75)	14,79 ^d (0,98)	12,88 ^{ab} (2,43)	20,03 ^a (1,44)	27,37 ^a (3,19)	27,96 ^a (3,56)	25,12 ^a (4,59)
5.3	12,70 ^{cd} (1,62)	10,75 ^{bc} (0,98)	17,32 ^e (0,45)	13,59 ^b (3,04)	19,21 ^a (4,54)	24,91 ^a (1,69)	27,95 ^a (4,63)	24,02 ^a (5,19)
5.8	11,37 ^{bc} (1,35)	10,07 ^b (0,91)	19,19 ^e (0,55)	13,54 ^b (4,27)	18,07 ^a (6,26)	26,14 ^a (0,68)	25,38 ^a (5,70)	23,20 ^a (5,90)
6.3	5,96 ^a (0,96)	10,96 ^{bc} (0,56)	19,04 ^e (1,30)	11,98 ^a (5,65)	14,30 ^a (3,70)	27,39 ^a (2,16)	24,55 ^a (7,00)	22,08 ^a (7,29)
6.8	4,57 ^a (0,63)	14,41 ^d (0,97)	18,76 ^e (1,12)	12,58 ^{ab} (6,20)	14,48 ^a (5,12)	28,57 ^a (0,82)	19,67 ^a (5,99)	20,91 ^a (7,36)
Efecto Medio de cultivo	9,71^a (3,99)	11,21^b (1,85)	17,82^c (1,89)	12,91 (4,47)	17,22^a (4,79)	26,88^b (2,18)	25,10^b (5,90)	23,07 (6,18)

pH	Cepa IF1405003				Cepa IF1409001			
	Medio de Cultivo			Efecto pH	Medio de Cultivo			Efecto pH
	PDA	MMN	BAF		PDA	MMN	BAF	
4.8	11,70 ^{abc} (3,00)	12,27 ^{abcd} (1,51)	10,82 ^{ab} (1,21)	11,6 ^{ab} (2,01)	11,52 ^a (6,86)	16,49 ^{ab} (8,25)	9,83 ^a (0,72)	12,61 ^{ab} (6,45)
5.3	12,69 ^{abcd} (2,10)	10,39 ^{ab} (1,38)	16,78 ^d (3,80)	13,29 ^{bc} (3,66)	18,46 ^{ab} (2,60)	16,4 ^{ab} (7,79)	8,94 ^a (0,78)	14,6 ^{ab} (6,11)
5.8	11,45 ^{abc} (1,60)	14,33 ^{bcd} (2,03)	16,09 ^{cd} (1,69)	13,95 ^c (2,58)	13,98 ^{ab} (5,85)	24,54 ^b (8,88)	11,65 ^a (3,57)	16,73 ^b (8,35)
6.3	9,26 ^a (1,66)	12,20 ^{abcd} (2,35)	8,52 ^a (3,55)	9,99 ^a (2,95)	8,51 ^a (3,24)	25,04 ^b (0,70)	10,11 ^a (3,02)	14,55 ^{ab} (8,07)
6.8	8,02 ^a (1,23)	12,45 ^{abcd} (1,26)	7,95 ^a (0,68)	9,47 ^a (2,40)	7,49 ^a (2,61)	17,14 ^{ab} (5,49)	9,05 ^a (2,08)	11,23 ^a (5,56)
Efecto Medio de cultivo	10,62^a (2,54)	12,33^b (2,05)	12,03^{ab} (4,45)	11,66 (3,23)	11,99^a (5,82)	19,92^b (7,50)	9,92^a (2,35)	13,94 (7,06)

Promedio (desviación estándar)

Promedios con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

- *Velocidad media de crecimiento (VMC)*

Para la velocidad media de crecimiento (**Cuadro 5**), en la cepa IF1007002, se observó montos mayores para el medio BAF a pH 5,3, 5,8, 6,3 y 6,8, los que no presentaron diferencias estadísticas entre ellos, pero sí con las demás interacciones presentes, ya sea, dentro del mismo medio, como en los pertenecientes a los medios MMN y PDA. En la cepa IF1008002, hubo ausencia de interacciones entre factores, observándose efectos significativos del factor medio de cultivo para MMN y BAF, respecto al medio PDA; en cuanto al factor pH la menor velocidad de crecimiento se produjo a pH 4,8, diferenciándose significativamente de la obtenida en los restantes niveles de este factor. En la cepa IF1405003, se observó influencias de la interacción entre los factores sobre los resultados obtenidos, logrando los mayores montos en el medio BAF bajo niveles de pH de 5,3 y 5,8, los que no se diferenciaron de los conseguidos en el medio MMN (excepto para pH 5,3) y para el medio PDA a pH 5,3. En la cepa IF1409001 el medio MMN a pH 6,3 logró la mayor velocidad media de crecimiento, pero sin diferencias estadísticamente significativas dentro del mismo medio para las restantes interacciones con el nivel de pH, como tampoco para el valor obtenido en medio PDA y pH 5,3.

De acuerdo a los lugares de procedencia de cada cepa, los valores máximos se ubican ya sea en el medio MMN o BAF. La velocidad media de crecimiento de la cepa IF1008002, considerando todos los medios y niveles de pH, es significativamente mayor y casi duplica al de las 3 cepas restantes (**Cuadro 5**).

Cuadro 5. Efecto del medio de cultivo y pH sobre la velocidad media de crecimiento (mm/día) en cuatro cepas de *Amanita rubescens*.

Cepa IF1007002					Cepa IF1008002			
pH	Medio de Cultivo			Efecto	Medio de Cultivo			Efecto
	PDA	MMN	BAF	pH	PDA	MMN	BAF	pH
4.8	0,26 ^d (0,03)	0,19 ^b (0,01)	0,28 ^d (0,02)	0,24^{ab} (0,05)	0,38 ^a (0,03)	0,55 ^a (0,07)	0,53 ^a (0,08)	0,49^b (0,10)
5.3	0,24 ^{cd} (0,03)	0,20 ^b (0,02)	0,33 ^e (0,01)	0,26^b (0,06)	0,37 ^a (0,08)	0,50 ^a (0,04)	0,54 ^a (0,08)	0,47^{ab} (0,10)
5.8	0,21 ^{bc} (0,03)	0,19 ^b (0,02)	0,37 ^e (0,01)	0,26^b (0,08)	0,35 ^a (0,11)	0,51 ^a (0,02)	0,50 ^a (0,10)	0,46^{ab} (0,11)
6.3	0,11 ^a (0,01)	0,21 ^{bc} (0,01)	0,37 ^e (0,01)	0,23^a (0,11)	0,28 ^a (0,07)	0,53 ^a (0,05)	0,48 ^a (0,13)	0,43^{ab} (0,14)
6.8	0,08 ^a (0,01)	0,28 ^d (0,02)	0,36 ^e (0,02)	0,24^{ab} (0,12)	0,28 ^a (0,10)	0,56 ^a (0,02)	0,37 ^a (0,11)	0,41^a (0,15)
Efecto Medio de cultivo	0,18^a (0,08)	0,21^b (0,04)	0,34^c (0,04)	0,25 (0,09)	0,33^a (0,09)	0,53^b (0,05)	0,49^b (0,11)	0,45 (0,12)
Cepa IF1405003					Cepa IF1409001			
4.8	0,23 ^{abcde} (0,05)	0,24 ^{bcdef} (0,03)	0,20 ^{abcd} (0,03)	0,22^{bc} (0,04)	0,22 ^{ab} (0,13)	0,31 ^{abcd} (0,16)	0,18 ^{ab} (0,02)	0,24^{ab} (0,12)
5.3	0,25 ^{cdef} (0,05)	0,20 ^{abcd} (0,02)	0,32 ^f (0,06)	0,26^{cd} (0,07)	0,36 ^{bcd} (0,05)	0,31 ^{abcd} (0,15)	0,16 ^{ab} (0,01)	0,28^{ab} (0,12)
5.8	0,22 ^{abcde} (0,03)	0,28 ^{def} (0,04)	0,30 ^{ef} (0,04)	0,27^d (0,05)	0,27 ^{abc} (0,12)	0,47 ^{cd} (0,17)	0,22 ^{ab} (0,07)	0,32^b (0,16)
6.3	0,17 ^{abc} (0,03)	0,23 ^{abcdef} (0,03)	0,16 ^{abc} (0,07)	0,19^{ab} (0,06)	0,16 ^{ab} (0,06)	0,49 ^d (0,01)	0,18 ^{ab} (0,05)	0,28^{ab} (0,16)
6.8	0,15 ^{ab} (0,02)	0,24 ^{bcdef} (0,03)	0,15 ^a (0,02)	0,18^a (0,05)	0,14 ^a (0,05)	0,33 ^{abcd} (0,11)	0,16 ^{ab} (0,04)	0,21^a (0,11)
Efecto Medio de cultivo	0,21^a (0,05)	0,24^b (0,04)	0,23^{ab} (0,08)	0,22 (0,06)	0,23^a (0,11)	0,38^b (0,15)	0,18^a (0,05)	0,26 (0,14)

Promedio (desviación estándar)

Promedios con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

- *Biomasa Seca (B)*

De acuerdo al detalle del **Cuadro 6**, la producción de biomasa seca en la cepa IF1007002 evidenció interacción entre los factores medio y pH, la mayor producción ocurrió en el medio BAF a pH 6,3 y PDA a pH 4,8, diferenciándose ambos respecto a la biomasa obtenida en los otros medios de cultivo. En la cepa IF1008002 no se observó interacciones entre factores, ni tampoco en el efecto medio del factor pH; en cambio el factor medio de cultivo si tuvo efecto significativo, siendo BAF superior a MMN y PDA en lo que respecta a producción de biomasa seca. En la cepa IF1405003, se verificó una interacción significativa entre pH y medio de cultivo, lográndose el máximo valor para el medio PDA a pH 5,3 y diferencias significativas con el medio MMN a pH 4,8 y 5,3. En la cepa IF1409001, hubo una interacción muy significativa; el máximo de biomasa seca se obtuvo para el medio PDA a pH 5,3, pero que no fue estadísticamente diferente a los valores obtenidos para el mismo medio a pH de 6,3 y 6,8, ni con los del medio MMN a pH 4,8 y 5,3 y BAF a pH 5,3.

El promedio general de producción de biomasa seca de la cepa IF1008002 fue significativamente superior a los obtenidos por las otras cepas. Las cepas procedentes de la región de Los Lagos generaron más biomasa en el medio BAF, en tanto que las cepas de la región de Los Ríos lo lograron en el medio PDA (**Cuadro 6**).

Cuadro 6. Efecto del medio de cultivo y pH sobre la producción de biomasa seca (mg) en cuatro cepas de *Amanita rubescens*.

Cepa IF1007002					Cepa IF1008002			
pH	Medio de Cultivo			Efecto	Medio de Cultivo			Efecto
	PDA	MMN	BAF	pH	PDA	MMN	BAF	pH
4.8	55,00 ^{de} (7,16)	23,46 ^a (1,45)	48,78 ^{cd} (3,64)	42,41 ^b (14,78)	91,38 ^a (17,36)	59,18 ^a (8,30)	99,20 ^a (34,58)	83,25 ^a (27,73)
5.3	44,76 ^{cd} (12,71)	23,60 ^a (1,62)	51,34 ^{de} (6,45)	39,9 ^{ab} (14,45)	92,12 ^a (27,92)	56,50 ^a (4,56)	118,52 ^a (38,28)	89,05 ^a (36,59)
5.8	42,60 ^{cd} (4,27)	24,76 ^a (4,64)	53,48 ^{de} (5,65)	40,28 ^{ab} (13,06)	78,02 ^a (37,71)	64,44 ^a (12,20)	111,98 ^a (50,92)	84,81 ^a (40,22)
6.3	20,64 ^a (1,66)	26,74 ^{ab} (4,54)	61,42 ^e (5,08)	36,27 ^a (18,96)	62,30 ^a (15,12)	65,74 ^a (11,22)	102,86 ^a (37,16)	76,97 ^a (29,28)
6.8	16,08 ^a (2,86)	37,72 ^{bc} (1,83)	54,96 ^{de} (7,70)	36,25 ^a (17,07)	69,68 ^a (28,29)	88,70 ^a (18,43)	74,16 ^a (35,30)	77,68 ^a (27,41)
Efecto Medio de cultivo	35,82^b (16,50)	27,26^a (6,19)	54,00^c (6,89)	39,02 (15,56)	78,7^a (27,07)	66,91^a (15,90)	101,44^b (39,35)	82,35 (32,09)
Cepa IF1405003					Cepa IF1409001			
4.8	55,80 ^{ab} (18,88)	29,24 ^a (8,72)	47,50 ^{ab} (8,62)	44,18 ^a (16,63)	45,74 ^{abc} (22,82)	31,82 ^{ab} (19,35)	37,64 ^{abc} (11,50)	38,4 ^{ab} (18,13)
5.3	61,92 ^b (13,31)	25,68 ^a (4,52)	46,97 ^{ab} (26,31)	44,86 ^a (22,16)	69,12 ^c (14,08)	31,12 ^{ab} (15,09)	32,36 ^{ab} (4,15)	44,2 ^{ab} (21,44)
5.8	54,74 ^{ab} (8,15)	30,02 ^{ab} (4,16)	44,46 ^{ab} (22,11)	43,07 ^a (16,54)	49,68 ^{abc} (19,13)	53,90 ^{abc} (17,37)	55,06 ^{bc} (22,01)	52,88 ^b (18,30)
6.3	43,14 ^{ab} (8,94)	35,76 ^{ab} (9,05)	37,42 ^{ab} (24,19)	38,77 ^a (14,97)	34,34 ^{ab} (12,01)	61,86 ^{bc} (1,97)	43,54 ^{abc} (13,03)	46,58 ^{ab} (15,20)
6.8	40,72 ^{ab} (11,30)	35,94 ^{ab} (10,29)	32,44 ^{ab} (11,52)	36,37 ^a (10,82)	21,48 ^a (5,65)	42,70 ^{abc} (12,59)	40,04 ^{abc} (10,24)	34,74 ^a (13,41)
Efecto Medio de cultivo	51,26^b (14,21)	31,33^a (8,17)	41,76^b (19,10)	41,45 (16,51)	44,07^a (21,77)	44,28^a (18,17)	41,73^a (14,54)	13,94 (7,06)

Promedio (desviación estándar)

Promedios con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

- *Correlaciones*

La dependencia lineal entre las variables, expresada en el coeficiente de correlación de Pearson, indica que en la cepa IF1007002 se verifica una fuerte correlación (1,00) entre CR y VMC y una alta correlación entre CR y B (0,88), al igual que entre VMC y B (0,87). Por otro lado, para la cepa IF1008002, se obtuvo un índice entre CR y B de 0,56 y de 0,51 para las variables VMC y B, los que muestran una alta correlación, en tanto que para las variables CR y VMC fue de 0,99, valor que define de igual forma una fuerte correlación entre estas variables (Cuadro 7a). En tanto que, la cepa 1405003 presenta una correlación moderada entre CR y B (0,40), como también para VMC y B (0,40), pero una alta correlación entre CR y VMC de 0,99. Por su parte, la cepa IF1409001, presentó una altísima correlación entre CR y VMV (1,00) y una alta correlación de 0,73 entre CR y B, valor muy parecido a lo obtenido entre VMC y B con 0,72 (**Cuadro 7b**).

Cuadro 7. Matriz de correlación (Pearson) entre variables de crecimiento para cuatro cepas de *Amanita rubescens*. (a): Bajo la diagonal cepa IF1007002; sobre la diagonal cepa IF1008002; (b): Bajo la diagonal cepa IF1405003; sobre la diagonal cepa IF1409001

(a)				(b)			
	CR	VMC	B		CR	VMC	B
CR	1	0,99	0,56	CR	1	1	0,73
VMC	1	1	0,51	VMC	0,99	1	0,72
B	0,88	0,87	1	B	0,4	0,4	1

(CR: Crecimiento radial; VMC: velocidad media de crecimiento; B: Producción de biomasa seca).

A Nivel de Especie

Se evidencia un efecto muy significativo del factor medio de cultivo y de efectos significativos del factor pH y de la interacción medio de cultivo por pH sobre las tres variables evaluadas (**Cuadro 8**).

Cuadro 8. Significancia estadística del análisis de varianza (ANDEVA) para los valores medios obtenidos de las variables crecimiento radial, velocidad media de crecimiento y biomasa seca a nivel de la especie *Amanita rubescens*

Factor	Variables respuesta		
	Crecimiento radial	Velocidad media de crecimiento	Biomasa Seca
Medio	<0,0001**	<0,0001**	<0,0001**
pH	0,0440*	0,0421*	0,3229
Medio x pH	0,0248*	0,0280*	0,0016*

(*Efectos significativos $p\text{-value} \leq 0,05$; **muy significativos $p\text{-value} \leq 0,01$)

- *Crecimiento radial*

Los resultados indican un significativo efecto combinado de los factores evaluados. El mayor crecimiento radial se produjo en el medio MMN a pH 6,3 y 5,8, mientras que el crecimiento significativamente más bajo se obtuvo en medio PDA con pH 6,8 (**Cuadro 9**).

- *Velocidad Media de Crecimiento (VMC)*

Se observó un significativo efecto combinado de los factores evaluados sobre la velocidad media de crecimiento. Los valores más altos corresponden al medio MMN con pH 6,3 y 5,8, los que resultan similares a los obtenidos con diversas otras combinaciones de medios de cultivo y niveles de pH, y que se diferencian significativamente de las velocidades medias de crecimiento más bajas, obtenidas en medio PDA con pH 6,3 y 6,8 (**Cuadro 10**).

- *Biomasa (B)*

La producción de biomasa seca es significativamente más baja en el medio MMN, en tanto que el factor pH no evidencia efecto significativo sobre esta variable (**Cuadro 11**). El mayor valor de biomasa se obtuvo en medio PDA a pH 5,3 y en BAF a pH 5,8 y solo se diferenciaron significativamente de los valores obtenidos en el medio MMN a pH 4,8 y 5,3 y en el medio PDA a pH 6,8 (**Cuadro 11**).

- *Correlación entre variables*

En relación al coeficiente correlación de Pearson, entre pares de las variables evaluadas, fue en general alto (**Cuadro 12**).

Cuadro 9. Efecto del medio de cultivo y pH sobre el crecimiento radial (mm) en *Amanita rubescens*.

pH	Medio de Cultivo			Efecto pH
	PDA	MMN	BAF	
4.8	14,30 ^{abc} (5,02)	16,50 ^{bc} (8,02)	15,85 ^{bc} (7,64)	15,55 ^{ab} (6,96)
5.3	15,77 ^{bc} (4,15)	15,61 ^{abc} (7,09)	17,75 ^c (7,47)	16,38 ^{ab} (6,38)
5.8	13,72 ^{abc} (4,92)	18,77 ^c (8,12)	18,08 ^c (6,04)	16,86 ^b (6,77)
6.3	9,51 ^{ab} (3,94)	18,89 ^c (7,72)	15,55 ^{abc} (7,78)	14,65 ^{ab} (7,68)
6.8	8,64 ^a (4,60)	18,14 ^c (6,94)	13,86 ^{abc} (6,27)	13,55 ^a (7,09)
Efecto Medio de cultivo	12,39^a (5,26)	17,58^b (7,55)	16,22^b (7,11)	15,40 (7,05)

Promedio (desviación estándar)

Promedios con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**Cuadro 10.** Efecto del medio de cultivo y pH sobre la velocidad media de crecimiento (mm/día) en *Amanita rubescens*.

pH	Medio de Cultivo			Efecto pH
	PDA	MMN	BAF	
4.8	0,27 ^{abc} (0,09)	0,32 ^c (0,17)	0,30 ^{abc} (0,15)	0,30 ^{ab} (0,14)
5.3	0,30 ^{bc} (0,08)	0,30 ^{bc} (0,15)	0,34 ^c (0,15)	0,32 ^{ab} (0,13)
5.8	0,27 ^{abc} (0,10)	0,36 ^c (0,16)	0,35 ^c (0,12)	0,33 ^b (0,13)
6.3	0,18 ^{ab} (0,08)	0,37 ^c (0,15)	0,30 ^{abc} (0,15)	0,28 ^{ab} (0,15)
6.8	0,16 ^a (0,09)	0,35 ^c (0,14)	0,26 ^{abc} (0,12)	0,26 ^a (0,14)
Efecto Medio de cultivo	0,24^a (0,10)	0,34^b (0,15)	0,31^b (0,14)	0,30 (0,14)

Promedio (desviación estándar)

Promedios con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Cuadro 11. Efecto del medio de cultivo y pH sobre la producción de biomasa seca (mg) en *Amanita rubescens*.

pH	Medio de Cultivo			Efecto pH
	PDA	MMN	BAF	
4.8	61,98 ^{ab} (24,05)	35,93 ^a (17,58)	58,28 ^{ab} (30,09)	52,06 ^a (26,69)
5.3	66,98 ^b (24,11)	34,23 ^a (15,47)	62,30 ^{ab} (40,34)	54,50 ^a (31,64)
5.8	56,26 ^{ab} (24,08)	43,28 ^{ab} (19,67)	66,25 ^b (38,84)	55,26 ^a (29,78)
6.3	40,11 ^{ab} (18,34)	47,53 ^{ab} (18,45)	61,31 ^{ab} (33,80)	49,65 ^a (25,78)
6.8	36,99 ^a (25,83)	51,27 ^{ab} (25,02)	50,53 ^{ab} (24,46)	46,26 ^a (25,55)
Efecto medio de cultivo	52,46^b (25,87)	42,44^a (20,21)	59,73^b (33,73)	51,55 (28,00)

Promedio (desviación estándar)

Promedios con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Cuadro 12. Matriz de correlación (Pearson) entre variables de crecimiento de *Amanita rubescens*.

	CR	VMC	B
CR	1	-	-
VMC	1	1	-
B	0,76	0,75	1

(CR: Crecimiento radial; VMC: velocidad media de crecimiento; B: Producción de biomasa seca)

DISCUSIÓN

Las cepas de *A. rubescens* evaluadas mostraron variaciones en las respuestas de las variables, CR, VMC y B frente a la acción de los factores analizados, medio de cultivo y nivel de pH. Por lo general, esta variación en el comportamiento de cepas de una misma especie ha sido observado en varias especies fúngicas. En este sentido, estudios realizados para evaluar las respuestas frente a la aplicación de diferentes factores ambientales, muestran grupos de cepas de una misma especie comportarse en forma diferente, debido principalmente a los diferentes requerimientos ambientales dados por la variabilidad genética que presentan dichos microorganismos y las condiciones de sitio donde se han desarrollado (Chung, 2021). Este aspecto es señalado también por Dahlberg & Stenlid (1995), quienes afirman que las variaciones pueden ocurrir entre poblaciones de hongos de una misma especie, incluso de una misma localidad.

Dentro de un ambiente determinado los hongos ectomicorrícicos se encuentran en constante interacción con diversos factores medio ambientales que pueden afectarlos. A nivel de cepa o ecotipo, estos poseen sus propias limitaciones frente a determinadas condiciones del medio (Sianard, *et al.*, 2010). El estudio de los factores que inciden en la nutrición y crecimiento de los hongos (pH, medios de cultivos, temperatura, etc.) se hace necesario para conocer el comportamiento de los mismos, el que diferirá al interactuar con dichos factores (Honrubia *et al.*, 1992; Vázquez- García *et al.*, 2002). Este conocimiento específico para cada hongo y/o cepa en particular, permitirá reunir información con miras a una adecuada selección y

posterior perfeccionamiento de su manejo en laboratorio y vivero, aspectos que pueden ser claves para el éxito en su establecimiento en el campo.

En relación a los resultados logrados para las variables CR y VMC se observó tanto a nivel de especie como también a nivel de cepas y localidad de origen, respuestas que dieron como resultado rendimientos promedios mayores en los medios MMN y/o BAF, cuyos valores en la mayoría de los casos se produjeron por efecto de las interacciones entre los factores.

Para la variable CR, las cepas IF1007002 y IF1405003 presentaron los valores promedios más altos en medio BAF, alcanzando un máximo de $19,19 \pm 0,55$ mm a pH 5,8 y $16,78 \pm 3,80$ mm a pH 5,3, respectivamente. La cepa IF1008002 presentó valores más altos en los medios MMN y BAF con promedios de $26,88 \pm 2,18$ mm y $25,10 \pm 5,90$ mm, respectivamente. La cepa IF1409001, alcanzó los promedios mayores en medio MMN con máximo valor promedio de $25,04 \pm 0,70$ a pH 6,3. A nivel de especie, los medios MMN y BAF presentaron el mayor crecimiento radial con un máximo de $18,89 \pm 7,72$ mm bajo pH 6,3 y $18,08$ a pH 5,8.

Otras investigaciones utilizando un medio MMN modificado, lograron crecimientos en diámetro de 3,7 cm a los 56 días (Koide & Stevens, 1998). Santiago-Martínez (1992) utilizó los mismos medios que en este estudio para cultivar distintas especies de *Amanita*, obteniendo los mayores crecimientos en medio BAF con 22,3 mm a los 42 días. En *A. rubescens* Began (1988) obtuvo los mejores resultados en medio MMN sobre PDA, alcanzando los 27 mm a las 6 semanas. Hintikka & Niemi (1999), utilizando el medio MMN observaron un crecimiento radial de 26 mm a los 34 días, cifra muy cercana a lo obtenido por la cepa de mayor crecimiento en el presente estudio. A las 9 semanas de cultivo Ávila (1988) registró 8 mm de crecimiento en diámetro en medio PDA, mientras que a la semana 16 alcanzó los 25 mm.

En medio PDA se produce un descenso en el valor de CR y VMC a medida que se elevan los valores de pH. En estas variables no hubo incidencia de los factores medio de cultivo y nivel de pH por sí solos, produciéndose efectos significativos debido a las interacciones entre ambos factores. De lo señalado anteriormente, se exceptúa la cepa IF1008002 cuyo comportamiento no mostró diferencias estadísticamente significativas de los promedios logrados para los diferentes niveles de pH, ni por efecto de la interacción entre factores. Este comportamiento también fue apreciado por Vásquez-García *et al.* (2002) y Torres & Honrubia (1991), los cuales estudiando a *Amanita muscaria*, observaron un comportamiento similar al de la cepa señalada, como también a nivel de especie, indicando nula diferencia estadística entre promedios obtenidos a diferentes pH en rangos cercanos a los evaluados en este estudio.

La velocidad media de crecimiento en las IF1007002 y IF1405003 no sobrepasó los 0,28 mm/día en los diferentes niveles de pH. En cambio, para las cepas IF1008002 e IF1409001 hubo resultados mayores para el mismo medio de cultivo, con cifras de 0,56 mm/día a pH 6,8 y 0,49 mm/día a pH 6,3 a temperaturas de 23 °C, respectivamente. Por su parte, investigaciones realizadas por Santiago-Martínez (1992), en otras especies de *Amanita*, señalan valores medios para MMN de 0,17 mm/día en tanto que reporta también para el medio BAF valores entre 0,425 y 0,347 mm/día y PDA con cifras entre 0,146 y 0,328 mm/día. Estudios realizados con *A. muscaria* por Vásquez-García *et al.* (2002) indican una velocidad media de crecimiento, a los 30 días, en medio BAF con pH 5, de 0,41 mm/día.

A. rubescens mostró un buen desempeño para las variables CR y VMC en el medio MMN, sin embargo, para la producción de biomasa seca (B) este medio no resultó adecuado. Al respecto, Olaizola *et al.* (2023) explican que el crecimiento radial no es un buen indicador del desempeño para aquellas cepas que producen gran cantidad de micelio aéreo laxo, como fue el caso de *A. rubescens* en medio MMN en este estudio. En estos casos, los autores (*op. cit.*) indican que la cuantificación de la producción de biomasa es un indicador de respuesta mucho más adecuado para estimar el crecimiento. Santiago-Martínez *et al.* (1995) agregan que el mayor crecimiento en diámetro de una cepa bajo un cultivo *in vitro*, no siempre corresponden a la mayor producción de biomasa, aspecto que es de importancia debido al empleo frecuente de este parámetro como único elemento para evaluar el crecimiento de la cepa. Los distintos tipos de nutrientes y concentraciones podrían relacionarse con las diferentes estrategias de exploración del medio, siendo muy frecuente que la biomasa fúngica y el diámetro de crecimiento no se hallen directamente correlacionados, afectando la morfología de los hongos (Daza *et al.*, 2005). Koide & Stevens (1998)

sugieren que algunos hongos, entre ellos *A. rubescens*, modifican su forma de crecimiento según la concentración de nitrógeno, y que en bajas concentraciones de este elemento su crecimiento favorece la explotación de un gran volumen de sustrato para una superficie determinada. Dickie *et al.* (1998) confirman lo anterior, señalando que tales hongos alteran su comportamiento para mejorar el aprovechamiento de una fuente rica en N.

En este estudio la mejor producción de biomasa se obtuvo en los medios BAF y PDA, valores que fueron influenciados por efecto de interacciones con el pH, logrando los valores más altos a pH 5,8 y 5,3 respectivamente. Las dos cepas originarias de la región de Los Ríos presentaron preferencias por el medio PDA, donde ambas obtuvieron la mayor producción de biomasa a pH 5,3. Las cepas de Los Lagos, mostraron sus mayores rendimientos en el medio BAF, una de ellas (IF1007002) a pH 6,3, mientras que la otra (IF1008002) junto con mostrar un desempeño muy superior al de las restantes cepas, no evidenció variación significativa atribuida al pH. La ausencia de variación en la respuesta ante distintos niveles de pH también ha sido descrita para *Amanita muscaria* (Vásquez-García *et al.*, 2002). En este sentido, Hung & Trappe (1983) señalan que, en igualdad de condiciones, un aislado que crezca razonablemente bien en un amplio rango de valores de pH sería más apropiado para trabajos de masificación e inoculación en vivero, en comparación a otro que crezca bien solo en un rango restringido.

Experiencias con otras especies de *Amanita* (Santiago-Martínez, 1992), también consiguen sus mejores resultados en el medio BAF, con una producción de materia seca de (133,1 mg a los 42 días) muy superior a la lograda en los medios PDA y MMN (33,3 y 29,4 mg a los 42 días). En medio MMN modificado Koide & Stevens (1998) obtienen solo 4,5 mg de biomasa seca a los 56 días. Por otro lado, Olaizola *et al.* (2023) experimentando con *A. rubescens*, logran los mayores rendimientos en un medio MMN modificado, donde la producción de biomasa se incrementó en la medida que se elevaba el nivel de pH de 2,5 a 6,5, llegando a obtener un peso seco de 124,4 mg a los 56 días. Este último comportamiento es muy similar a lo observado en este estudio para la mayoría de las cepas; en cambio, el medio PDA tuvo un comportamiento contrario, con valores decrecientes al aumentar el pH; en el medio BAF el comportamiento fue variable para cada cepa.

Como lo indican Molina & Palmer (1982), el medio de cultivo más adecuado para un hongo ectomicorrícico es el que le suministra los mismos nutrientes que le brindaría su hospedante durante la simbiosis, lo que marcaría el éxito o fracaso en el cultivo de estas especies bajo condiciones controladas. Por lo tanto, es importante continuar con estudios que determinen condiciones óptimas de cultivo, relacionando parámetros como el pH, la temperatura y la composición del medio de crecimientos más adecuados para la especie y cepa de interés. Se debe tener en cuenta que los medios de cultivo son específicos para cada especie, muchos hongos ectomicorrícicos se pueden cultivar en medios de cultivo sintéticos y semisintéticos, pero sus tasas de crecimiento son extremadamente variables debido a los requerimientos propios de cada especie (Iotti *et al.*, 2012).

En cuanto a las correlaciones obtenidas, Olaiza *et al.* (2023), obtuvo una alta correlación entre el área final de la colonia y la biomasa seca con 0,917. Para este caso, transformando el CR en área, las cepas IF1007002, IF1008002 y IF1409001 mostraron también una alta correlación con 0,87, 0,56 y 0,66 entre el área calculada a partir del CR y B, mientras que la cepa IF1405003 presentó una moderada correlación con 0,40. En relación a los promedios a nivel de especie, estas mostraron una alta correlación de 0,75 entre las dos variables analizadas.

CONCLUSIONES

Se observó efectos diversos de los medios de cultivo y de los niveles de pH en cada cepa. Los medios MMN y BAF presentaron los mayores valores promedios para las variables CR y VMC, mientras que para la variable B los medios PDA y BAF presentaron los mayores rendimientos dependiendo de la cepa analizada y del grado de interacción con los valores de pH.

Las cepas procedentes de Los Ríos y de Los Lagos presentaron sus mayores valores de crecimiento radial y velocidad media de crecimiento en los medios MMN y BAF. Respecto a la producción de biomasa seca,

las cepas de Los Ríos presentaron los valores máximos en medio PDA, en tanto que las de Los Lagos lo hicieron en el medio BAF.

La cepa IF1008002, procedente de la zona precordillerana de Panguipulli en la región de Los Lagos, mostró un desempeño significativamente superior al de las cepas restantes, en las tres variables analizadas, logrando una producción de biomasa seca que casi duplica al de la cepa más cercana, y que adicionalmente no está influenciado por los niveles de pH. Ella constituye un material genético idóneo para futuros trabajos de masificación, micorrización de plantas y evaluación en ensayos de campo.

No existe una combinación específica de medio de cultivo y nivel de pH que sea inequívocamente la más eficaz para maximizar el crecimiento de una especie fúngica, demostrándose que existen comportamientos diferentes entre cepas al interior de una especie. Los efectos del medio de cultivo y nivel de pH sobre el crecimiento *in vitro* de *A. rubescens* deben interpretarse con precaución, ya que pueden verse afectados por una serie de otros factores dentro del experimento, entre ellos la duración de este, las fuentes de nitrógeno, la inclusión de sales de hierro antes o después del autoclavado del medio, y varios otros.

Esta investigación entrega resultados en un área en que existe poca información, particularmente para *A. rubescens*, por lo que servirá de insumo para futuros trabajos tendientes a optimizar su masificación miceliar y facilitar la producción de material inoculante para plantas de forestales, principalmente pinos.

Teniendo cepas evaluadas bajo condiciones similares de cultivo, su selección final para ser utilizadas en actividades de micorrización de plantas dependerá finalmente en su desempeño en vivero, su comportamiento en campo y su interacción con otros organismos del suelo como son las comunidades bacterianas en los suelos forestales como componente crucial de la interacción tritrófica planta-hongo-bacteria (Bonfante & Anca, 2009).

REFERENCIAS

- Ávila, H. (1988). Aislamiento, caracterización y confirmación de micelios en cuatro especies de *Amanita* (*Agaricales*) de México. Tesis para optar al título de Biólogo. UNAM, Facultad de Ciencias (Biología). México. 180p.
- Began, T. (1988). The genus *Amanita* in Southern Illinois including cultural characters and a detailed study of volval anatomy in section *Lepidella*. Thesis for the Master of Arts. Department of Botany. Graduate school Southern Illinois University, Carbondale. V+127 pp.
- Blanco, A., Fajardo, J., Verde, A., Rodríguez, C. & Navarro, S. (2007). Amanitas de Albacete. Cuaderno de la Sociedad Micológica de Albacete n°5. Sociedad Micológica de Albacete (ed.) 22 p.
- Bonfante, P. & Anca, I. (2009). Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions. *Ann. Rev. Microbiol.*, N° 63. Pp: 363-383. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073504>
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. & Malajczuk, N. (1996). Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. ACIAR Monograph 32. 374 + x p.
- Brundrett, M. & Cairney, J. (2002). Ectomycorrhizas in plant communities. In: Sivasithamparam, K., Dixon, K.W. & Barret, R.L. (Eds.). *Microorganisms in plant conservation and biodiversity*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. Pp: 105–150. https://doi.org/10.1007/0-306-48099-9_5
- Cai, Q., Codjia, J.E., Buyck, B., Cui, Y., Ryberg, M., Yorou, N. & Yang, Z. (2024). The evolution of ectomycorrhizal symbiosis and host-plant switches are the main drivers for diversification of *Amanitaceae* (*Agaricales*, *Basidiomycota*). *BMC Biology*, 22:230, 1-16. <https://doi.org/10.1186/s12915-024-02031-8>
- Chung, P. (2020). Captura, aislamiento y evaluación del crecimiento de material fúngico de la región de Ñuble para su incorporación al banco de hongos comestibles del Instituto Forestal. *Ciencia & Investigación Forestal*, 26(3): 65-92. <https://doi.org/10.52904/0718-4646.2020.538>
- Chung, P. (2021). Influencia de diferentes medios de cultivo y niveles de pH en el crecimiento *in vitro* de 6 cepas del género *Suillus*. *Ciencia & Investigación Forestal*, 27(3): 17–33. <https://doi.org/10.52904/0718-4646.2021.555>

- Cui, Y.Y., Cai, Q., Tang, L.P., Liu, J.W. & Yang, Z.L. (2018). La familia *Amanitaceae*: filogenia molecular, taxonomía de rango superior y las especies en China. *Fungal Divers.* 91, 5–230. <https://doi.org/10.1007/s11557-019-01506-1>
- Dahlberg, A. & Stenlid, J. (1995). Spatio-temporal patterns in ectomycorrhizal populations. *Canadian Journal of Botany*, N°73. Pp:1222-1230. <https://doi.org/10.1139/b95-382>
- Daza, A., Manjón, J., Aguilar, A., Bernedo, M., Camacho, M., Romero, L. & Santamaría, C. (2005). Crecimiento *in vitro* y capacidad micorrízica de varios aislamientos de *Lactarius deliciosus*. IV Congreso Forestal Español. Tomo 4. Pp: 182-188. Zaragoza, España.
- Demková, L., Šnirc, M., Jančo, I., Harangozo, L., Hauptvogel, M., Bobuřská, L., Kunca, V. *et al.* (2025). Blusher mushroom (*Amanita rubescens* Pers.): A Study of Mercury Content in Substrate and Mushroom Samples from Slovakia with Respect to Locality and Developmental Stages. *Biological trace element research*, 203(3): 1721–1733. <https://doi.org/10.1007/s12011-024-04280-8>
- Dickie, I., Koide, R. & Stevens, C. (1998). Tissue density and growth response of ectomycorrhizal fungi to nitrogen source and concentration. *Mycorrhiza*, 8:145-148. <https://doi.org/10.1007/s005720050227>
- Furci, G. (2018). Hongos de Chile. Guía de Campo. Volumen II. Fundación Fungi y Giuliana María Furci George-Nascimento. Chile. 313+ p.
- Garrido, N. & Bresinsky, A. (1985) *Amanita merxmulleri* (Agaricales), eine neue Art aus Nothofagus-Waldern Chiles. *Botanische Jahrbücher Systematik* 107: 521-540.
- Gestión Ambiental de Navarra (2011). Micología Forestal en Navarra. Proyecto MICOSYLVA. Gestión Ambiental de Navarra (edit.). MICOSYLVA – SUDOE Interreg IV B- Gestión Ambiental viveros y Repoblaciones de Navarra S.A.- Gobierno de Navarra, España 137 p.
- González, V., Arenal, F., Platas, G., Esteve-Raventos, F. & Pelaez, F. (2002). Molecular typing of Spanish species of *Amanita* by restriction analysis of ITS region of the DNA. *Mycol. Res.*, 106(8): 903–910. <https://doi.org/10.1017/S0953756202006305>
- Grünert, H., Grünert, R., VV.AA. (1984). Guías de Naturaleza Blume: Setas (t. original: "Pilze"). Barcelona: Blume. p. 22. ISBN 84-87535-11-9.
- Hintikka, V. & Niemi, K. (1990). Aseptic culture of slowly growing mycorrhizal *Russula* and *Cortinarius* specie. *Karstenia*, 39(2): 39-41. <https://doi.org/10.29203/ka.1999.336>
- Honrubia, M., Torres, P., Díaz, G. & Cano, A. (1992). Manual para micorrizar plantas en viveros forestales. Madrid. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- Hung, L. & Trappe, J. (1983). Growth variation between and within species of ectomycorrhizal fungi in response to pH *in vitro*. *Mycologia*, N°75. Pp: 234-241. <https://doi.org/10.2307/3792807>
- Hutchison, L. & Piché, Y. (1995). Effects of exogenous glucosa on mycorrhizal colonization *in vitro* by early-stage and late-stage ectomycorrhizal fungi. *Can. J. Bot.* 73: 898-904. <https://doi.org/10.1139/b95-098>
- Iotti, M., Piattoni, F. & Zambonelli, A. (2012). Techniques for Host plant Inoculation with truffles and other edible ectomycorrhizal mushrooms. En: Zambonelli, A. & Bonito, G.M. (Eds.). *Edible Ectomycorrhizal Mushrooms, Soil Biology*, N°34. Springer-Verlag. Berlín Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-33823-6_9
- Ipinza, R. & Serrano, M. (1982). Micorrización artificial sobre pino insigne en la Estación Experimental Pantanillo - Las Brisas (VII Región). *Ciencias Forestales* 2(2): 77-93.
- Jong, S.C. & Birmingham, J.M. (1992). Medicinal Benefits of the Mushroom *Ganoderma*. *Advances in Applied Microbiology*. vol.37, pp:101-134. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70253-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70253-3).
- Koide, R. & Stevens, C. (1998). Tissue density and growth response of ectomycorrhizal fungi to nitrogen source and concentration. *Mycorrhiza*. 8:145-148. <https://doi.org/10.1007/s005720050227>

- Lan, H., Gorfer, M., Otgonsuren, B. & Godbold, D.L. (2025).** Growth Characteristics and Freezing Tolerance of Ectomycorrhizal and Saprotrophic Fungi: Responses to Normal and Freezing Temperatures. *Forests*, 16(2), 191. <https://doi.org/10.3390/f16020191>
- Lorenzana-Fernández, A. (2008).** Caracterización de microhabitats de hongos comestibles ectomicorrízicos en bosques de pino, oyamel y encino en los parques nacionales Izta-Popo y Zoquiapan. Tesis para obtener al grado de Maestro de Ciencias. Colegio de Postgraduados. Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Campus Montecillo, Postgrado de Edafología. México.
- Marx, D.H. (1969).** The influence of ectotrophic fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology*, N°59. Pp: 153-163. <https://doi.org/10.1094/Phyto-59-153>
- Molina, R. & Palmer, J. (1982).** Isolation, maintenance and pure culture manipulation of ectomycorrhizal fungi. En: Schenck, N.C. (Ed). *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. American Phytopathological Soc. St. Paul.
- Montgomery, D. (1984).** *Design and Analysis of Experiments*. John Wiley & Sons. New York. 649 p.
- Moser, M. (1960).** Die Gattung Phlegmacium. *Die Pilze Mitteleuropas* 4. J. Bad Heilbrunn
- Odenthal, K., Seeger, R., Braatz, R., Petzinger, E., Moshaf, H. & Schmitz-Dräger, C. (1982).** Damage *in vitro* to various organs and tissues by rubescenslysin from the edible mushroom *Amanita rubescens*. *Toxicon*, 20(4): 765–781. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(82\)90124-6](https://doi.org/10.1016/0041-0101(82)90124-6)
- Olaiza, J., Santamaría, O. & Diez, J. (2023).** *In Vitro* growth on nine edible ectomycorrhizal fungi under a range of pH conditions. Technical Note. *Bioagro* 35(2): 159-166. <https://doi.org/10.51372/bioagro352.8>
- Quintero-Corrales, C.A., Vega, M., Ramírez-Terrazo, A., Águila, B. & Garibay-Orijel, R. (2024).** Downfall of an empire: Unmasking the hidden diversity and distribution of the *Amanita rubescens* species complex. *Mycologia*, 116(5): 642–649. <https://doi.org/10.1080/00275514.2024.2355276>
- Salazar V. (2016).** *Amanita diemii* Singer y *Amanita merxmellueri* Bresinsky & Garrido (*Agaricales, Basidiomycota*), las amanitas comestibles de Chile. *Boletín Micológico*, 31(1). <https://doi.org/10.22370/bolmicol.2016.31.1.420>
- Salazar, V. (2020).** *Guía de Campo. Hongos silvestres comestibles nativos de Chile*. ISBN: 978-956-404-532-0. Santiago, Chile. 111p.
- Sánchez, C. (2017).** Bioactives from Mushroom and Their Application. In: Puri, M. (Ed.). *Food Bioactives*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-51639-4_2
- Santiago-Martínez, M. (1992).** Pruebas de Crecimiento, síntesis *in vitro* y caracterización de 10 cepas de hongos ectomicorrizógenos. Tesis, grado de Maestra en Ciencia (Biología), UNAM, Facultad de Ciencias, División de estudios de Posgrado. México. 127 p.
- Santiago-Martínez G., Estrada-Torres, A., Varela, L. & Herrera, T. (2003).** Crecimiento en siete medios nutritivos y síntesis *in vitro* de una cepa de *Laccaria bicolor*. *Agrociencia*, 37(6): 575 – 584
- Santiago-Martínez, G. & Galindo-Flores, G. (2003).** El manejo de los hongos ectomicorrizógenos en vivero y campo. En: Estrada-Torres, A. & Santiago-Martínez, M.G. (Eds.). *Avances en el estudio de la micorriza en el estado de Tlaxcala, México*. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala. Pp: 56–67.
- Santiago-Martínez, G., Varela, L., Estrada-Torres, A. & Cuaxilo, V. (1995).** Efecto de seis medios de cultivo sobre el crecimiento de tres cepas de *Pisolithus tinctorius*. *Revista Mexicana de Micología*, N°11. Pp: 57-68.
- Sianard, F., Pangou, S. & Mountanda, A. (2010).** Influencia del pH en el desarrollo *in vitro* de cinco especies de hongos ectomicorrízicos. *Centro Agrícola*, 37(1): 23-28
- Slankis, V. (1973).** Hormonal relationships in mycorrhizal development. En: Marks, G.C. & Kozlowski, T.T. *Ectomycorrhizae: Their Ecology and Physiology*. Academic Press. New York. Pp: 231-298.

- Torres, P. & Honrubia, M. (1991).** Dinámica de crecimiento y caracterización de algunos hongos ectomicorrícicos en cultivo. *Cryptogamie (Mycologie)*, 12: 183-192. <https://doi.org/10.5962/p.354333>
- Trappe, J. (1977).** Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. *Ann Rev Phytopathol.*, N°15. Pp: 203-222. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.15.090177.001223>
- Tulloss, R.E. (2005).** Amanita—distribution in the Americas with comparison to eastern and southern Asia and notes on spore character variation with latitude and ecology. *Mycotaxon* 93: 189-231. <https://doi.org/10.5962/p.414578>
- Valenzuela, E. (2003).** Hongos comestibles silvestres colectados en la X Región de Chile. *Boletín Micológico*, vol. 18. Pp:1-14. <https://doi.org/10.22370/bolmicol.2003.18.0.374>
- Valenzuela, E., Moreno, G., Garnica, S. & Ramirez, C. (1998).** Micosociología en bosques nativos de *Nothofagus* y plantaciones de *Pinus radiata* en la X Región de Chile: diversidad y rol ecológico. *Revista Chilena de Historia Natural* 71: 133-146.
- Valenzuela, E., Ramirez, C., Moreno, G., Polette, M., Garnica, S., Peredo, H. & Grinbergs, J. (1996).** Agaricales más comunes recolectados en el Campus Isla Teja de la Universidad Austral de Chile. *Bosque*, 17(1): 51-63. <https://doi.org/10.4206/bosque.1996.v17n1-07>
- Valenzuela, E., Moreno, G., Garnica, S., Godoy, R. & Ramirez, C. (1999).** Mycosociology in native forests of *Nothofagus* of the X region of Chile, diversity and ecological role. *Mycotaxon*, Vol. 73: 217-226. <https://doi.org/10.5962/p.415130>
- Van der Linde, S., Suz, L.M., Orme, C.D.L., Cox, F., Andreae, H., Asi, E., Atkinson, B. et al. (2018).** Environment and host as large-scale controls of ectomycorrhizal fungi. *Nature*, 558(7709): 243–248. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0189-9>
- Vázquez-García, A., Santiago-Martínez, G. & Estrada-Torres, A. (2002).** Influencia del pH en el crecimiento de quince cepas de hongos ectomicorrizógenos. *Anales del Instituto de Biología. Serie Botánica*, N°73. Pp: 1-15.
- Zhang, P., Tang, L.P., Cai, Q., & Xu, J.P. (2015).** A review on the diversity, phylogeography and population genetics of *Amanita* mushrooms. *Mycology*, 6(2): 86–93. <https://doi.org/10.1080/21501203.2015.1042536>
- Zhou, H., Guo, M., Zhuo, L., Yan, H., Sui, X., Gao, Y., & Hou, C. (2023).** Diversity and taxonomy of the genus *Amanita* (*Amanitaceae*, *Agaricales*) in the Yanshan Mountains, Northern China. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1226794. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1226794>