

## EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE *GANODERMA SP.* EN DIFERENTES SUSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS Sacripanti Olalla, Paula

Laboratorio de Micología y Diagnóstico Molecular, FBCB-UNL

Director: García-Effron, Guillermo ; Codirector: Cabeza, Matías

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: Crecimiento fúngico, Micelio, Sustratos Lignocelulósicos.

### INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, se ha observado una creciente demanda por materiales más sostenibles ecológicamente. En respuesta a este desafío, una alternativa que ha surgido es el desarrollo de un material compuesto biobasado que se basa en el uso de micelio fúngico para formar una matriz que mantiene juntas las piezas del sustrato, reemplazando los adhesivos sintéticos (Elsacker et al 2020). Para ello se utilizan hongos capaces de digerir la lignina y celulosa de origen vegetal, siendo uno de los más utilizados el género *Ganoderma*. Hasta el momento, se han desarrollado comercialmente productos como materiales de packaging, aislación térmica y acústica, y una gran variedad de objetos de diseño y mobiliario.

*Ganoderma spp.* pertenecen al grupo de hongos basidiomycetes, varios de ellos comestibles, de rápido crecimiento y ampliamente disponibles (Fletcher 2019). Tienen la capacidad de hidrolizar componentes vegetales, como la lignina. Esta característica hace que estos tipos de hongos sean un inicio lógico para la producción de este tipo de biocompositos.

Los sustratos lignocelulósicos que se utilizan como materia prima en este proceso suelen provenir de residuos de la industria agrícola o maderera o derivan de las industrias de transformación agrícola. En nuestro país, la biomasa lignocelulósica disponible abunda y la utilización de estos materiales para la producción de bienes no solo tiene impactos positivos ecológicos, sino que suma valor a las economías regionales, al industrializar lo que puede considerarse prácticamente un desperdicio.

En el presente proyecto evaluamos el crecimiento de *Ganoderma sp.* en diferentes sustratos lignocelulósicos disponible en la región. Se busca analizar la afinidad de este hongo por los distintos sustratos sin ningún tipo de aditivos que afecten o condicionen el crecimiento.

### OBJETIVOS

Evaluar y comparar el crecimiento de *Ganoderma sp.* en distintos sustratos lignocelulósicos disponibles en la región.

### METODOLOGÍA

#### Materia prima:

Se seleccionaron los siguientes sustratos lignocelulósicos, obteniéndolos de proveedores de la región: rastrojo de maíz ("Maíz"), poda de vid ("Vid"), restos del desmote de algodón ("Algodón"), expeler de soja ("Soja") y viruta de eucalipto ("Eucalipto").

Como especie fúngica se seleccionó *Ganoderma sp.* Cada inóculo consistió en un plug de micelio de 6mm de diámetro obtenido desde una caja de Petri con YPDA colonizada durante 7 días e incubada a 27,5°C.

Título del proyecto: Desarrollo de compuestos de fibra-polímero natural basados en restos agrícola-madereros y hongos agaricomycetes.

Instrumento: Beca Doctoral CONICET

Año convocatoria: 2020

Organismo financiador: CONICET

Director: García-Effron, Guillermo

### Pretratamiento de sustrato:

Previo a la experiencia se trituraron los sustratos hasta conseguir un tamaño de partícula menor a 15 mm, con excepción del expeller de soja que no requirió ningún tratamiento previo. Se pesó cantidad suficiente de cada sustrato de manera que alcance para el llenado de 3 cajas de Petri. Se humedeció adicionando agua destilada a cada sustrato hasta alcanzar un 60% de humedad. Se esterilizó en autoclave (30 min, 121°C).

### Cultivo:

Cada caja de Petri conteniendo los diferentes sustratos fue inoculada con un plug de micelio de 6mm de diámetro y luego incubado a 27,5 °C durante una semana en condiciones de oscuridad. Para cada sustrato se realizaron 3 réplicas, de las cuales una sin inocular fue utilizada como control.

Se siguió la evolución del crecimiento fúngico midiendo el diámetro de micelio cada 24 horas. Se realizó inspección visual para determinar la calidad y densidad del micelio (factor “d”), considerando una escala de puntuación de 1 a 5 (1- micelio fino y transparente; 5- micelio blanco, esponjoso y denso). Los parámetros de crecimiento de cada muestra fueron luego ajustados multiplicando el diámetro medido (mm) por la densidad de micelio para cada punto (factor “d”).

### Parámetros medidos:

Se determinó el pH inicial y final sumergiendo cada muestra en agua destilada en proporción 1:10 w/w y utilizando un ph-metro con ayuda de agitador. Se midió el contenido de agua inicial y final mediante secado en horno a 105°C durante 2 hs. Se determinó la liberación de CO<sub>2</sub> de las muestras finales colocando cada muestra en un recipiente herméticamente cerrado conteniendo un cierto volumen de KOH ~0.5N. El CO<sub>2</sub> liberado por la muestra fue absorbido por el KOH, y su valor se determinó mediante titulación con HCl, previa adición de BaCl<sub>2</sub> y fenolftaleína.

## RESULTADOS

### Crecimiento fúngico:

La velocidad de crecimiento fúngico y la densidad del micelio están fuertemente influenciados por el sustrato que se esté usando. En la Figura 1 se puede observar la evolución del crecimiento fúngico en los diferentes sustratos. Por su parte, la Figura 2 muestra las diferencias en las superficies colonizadas por el micelio en cada sustrato evaluado a lo largo de la experiencia.

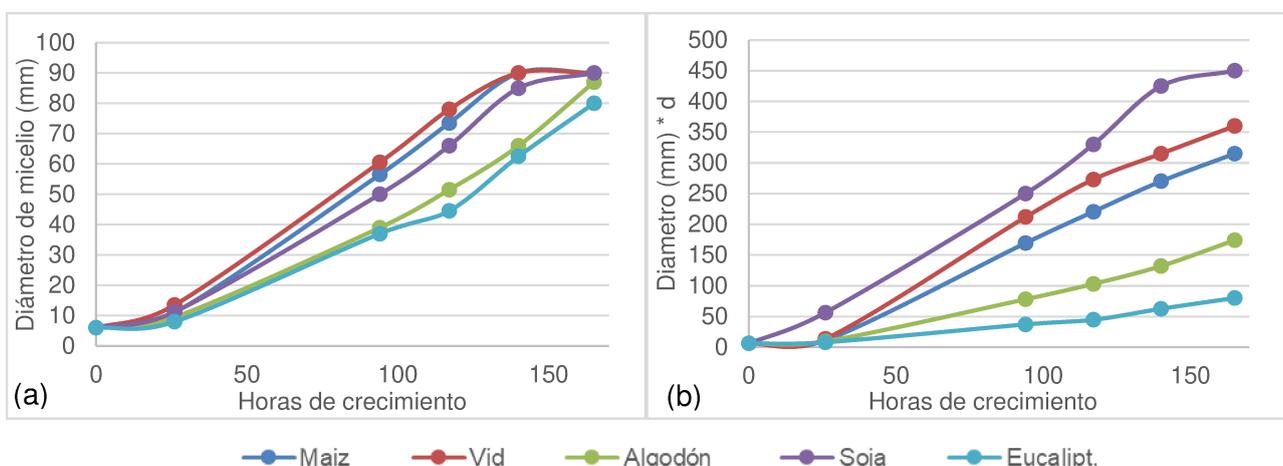


Figura 1 – Crecimiento promedio de *Ganoderma sp.* en diferentes sustratos representado en forma (a) Diámetro de micelio; (b) Diámetro ajustado por la densidad de micelio

El diámetro de micelio de los sustratos “maíz” y “vid” presentaron las mayores velocidades de crecimiento, notándose una mayor densidad de micelio para la vid. El día 6 las cajas de Petri

de ambas muestras estaban totalmente colonizadas y para el día 7 se observó un aumento en la densidad de micelio.

Por su parte, si bien “soja” presentó una velocidad de crecimiento de diámetro fúngico un poco más lenta, la densidad de micelio en todo momento fue superior a la del resto por lo que fue el sustrato que mostró mayor velocidad de crecimiento al ajustar con la densidad de micelio. El día 7 la caja de Petri ya se encontraba totalmente colonizada. “Algodón” presentó un crecimiento más lento que los sustratos ya mencionados, y la densidad de su micelio resultó mucho menor. Por último, “eucalipto” fue el sustrato que peor rendimiento mostró ya que presentó un micelio sumamente transparente y débil que no se llega a apreciar en las imágenes.

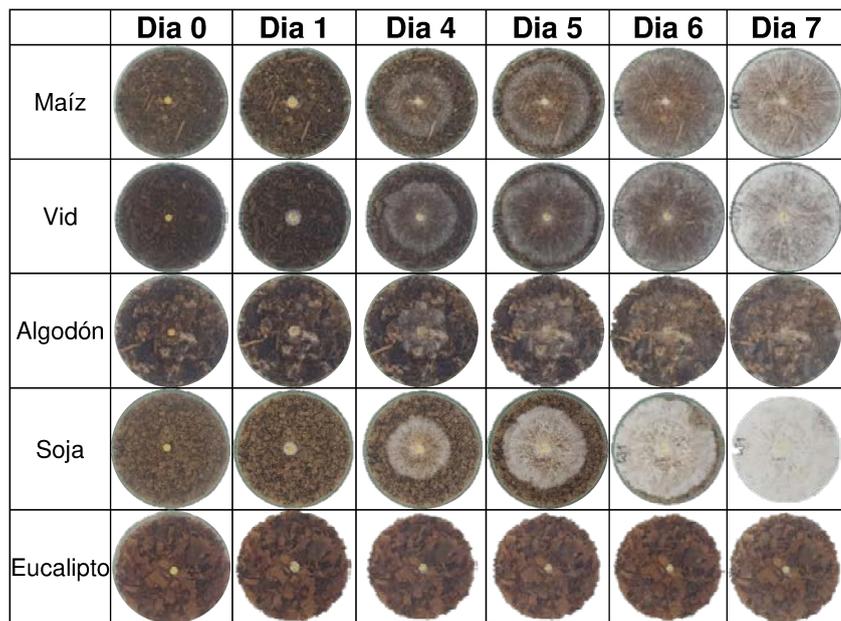


Figura 2. Colonización superficial de *Ganoderma sp.* en distintos sustratos evaluado durante 7 días.

El día 7 la caja de Petri ya se encontraba totalmente colonizada. “Algodón” presentó un crecimiento más lento que los sustratos ya mencionados, y la densidad de su micelio resultó mucho menor. Por último, “eucalipto” fue el sustrato que peor rendimiento mostró ya que presentó un micelio sumamente transparente y débil que no se llega a apreciar en las imágenes.

### Contenido de agua:

El contenido inicial de agua de los sustratos seleccionados se ajustó a un  $60 \text{ wt}\% \pm 2 \text{ wt}\%$ .

La Figura 3 muestra la pérdida de humedad promedio que sufrieron tanto los controles como las muestras de cada sustrato durante el transcurso de la experiencia. Como se puede observar, los controles (muestras sin hongo) perdieron mayor cantidad de agua comparados con las muestras que fueron colonizadas por el micelio. Esto puede deberse a que el crecimiento fúngico ayuda a retener de humedad en los sustratos (Attias et al 2019).

Se puede constatar que “algodón” y “eucalipto” presentan una baja capacidad de retener agua debido a la alta pérdida de humedad observada tanto en los controles como en las muestras. La “vid” se encuentra en un punto intermedio, mientras que “maíz” y “soja” son los sustratos que lograron retener mejor el contenido de agua tanto en los controles como en las muestras.

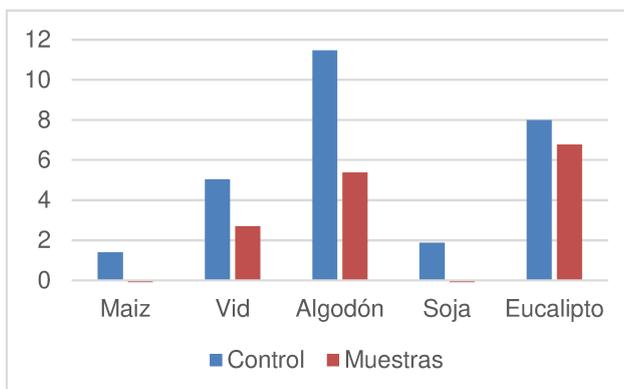


Figura 3. Pérdida promedio de humedad de los distintos sustratos luego de finalizada la experiencia.

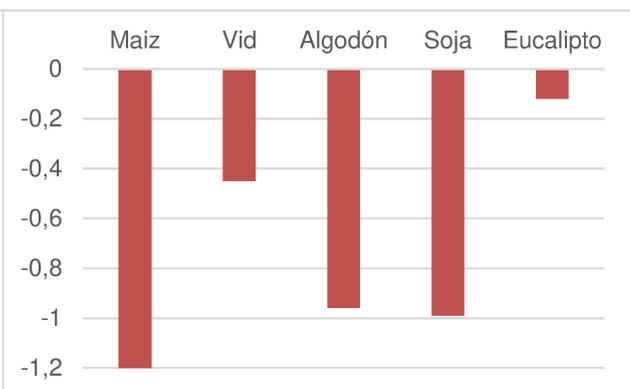


Figura 4. Cambios en el pH de los distintos sustratos luego de finalizada la experiencia.

### Nivel de pH:

El pH inicial de la mayoría de los sustratos se encontraba entre 6 y 6,5, mientras que para “eucalipto” se encontraba en 5,3. Un rango de pH entre 5 y 9 fue reportado como favorable para el crecimiento de la especie *Ganoderma sp.* (Jayasinghe 2008). Al colonizar el sustrato, el hongo produce una acidificación en el medio. Como se puede observar en la Figura 4, todas las muestras presentaron cierta acidificación (disminución de pH) debido al crecimiento de micelio en diferentes grados de colonización. Sin embargo, al estar el pH en todos los casos dentro de los parámetros de crecimiento aceptables del hongo, a priori no se puede atribuir a esta propiedad las diferencias de crecimiento observadas entre muestras.

### Liberación de CO<sub>2</sub>:

En la Figura 5 se puede observar que “soja” presentó una mayor liberación de CO<sub>2</sub>, seguido por “vid”, “maíz” y “algodón” sucesivamente, siendo “eucalipto” la muestra que menor cantidad de CO<sub>2</sub> liberó. Los hongos producen CO<sub>2</sub> durante su crecimiento, por lo que el valor de CO<sub>2</sub> está proporcionalmente relacionado con la cantidad de biomasa fúngica presente en la muestra, es decir, con el crecimiento de micelio. Al comparar estos resultados con los obtenidos para las cajas de Petri se puede observar que los mismos están en concordancia, indicando que el ajuste semi-cuantitativo del diámetro de micelio da un buen indicio de la biomasa fúngica producida en cada muestra.

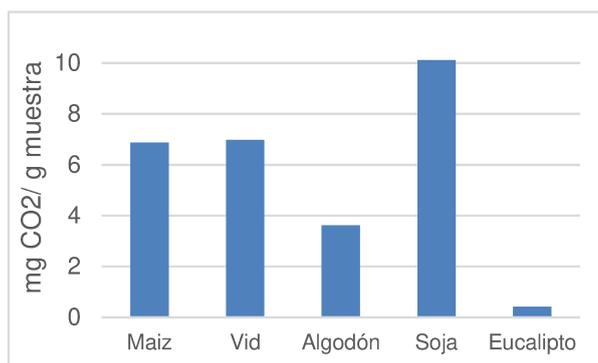


Figura 5. Liberación de CO<sub>2</sub> de las muestras luego de finalizada la experiencia.

## CONCLUSIONES

Las principales conclusiones que se pudieron obtener del trabajo fueron:

- Todos los sustratos utilizados - salvo la viruta de eucalipto - mostraron cierto grado de crecimiento fúngico sin la necesidad de agregar ningún tipo de aditivo, por lo que presentan la potencialidad de ser utilizados como materia prima para el desarrollo de biocompositos.
- Medir la evolución en el diámetro de micelio en distintos sustratos y luego ajustarlo semi-cuantitativamente según la densidad de micelio observada representa un buen método para saber a priori que sustrato permite un mayor crecimiento de biomasa fúngica.

## BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Attias, N., Danai, O., Ezov, N., Tarazi, E. & Grobman, J., 2017.** Developing novel applications of mycelium based bio-composite materials for design and architecture. Conference paper.
- Elsacker, E., Vandelook, S., Van Wylick, A., Ruytinx, J., De Laet, L., & Peeters, E., 2020.** A comprehensive framework for the production of mycelium-based lignocellulosic composites. Science of The Total Environment, 138431.
- Fletcher, IA, 2019.** Effect of Temperature and Growth Media on Mycelium Growth of Pleurotus Ostreatus and Ganoderma Lucidum Strains. Cohesive journal of microb. and infectious disease, 2 (5).
- Jayasinghe, C., Imtiaj, A., Hur, H., Lee, G. W., Lee, T. S., & Lee, U. Y., 2008.** Favorable Culture Conditions for Mycelial Growth of Korean Wild Strains in Ganoderma lucidum. Mycobiology, 36(1), 28.