



OFICINA DE PARTES 2 FIA RECEPCIONADO	
Fecha .....	11 DIC 2018
Hora .....	10:48
Nº Ingreso .....	53570

## INFORME TECNICO FINAL

<b>Nombre del proyecto</b>	<b>Rescate y protección de <i>Ramaria flava</i> (changle) para fortalecer la producción, comercialización, identidad y usos gastronómicos en la cordillera de la costa de la comuna de Carahue.</b>
<b>Código del proyecto</b>	FIA PYT 2016-0376
<b>Informe final</b>	Final
<b>Período informado</b> (considerar todo el período de ejecución)	desde el 01.09.2016 hasta el 30.11.2018
<b>Fecha de entrega</b>	07 de diciembre de 2018

<b>Nombre coordinador</b>	Maribel Parada Ibañez
<b>Firma</b>	

## INSTRUCCIONES PARA CONTESTAR Y PRESENTAR EL INFORME

- Todas las secciones del informe deben ser contestadas, utilizando caracteres tipo Arial, tamaño 11.
- Sobre la información presentada en el informe:
  - Debe dar cuenta de todas las actividades realizadas en el marco del proyecto, considerando todo el período de ejecución, incluyendo los resultados finales logrados del proyecto; la metodología utilizada y las modificaciones que se le introdujeron; y el uso y situación presente de los recursos utilizados, especialmente de aquellos provistos por FIA.
  - Debe estar basada en la última versión del Plan Operativo aprobada por FIA.
  - Debe ser resumida y precisa. Si bien no se establecen números de caracteres por sección, no debe incluirse información en exceso, sino solo aquella información que realmente aporte a lo que se solicita informar.
  - Debe ser totalmente consistente en las distintas secciones y se deben evitar repeticiones entre ellas.
  - Debe estar directamente vinculada a la información presentada en el informe financiero final y ser totalmente consistente con ella.
- Sobre los anexos del informe:
  - Deben incluir toda la información que complemente y/o respalde la información presentada en el informe, especialmente a nivel de los resultados alcanzados.
  - Se deben incluir materiales de difusión, como diapositivas, publicaciones, manuales, folletos, fichas técnicas, entre otros.
  - También se deben incluir cuadros, gráficos y fotografías, pero presentando una descripción y/o conclusiones de los elementos señalados, lo cual facilite la interpretación de la información.
- Sobre la presentación a FIA del informe:
  - Se deben entregar tres copias iguales, dos en papel y una digital en formato Word (CD o pendrive).
  - La fecha de presentación debe ser la establecida en el Plan Operativo del proyecto, en la sección detalle administrativo. El retraso en la fecha de presentación del informe generará una multa por cada día hábil de atraso equivalente al 0,2% del último aporte cancelado.
  - Debe entregarse en las oficinas de FIA, personalmente o por correo. En este último caso, la fecha válida es la de ingreso a FIA, no la fecha de envío de la correspondencia.

- El FIA se reserva el derecho de publicar una versión del Informe Final editada especialmente para estos efectos.

## CONTENIDO

1.	ANTECEDENTES GENERALES .....	6
2.	EJECUCIÓN PRESUPUESTARIA DEL PROYECTO .....	6
3.	RESUMEN EJECUTIVO.....	7
4.	OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO .....	9
5.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE) .....	9
6.	RESULTADOS ESPERADOS (RE) .....	10
7.	CAMBIOS Y/O PROBLEMAS DEL PROYECTO .....	28
8.	ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL PERÍODO .....	29
9.	POTENCIAL IMPACTO .....	30
10.	CAMBIOS EN EL ENTORNO.....	31
11.	DIFUSIÓN .....	32
12.	PRODUCTORES PARTICIPANTES.....	33
13.	CONSIDERACIONES GENERALES .....	35
14.	CONCLUSIONES .....	37
15.	RECOMENDACIONES.....	38
16.	ANEXOS .....	39
17.	BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA.....	128

## 1. ANTECEDENTES GENERALES

Nombre Ejecutor:	Universidad de La Frontera
Nombre(s) Asociado(s):	Ilustre Municipalidad de Carahue
Coordinador del Proyecto:	Maribel Parada Ibañez
Regiones de ejecución:	La Araucanía
Fecha de inicio iniciativa:	2 de Noviembre 2016
Fecha término Iniciativa:	30 de Diciembre de 2018

## 2. EJECUCIÓN PRESUPUESTARIA DEL PROYECTO

Costo total del proyecto			
Aporte total FIA			
Aporte Contraparte	Pecuniario		
	No Pecuniario		
	Total		

Acumulados a la Fecha		Monto (\$)
Aportes FIA del proyecto		
1. Total de aportes FIA entregados		
2. Total de aportes FIA gastados		
3. Saldo real disponible (N°1 – N°2) de aportes FIA		
Aportes Contraparte del proyecto		
1. Aportes Contraparte programado	Pecuniario	
	No Pecuniario	
2. Total de aportes Contraparte gastados	Pecuniario	
	No Pecuniario	
3. Saldo real disponible (N°1 – N°2) de aportes Contraparte	Pecuniario	
	No Pecuniario	

### 3. RESUMEN EJECUTIVO

#### 3.1 Resumen del período no informado

Informar de manera resumida las principales actividades realizadas y los principales resultados obtenidos durante el período comprendido entre el último informe técnico de avance y el informe final. Entregar valores cuantitativos y cualitativos.

Los resultados correspondientes al objetivo específicos número 3 del proyecto tienen relación con la secuenciación de las 16 muestras recolectadas y que presentaban diferencias morfológicas entre ellas, ya sea de forma, color y textura. Los resultados de la caracterización molecular indican que hay *Ramarias* sp. que no están descritas, lo cual es un importante aporte de este proyecto. Además, los diferentes ensayos realizados permitieron obtener *in vitro* el micelio de *Ramaria* sp. lo cual es también un aporte debido a que no se encuentran registros bibliográfico de esto. Los resultados muestran que la mejor forma de obtener micelio de *Ramaria* sp. es a partir de material seco sembrado en medio de cultivo APD suplementado con Gentamicina (0.5µg/mL) e incubadas por 5 días a 28°C. El micelio desarrollado fue caracterizado molecularmente y por microscopía SEM y de fluorescencia y comparado con muestras de changle frescas. Además, como una forma de conocer algunos de los requerimientos del hongo para su desarrollo *ex situ* se realizaron ensayos para conocer sus requerimientos *in vitro*, para lo cual se sembró en placas con diversos medios de cultivos de esta forma se determinó que el mejor medio de cultivo para el desarrollo del hongo fue APD suplementado con glucosa, lo que indica que el hongo tiene requerimientos nutricionales simples, fuentes de carbono como la glucosa se encuentra disponible en diversos cultivos y frutas, lo que ayudaría a que el changle pueda estar presente en diferentes zonas. La degradación de la glucosa, que en eucariontes se produce en el citosol, produce dos moléculas de piruvato (con tres átomos de carbono) lo que le permite contar con la energía para desarrollar sus procesos. Una vez lograda la multiplicación del changle en medio de cultivo y verificada su identidad mediante secuenciación se realizó el escalamiento a conseguir la propagación de este en semillas, lográndose en un sustrato de arroz blanco. La propagación *ex situ*, está en evaluación por lo que no es posible verificarla, sin embargo se puede concluir que fue posible obtener micelio y semilla de *Ramaria* sp. bajo condiciones controladas, lo cual permite continuar investigando para protocolizar la producción *ex situ* y así domesticar este importante Producto Forestal No Maderero (PFNM) que se está viendo disminuido año a año.

### 3.2 Resumen del proyecto

Informar de manera resumida las principales actividades realizadas y los principales resultados obtenidos durante todo el período de ejecución del proyecto. Entregar valores cuantitativos y cualitativos.

Los resultados correspondientes a los objetivos específicos número 1 y 3 del proyecto tienen relación con la colecta de 16 muestras de changles desde los diferentes sectores seleccionados y que están dentro de las propiedades de alguno de los 13 integrantes de la Agrupación de Recolectores de Changle que fue conformada con apoyo de este proyecto. La recolección de muestras de changle se realizó en la temporada de producción del año 2017, siendo necesario realizar varias salidas debido a que por un lado las condiciones climáticas se mantuvieron sin lluvias hasta muy avanzado el otoño, lo cual incidió en una disminución del tiempo de producción. Las 16 muestras que se recolectaron presentaban diferencias morfológicas entre ellas, ya sea de forma, color y textura y molecularmente indicaron que habían diferencias, encontrándose algunas que incluso no están descritas, lo cual es un importante aporte de este proyecto. Además, los diferentes ensayos realizados permitieron obtener *in vitro* el micelio de *Ramaria* sp. lo cual es también un aporte debido a que no se encuentra ningún registro bibliográfico de esto. Los resultados muestran que la mejor forma de obtener micelio de *Ramaria* sp. es a partir de material seco sembrado en medio de cultivo APD suplementado con Gentamicina (0.5µg/mL) e incubadas por 5 días a 28°C. El micelio desarrollado fue caracterizado molecularmente y por microscopía SEM y de fluorescencia y comparado con muestras de changle frescas. Además, como una forma de conocer algunos de los requerimientos del hongo para su desarrollo *ex situ* se realizaron ensayos para conocer sus requerimientos *in vitro*, para lo cual se sembró en placas con diversos medios de cultivos de esta forma se determinó que el mejor medio de cultivo para el desarrollo del hongo fue APD suplementado con glucosa, lo que indica que el hongo tiene requerimientos nutricionales simples, fuentes de carbono como la glucosa se encuentra disponible en diversos cultivos y frutas, lo que ayudaría a que el changle pueda estar presente en diferentes zonas. La degradación de la glucosa, que en eucariontes se produce en el citosol, produce dos moléculas de piruvato (con tres átomos de carbono) lo que le permite contar con la energía para desarrollar sus procesos. Una vez lograda la multiplicación del changle en medio de cultivo y verificada su identidad mediante secuenciación se realizó el escalamiento a conseguir la propagación de este en semillas, lográndose en un sustrato de arroz blanco. La propagación *ex situ*, está en evaluación por lo que no es posible verificarla, sin embargo se puede concluir que fue posible obtener micelio y semilla de *Ramaria* sp. bajo condiciones controladas, lo cual permite continuar investigando para protocolizar la producción *ex situ* y así domesticar este importante Producto Forestal No Maderero (PFNM) que se está viendo disminuido año a año. Por otra parte de las muestras colectadas se realizaron diferentes preparaciones lo que permitió lograr el embazado de changles con una excelente presentación en cuanto a forma y color, junto a la instalación de la sala de mínimo proceso que ha sido un éxito y orgullo para la Agrupación de recolectores de Changles que proyectan positivamente su actividad en la zona.

#### 4. OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO

Rescatar el hongo comestible Changle (*Ramaria flava*), a partir del desarrollo de nuevos productos procesados y usos gastronómicos para promover la diversificación productiva, culinaria y fortalecer la identidad del territorio costero de la región de La Araucanía.

#### 5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE)

##### 5.1 Porcentaje de Avance

El porcentaje de avance de cada objetivo específico se calcula luego de determinar el grado de avance de los resultados asociados a éstos. El cumplimiento de un 100% de un objetivo específico se logra cuando el 100% de los resultados asociados son alcanzados.

Nº OE	Descripción del OE	% de avance al término del proyecto <sup>1</sup>
1	Identificar especies, características nutricionales, atributos saludables y potenciales beneficios del hongo comestible ( <i>Ramaria flava</i> ), que permitan valorizar el recurso patrimonial, promover su consumo y proteger la especie en el territorio.	100
2	Desarrollar productos procesados a partir de del hongo comestible changle ( <i>Ramaria flava</i> ) y diferentes utilizaciones gastronómicas, para diversificar y fortalecer la actividad económica de la especie.	100
3	Determinar los hábitos de desarrollo y requerimientos nutricionales del hongo comestible <i>Ramaria flava</i> que permitan generar el conocimiento de base para el cultivo del Changle bajo condiciones controladas.	100
4	Desarrollar un programa de difusión tecnológica que permita dar a conocer los diversos atributos del hongo comestible ( <i>Ramaria flava</i> ), productos procesados y usos culinarios que permitan, valorizar el producto patrimonial y su preservación, fortalecer la identidad y la actividad económica del territorio.	100
n		

<sup>1</sup> Para obtener el porcentaje de avance de cada Objetivo específico (OE) se promedian los porcentajes de avances de los resultados esperados ligados a cada objetivo específico para obtener el porcentaje de avance de éste último.

## **6. RESULTADOS ESPERADOS (RE)**

Para cada resultado esperado debe completar la descripción del cumplimiento y la documentación de respaldo.

### **6.1 Cuantificación del avance de los RE al término del proyecto**

El porcentaje de cumplimiento es el porcentaje de avance del resultado en relación con la línea base y la meta planteada. Se determina en función de los valores obtenidos en las mediciones realizadas para cada indicador de resultado.

El porcentaje de avance de un resultado no se define según el grado de avance que han tenido las actividades asociadas éste. Acorde a esta lógica, se puede realizar por completo una actividad sin lograr el resultado esperado que fue especificado en el Plan Operativo. En otros casos se puede estar en la mitad de la actividad y ya haber logrado el 100% del resultado esperado.

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado <sup>2</sup> (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador <sup>3</sup>	Fórmula de cálculo <sup>4</sup>	Línea base <sup>5</sup>	Meta del indicador <sup>6</sup> (situación final)	Fecha alcance meta programada <sup>7</sup>	Fecha alcance meta real <sup>8</sup>	
1	1	Especies colectadas e identificadas de <i>Ramaria</i> sp.	Nº de especies colectadas e identificadas de <i>Ramaria</i> sp.	No posee	15	15	15 de junio	15 de junio	100

Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.

Durante el periodo de cosecha, finales de marzo - mediados de mayo del 2017, se realizaron diferentes salidas a terreno a los sectores seleccionados para los muestreos. En estos sectores fueron recolectadas 16 muestras de changles las que presentaban diferencias ya sea de color, textura o por el ambiente en el cual proliferaban. Estas muestras fueron rotuladas del 1 al 16 y caracterizadas morfológicamente según parámetros establecidos por Exeter, 2006 y por microscopía electrónica de barrido para determinar estructura y tamaño aparente de las basidiosporas que recubren el cuerpo fructífero. A estas muestras se les evaluó la cantidad de polifenoles totales, la actividad antioxidante y la actividad antimicrobiana. Los resultados muestran diferencias, lo cual indica que no es posible generalizar en cuanto a las propiedades de este tipo de productos y requieren ser estudiados.

Un antecedente de interés es que ninguna de las muestras de changle colectadas fue clasificada como *Ramaria flava*, si corresponden a *Ramaria*, pero la especie flava no fue encontrada, razón por la cual en el informe hablaremos de *Ramaria* sp. o de changle en general.

Por otra parte entre las muestras colectadas se encontraron algunas que no están reportando, lo cual implica una importancia local o de agregación de valor a los productos colectados en esta comuna. Importante sería poder continuar desarrollando estos trabajos de investigación y de esa forma también ayudar a mantener la agrupación formada.

Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)

Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.

**Anexo 1:** Información relacionada con la ubicación y propietarios de los predios donde se realizó los muestreos, con las características morfométricas de las muestras de changles colectados y con las características moleculares de las muestras analizadas.

<sup>2</sup> Resultado Esperado (RE): corresponde al mismo nombre del Resultado Esperado indicado en el Plan Operativo.

<sup>3</sup> Nombre del indicador: corresponde al mismo nombre del indicador del Resultado Esperado descrito en el Plan Operativo.

<sup>4</sup> Fórmula de cálculo: corresponde a la manera en que se calculan las variables de medición para obtener el valor del resultado del indicador.

<sup>5</sup> Línea base: corresponde al valor que tiene el indicador al inicio del proyecto.

<sup>6</sup> Meta del indicador (situación final): es el valor establecido como meta en el Plan Operativo.

<sup>7</sup> Fecha alcance meta programada: es la fecha de cumplimiento de la meta indicada en el Plan Operativo.

<sup>8</sup> Fecha alcance meta real: es la fecha real de cumplimiento al 100% de la meta. Si la meta no es alcanzada, no hay fecha de cumplimiento.

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado <sup>9</sup> (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador <sup>10</sup>	Fórmula de cálculo <sup>11</sup>	Línea base <sup>12</sup>	Meta del indicador <sup>13</sup> (situación final)	Fecha alcance meta programada <sup>14</sup>	Fecha alcance meta real <sup>15</sup>	
1	2	Etiquetas nutricionales	Nº de etiquetados nutricionales	No posee	0	3	Julio-Dic. 2017	Mayo 2018	100
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
<p>Previo al etiquetado nutricional era necesario realizar la caracterización nutricional de los productos. El análisis proximal se realizó a producto congelado y también a preparaciones en vinagre en donde se obtuvo como resultado el contenido de: Energía, proteínas, grasa total, hidratos de carbono disponibles. También se realizaron análisis de sodio y azúcares totales. Todos estos análisis son requeridos para el correcto etiquetado nutricional de alimentos especificado en Reglamento Sanitario de los Alimentos, D.S. N°977/96. Y los cuales fueron incluidos en los productos que la agrupación fabricó. Paralelamente se trabajó en el diseño de las etiquetas en función a la marca seleccionada.</p>									
<p>Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra) Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.</p>									
<p>Informe de análisis proximal de changle en <b>Anexo 4</b> Diseño de etiquetas en <b>Anexo 5</b></p>									

<sup>9</sup> Resultado Esperado (RE): corresponde al mismo nombre del Resultado Esperado indicado en el Plan Operativo.

<sup>10</sup> Nombre del indicador: corresponde al mismo nombre del indicador del Resultado Esperado descrito en el Plan Operativo.

<sup>11</sup> Fórmula de cálculo: corresponde a la manera en que se calculan las variables de medición para obtener el valor del resultado del indicador.

<sup>12</sup> Línea base: corresponde al valor que tiene el indicador al inicio del proyecto.

<sup>13</sup> Meta del indicador (situación final): es el valor establecido como meta en el Plan Operativo.

<sup>14</sup> Fecha alcance meta programada: es la fecha de cumplimiento de la meta indicada en el Plan Operativo.

<sup>15</sup> Fecha alcance meta real: es la fecha real de cumplimiento al 100% de la meta. Si la meta no es alcanzada, no hay fecha de cumplimiento.

Nº OE	Nº RE	Resultado o Esperado <sup>16</sup> (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador <sup>17</sup>	Fórmula de cálculo <sup>18</sup>	Línea base <sup>19</sup>	Meta del indicador <sup>20</sup> (situación final)	Fecha alcance meta programada <sup>21</sup>	Fecha alcance meta real <sup>22</sup>	
1	3	Caracterización de actividad antioxidante	Nº Determinaciones y caracterización de actividad antioxidante	No posee	1	Determinación de polifenoles totales y actividad antioxidante de 5 muestras, 1 por sector	18 de octubre	18 de octubre	100
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
<p>Se realizó la determinación de los polifenoles totales y actividad antioxidantes a las 16 muestras colectadas, y a partir de diferentes tipos de extractos dependiendo del solvente utilizado, lo cual dio un resultado de 55 extractos analizados. La mejor extracción de polifenoles fue realizada con el solvente etanol al 50%, etanol al 100% y metanol (analítico 100%) donde los mejores exponentes corresponden a las muestras C14 (Eth50%), C11 (Eth100%), C10 (Metanol) y C6 (Metanol), conteniendo 3902.8, 5548.8, 6302.8 y 6841.72mgGAE/mL respectivamente.</p>									
<p>Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra) Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.</p>									
<p>Información se encuentra descrita y con resultados en <b>Anexo 1</b>.</p>									

<sup>16</sup> Resultado Esperado (RE): corresponde al mismo nombre del Resultado Esperado indicado en el Plan Operativo.

<sup>17</sup> Nombre del indicador: corresponde al mismo nombre del indicador del Resultado Esperado descrito en el Plan Operativo.

<sup>18</sup> Fórmula de cálculo: corresponde a la manera en que se calculan las variables de medición para obtener el valor del resultado del indicador.

<sup>19</sup> Línea base: corresponde al valor que tiene el indicador al inicio del proyecto.

<sup>20</sup> Meta del indicador (situación final): es el valor establecido como meta en el Plan Operativo.

<sup>21</sup> Fecha alcance meta programada: es la fecha de cumplimiento de la meta indicada en el Plan Operativo.

<sup>22</sup> Fecha alcance meta real: es la fecha real de cumplimiento al 100% de la meta. Si la meta no es alcanzada, no hay fecha de cumplimiento.

Nº OE	Nº RE	Resultado o Esperado <sup>23</sup> (RE)	Indicador de Resultados (IR)					Fecha alcance meta real <sup>29</sup>	% de cumplimiento
			Nombre del indicador <sup>24</sup>	Fórmula de cálculo <sup>25</sup>	Línea base <sup>26</sup>	Meta del indicador <sup>27</sup> (situación final)	Fecha alcance meta programada <sup>28</sup>		
1	4	Documento con los resultados del ensayo de determinación de propiedades anticancerígenas	Nº de Determinaciones de las propiedades anticancerígenas	No posee	0	0	-	0,0%	0,0
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
<p>La actividad relacionada con la evaluación de la actividad anticancerígena no se realizó debido a que es un trabajo que requiere recursos por las características del material que se requiere, kits moleculares y líneas celulares que son caras. Se realizó el análisis y consulta a los ejecutivo y se le dio prioridad a la instalación de la sala de Mínimo proceso, la cual también requirió de modificaciones en el presupuesto debido a que hubo que incurrir en gastos que no estaban contemplados en su inicio, como fue el cierre perimetral, instalación de agua, entre otros.</p>									
<p>Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra) Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.</p>									
<p>Ho hay documento de respaldo, excepto la información relacionada con la instalación de la sala de Mínimo proceso y la información económica en <b>Anexo 12</b>.</p>									

<sup>23</sup> Resultado Esperado (RE): corresponde al mismo nombre del Resultado Esperado indicado en el Plan Operativo.

<sup>24</sup> Nombre del indicador: corresponde al mismo nombre del indicador del Resultado Esperado descrito en el Plan Operativo.

<sup>25</sup> Fórmula de cálculo: corresponde a la manera en que se calculan las variables de medición para obtener el valor del resultado del indicador.

<sup>26</sup> Línea base: corresponde al valor que tiene el indicador al inicio del proyecto.

<sup>27</sup> Meta del indicador (situación final): es el valor establecido como meta en el Plan Operativo.

<sup>28</sup> Fecha alcance meta programada: es la fecha de cumplimiento de la meta indicada en el Plan Operativo.

<sup>29</sup> Fecha alcance meta real: es la fecha real de cumplimiento al 100% de la meta. Si la meta no es alcanzada, no hay fecha de cumplimiento.

Nº OE	Nº RE	Resultado o Esperado <sup>30</sup> (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador <sup>31</sup>	Fórmula de cálculo <sup>32</sup>	Línea base <sup>33</sup>	Meta del indicador <sup>34</sup> (situación final)	Fecha alcance meta programada <sup>35</sup>	Fecha alcance meta real <sup>36</sup>	
2	1	Nuevos tipos de productos procesados en base al hongo comestible <i>Ramaria</i> sp.	Nº de protocolos de diferentes procesos de conservación de <i>Ramaria</i> sp.	No posee	4	3	Julio-Diciembre 2017	Mayo 2018	100%

Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.

Durante el desarrollo del proyecto se realizaron pruebas y ensayos al hongo *Ramaria* sp. Las líneas de flujo de cada procesamiento se encuentran en Anexo 4. De los resultados obtenidos se concluyó que el congelado de hongos es seguro debido a que en éste proceso tecnológico se detiene el crecimiento microbiano y enzimático, por lo tanto, manteniendo la cadena de frío no hay riesgo de contaminación o deterioro de éste, además, la vida útil supera los 6 meses. Solo cambian algunas características organolépticas, principalmente la textura.

También se aplicó el tratamiento de conservas ácidas en vinagre, éste medio ácido lo hace más seguro ante el eventual crecimiento de flora patógena en este producto, tomando en cuenta el valor de pH de los hongos. Este medio en vinagre le otorga valores de pH menor a 4,5 lo cual, y de acuerdo al Reglamento Sanitarios de los Alimentos, es una conserva ácida. Por lo tanto, no requiere de procesos térmicos tan altos (sobre 100°C).

Luego de aplicar cada proceso tecnológico se realizaron pruebas organolépticas en donde se evaluó principalmente sabor, aroma y textura. Esto con el objetivo de evaluar el comportamiento y respuesta de este hongo a los diferentes procesos tecnológicos aplicados (ver Anexo xx).

Se realizaron pruebas en un deshidratador que tenga rango de temperatura óptimo para este tipo de producto, automático, de bajo consumo de electricidad, de material no oxidable entre otras características.

Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)

Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.

Informe elaboración de protocolos de producción en **Anexo 2**.

<sup>30</sup> Resultado Esperado (RE): corresponde al mismo nombre del Resultado Esperado indicado en el Plan Operativo.

<sup>31</sup> Nombre del indicador: corresponde al mismo nombre del indicador del Resultado Esperado descrito en el Plan Operativo.

<sup>32</sup> Fórmula de cálculo: corresponde a la manera en que se calculan las variables de medición para obtener el valor del resultado del indicador.

<sup>33</sup> Línea base: corresponde al valor que tiene el indicador al inicio del proyecto.

<sup>34</sup> Meta del indicador (situación final): es el valor establecido como meta en el Plan Operativo.

<sup>35</sup> Fecha alcance meta programada: es la fecha de cumplimiento de la meta indicada en el Plan Operativo.

<sup>36</sup> Fecha alcance meta real: es la fecha real de cumplimiento al 100% de la meta. Si la meta no es alcanzada, no hay fecha de cumplimiento.

Nº OE	Nº RE	Resultado o Esperado <sup>37</sup> (RE)	Indicador de Resultados (IR)					Fecha alcance meta programada <sup>42</sup>	Fecha alcance meta real <sup>43</sup>	% de cumplimiento
			Nombre del indicador <sup>38</sup>	Fórmula de cálculo <sup>39</sup>	Línea base <sup>40</sup>	Meta del indicador <sup>41</sup> (situación final)				
2	2	Marca colectiva para comercialización conjunta	Nº de marca colectiva identitaria para el producto patrimonial	No posee	0	1	Diciembre 2017	Octubre 2018	100%	

Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.

La agrupación ha sido conformada legalmente en el municipio local, posee personalidad jurídica como agrupación funcional y se encuentra constituida por 12 miembros que harán uso de la sala mínimo proceso de change.

Para poder trabajar en la marca de la agrupación, se realizaron actividades con los miembros de la agrupación. En un trabajo colaborativo se logró definir una marca representativa para los productos, y en conjunto con la diseñadora, quien presentó las diferentes propuestas de logo, y nuevas ideas para perfeccionar su diseño, y finalmente se seleccionó el diseño acordado entre todos los participantes.

Por otra parte, el Sr. Mauricio Granzotto, encargado de llevar a cabo el registro en INAPI, orientó a la agrupación acerca de las consideraciones a tener en cuenta al momento de registrar una marca. En este proceso, es fundamental registrar un nombre que no esté ya inscrito, es por ello que al momento de cada propuesta se realizó una extensa búsqueda en la base de datos de INAPI, hasta que finalmente se definió una marca que cumplía con los requisitos y fue aceptada por unanimidad por los miembros de la agrupación.

El proceso que se llevó a cabo para solicitar la marca fue: solicitar el registro a INAPI (1), posterior a eso INAPI hace revisión de reglamento y documentación y en función de eso solicitar mayor información (2), después de eso INAPI autoriza la publicación en el diario oficial (3), después de la publicación INAPI el proceso demora entre 2 a 3 meses en dar la última respuesta (4). En el caso de la marca CHOZ esta ya está en el paso 3, fue publicada en el diario oficial y solo queda esperar la última respuestas de INAPI, estimándose podría ser en Diciembre o Enero de año 2018.

Definir una marca es un proceso que requiere bastante atención, ya que esta será la imagen con la cual el consumidor asociará al producto. Es el sello con el que el mismo consumidor va a diferenciar al producto del de la competencia. Teniendo en cuenta estos principios fundamentales, la agrupación definió como principal objetivo, que su marca registrada llevara el sello de identidad cultural con el cual sienten un profundo sentimiento de pertenencia. Es por esto que, luego de muchas ideas, surgió un concepto que no sólo identificó la raíz cultural de la agrupación, sino también la materia prima con la cual ellos trabajan, el Changle, sus colores característicos en tonalidades amarillas quedaron totalmente representados por este concepto. Así, sin ningún tipo de registro anterior en el Instituto Nacional de Propiedad Intelectual, la identidad y sello de la agrupación estará registrada bajo el nombre: CHOZ, COMO EL COLOR DEL SOL.

<sup>37</sup> Resultado Esperado (RE): corresponde al mismo nombre del Resultado Esperado indicado en el Plan Operativo.

<sup>38</sup> Nombre del indicador: corresponde al mismo nombre del indicador del Resultado Esperado descrito en el Plan Operativo.

<sup>39</sup> Fórmula de cálculo: corresponde a la manera en que se calculan las variables de medición para obtener el valor del resultado del indicador.

<sup>40</sup> Línea base: corresponde al valor que tiene el indicador al inicio del proyecto.

<sup>41</sup> Meta del indicador (situación final): es el valor establecido como meta en el Plan Operativo.

<sup>42</sup> Fecha alcance meta programada: es la fecha de cumplimiento de la meta indicada en el Plan Operativo.

<sup>43</sup> Fecha alcance meta real: es la fecha real de cumplimiento al 100% de la meta. Si la meta no es alcanzada, no hay fecha de cumplimiento.

Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra)

Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.

Publicado en diario oficial de la Rep. de Chile ministerio del interior y seguridad pública en **Anexo 3**.

N° OE	N° RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
2	3	Etiquetas nutricionales	N° de etiquetados nutricionales	No posee	0	3	Julio- dic 2017	Mayo 2018	100%

Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.

Previo al etiquetado nutricional se realizó en los productos congelados y conservas en vinagre análisis proximal en donde se obtuvo como resultado el contenido de: Energía, proteínas, grasa total, hidratos de carbono disponibles. También se realizaron análisis de sodio y azúcares totales.

Todos estos análisis son requeridos para el correcto etiquetado nutricional de alimentos especificado en Reglamento Sanitario de los Alimentos, D.S. N°977/96. Y los cuales fueron incluidos en los productos que la agrupación fabricó.

Paralelamente se trabajó en el diseño de las etiquetas en función a la marca seleccionada.

Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra)

Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.

Informe de análisis proximal de changele en **Anexo 4**.

Diseño de etiquetas en **Anexo 5**.

Nº OE	Nº RE	Resultado o Esperado <sup>44</sup> (RE)	Indicador de Resultados (IR)					Fecha alcance meta real <sup>50</sup>	% de cumplimiento
			Nombre del indicador <sup>45</sup>	Fórmula de cálculo <sup>46</sup>	Línea base <sup>47</sup>	Meta del indicador <sup>48</sup> (situación final)	Fecha alcance meta programada <sup>49</sup>		
3	1	Caracterización de hábitos y requerimientos para el cultivo del Changle ( <i>Ramaria</i> sp.)	Desarrollo del micelio de changle ( <i>Ramaria</i> sp.)	No Posee	0	Tipo de azúcar y carbohidratos de preferencia	Julio de 2018	Julio de 2018	100
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
<p>Los requerimientos para el cultivo de <i>Ramaria</i> sp. fueron evaluados a partir de los ensayos para producir el micelio <i>in vitro</i>, en estos se evaluaron diferentes tipos de azúcares tomando como base el medio APD, los resultados indican que el changle prefiere la glucosa a cualquiera de los otros azúcares probado. La glucosa favorece el desarrollo de micelio en menor tiempo, aproximadamente 5 días, con la fructosa o sucrosa el micelio que se produce es muy rastrero y con requerimiento de mucho tiempo para su desarrollo. Los ensayos realizados, fueron planteados con las condiciones bajo las cuales crece en la naturaleza, considerando los grandes grupos de nutrientes y no los micronutrientes, desde este punto de vista se le dio humedad sobre el 90% que es provista por el medio de cultivo para provocar el desarrollo del micelio en primer lugar, la luz fue variable, los primeros días en oscuridad y luego condiciones normales de luz día.</p>									
<p>Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra) Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.</p>									
Información se encuentra descrita y con resultados en <b>Anexo 1</b> .									

<sup>44</sup> Resultado Esperado (RE): corresponde al mismo nombre del Resultado Esperado indicado en el Plan Operativo.

<sup>45</sup> Nombre del indicador: corresponde al mismo nombre del indicador del Resultado Esperado descrito en el Plan Operativo.

<sup>46</sup> Fórmula de cálculo: corresponde a la manera en que se calculan las variables de medición para obtener el valor del resultado del indicador.

<sup>47</sup> Línea base: corresponde al valor que tiene el indicador al inicio del proyecto.

<sup>48</sup> Meta del indicador (situación final): es el valor establecido como meta en el Plan Operativo.

<sup>49</sup> Fecha alcance meta programada: es la fecha de cumplimiento de la meta indicada en el Plan Operativo.

<sup>50</sup> Fecha alcance meta real: es la fecha real de cumplimiento al 100% de la meta. Si la meta no es alcanzada, no hay fecha de cumplimiento.

N° OE	N° RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)				
4	1	2 Charlas de buenas prácticas recolección	N° de participantes capacitados en BPR	No posee	0	15	Enero marzo 2017 Julio septiembre 2017	Junio 2017	100%	
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.										
<p>Durante el mes de mayo de 2017 se realizó en dependencias del municipio de la comuna de Carahue la primera charla de buenas prácticas de recolección donde participaron 10 personas de la agrupación y donde se dio a conocer las principales consideraciones para realizar una correcta recolección de hongos, clasificación métodos de recolección, épocas de recolección y ciclos biológicos de hongos.</p> <p>Durante el mes de junio del año 2017 se realizó en el campo de una recolectora Jovita Breve, la charla en terreno los recolectores pudieron trabajar en terreno y evidenciar distintas especies de hongos, diferenciarlas especialmente aquellas asociadas a toxicidad. Si duda que esta metodología sirvió notablemente para que los recolectores puedan conocer técnicas de recolección y mejorar las actuales.</p>										
<p>Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra)</p> <p>Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.</p>										
<p>Lista de asistencia de participantes en <b>Anexo 6</b>.</p> <p>Fotografías del taller en <b>Anexo 7</b>.</p>										

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
4	2	1 Curso de capacitación de buenas prácticas de manufactura para productos procesados	Nº de participantes capacitados en BPM	No posee	0	15	Sep-Dic. 2017	Octubre 2017	100%

Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.

Durante el mes de octubre del año 2017 se realizó en la comuna de Carahue un curso de capacitación de buenas prácticas de manufactura para productos procesados, donde se buscó capacitar a los recolectores en manipulación de alimentos y tomar conciencia de la importancia de la higiene en la preparación y almacenamiento de alimentos para mejorar la calidad sanitaria de éstos y así contribuir a disminuir los índices de enfermedades de transmisión alimentaria. Reconocer e identificar los diferentes medios de contaminación de los alimentos, su prevención y consecuencias en la salud de las personas.

También en el marco del proyecto se llevó a cabo un taller dirigido a los integrantes de la Agrupación de Recolectores de Changle de la comuna de Carahue. La actividad, fue realizada durante el mes de octubre y liderada por Karin Basaul, se desarrolló en la planta piloto del Instituto de Agroindustria de la Universidad de La Frontera. En esta actividad se dio a conocer el equipamiento necesario para trabajar en la sala de proceso, además de trabajar en el desarrollo de productos a partir de *Ramaria* sp. se establecieron niveles de pH y uso de conservantes a tener en cuenta al momento de preparar conservas, además se entregaron materiales e instrucciones para mantener un adecuado nivel de higiene en el proceso productivo.

También se trabajó en la correcta esterilización y envasado de productos. Importante mencionar que este curso de capacitación no aparece en el plan operativo pero sí en la planilla de presupuestaria, debido a que es un curso de vital importancia para para que los recolectores desarrollen los productos en el futuro.

Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)

Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.

Lista de asistencia de participantes taller buenas prácticas de manufactura en **Anexo 8**.

Fotos taller buenas prácticas de manufactura para productos procesados en **Anexo 9**.

Lista de asistencia de participantes taller elaboración de productos en **Anexo 10**.

Fotos taller elaboración de productos en **Anexo 11**.

N° OE	N° RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
4	3	Seminario de tendencias globales sobre el Changle ( <i>Ramaria</i> sp.)	Asistentes al seminario formativo	No posee	0	1	Octubre-diciembre 2017	Noviembre 2018	100
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
<p>Este resultado de difusión y capacitación de la población estaba programado para el trimestre octubre-diciembre de 2017. Durante el proceso de ejecución del proyecto se observó que era más favorable realizar el seminario el año 2018 debido a que se podía contar con mayores resultados del proyecto. El seminario se realizó el día 22 de noviembre de 2018 y tuvo por objetivo dar a conocer los resultados del proyecto y realizar la inauguración de la sala de mínimo proceso.</p> <p>“Prospección y caracterización de especies de changle de la comuna de Carahue y su potencial uso gastronómico” dictada por la doctora Maribel Parada y el doctor Mauricio Reyes., además de la presentación: “Tratamientos tecnológicos de conservación aplicados al changle” dictado por la profesional Karin Basaul. Además se dio la oportunidad para que autoridades universitarias, comunales y la agrupación pudieran referirse al impacto del proyecto en la zona.</p>									
<p>Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra)</p> <p>Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.</p>									
<p>Lista de asistencia seminario en <b>Anexo 12</b>. Fotos seminario en <b>Anexo 13</b>.</p>									

N° OE	N° RE	Resultado o Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)				
4	4	Material de difusión del proyecto	N° de materiales de difusión del proyecto	No posee	0	1	Enero-Febrero 2018	-	0%	
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.										
<p>Este resultado fue modificado debido a que se tuvo que realizar una reitimización para poder inyectar recursos al objetivo de construcción de la sala de mínimo proceso. Para ello se solicitó la autorización que generó que este objetivo sea eliminado debido a la magnitud de la importancia que tenía en su momento contar con el recurso para construcción de la sala de proceso.</p>										
<p>Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra)  Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.</p>										

N° OE	N° RE	Resultado o Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
4	5	Material gráfico	N° de materiales gráficos de difusión del proyecto	No posee	0	5	Marzo 2017	Marzo 2017	100%

Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.

Este resultado se encuentra completo ya que se realizaron en primera instancia los procesos de recopilación de imágenes para poder elaborar el material gráfico de difusión. En este momento el proyecto cuenta con el diseño de una marca, la cual se trabajó con el grupo de recolectores después de talleres de diseño. Finalmente en este momento el proyecto cuenta con el diseño del material gráfico para difusión los que corresponden a pendón carpetas para seminarios y talleres. Flyer de difusión. A demás del diseño de las etiquetas de los productos elaborados por la agrupación.

Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra)

Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.

Imágenes del material de difusión en **Anexo 14**.

N° OE	N° RE	Resultado o Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
4	6	Ferias gourmet y tradicionales	N° de ferias en la que se mostraran los productos	No posee	0	1	Enero-febrero 2018	Noviembre 2017	100%
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.									
<p>Durante el mes de noviembre del año 2017 los días del 8 al 12 de noviembre se dieron a conocer los objetivos del proyecto así como también los prototipos de productos desarrollados en base a <i>Ramaria</i> sp. en la Expo feria SOFO 2017 en Temuco, la muestra agrícola, ganadera, industrial y comercial organizada por la Sociedad de Fomento Agrícola de Temuco, SOFO, y que presentó productos de todo Chile. La participación en esta feria permitió que la población esté en conocimiento de los prototipos con los que se cuentan y las potencialidades de la agrupación.</p>									
<p>Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra)  Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.</p>									
Fotos de la participación en feria SOFO 2017 en <b>Anexo 15</b> .									

N° OE	N° RE	Resultado o Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)				
4	7	Manual de manejo y usos de Changle ( <i>Ramaria</i> sp.)	N° de manuales con la información del proyecto	No posee	0	0	Febrero 2018	-	0	
Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.										
Este resultado fue eliminado previa autorización, debido a que los recursos destinados a la impresión del material fueron reutilizados para ser usados en la construcción de la sala de mínimo proceso.										
Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra) Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.										

N° OE	N° RE	Resultado o Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)						% de cumplimiento
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Línea base	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta programada	Fecha alcance meta real	
4	8	Sala mínimo proceso de conservación del hongo	N° de salas mínimo proceso	No posee	0	1	Diciembre 2017	Diciembre 2018	95%

Descripción y justificación del cumplimiento de los resultados del proyecto.

La sala de mínimo proceso fue construida previo proceso de un arduo trabajo relacionado con la tramitación tanto para el saneamiento del terreno, como para el permiso de obras, cesión del terreno y ejecución de la obra. La sala construida de 32 mt<sup>2</sup> cuenta con una zona limpia, zona sucia, vestidores y baño y equipamiento para procesamiento menor de changle.

El proceso de construcción se vio retrasado debido a que el municipio hizo modificaciones relacionadas con el terreno cedido durante el proceso, situación que generó realizar una nueva tramitación de traspaso. Este proceso de construcción contó con la aprobación del comodato donde la Ilustre Municipalidad de Carahue cedió el terreno a la Agrupación de Recolectores de changle de Carahue. Posteriormente se realizó el cierre perimetral del sitio para seguir con la habilitación modular de la sala. Paralelamente, se realizaron los trámites de obtención de agua, alcantarillado y electricidad. Estos procesos no fueron fáciles de ejecutar debido a que en el terreno cedido no había acceso inmediato a la conexión por lo que se tuvo que solicitar otros permisos como el atravesado de una calle para poder obtener agua.

Actualmente la sala cuenta con electricidad y el proceso de autorización de agua potable, y alcantarillado se encuentra ingresado para revisión en aguas Araucanía donde se espera una respuesta y aprobación durante el mes de diciembre en curso.

En cuanto a la resolución sanitaria de la sala se encuentra en proceso de obtención lo que se detalla en el Anexo 21.

La universidad a su vez, elaboró un comodato para poder realizar el traspaso de la sala y equipamiento comodato que se encuentra en su proceso de término en la dirección jurídica de la universidad.

Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra)

Se debe considerar como información de respaldo: gráficos, tablas, esquemas y figuras, material gráfico, entre otros, que permitan visualizar claramente los antecedentes que sustentan las conclusiones y recomendaciones relevantes del desarrollo del proyecto.

Plano Sala de Mínimo Proceso en **Anexo 16**.

Especificaciones técnicas Sala de Mínimo Proceso en **Anexo 17**.

Fotos Sala de Mínimo Proceso construida en **Anexo 18**.

Informe proceso de obtención Resolución Sanitaria en **Anexo 19**.

## 6.2 Análisis de brecha.

Cuando corresponda, justificar las discrepancias entre los resultados programados y los obtenidos.

Durante la ejecución del proyecto fue necesario realizar algunas modificaciones en función de los gastos extras que se generaron con motivo de la Sala de Mínimo Proceso. En función de esto hubieron modificaciones en alguna de las actividades de los objetivos 1, 3 y 4, las actividades modificadas son:

**Obj. 1. Actividad 4** que dice relación con: resultados del ensayo de determinación de propiedades anticancerígenas.

Actividad no realizada debido al alto costo que involucra y en función del trabajo que se estaba llevando a cabo con la agrupación, la Sala de Mínimo Proceso era primordial.

**Obj. 4. Actividad 4 y 7** que dice relación con el material de difusión, lo que incluía la elaboración de un manual y un video recopilatorio. Debido a que durante el desarrollo del proyecto fue necesaria hacer una reoptimización para ajustar el presupuesto y contar con dineros para la construcción de la sala de proceso es que estos resultados fueron eliminados, para poder realizar de manera correcta la construcción de la sala. Esto no generó un problema dentro del proyecto, pero si es importante destacar que la información está disponible y no se cumplió el objetivo, para darle prioridad al cumplimiento de la construcción de la sala cuyo impacto en los recolectores tiene mayor relevancia.

## 7. CAMBIOS Y/O PROBLEMAS DEL PROYECTO

Especificar los cambios y/o problemas enfrentados durante el desarrollo del proyecto. Se debe considerar aspectos como: conformación del equipo técnico, problemas metodológicos, adaptaciones y/o modificaciones de actividades, cambios de resultados, gestión y administrativos.

Describir cambios y/o problemas	Consecuencias (positivas o negativas), para el cumplimiento del objetivo general y/o específicos	Ajustes realizados al proyecto para abordar los cambios y/o problemas
A raíz del cambio de gobierno se produjo Cambio de administración municipal. Por otra parte problemas con la burocracia universitaria y municipal.	Retraso en contar con el terreno para poder construir la sala de mínimo proceso comprometida.	Reuniones coordinación para acelerar procesos administrativos y reestablecer los compromisos.
Cambio en Coordinador de proyecto.	Reestructuración de funciones.	Nuevas reuniones de coordinación para reestructuración de las obligaciones.
Modificación del terreno asignado por el municipio para la construcción de la sala de proceso.	Retraso en la construcción de la sala de proceso.	Iniciar nuevas gestiones para realizar nuevas autorizaciones para obtención de agua y alcantarillado de la sala así como también de electricidad.

## 8. ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL PERÍODO

### 8.1 Actividades programadas en el plan operativo y realizadas durante el período de ejecución para la obtención de los objetivos.

- Colecta de muestras de changles en los sectores seleccionados para este proyecto.
- Caracterización de las muestras de Changle morfológicamente, morfométricamente y en sus propiedad antioxidantes y antimicrobianas.
- Evaluación de los requerimientos del hongo para aislarlo *in vitro* y con esto lograr multiplicarlo bajo condiciones controladas.
- Identificación molecular por secuenciación de las muestras en estudio.
- Elaboración de los nuevos productos.
- Formación de la Agrupación de recolectores de changle de Carahue.
- Elaboración de protocolos, diseño de logos e inscripción de la marca.
- Determinación nutricional.
- Diseño, maqueta e impresión del material de difusión.
- Construcción de sala de mínimo proceso.
- Implementación de sala de mínimo proceso.

### 8.2 Actividades programadas y no realizadas durante el período de ejecución para la obtención de los objetivos.

Elaboración de Manual de Difusión con los resultados del proyecto.  
Elaboración de video de difusión de los resultados.

### 8.3 Analizar las brechas entre las actividades programadas y realizadas durante el período de ejecución del proyecto.

La principal brecha está relacionada con los recursos presupuestados para la sala de mínimo proceso. El curso del proyecto se evidencio que no eran suficientes los recursos asignados y fue necesario solicitar una reitimización que género que algunos.

## 9. POTENCIAL IMPACTO

### 9.1 Resultados intermedios y finales del proyecto.

Descripción y cuantificación de los resultados obtenidos al final del proyecto, y estimación de lograr otros en el futuro, comparación con los esperados, y razones que explican las discrepancias; ventas y/o anuales (\$), nivel de empleo anual (JH), número de productores o unidades de negocio que pueden haberse replicado y generación de nuevas ventas y/o servicios; nuevos empleos generados por efecto del proyecto, nuevas capacidades o competencias científicas, técnicas y profesionales generadas.

Los principales impactos generados a partir del proyecto se relacionan con las nuevas capacidades instaladas en el territorio. La agrupación se dedica exclusivamente a la recolección, con la ejecución del proyecto innovaron en la elaboración de productos a partir de la especie. Por otra parte los integrantes de la agrupación trabajaban de manera individual y ahora de manera asociativa.

En términos de ingresos los recolectores vendían el changle por kilo, precio que varía considerablemente dependiendo de la disponibilidad del producto cada año y de manera muy estacional, actualmente los productos generados con la ejecución del proyecto comparados con productos de otras especies y con característica de formato similar, los precios suelen ser mayores a los obtenidos a granel. Además, la agregación de valor a estos productos permitirá que los recolectores puedan llegar a otros mercados, en este sentido, el conocimiento de la caracterización del hongo les permitirá ofrecer un producto con propiedades conocidas ya sea como antioxidante o antimicrobiano.

El procesamiento del changle en la sala de mínimo proceso construida, se pueden procesar otras materias primas locales en otras épocas del año, lo cual le permitirá a la agrupación una nueva oportunidad de negocio. Junto con lo anterior, los aportes de este proyecto permitirán cubrir una demanda local de procesamiento en la comuna.

Otro resultado importante es la capacitación entregada a la agrupación y la importancia que ellos han dado a este conocimiento, que los ha llevado a continuar organizándose de tal manera de proteger su recurso de ladrones y vendedores furtivos de hongos, que provocan destrozos en los bosques, aparte de realizar cosechas extractivas provocando la disminución de estos recursos año a año.

La excelente recepción que este trabajo tuvo en la zona, el entusiasmo de la agrupación, el compromiso del municipio y los recursos invertidos, requieren que se evalúe la forma de continuar apoyando este trabajo, tanto en la parte científica, como en la evaluación de las características e identificación de estos hongos y otros que se producen en la zona, que de acuerdo a los resultados obtenidos hay algunos que no han sido descritos aun.

## 10. CAMBIOS EN EL ENTORNO

Indique si existieron cambios en el entorno que afectaron la ejecución del proyecto en los ámbitos tecnológico, de mercado, normativo y otros, y las medidas tomadas para enfrentar cada uno de ellos.

El principal cambio que ocurrió durante el desarrollo del proyecto y fue negativo para su correcta ejecución ya que atraso los procesos fue el cambio de terreno asignado a la agrupación de recolectores de changle de Carahue. Al cambiar el terreno se tuvo que comenzar a reactivar nuevamente las gestiones y solicitudes de nuevo terreno y las autorizaciones de agua y alcantarillado. Para enfrentar este problema el equipo técnico del proyecto hizo un esfuerzo en gestionar rápidamente las tramitaciones de manera de lograr realizar la construcción y solicitar las reitimizaciones de los dineros de otras actividades en beneficio de este espacio de trabajo.

## 11. DIFUSIÓN

Describa las actividades de difusión realizadas durante la ejecución del proyecto. Considere como anexos el material de difusión preparado y/o distribuido, las charlas, presentaciones y otras actividades similares.

	Fecha	Lugar	Tipo de Actividad	Nº participantes	Documentación Generada
1	31-05-2017	Municipalidad de Carahue	Charla de buenas prácticas de recolección parte teórica	10	Lista asistencia
2	07-06-2017	Carahue, Predio recolectora Jovita Breve	Charla de buenas prácticas de recolección parte práctica	11	Lista asistencia
3	12-08-2017	Carahue parque los trenes	Taller marca colectiva agrupación	10	Lista asistencia
4	24-08-2017	Municipalidad de Carahue	Reunión con actores del municipio	5	Lista asistencia
5	24-08-2017	Municipalidad de Carahue	Reunión agrupación ejecutivo FIA, UFRO	10	Lista asistencia
6	24-08-2017	Universidad de la Frontera	Reunión ejecutivo FIA, UFRO	5	Lista asistencia
7	06-10 -2017	Municipalidad de Carahue	Curso de buenas prácticas de manufactura	19	Lista asistencia
8	20-10-2017	Universidad de La Frontera	Curso de desarrollo de productos	9	Lista asistencia
9	22-10-2018	Centro cultural comuna Carahue	Seminario e inauguración de sala de proceso	70	Lista
			Total participantes	149	

## 12. PRODUCTORES PARTICIPANTES

Complete los siguientes cuadros con la información de los productores participantes del proyecto.

### 12.1 Antecedentes globales de participación de productores

Debe indicar el número de productores para cada Región de ejecución del proyecto.

Región	Tipo productor	N° de mujeres	N° de hombres	Etnia (Si corresponde, indicar el N° de productores por etnia)	Totales
	Productores pequeños	7	6	2	13
	Productores medianos-grandes	-	-	-	-
	Productores pequeños	-	-	-	-
	Productores medianos-grandes	-	-	-	-
	<b>Totales</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>2</b>	

## 12.2 Antecedentes específicos de participación de productores

Nombre	Ubicación Predio			Superficie Há.	Fecha ingreso al proyecto
	Región	Comuna	Dirección Postal		
Liliana Suazo	Región de La Araucanía	Carahue		1,5	2 de noviembre de 2016
Jovita Breve	Región de La Araucanía	Carahue		25	2 de noviembre de 2016
Waldo Leal	Región de La Araucanía	Carahue		15	2 de noviembre de 2016
Andrea Rebolledo	Región de La Araucanía	Carahue			2 de noviembre de 2016
Roberto Marivil	Región de La Araucanía	Carahue			2 de noviembre de 2016
Bella Breve	Región de La Araucanía	Carahue		10	2 de noviembre de 2016
Heraida Fonseca	Región de La Araucanía	Carahue		3	2 de noviembre de 2016
Humberto Suazo	Región de La Araucanía	Carahue		10	2 de noviembre de 2016
Tolentino Carrillo	Región de La Araucanía	Carahue		25	2 de noviembre de 2016
Hernán Breve	Región de La Araucanía	Carahue		15	2 de noviembre de 2016
Luis Marivil	Región de La Araucanía	Carahue			2 de noviembre de 2016
María Osses	Región de La Araucanía	Carahue		0	2 de noviembre de 2016

### **13. CONSIDERACIONES GENERALES**

#### **13.1 ¿Considera que los resultados obtenidos permitieron alcanzar el objetivo general del proyecto?**

Claramente se logró cumplir con el objetivo principal del proyecto, ya que a partir del trabajo realizado el grupo de recolectores de changle desarrollo nuevas alternativas para su conservación. En terreno pudieron evidenciar el buen manejo de recolección de hongos lo que permitirá evitar su extensión. A demás contar con una sala de mínimo proceso con el equipamiento necesario para operar. Y cumplir con las exigencias que solicita el servicio de salud permitirá llegar con un producto al mercado, dejando atrás un proceso solo de recolección sin agregación de valor. Esto permitirá fortalecer la identidad del territorio y diversificar la actividad productiva presente hoy en la zona. Por otro lado se conocieron algunas propiedades de los hongos que no son generalizadas y se avanzó en la identificación de especies.

#### **13.2 ¿Cómo fue el funcionamiento del equipo técnico del proyecto y la relación con los asociados, si los hubiere?**

El funcionamiento del equipo técnico fue óptimo considerando que se solicitó una extensión del proyecto lo que significó un compromiso mayor no programado en el proyecto inicial. A pesar de ello, en la actualidad hay una vinculación efectiva con el territorio de Carahue. Con esto se espera que la Universidad de La Frontera pueda seguir apoyando iniciativas en la comuna y trabajar con la agrupación conformada, con el fin de apoyarlos en otros procesos, como son la puesta de productos en el mercado y el rescate de otros hongos de importancia local y también se espera el apoyo de FIA para mantener la esperanza de la agrupación viva hasta que puedan seguir como grupo independiente.

#### **13.3 A su juicio, ¿Cuál fue la innovación más importante alcanzada por el proyecto?**

La innovación más relevante en el proceso de ejecución del proceso corresponde a la elaboración de nuevos productos a partir de la especie changle, los cuales en la actualidad no se encuentran en el mercado con la normativa exigente.

#### **13.4 Mencione otros aspectos que considere relevante informar, (si los hubiere).**

Es importante mencionar que se logró obtener micelio de changle en cultivo in vitro, cosa que no se ha descrito, ni existe conocimiento que se haga, además, y aun cuando no era parte del proyecto se continuo llevando el micelio a semillar para tener inóculo que pueda ser utilizado para llevar a la fructificación del hongo.

Por otra parte también se realizó la caracterización molecular y aun cuando esto ha sido difícil, se ha logrado definir que hay algunas especies que no han sido descritas.

## 14. CONCLUSIONES

Realice un análisis global de las principales conclusiones obtenidas luego de la ejecución del proyecto.

- 1.- De los sectores muestreados se recolectaron 16 muestras de changle que presumiblemente eran *Ramaria flava*.
- 2.- Las características morfológicas de color y textura difieren entre las muestras colectadas las que pueden agruparse en cuanto a color en amarillas, cafés, burdeo, naranja y rosado.
- 3.- Los resultados de las secuenciaciones indican que ninguna de las muestras corresponde a *Ramaria flava*, dos de las muestras corresponderían a *Ramaria* indeterminada o bien, a especies que no han sido descritas anteriormente.
- 4.- Las muestras C3 y C1 mostraron una baja similitud de secuencias con la base de datos, demostrando ser géneros no reportados anteriormente, lo cual es un importante aporte de este trabajo de investigación, que debe ser registrado, ya que demuestran ser, según este estudio, únicas en su tipo.
- 5.- los resultados muestran que existen diferencias significativas en el contenido de polifenoles y antioxidantes con valores de algunas muestras que superan incluso a las frutas con mayor contenido de polifenoles y actividad antioxidante, como el arándano.
- 6.- Los resultados de la actividad antimicrobiana sugieren que de las tres cepas evaluadas el mejor efecto antimicrobiano fue frente a la cepa *Listeria monocytogenes*, donde de los 14 extractos evaluados 9 generaron susceptibilidad en el crecimiento del microorganismo, siendo similar el efecto a 0.5 µg/mL de Gentamicina utilizado como patrón estándar de la prueba.
- 7.- El crecimiento del hongo en los medios de cultivos mínimos suplementados con glucosa, permitieron el crecimiento del micelio de changle, superando el crecimiento obtenido en los medios suplementados con sucrosa y también del medio de cultivo Harina T. En los medios suplementados con fructosa fue donde el hongo tuvo el peor desempeño en la velocidad de crecimiento.
- 8.- Los resultados obtenidos indican que el changle sería un hongo medianamente exigente en sus requerimientos nutricionales, aunque son básicos son esenciales, como la glucosa, lo que le permite el desarrollo de micelio solo en 5 días a diferencia de en otros medios donde el micelio es muy pobre y se tarda una semana.
- 9.- La caracterización del micelio obtenido *in vitro* fue corroborado por secuenciación y microscopia SEM y de fluorescencia, corroborando que efectivamente corresponde al

género *Ramaria*, no se ha podido determinar la especie.

10.- La comuna de Carahue tiene un alto potencial de trabajo con especies como es el caso de changle, razón por la que este tipo de iniciativas son un real aporte para la comuna ya que se está valorizando un recurso patrimonial en el territorio.

11.- El proyecto permitirá que la comuna de Carahue cuente con un grupo de recolectores agrupados con una sala de proceso disponible para procesar hongos, situación que permitirá mejorar su calidad de vida e iniciar nuevos negocios.

## 15. RECOMENDACIONES

Señale si tiene sugerencias en relación a lo trabajado durante el proyecto (considere aspectos técnicos, financieros, administrativos u otro).

Que exista la forma de lograr una continuidad de los proyectos.

## 16. ANEXOS



CHILE LO  
HACEMOS  
TODOS



# ANEXOS



CHILE LO  
HACEMOS  
TODOS



## Anexo 1

### Resultados

### Proyecto FIA PYT 2016-0376 (2016-2018)



Temuco, Diciembre 2018

**Rescate y protección de *Ramaria flava* (changle) para fortalecer la producción, comercialización, identidad y usos gastronómicos en la cordillera de la costa de la comuna de Carahue**

FIA PYT 2016-0376

**Informe científico**

La presente investigación fue realizada por:

**Mauricio Reyes Schencke**  
Ingeniero Forestal

**Tiara Ornella Barriga Barra**  
Biotecnóloga

**Pablo Alberto Pérez Courbis**  
Biotecnólogo

**Evelyn Verónica Briones Osses**  
Biotecnóloga

**Ignacio Andrés Jofré Fernández**  
Biotecnólogo

Magister en Ciencias mención Biología Celular y Molecular Aplicada

Bajo la dirección de

**Maribel Eugenia Parada Ibáñez**

Profesora de Estado en Biología

Magister en Protección Vegetal

Doctora en Biología Molecular mención Microbiología

CENTRO BIOTECNOLÓGICO DE ESTUDIOS MICROBIANOS CEBEM  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES  
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA - TEMUCO

## INDICE CONTENIDOS

Nº	Contenido	Página
	<b>Introducción</b>	48
	<b>Objetivo General</b>	49
	<b>Objetivos específicos</b>	49
<b>1</b>	<b>Materiales y Métodos</b>	50
1.1	<b>Materiales</b>	50
1.1.1	Área de estudio	50
1.1.2	Material Biológico	50
<b>2</b>	<b>Metodología</b>	50
2.1	Recolección y caracterización morfológica de muestras.	50
2.2	Caracterización molecular de los carpóforos de changles colectados en los sectores de Carahue.	50
2.3	Formulación de extractos de changle para evaluar contenido de polifenoles, actividad antioxidante y antimicrobiana.	51
2.3.1	Determinación del contenido total de polifenoles de los extractos de changle.	51
2.3.2	Capacidad antioxidante (DPPH) de los extractos de changle.	52
2.3.3	Capacidad antimicrobiana de los extractos de changle.	52
2.4	Obtención de micelio a partir de carpóforos de changle.	53
2.5	Condiciones para el desarrollo de micelio de changle.	53
2.6	Caracterización del micelio de changle obtenido <i>in vitro</i> .	53
2.7	Preparación de inóculo de changle.	53
2.8	Propagación y fructificación en sustrato del micelio de changle.	54
<b>3</b>	<b>Resultados</b>	56
3.1	Recolección y caracterización morfológica de muestras.	56
3.2	Caracterización molecular de los carpóforos de changle colectados en los sectores de Carahue.	64

<b>N°</b>	<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
3.3	Determinación del contenido total de polifenoles y de la actividad antioxidante.	69
3.4	Capacidad antioxidante (DPPH) de los extractos de changle.	70
3.5	Actividad antimicrobiana de los changles colectados.	72
3.6	Obtención de micelio a partir de los carpóforos de changles colectadas.	74
3.7	Caracterización del micelio de changle obtenido <i>in vitro</i> .	76
3.8	Elaboración del inóculo de changle.	78
3.9	Propagación y fructificación en sustrato del inóculo de changle.	79
<b>4</b>	<b>Conclusiones</b>	81
<b>5</b>	<b>Proyecciones</b>	82
<b>6</b>	<b>Recomendaciones</b>	82
<b>7</b>	<b>Referencias Bibliográficas</b>	83

## INDICE DE FIGURAS

N° Figura	Contenido	Página
1	Mapa localización muestreo N°1, sector Los Placeres, Carahue. Punto 1: 636233.00 m E; 5724216.00 m, Punto 2: 636467.00 m E; 5724021.00 m S.	56
2	Mapa localización muestreo N°2, sector Las Minas, camino a Chacao. Punto 1: 658697.00 m E; 5718515.00 m S; Punto 2: 658578.00 m E; 5718901.00 m S; Punto 3: 658192.00 m E; 5719268.00 m S.	57
3	Mapa localización muestreo N° 3. Punto 1: 658697.00 m E; 5718515.00 m S. Punto 2: 658578.00 m E; 5718901.00 m S. Punto 3: 658192.00 m E; 5719268.00 m S.	57
4	Mapa localización muestreo N°3. Punto 1: 658697.00 m E; 5718515.00 m S. Punto 2: 658578.00 m E; 5718901.00 m S; Punto 3: 658192.00 m E; 5719268.00 m S.	58
5	Datos meteorológicos históricos 2017.	62
6	Algunos de los integrantes de la asociación de recolectores de Changle, realizando la colecta de hongos en canastos para preservar la especie.	64
7	Electroforesis, PCR ITS1 e ITS4. Changles de distintas localidades. Predio Chanco, Predio Los Pellines y Rucadiuca.	65
8	Electroforesis, PCR ITS1 e ITS4, Changles de distintas localidades. Predio los placeres. 14 y 15) Predio Santa Celia.	65
9	Electroforesis PCR LSU, Muestras changles C4 (SL1.3); C5 (T3); C6 (SL2.3), de los predios Los placeres (C4; C5) y predio Chanco.	65
10	Análisis filogenético de muestras de <i>Ramaria</i> sp. en base a amplificados y secuenciados del gen interespaciador ITS.	66
11	Análisis de alineamiento en base de datos GENBANK para los amplificados del gen interespaciador ITS. E-Value; asertividad de alineamiento. "Ident"; corresponde a la identidad del total de la secuencia evaluada con respecto a la secuencia en la base de datos.	67
12	Análisis de alineamiento en base de datos GENBANK para los amplificados del gen interespaciador ITS. E-Value; asertividad de alineamiento. "Ident"; corresponde a la identidad del total de la secuencia evaluada con respecto a la secuencia en la base de datos.	68
13	Análisis de alineamiento en base de datos GENBANK para los amplificados del gen interespaciador ITS. E-Value; asertividad de alineamiento. "Ident"; corresponde a la identidad del total de la secuencia evaluada con respecto a la secuencia en la base de datos.	68

Nº Figura	Contenido	Página
14	Representación gráfica del análisis de capacidad antimicrobiana de <i>Ramaria</i> sp. sobre cultivos de <i>Listeria monocytogenes</i> . Los resultados corresponden a la inhibición en placa equivalente a 0.5 µg/mL de Gentamicina.	73
15	Representación gráfica del análisis de la capacidad antimicrobiana de <i>Ramaria</i> sp. sobre cultivos de <i>Escherichia coli</i> . Los resultados corresponden a la inhibición en placa equivalente a 0.5 µg/mL de Gentamicina.	73
16	Representación gráfica del análisis de la capacidad antimicrobiana de <i>Ramaria</i> sp. sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i> . Los resultados corresponden a la inhibición en placa equivalente a 0.5 µg/mL de Gentamicina.	74
17	Micelio aislado en medio de cultivo APD acidificado. Fotografía de aislados con cinco días de crecimiento.	75
18	Análisis del crecimiento radial del micelio de <i>Ramaria</i> sp. en diferentes medios de cultivos mínimos suplementados con Fructosa, Sucrosa, Glucosa y Medio de cultivo Harina tipo T. (B). Imagen representativa del crecimiento radial del micelio de <i>Ramaria</i> sp. en medio mínimo suplementado con glucosa. Cambio de coloración indica el crecimiento radial del micelio sobre el agar.	75
19	Microscopía electrónica de barrido de <i>Ramaria</i> sp. En A; basidiosporas. En B; pliegues de posicionamiento de basidiósporas. En C; ordenamiento aleatorio de externalización de basidiósporas. En D; pliegues y orificios de externalización de basidiosporas.	77
20	Marcaje fluorescente con Hoescht 33254. En A; flecha blanca indica la presencia de núcleos de fluorescencia intensa, separado entre los septos del micelio. En B; flecha blanca indica septos.	78
21	Sistema de arroz montado como sustrato con 24 horas de inoculado para la producción de micelio de changle.	79

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
1	Georeferenciación de los sectores seleccionados para la ejecución del proyecto.	58
2	Descripción morfológica de las muestras de changles colectadas en los sectores de la comuna de Carahue, región de La Araucanía, Chile.	60
2.1	Descripción morfológica de las muestras de changles colectadas en los sectores de la comuna de Carahue, región de La Araucanía, Chile.	61
3	Características vegetacional de los sectores muestreados en los sectores en estudio de la Comuna de Carahue.	63
4	Contenido de polifenóles totales y capacidad antioxidante (DPPH).	70

## Introducción

Actualmente las cifras de crecimiento del mercado de ingredientes y aditivos saludables ya superan los 30 mil millones de dólares y representan una tremenda oportunidad para que Chile pueda convertirse en un proveedor importante de ingredientes funcionales y aditivos especializados (IF y AE). Chile, no sólo posee uno de los cinco territorios de clima mediterráneo del mundo con características apropiadas para producir un gran y variado número de especies vegetales que permitirían garantizar un flujo continuo de materias primas para la obtención de estos compuestos de alto valor, sino que también posee especies endémicas con alto potencial para la obtención de estos compuestos, las cuales a través de una transición desde la recolección hacia cultivo dedicado, podrían generar una gran oportunidad de agregación de valor, especialmente para aquellos pequeños agricultores de zonas más rezagadas.

Frente a esta situación el territorio circunscrito al proyecto ha marcado el inicio de una importante oportunidad para el grupo de recolectores de changle que inicia ilusionados su trabajo y al cual debería recibir el apoyo científico y económico hasta que puedan realizar sus actividades con autonomía. El presente proyecto generó información realmente importante para los recolectores, como es el aprendizaje de la correcta colecta de hongos, preservando los Productos Forestales No Madereros y además el conocimiento de la forma de procesar sus propios productos, de forma segura, utilizando el espacio destinado para ello, como es la Sala de Mínimo Proceso.

Los resultados notables de este proyecto radican en lograr obtener la semilla de un hongo que hasta este momento no se cultiva, esto podría conseguir que los pequeños agricultores no dependan de la marcada estacionalidad que poseen estas especies y producir la materia prima suficiente para abastecer a sus familias, comuna y quizás también escalando a nivel nacional, lo cual impactara profundamente en la economía de la organización y de los recolectores de la zona de Carahue.

## **Objetivo General**

Rescatar el hongo comestible Changle (*Ramaria* sp.), a partir del desarrollo de nuevos productos procesados y usos gastronómicos para promover la diversificación productiva, culinaria y fortalecer la identidad del territorio costero de la región de La Araucanía.

## **Objetivos específicos**

1. Identificar especies, características nutricionales, atributos saludables y potenciales beneficios del hongo comestible (*Ramaria* sp.), que permitan valorizar el recurso patrimonial, promover su consumo y proteger la especie en el territorio.
2. Desarrollar productos procesados a partir de del hongo comestible changle (*Ramaria* sp.) y diferentes utilizaciones gastronómicas, para diversificar y fortalecer la actividad económica de la especie.
3. Determinar los hábitos de desarrollo y requerimientos nutricionales del hongo comestible *Ramaria* sp. que permitan generar el conocimiento de base para el cultivo del Changle bajo condiciones controladas.
4. Desarrollar un programa de difusión tecnológica que permita dar a conocer los diversos atributos del hongo comestible (*Ramaria* sp.), productos procesados y usos culinarios que permitan, valorizar el producto patrimonial y su preservación, fortalecer la identidad y la actividad económica del territorio.

## **1.- Materiales y Métodos**

### **1.1.- Materiales**

**1.1.1.- Área de estudio.** Las actividades de investigación se realizaron en 5 sectores de la comuna de Carahue, Región de La Araucanía.

**1.1.2.- Material Biológico.** E material biológico corresponde a las diversas muestras de changles colectadas en los diferentes sectores de la comuna de Carahue.

### **2.- Metodología**

#### **2.1.- Recolección y caracterización morfológica de muestras.**

La colecta de muestras de changle en los 5 sectores de la comuna de Carahue antes mencionados, se realizó durante la época de producción del changle que varía entre mediados de marzo y hasta mediados de mayo del año 2017.

Cada muestra colectada fue llevada al Laboratorio de Microbiología y Rizobiología de la Facultad de Cs. Agropecuarias y Forestales para su procesamiento, el cual consistió en pesar cada muestra y separar una parte para ser enviada a la planta piloto del Instituto de Agroindustria, otra parte para ser analizada en fresco y una tercera parte fue congelada a -20°C debidamente rotulada para procesos posteriores en los que pudieran ser requeridos.

#### **2.2.- Caracterización molecular de los carpóforos de changles colectados en los sectores de Carahue.**

De las 16 muestras de *Ramaria* sp. colectadas durante el periodo de cosecha, se realizó extracción de ADN a través del método CTAB modificado (Porebski, Bailey, & Baum, 1997), para lo cual se pesó 1 g de cada muestra y pulverizó con nitrógeno líquido para facilitar la interacción de las células con la solución de lisis que ayuda a liberar el material genético. Una vez triturada y lisadas las células, se separó el ADN de proteínas y lípidos utilizando solventes orgánicos (fenol: cloroformo: alcohol isoamílico) y se centrifugó para separar el ADN de otras impurezas. Luego el ADN fue precipitado con etanol absoluto y resuspendido en buffer TE 1X. Las muestras extraídas fueron usadas como templados para amplificar el gen ITS usando los partidores ITS1/ITS2 y el gen LSU-rRNA usando los partidores LSUF/LSUR. El perfil térmico aplicado fue de 30 ciclos utilizando

el kit comercial SapphireAmp (CloneTech), los amplificadores fueron purificados usando el kit comercial E.Z.N.A. y posteriormente secuenciadas en un secuenciador ABI3000 (Applied Biosystem). Finalmente, las secuencias obtenidas fueron analizadas usando las bases de datos GENBANK y MYCOBANK. Las distancias genéticas fueron analizadas usando el software CLUSTAL-Omega.

### **2.3.- Formulación de extractos de changle para evaluar contenido de polifenoles, actividad antioxidante y antimicrobiana.**

Para la formulación de los extractos, y de acuerdo a trabajos anteriores del grupo de investigación, debieran ser tanto puros como con diferentes solventes para una mejor extracción de las moléculas de interés.

Las muestras de changles fueron secadas con aire por convección a 65°C por 48 horas, de acuerdo a lo descrito por (Damiano et al., 2017). Posteriormente se pesaron 5 g de materia seca de cada muestra, se trituraron y maceraron utilizando como solventes Agua (Extracto Acuoso), Etanol absoluto (Extracto Etanólico), Etanol-Agua al 50% (Extracto Hidroalcohólico) y de metanol (Extracto Metanólico) e incubados por 24 h a 28°C y con agitación constante en agitador orbital a 170 rpm (Yang, 2010).

Los Extractos Acuoso (EA) fueron filtrados usando filtro de 0.22 µm y mantenidas en frío hasta su uso. Las muestras correspondientes a los Extractos Alcohólicos (EA) e hidroalcohólicos (EHa) fueron rota-evaporadas para separar la fase sólida y eliminar el solvente. Todos los extractos fueron pesados con respecto a su materia seca y fueron interpretados como gramos de materia seca por mililitro (g/mL) (Damiano et al., 2017; N.-Y. Yang, Tao, & Duan, 2010)

**2.3.1.- Determinación del contenido total de polifenoles de los extractos de changle.** El contenido total de polifenoles fue determinado a través del método de Folin-Ciocalteu, el cual se basa en la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo Folin-Ciocalteu a pH básico. Este compuesto al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul, el cual, dependiendo de su intensidad determinará el contenido total de polifenoles.

Para la cuantificación de polifenoles, las muestras fueron incubadas durante dos horas en una solución extractante de carbonato de sodio 20%, luego se le agregó Folin-Ciocalteu y se incubaron en oscuridad a temperatura ambiente por 1 hora. Luego, las muestras se midieron a través de

espectrofotometría a una absorbancia de 765 nm. Los datos obtenidos fueron comparados con una curva estándar de ácido Gálico (1000ppm) y representados como mg de Ácido Gálico equivalente por mL de extracto (mgGAE/mL)(Kim & Son, 2011; Medina-Remon et al. 2009; R. Yang et al., 2018).

**2.3.2.- Capacidad antioxidante (DPPH) de los extractos de changle.** Se evaluó el efecto antioxidante por el método del DPPH (Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995). Para esto las muestras fueron diluidas 9 veces con etanol 80%, posteriormente 250µL de muestra fue adicionada a DPPH e incubadas por 30 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, las muestras fueron medidas en lector multimodal a una longitud de onda de 517 nm. Las muestras fueron comparadas en una curva de calibración de TROLOX equivalente (20 – 300 µM) usando el protocolo de determinación antes descrito. Los datos fueron interpretados como µM de TROLOX equivalente por mL (µM TROLOX/mL).

**2.3.3.- Capacidad antimicrobiana de los extractos de changle.** Los extractos obtenidos anteriormente, fueron evaluados sobre *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) y *Listeria monocytogenes* (Aislado clínico) para evaluar su capacidad antimicrobiana mediante el método de Difusión en Agar. Para esto, se realizaron siembras en tres direcciones en placas de Agar Muller-Hinton utilizando los cultivos bacterianos a una Densidad Óptica (D.O.) de  $1 \times 10^8$  UFC/mL. Posteriormente 5 ul de los extractos fueron aplicados sobre la superficie de discos distribuidos en el cultivo. Las placas fueron incubadas por 24 horas a 37°C.

Los halos de inhibición obtenidos (en mm) fueron comparados con un control de referencia correspondiente a Gentamicina (0.5µg/mL). Los datos fueron normalizados con respecto al control de referencia equivalente al 100% de inhibición.

**2.4.- Obtención de micelio a partir de carpóforos de changle.** Para la obtención del micelio, se probaron diversas metodologías, en primer lugar, la siembra de material fresco, para lo cual se debió en primer lugar lavar las muestras de changle, con agua destilada estéril con el propósito de eliminar tierra, huevos, ramillas y restos vegetales en general, seguido de inmersión en alcohol al 70% por 3 minutos, trabajo realizado en campana de flujo laminar donde se dejaron secar. Una vez evaporado el alcohol, los carpóforos fueron agitados sobre placas con medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (APD) con el propósito que soltaran la mayor cantidad de basidiosporas. Junto con esto, se realizaron siembras de pequeños trozos ( $\pm 1$  cm) en placas con medio de cultivo APD. Todas las

placas fueron incubadas a 28°C por aproximadamente por 5 días, o hasta observar el desarrollo de micelio. Además, este mismo procedimiento de siembra se realizó con carpóforos secos, los cuales se obtuvieron utilizando la metodología que se realiza para el secado de material vegetal. Para esto, se dispuso los carpóforos de changle en estufa de secado a 65°C, realizando observación diaria hasta que se verificó que efectivamente los carpóforos estaban secos. Con este material se realizaron nuevas siembras en medio de cultivo APD suplementado con Gentamicina 0.5µg/mL e incubadas por 5 días a 28°C.

### **2.5.- Condiciones para el desarrollo de micelio de changle.**

Una vez obtenido el micelio de changle en medio de cultivo APD y con el propósito de conocer los requerimientos para su desarrollo, se realizaron repiques en medio de cultivo Rosa de Bengala, en APD acidificado, en APD suplementado con diferentes azúcares como Glucosa, Fructosa, Sacarosa y también en Medio de cultivo Harina tipo T. Todas las placas fueron incubadas por 5 días en oscuridad y a 28°C.

### **2.6.- Caracterización del micelio de changle obtenido *in vitro*.**

Para realizar una correspondencia entre el micelio de changle fresco con el micelio obtenido *in vitro*, fueron caracterizados utilizando un marcaje fluorescente usando la sonda azul-fluorescente HOECHST 33248. Para esto, una pequeña porción del micelio obtenido en placa fue, bajo estrictas condiciones de esterilidad, inoculado en 200 uL de solución fosfato salina (PBS 1X- pH 7.2) suplementado con 10 ng/mL de HOECHST. Las muestras fueron incubadas a 37°C por 15 minutos y posteriormente fueron centrifugadas a 300 g por 10 minutos para eliminar el exceso de sonda. Luego, las muestras fueron resuspendidas en 20 uL de PBS1X, montadas en portaobjeto limpio y observadas en microscopio de epifluorescencia usando el filtro de excitación 300 nm y emisión de 410 nm. Las muestras positivas que presentaban la morfología de *Ramaria* sp. fueron procesadas según el protocolo de extracción de ADN, PCR y secuenciación descrito en el punto 2.1.

### **2.7.- Preparación de inóculo de changle.**

Para estimular el crecimiento del micelio se evaluó la utilización de diferentes matrices de propagación, entre ellas arroz blanco cocido, arroz integral cocido, arroz blanco crudo (Remojado en agua destilada estéril por 24 horas) y arroz integral crudo (Remojado en agua destilada estéril por 24 horas). Posteriormente, 250 g de cada tipo de arroz fue llevado a bolsas de polipropileno y esterilizados a 121°C por 15 minutos, en los que una vez fríos se inoculó micelio puro dispensado en 200 ml de agua destilada estéril. Las bolsas fueron cerradas e incubadas a 28°C en oscuridad

hasta que el micelio cubrió totalmente los granos (Gaitan-Hernandez, 2009). Una vez obtenida la semilla, se corroboró la estructura del hongo a través de marcaje fluorescente usando la sonda azul-fluorescente HOESCHT 33248, según se indica en el protocolo descrito en el punto 2.5.

## **2.8.- Propagación y fructificación en sustrato del micelio de changle.**

Luego de obtener el semillado del micelio en granos de arroz y para lograr la producción del cuerpo fructífero del changle, se probaron distintas mezclas de sustratos, con el fin de evaluar la velocidad de desarrollo del micelio y crecimiento del cuerpo fructífero del hongo y así seleccionar el sustrato más adecuado para su posterior propagación *Ex situ*. Los sustratos evaluados fueron Fibra de coco (S1), BIOFERT de la empresa Rosario S.A (S2), trigo (S3) y aserrín de roble (S4). Estos sustratos fueron seleccionados considerando antecedentes bibliográficos de técnicas de propagación de hongos comestibles como *Pleurotus* sp. (Angeles De Ita et al., 2018; Bermúdez, García, Gross, & Serrano, 2001; Gaitan-Hernandez, 2009).

Para el ensayo se consideraron 10 repeticiones de cada sustrato, rotulados como S1; S2; S3 y S4 respectivamente. Luego, 500 g de cada uno de los sustratos fueron dispensados en bolsas de polipropileno y estas sobre bandejas las que fueron esterilizadas dos veces por 15 minutos a 121°C. Finalmente, los sustratos antes de ser utilizados, fueron humedecidos con agua destilada estéril por 24 horas y esterilizados nuevamente, con el fin de prevenir el crecimiento de microorganismos resistentes que impidan el crecimiento del hongo, según los protocolos descrito por (Gaitan-Hernandez, 2009).

Una vez esterilizado el sustrato, se inoculó con 250 g de arroz colonizado con el hongo, lo que corresponde aproximadamente al 33.3% del sustrato total. El sustrato inoculado se incubó por 15 días a 28°C con 50% de humedad relativa en oscuridad. Una vez que se observó la propagación del micelio, se provocó la inducción de la fructificación del hongo, realizando un shock térmico, bajando la temperatura entre 7 y 10°C por 24 horas en oscuridad.

Finalmente, para la fructificación del hongo, se realizaron dos ensayos, con plantas trampa (Grupo A) y sin plantas trampas (Grupo B). Para el ensayo con plantas trampas, se utilizaron plantas de hualle (*Nothofagus obliqua*) con el fin de evaluar la micorrización del hongo en la planta. Mientras que para el ensayo sin plantas trampas, se utilizaron las siguientes condiciones: luego del shock térmico por 24 horas para inducir la fructificación, se subió la temperatura a 25°C y la humedad al 80%, con un fotoperiodo de 10 horas de luz y 14 de oscuridad, durante 1 semana o hasta que

aparecieran los primeros primordios, luego de esto, el fotoperiodo fue modificado a 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

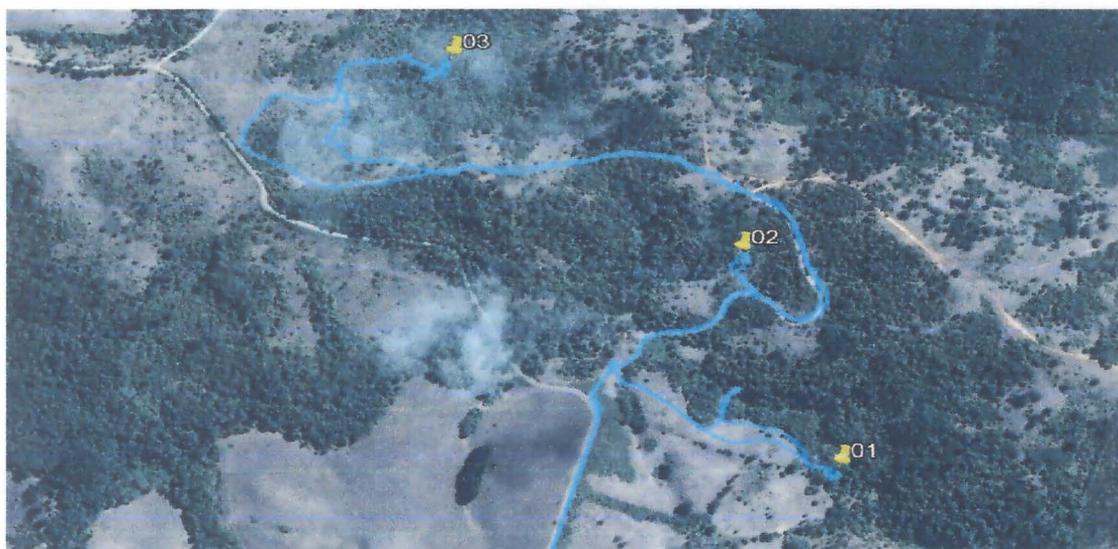
### 3.- Resultados

#### 3.1.- Recolección y caracterización morfológica de muestras.

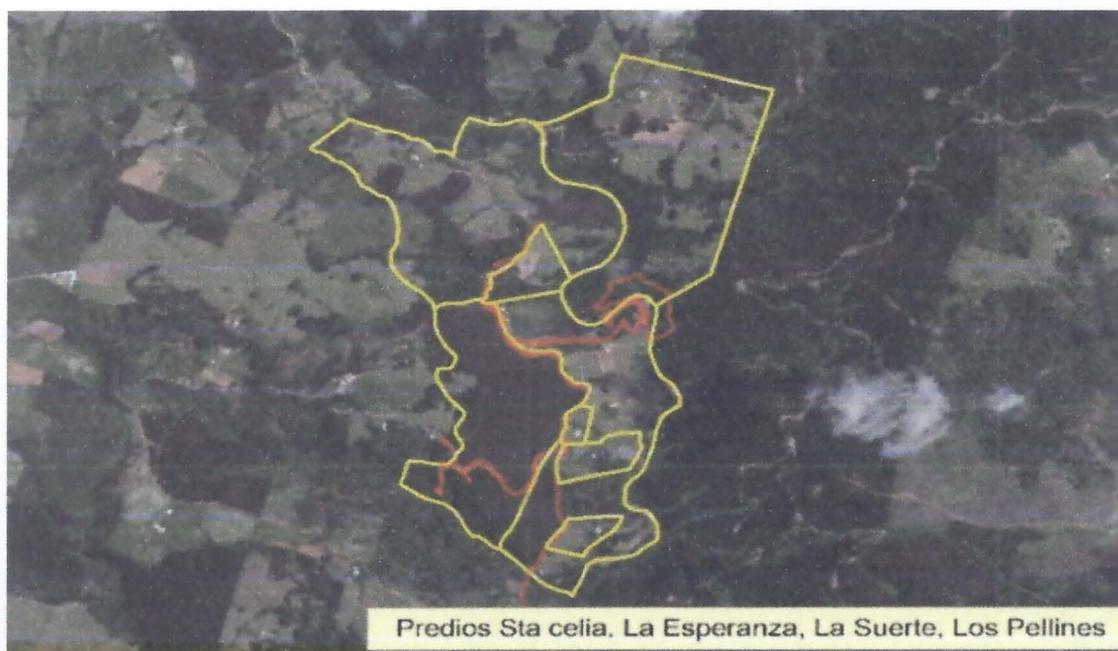
Durante el periodo de cosecha (finales de marzo - mediados de mayo), se realizaron diferentes salidas a terreno con el propósito de realizar la colecta de muestras de changles, de acuerdo a lo propuesto en la metodología. Los predios visitados, todos localizados en la comuna de Carahue (Figuras 1, 2, 3 y 4) fueron: Los Placeres, sector Loncollano propiedad de Sra. Jovita Breve Carrillo, Chanco y Rucadiuca, sector Butalón, propiedad del Sr. Waldo Leal, Santa Celia, sector Los Pellines, propiedad de Sra. Liliana Suazo (Cuadro 1).



**Figura 1.** Mapa localización muestreo N°1, sector Los Placeres, Carahue. Punto 1: 636233.00 m E; 5724216.00 m, Punto 2: 636467.00 m E; 5724021.00 m S.



**Figura 2.** Mapa localización muestreo N°2, sector Las Minas, camino a Chacao. Punto 1: 658697.00 m E; 5718515.00 m S; Punto 2: 658578.00 m E; 5718901.00 m S; Punto 3: 658192.00 m E; 5719268.00 m S.



**Figura 3.** Mapa localización muestreo N° 3. Punto 1: 658697.00 m E; 5718515.00 m S. Punto 2: 658578.00 m E; 5718901.00 m S. Punto 3: 658192.00 m E; 5719268.00 m S.



**Figura 4.** Mapa localización muestreo N°3. Punto 1: 658697.00 m E; 5718515.00 mS. Punto 2: 658578.00 mE; 5718901.00 mS; Punto 3: 658192.00 m E; 5719268.00 mS.

**Cuadro 1.** Georeferenciación de los sectores seleccionados para la ejecución del proyecto.

<b>Nombre Proyecto</b>	<b>Unidad</b>	<b>Dirección/Ubicación</b>	<b>Coordenadas</b>
Rescate y protección de <i>Ramaria flava</i> (changle) para fortalecer la producción, comercialización, identidad y usos gastronómicos en la Cordillera de la Costa de la comuna de Carahue.	Técnico de Investigación 1 Unidad central de Investigación	CEBEM, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales	706988m E 5708286 m S
	Unidad de Administración 1 Unidad central financiera y administrativa	Instituto de Agroindustria.	707286.34m E 5708622.52m S
	Socio Estratégico 1	Ilustre Municipalidad de Carahue. (Figura 1)	659610 m E 5713594 m S
	Unidad Productiva 1 Sra. Jovita Breve Carrillo	Predio Los Placeres Sector Loncollamo  (Figura 2)	636233m E 5724216m S
	Unidad Productiva 2 Sr. Waldo Leal	Predio Chanco y Rucadiuca Sector Butalón	658697m E 5718515m S
	Unidad Productiva 3 Sra. Liliana Suazo	Sector Santa Celia	658781.77 m E 5722590.48 m S

Desde los 4 sectores seleccionados fueron recolectadas 16 muestras de changles las que presentaban diferencias ya sea de color, textura o por el ambiente en el cual proliferaban. Estas muestras fueron rotuladas del 1 al 16 y caracterizadas morfológicamente según parámetros establecidos por Exeter R., *et al* 2006 (Exeter, Norvell, & Cazares, 2006) y por microscopía electrónica de barrido para determinar estructura y tamaño aparente de las basidiosporas que recubren el cuerpo fructífero (Cuadro 2 y 2.1).

La cosecha se realizó entre marzo y mayo del 2017, época de producción del changle, la que puede variar por causa de las condiciones climáticas especialmente por la presencia o ausencia de lluvias. En este caso el verano del 2017 mantuvo buenas condiciones climáticas (Figura 5), lo cual hizo que la producción de changles se iniciara bastante avanzado el mes de abril, lo cual se tradujo en una temporada de cosecha bastante corta.

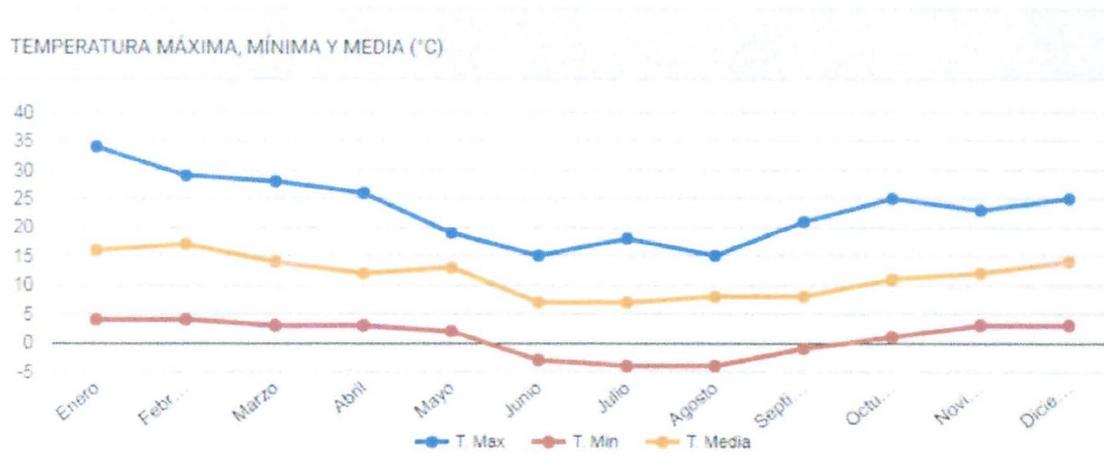
Importante señalar que cada muestreo realizado por los recolectores de changle fue acompañado por profesionales que además de capacitarlos en la teoría de la cosecha de hongos en una jornada de trabajo, también se realizó en la práctica (Figuras 6).

**Cuadro 2.** Descripción morfológica de las muestras de changles colectadas en los sectores de la comuna de Carahue, región de La Araucanía, Chile.

MUESTRA	RÓTULO	SECTOR	COLOR DEL BASIDIOCARPO	RAMIFICACIONES	TEXTURA	TAMAÑO DEL BASIDIOCARPO (cm)
	C1	Los placeres	AMARILLO	POCO RAMIFICADO (4 RAMIFICACIONES APROX)	CARNOSO	20 cm
	C2	Los placeres	BURDEO	ALTAMENTE RAMIFICADO (< 4 RAMIFICACIONES)	CARNOSO	10 cm
	C3	Los Placeres	AMARILLO	POCO RAMIFICADO (4 RAMIFICACIONES APROX)	CARNOSO	25 cm
	C4	Los placeres		POCO RAMIFICADO (4 RAMIFICACIONES APROX)	CARNOSO	8 cm
	C5	Los placeres	AMARILLO	POCO RAMIFICADO (4 RAMIFICACIONES APROX)	CARNOSO	15 cm
	C6	Predio Chanco	CAFÉ	ALTAMENTE RAMIFICADO (< 4 RAMIFICACIONES)	SECO	25 cm
	C7	Predio Chanco	NARANJO	POCO RAMIFICADO (4 RAMIFICACIONES APROX)	CARNOSO	10 cm
	C8	Predio Chanco	ROSADO	ALTAMENTE RAMIFICADO (< 4 RAMIFICACIONES)	CARNOSO	10 cm

**Cuadro 2.1.** Descripción morfológica de las muestras de changles colectadas en los sectores de la comuna de Carahue, región de La Araucanía, Chile.

MUESTRA	RÓTULO	SECTOR	COLOR DEL BASIDIOCARPO	RAMIFICACIONES	TEXTURA	TAMAÑO DEL BASIDIOCARPO (cm)
	C9	Rucadúca	AMARILLO	POCO RAMIFICADO (4 RAMIFICACIONES APROX)	CARNOSO	15 cm
	C10	Rucadúca		ALTAMENTE RAMIFICADO (< 4 RAMIFICACIONES)	SECO	20 cm
	C11	Rucadúca	CAFÉ	ALTAMENTE RAMIFICADO (< 4 RAMIFICACIONES)	SECO	20 cm
	C13	Rucadúca	BURDEO	ALTAMENTE RAMIFICADO (< 4 RAMIFICACIONES)	CARNOSO	20 cm
	C14	Rucadúca	CAFE	ALTAMENTE RAMIFICADO (< 4 RAMIFICACIONES)	SECO	20 cm
	C15	Santa celia	AMARILLO	ALTAMENTE RAMIFICADO (< 4 RAMIFICACIONES)	CARNOSO	15 cm
	C16	Santa celia	BURDEO	ALTAMENTE RAMIFICADO (< 4 RAMIFICACIONES)	CARNOSO	22 cm
	C17	Los pellines	AMARILLO	ALTAMENTE RAMIFICADO (< 4 RAMIFICACIONES)	CARNOSO	20 cm



**Figura 5.** Datos meteorológicos históricos 2017.  
(Fuente: [www.meteored.cl/tiempo-en temuco....](http://www.meteored.cl/tiempo-en_temuco...))

Las condiciones climáticas y vegetacionales permiten el desarrollo de una gran variedad de especies (Cuadro 3). En los sectores donde se realizaron los muestreos las especies que se repiten en todos ellos son *Nothofagus obliqua*, *Chusquea quila* y *Ugni molinae*. Sin embargo la distribución o en tipo de vegetación presente pareciera que no es un factor importante tanto en la presencia de change como en sus características morfológicas, esto requiere ser evaluada en forma independiente considerando todas las condiciones ambientales como lo señala Valenzuela (2003).

**Cuadro 3.** Características vegetacional de los sectores muestreados en los sectores en estudio de la Comuna de Carahue.

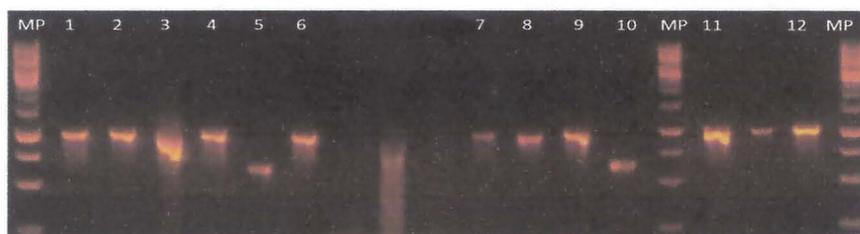
Nombre Proyecto	Unidad	Características del bosque	No de muestras
Rescate y protección de <i>Ramaria flava</i> (changle) para fortalecer la producción, comercialización, identidad y usos gastronómicos en la Cordillera de la Costa de la comuna de Carahue.	Unidad Productiva 1, Predio Los Placeres.  Sra. Jovita Breve Carrillo	Corresponde a un renoval del Tipo Forestal Roble-Raulí-Coihue, entre 12 a 20 m de altura, con especies dominante como Roble ( <i>Nothofagus obliqua</i> ), Arrayán ( <i>Luma apiculata</i> ) y Laurel ( <i>Laurelia sempervirens</i> ). Parte del sendero corresponde a un sector de matorral con abundante presencia de Maqui ( <i>Aristotelia chilensis</i> ), <i>Chusquea quila</i> , <i>Nothofagus obliqua</i> , <i>Laurelia sempervirens</i> , <i>Eucryphia cordifolia</i> y <i>Ugni molinae</i> . Las especies del sotobosque, entre helechos, arbustivas y herbáceas, junto con moluscos y otros hongos aparte de <i>Ramaria</i> sp., indican que esta formación vegetal corresponde a un pequeño relicto de los bosques de la costa.	5 muestras  4 Amarillos 1 Burdeo  Informado en Anexo 1
	Unidad Productiva 2, Predio Chanco y Predio Rucadiuca  Sr. Waldo Leal	Corresponde a un bosque un poco más alterado, con presencia de algunas especies exóticas asilvestradas como <i>Pinus radiata</i> . Las especies nativas arboles corresponden a <i>Nothofagus obliqua</i> , <i>Nothofagus dombeyi</i> y en el sotobosque, <i>Chusquea quila</i> , y en las zonas ecotonales, <i>Rosa eglanteria</i> y <i>Ugni molinae</i> .	En Chanco 3 Muestras 1 Café, 1 Naranja y 1 Rosado.  En Rucadiuca 6 muestras 1 Amarilla, 4 cafés y 1 Burdeo.  Informado en Anexo 1
	Unidad Productiva 3, Santa Celia  Sra. Liliana Suazo	Renoval del Tipo Forestal Roble-Raulí-Coihue con especies dominantes como Roble, Laurel y Boldo.	3 Muestras 1 Amarilla y 1 Burdeo.  Informado en Anexo 1



**Figura 6.** Algunos de los integrantes de la asociación de recolectores de Changle, realizando la colecta de hongos en canastos para preservar la especie.

### **3.2.- Caracterización molecular de los carpóforos de changle colectados en los sectores de Carahue.**

En una primera fase se realizaron las extracciones de ADN correspondientes a cada muestra recolectada. De los aislados, se obtuvieron muestras de ADN de diferente calidad debido a la microbiota endófito en este tipo de basidiocarpo, a pesar de la desinfección realizada antes del procedimiento de siembra y extracción de ADN, sin embargo, las muestras mostraron una calidad lo suficientemente confiable como para realizar las amplificaciones del gen interespaciador ITS, como se muestra en la Figura 7. Para confirmar algunos de los aislados (C4, C5 y C6) se amplificaron fragmentos usando los partidores LSU que amplifican una sección adyacente al gen interespaciador ITS, siendo este gen hiperconservado. Los resultados muestran que los aislados y amplificados para el gen LSU corresponden a *Trichoderma minutisporum*, *Ramaria conjunctipes* (94% identidad) y *Ramaria gelatiniaurantia* (93% de identidad) respectivamente. Esto indica que las muestras C5 y C6 no corresponden oficialmente a las especies determinadas por la base de datos, encontrando diferencias sustanciales como para indicar que las muestras C5 y C6 corresponden a *Ramaria* indeterminada o bien, especies que no han sido descritas anteriormente.



**Figura 7.** Electroforesis, PCR ITS1 e ITS4. Changles de distintas localidades. Predio Chanco, Predio Los Pellines y Rucadiuca.



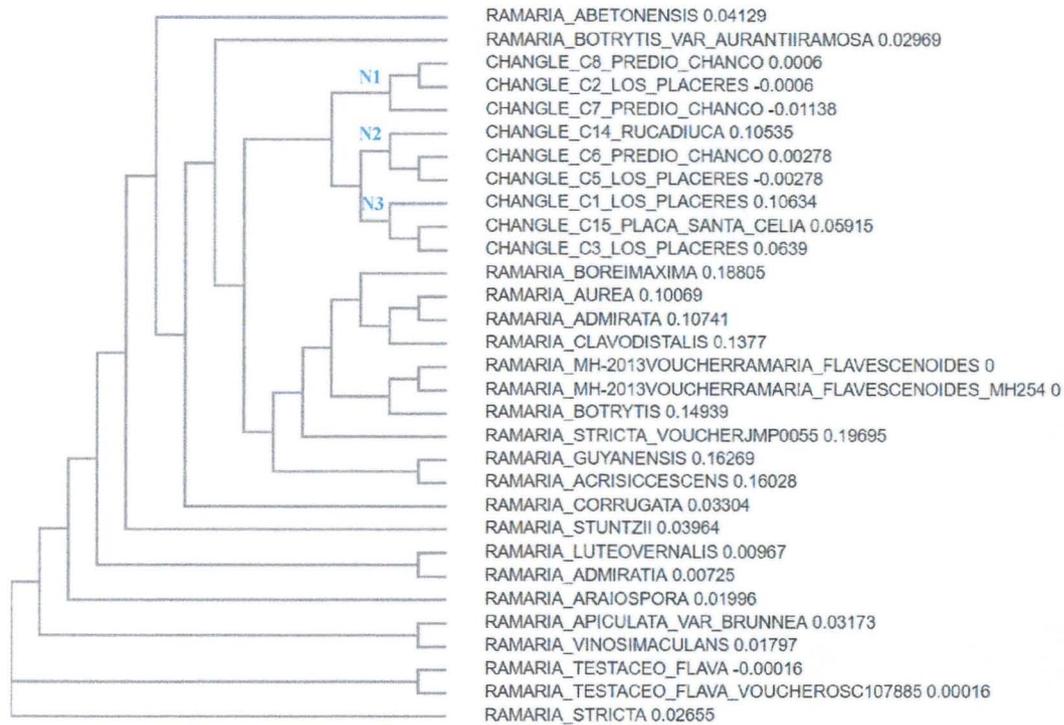
**Figure 8.** Electroforesis, PCR ITS1 e ITS4, Changles de distintas localidades. Predio los placeres. 14 y 15) Predio Santa Celia.



**Figura 9.** Electroforesis PCR LSU, Muestras changles C4 (SL1.3); C5 (T3); C6 (SL2.3), de los predrios Los placeres (C4; C5) y predio Chanco.

Posterior a la amplificación de los fragmentos, estos fueron secuenciados y comparados en la plataforma BLAST. Luego, de las secuencias obtenidas los datos fueron alineados en el software Clustal Omega para observar las similitudes y distancia genética entre las muestras analizadas de los distintos sectores de recolección. Los resultados obtenidos sugieren que las muestras

evaluadas convergen en un gran nodo emparentado de manera independiente del sector de recolección (Figura 10).



**Figura 10.** Análisis filogenético de muestras de *Ramaria* sp. en base a amplificadas y secuenciadas del gen interespaciador ITS.

Las muestras del NODO 1, C8 y C2 muestran una gran similitud al igual que la muestra C7, sin embargo, un análisis de depurificación de secuencia demostró que gran parte de ambas secuencias se encontraría contaminada con amplificadas de *Hypocrea pilulifera* (C8) y *Trichoderma piluliferum* (C2) según lo observado en la base de datos GENBANK, (Figura 11), sin embargo, esto ya ha sido observado en estudios anteriores por ser un hongo que produce una abundante cantidad de conidias por lo que son llamados “mohos verdes”, muchos de estos son muy agresivos y son altamente contaminantes y dañinos para el cultivo de hongos comestibles (Romero-Arenas, Huerta Lara, Damián Huato, Domínguez Hernández, & Arellano Victoria, 2009), por lo que no es raro que se encuentre como microbiota normal en este tipo de basidiocarpos aprovechando la actividad ecológica que las setas realizan en el ambiente, promoviendo el reciclaje de elementos esenciales para el crecimiento de las plantas, mediante la liberación de moléculas hacia el suelo que serán absorbidas por los hongos, tarea que le facilita a los hongos como *Trichoderma* sp. el proceso de alimentación (Téllez Téllez & Talavera Ortiz, 2016).

Llama la atención que de los alineamientos obtenidos en las bases de datos las muestras C5, C6, C14 (Figura 12) y C15 (Figura 13) muestran una alta similitud de secuencias con *Ramarias* sp. alojadas en esta base de datos, sin embargo, corresponden a géneros reportados, pero de especies indeterminadas (identidad inferior a 97%). Por otro lado, C3 y C1 mostraron una baja similitud de secuencias con la base de datos, demostrando ser géneros no reportados anteriormente, lo cual es un importante aporte de este trabajo de investigación, que debe ser registrado. En este sentido, las dos muestras recolectadas en el sector Los Placeres, antes mencionadas demuestran ser, según este análisis, **únicas en su tipo (Figura 13)**. Esto queda demostrado ya que los 3 nodos evaluados difieren en el emparentamiento genético en base al gen ITS versus la gran familia de *Ramaria* sp. (Figura 10).

NODO 1						
<b>Muestra depurada C2</b>						
Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<i>Hyphocrea pilulifera</i> strain SGLM38 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcrib	907	907	100%	0.0	99%	EU719685.1
Uncultured Ascomycota clone 1091 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcrib	907	907	100%	0.0	99%	HM239794.1
<b>Muestra depurada C8</b>						
Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<i>Trichoderma psuiferum</i> isolate CTCCSJ-F-KZ40801 internal transcribed spacer 1 partial sequenc	902	902	100%	0.0	99%	KY750473.1
<i>Hyphocrea pilulifera</i> strain SGLM38 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcrib	902	902	100%	0.0	99%	EU719685.1
Uncultured Ascomycota clone 1091 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcrib	902	902	100%	0.0	99%	HM239794.1
<b>Muestra depurada C7</b>						
Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<i>Ramaria</i> sp. voucher MES-1706 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosoma	634	634	100%	5e-178	100%	KY962526.1
<i>Ramaria</i> sp. AGK-2015c voucher AGK203 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal	433	433	100%	2e-117	90%	KT224566.1
<i>Ramaria abietina</i> isolate u066 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal r	412	412	100%	3e-111	89%	KY510818.1

**Figura 11.** Análisis de alineamiento en base de datos GENBANK para los amplificadores del gen interespaciador ITS. E-Value; asertividad de alineamiento. "Ident"; corresponde a la identidad del total de la secuencia evaluada con respecto a la secuencia en la base de datos.

NODO 2							
Muestra C6							
Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession	
Ramaria sp. voucher MES-1706 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosoma	634	634	100%	5e-178	100%	KY462528.1	
Ramaria sp. AGK-2015c voucher AGK063 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal	433	433	100%	2e-117	90%	KT224596.1	
Ramaria abietina isolate u096 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal F	412	412	100%	3e-111	89%	KY510818.1	
Muestra C5							
Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession	
Ramaria sp. voucher MES-1706 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosoma	643	643	100%	0.0	100%	KY462528.1	
Ramaria sp. AGK-2015c voucher AGK063 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal	449	449	100%	2e-122	90%	KT224596.1	
Ramaria abietina isolate u096 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal F	448	448	99%	8e-122	90%	KY510818.1	
Muestra C14							
Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession	
Ramaria sp. TENN055029 strain TF88355 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	667	667	100%	0.0	100%	KY352947.1	
Ramaria botrytis small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer	462	462	99%	3e-126	90%	KY626151.1	
Ramaria botrytis small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer	462	462	99%	3e-126	90%	KY626149.1	

**Figura 12.** Análisis de alineamiento en base de datos GENBANK para los amplificadores del gen interespaciador ITS. E-Value; asertividad de alineamiento. "Ident"; corresponde a la identidad del total de la secuencia evaluada con respecto a la secuencia en la base de datos.

NODO 3							
Muestra C1							
Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession	
Ramaria sp. voucher MES-558 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RN	327	327	100%	1e-85	82%	KY462683.1	
Muestra C3							
Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession	
Ramaria sp. voucher MES-558 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal F	682	682	100%	0.0	94%	KY462683.1	
Ramaria sp. voucher CT-4265 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal R	545	545	100%	4e-151	89%	KY462308.1	
Ramaria sp. voucher CT-4312 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal R	518	518	100%	8e-143	87%	KY462328.1	
Muestra C15							
Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession	
Ramaria sp. voucher CT-4265 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal R	913	913	99%	0.0	99%	KY462308.1	
Ramaria sp. voucher CT-4312 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal R	763	763	99%	0.0	94%	KY462328.1	
Ramaria sp. voucher MES-558 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal R	737	737	99%	0.0	93%	KY462683.1	

**Figura 13.** Análisis de alineamiento en base de datos GENBANK para los amplificadores del gen interespaciador ITS. E-Value; asertividad de alineamiento. "Ident"; corresponde a la identidad del total de la secuencia evaluada con respecto a la secuencia en la base de datos.

### **3.3.- Determinación del contenido total de polifenoles y de la actividad antioxidante.**

El contenido total de polifenoles determinado a través del método de Folin-Ciocalteu, muestra que existen diferencias significativas en el contenido de polifenoles y antioxidantes (Cuadro 4) con valores de algunas muestras que superan incluso a las frutas con mayor contenido de polifenoles y actividad antioxidante como el arándano.

De los datos obtenidos, se demostró que la mejor extracción de polifenoles fue realizada con el solvente etanol al 50%, etanol al 100% y metanol (analítico 100%) donde los mejores exponentes corresponden a las muestras C14 (Eth50%), C11 (Eth100%), C10 (Metanol) y C6 (Metanol), conteniendo 3902.8, 5548.8, 6302.8 y 6841.72mgGAE/mL respectivamente.

Por otro lado, el extracto acuoso C1 fue el único extracto que demostró un contenido superior de polifenoles (1950.8 mgGAE/mL). A nuestro entendimiento, el contenido de polifenoles se correlaciona con el contenido de pigmentos, especialmente rojizos, observados en algunas muestras, especialmente de frutas. Sin embargo, en el caso de las muestras de *Ramaria* sp. evaluadas en este estudio, no se relaciona la coloración con el contenido de polifenoles totales.

Varios estudios señalan el contenido de polifenoles de hongos del género *Ramaria* sp., donde los principales componentes de este tipo de moléculas corresponde a ácido cafeico, ácido cinámico y ácido gálico, mientras que en menores concentraciones se encuentran B-carotenos, licopeno y ácido ascórbico (Khatua, Mitra, Chandra, & Acharya, 2015).

**Cuadro 4.** Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante (DPPH).

Código	Extracción/ solvente	Predío	Polifenoles totales [mgGAE/L]	DPPH [mgTROLOX/L]	Código	Extracción/ solvente	Predío	Polifenoles totales [mgGAE/L]	DPPH [mgTROLOX/L]
C1	Eth 100%	Los placeres	51,4	62,05	C10	Eth 50%	Rucadiuca	33,4	
C1	Eth 50%	Los placeres	0	42,56	C10	Acuoso	Rucadiuca	214,4	
C1	Acuoso	Los placeres	1.950,8		C11	Eth 100%	Rucadiuca	5548,8	
C2	Eth 100%	Los placeres	6,4	52,05	C11	Eth 50%	Rucadiuca	1930,8	87,18
C2	Eth 50%	Los placeres	38,4	38,97	C11	Acuoso	Rucadiuca	528,4	67,69
C2	Acuoso	Los placeres	128,4	138,97	C13	Eth 100%	Santa Celia	3054,8	183,08
C3	Eth 100%	Los placeres	126,4	137,69	C13	Eth 50%	Santa Celia	632,4	31,54
C3	Eth 50%	Los placeres	40,4	36,41	C13	Acuoso	Santa Celia	635,4	60
C3	Acuoso	Los placeres	303,4	55,38	C14	Eth 100%	Santa Celia	2454,8	220,26
C4	Eth 100%	Los placeres	78,4	78,21	C14	Eth 50%	Santa Celia	3902,8	48,21
C4	Eth 50%	Los placeres	2,4	7,18	C14	Acuoso	Santa Celia	335,4	44,62
C4	Acuoso	Los placeres	349,4		C17	Eth 100%	Los pellines	264,4	160,51
C5	Eth 100%	Chanco	284,4	71,79	C17	Eth 50%	Los pellines	2932,8	48,72
C5	Eth 50%	Chanco	116,4		C17	Acuoso	Los pellines	610,4	53,85
C5	Acuoso	Chanco	238,4	75,38	C1	Metanol	Los placeres	164,4	84,27
C6	Eth 100%	Chanco	272,4	94,36	C2	Metanol	Los placeres	490,4	105,3
C6	Eth 50%	Chanco	279,4	82,56	C3	Metanol	Los placeres	63,4	510
C6	Acuoso	Chanco	267,4	4,36	C4	Metanol	Los placeres	3170,8	143,25
C7	Eth 100%	Chanco	362,4	59,23	C5	Metanol	Chanco	689,4	196,75
C7	Eth 50%	Chanco	34,4	23,08	C6	Metanol	Chanco	6841,72	612,82
C7	Acuoso	Chanco	378,4	51,54	C7	Metanol	Chanco	696,4	158,46
C8	Eth 100%	Rucadiuca	423,4	228,46	C8	Metanol	Rucadiuca	487,4	96,41
C8	Eth 50%	Rucadiuca	136,4	44,1	C9	Metanol	Rucadiuca	699,4	341,79
C8	Acuoso	Rucadiuca	470,4	20,26	C10	Metanol	Rucadiuca	6302,8	240,51
C9	Eth 100%	Rucadiuca	580,4	307,44	C11	Metanol	Rucadiuca	682,4	536,15
C9	Eth 50%	Rucadiuca	71,4	40	C13	Metanol	Santa Celia	538,2	566,92
C9	Acuoso	Rucadiuca	131,4	169,23	C17	Metanol	Los pellines	655,9	561,03
C10	Eth 100%	Rucadiuca	74,4						

### 3.4.- Capacidad antioxidante (DPPH) de los extractos de changle.

Con respecto a la capacidad antioxidante, se observó que la mayor actividad fue dada en muestras extraídas en metanol, lo que se observa representado principalmente por las muestras C3 (510 mgTROLOX/L), C11 (536.15 mgTROLOX/L), C17 (561.03 mgTROLOX/L), C13 (566.92 mgTROLOX/L) y C6 (612 mgTROLOX/L), donde esta última demostró la mayor capacidad

antioxidante en las muestras evaluadas al igual que en el contenido de polifenoles. En este sentido, variados estudios señalan el efecto antioxidante de hongos comestibles, donde principalmente *Ramaria* sp. destaca en su capacidad reductora de radicales libres en una manera dosis-dependiente. Al igual que en nuestros estudios, la capacidad reductora es similar a lo reportado en literatura para *Ramaria formosa* (>280 mgTROLOX/L) (Khatua et al., 2015) y *Ramaria botrytis* (Barros, Venturini, Baptista, Estevinho, & Ferreira, 2008) donde el contenido de polifenoles totales es menor a 20.32 mg/g y la EC50 (concentración efectiva al 50%) capacidad antioxidante es menor a 0.66 mgTROLOX/L. Sin embargo, algunos de nuestros extractos demuestran un mejor comportamiento dependiendo de la especie.

Los alimentos funcionales tienen actualmente una gran importancia por la diversidad de sus componentes que sugieren un beneficio para la salud humana. Es reconocido, que los hongos del género *Ramaria* sp. poseen importantes cualidades para la salud humana, como antioxidantes donde sus principales componentes son: flavonoides (Toledo, Barroetavena, Fernandes, Barros, & Ferreira, 2016), polisacáridos (Li, 2017), antígenotóxicos (Aprotosoai et al., 2017), proteínas antitumorales (Zhou et al., 2017), anticancerígenos y antimicrobianos (Sadi et al., 2016).

Sin embargo, aún se desconoce si estos principales componentes pueden ser transportados a nuestro organismo.

Específicamente, variados estudios indican que el contenido máximo de polifenoles que circulan en sangre posterior a dos horas de ingerido corresponden a menos de 1 $\mu$ M, indicando entonces que independiente del gran o menor contenido de polifenoles en *Ramaria* sp., lo importante es cuán efectivo es el transporte del polifenol hacia el torrente sanguíneo para producir un efecto biológico, por ejemplo, berries nativos como la Murtilla, son clásicamente descritos como ricos en antioxidantes, sin embargo, para generar un efecto real como protector ante el estrés oxidativo son necesarios 1.53  $\mu$ gGAE/mL (ED50) en células endoteliales y 1.69  $\mu$ gGAE/mL (ED50) para inducir un efecto vasodilatador, a pesar que el contenido total de polifenoles corresponde a 2.696  $\mu$ gGAE/mL, considerado un alimento con gran contenido de polifenoles (Jofré et al., 2016).

Cabe destacar, que los principales antioxidantes y componentes fenólicos que componen las muestras de changles analizados en este estudio, son similares a los de berries y otras frutas clásicamente estudiadas como ricas fuentes de antioxidantes, por lo que estos resultados, posicionan a los changles colectados en alguno de los sectores de la comuna de Carahue como una buena fuente de polifenoles con una actividad antioxidante comprobada, esto podría darle a los

changles cosechados en estos sectores, una característica propia ya sea a los hongos frescos como a los procesados, lo que debería verse reflejado en la comercialización.

### **3.5.- Actividad antimicrobiana de los changles colectados.**

La capacidad antimicrobiana fue evaluada *in vitro* usando microorganismos de interés clínico como *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* luego de 24 horas de crecimiento bacteriano.

Los resultados sugieren que de las tres cepas evaluadas el mejor efecto antimicrobiano fue frente a la cepa *Listeria monocytogenes* (Figura 14) donde de los 14 extractos evaluados 9 generaron susceptibilidad en el crecimiento del microorganismo, siendo similar el efecto a 0.5 µg/mL de Gentamicina (patrón estándar de la prueba). Los extractos de la muestra C6 y C14 demostraron generar mayor capacidad antimicrobiana que Gentamicina inhibiendo el crecimiento del microorganismo sin generar colonias con algún grado de resistencia, mientras que el extracto C1 mostró un efecto menor (77% de inhibición) con respecto al control. Por otro lado, las muestras C8, C9, C10, C11 y C13 no presentaron patrones que indiquen algún grado de inhibición o afectación del crecimiento del microorganismo. Este efecto nulo de los extractos antes mencionados, fue observado en *Escherichia coli* como también en los cultivos de *Staphylococcus aureus* (Figuras 15 y 16).

El efecto antimicrobiano observado en hongos comestibles ha sido reportado anteriormente en otros estudios (Bala, A.B. Aitken, Fechner, Cusack, & Steadman, 2011; Giri, Biswas, Pradhan, C. Mandal, & Acharya, 2012). Diferentes mecanismos de acción han sido propuestos como responsables de la inhibición antibacteriana, siendo los flavonoides los principales agentes (en mezclas complejas como extractos) que interfieren en la viabilidad de los microorganismos (Cushnie & Lamb, 2005). Entre mecanismos destacan la inhibición de ácidos nucleicos (Ohemeng, Schwender, Fu, & Barrett, 1993), inhibición de la función de la membrana plasmática (Tsuchiya & Iinuma, 2000) y disminución del metabolismo energético (Haraguchi, Tanimoto, Tamura, Mizutani, & Kinoshita, 1998). En este sentido, llama la atención que a pesar de demostrar presencia de polifenoles en el contenido de los extractos C8, C9, C10, C11 y C13, estos no presentaron actividad antimicrobiana. Esto podría ser explicado en el efecto sinérgico de estos flavonoides para interactuar en diferentes blancos moleculares y potenciar el efecto antimicrobiano.

Actividad antimicrobiana sobre *Listeria monocytogenes*

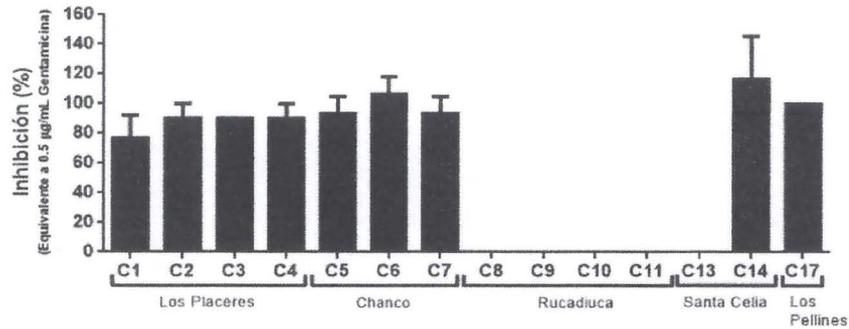


Figura 14. Representación gráfica del análisis de capacidad antimicrobiana de *Ramaria* sp. sobre cultivos de *Listeria monocytogenes*. Los resultados corresponden a la inhibición en placa equivalente a 0.5 µg/mL de Gentamicina.

Actividad antimicrobiana sobre *Escherichia coli*

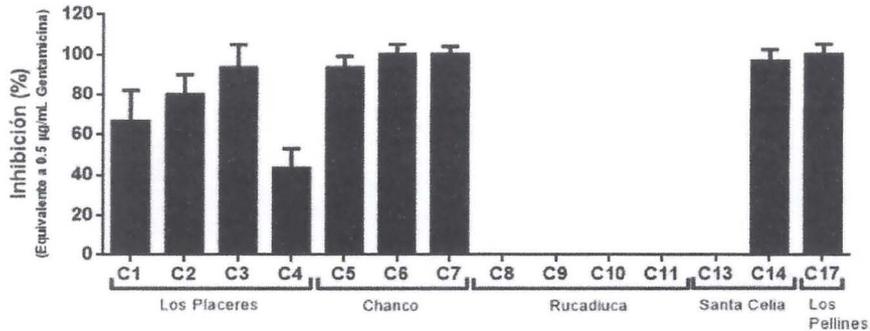
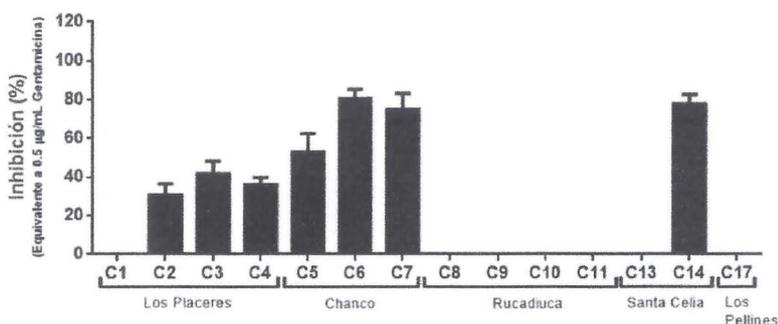


Figura 15. Representación gráfica del análisis de la capacidad antimicrobiana de *Ramaria* sp. sobre cultivos de *Escherichia coli*. Los resultados corresponden a la inhibición en placa equivalente a 0.5 µg/mL de Gentamicina.

### Actividad antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus*

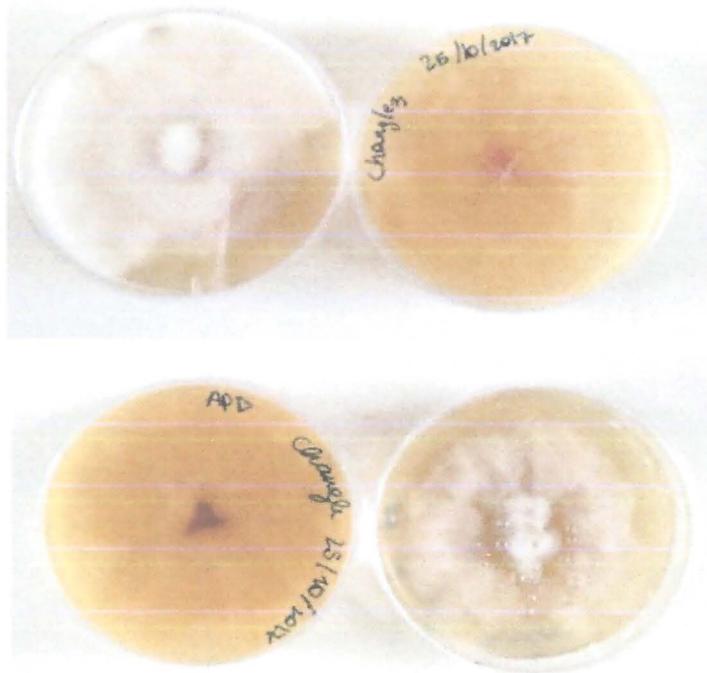


**Figura 16.** Representación gráfica del análisis de la capacidad antimicrobiana de *Ramaria* sp. sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*. Los resultados corresponden a la inhibición en placa equivalente a 0.5 µg/mL de Gentamicina.

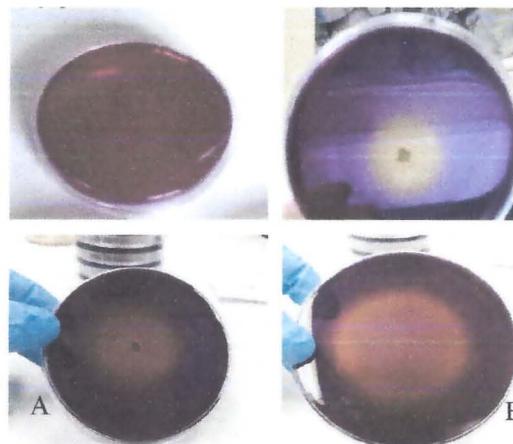
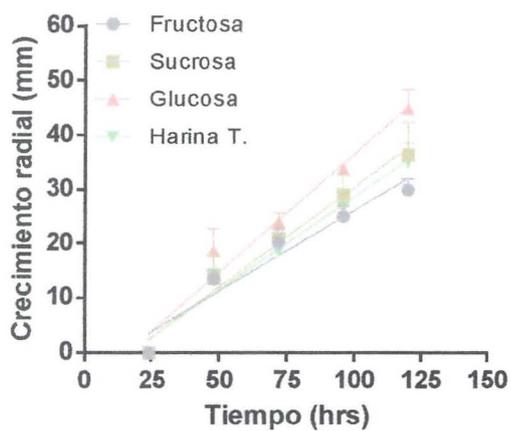
### 3.6.-Obtención de micelio a partir de los carpóforos de changles colectadas.

Con el propósito de lograr obtener el micelio de muestras de changles que permitan realizar la multiplicación en condiciones controladas de laboratorio y evaluar la forma de domesticar esta especie, se prepararon diferentes medios de cultivo, variando factores como el pH y nutrientes, principalmente carbono. Los resultados de cultivo se muestran en las Figura 17, donde se observa el desarrollo del micelio, usando medios de cultivo suplementado con azúcares. De estos cultivos se obtuvo el ADN y fue secuenciado, dando como resultado *Ramaria* sp. con un 100% de identidad.

De los aislamientos realizados, el tejido vegetativo del hongo se desarrolla de manera normal, con crecimiento rastrero hasta alcanzar el máximo de cobertura en la placa de cultivo, posterior a esto, el micelio incrementa su volumen y se transforma en micelio aéreo con forma algodonosa (Figura 17). Al evaluar el crecimiento radial por día, se observó que los medios de cultivos mínimos suplementados con glucosa, permiten el crecimiento del hongo por sobre los suplementos sucrosa y el medio de cultivo Harina T, mientras que la fructosa presentó un peor desempeño en la velocidad de crecimiento radial del hongo (Figura 18).



**Figura 17.-** Micelio aislado en medio de cultivo APD acidificado. Fotografía de aislados con cinco días de crecimiento.

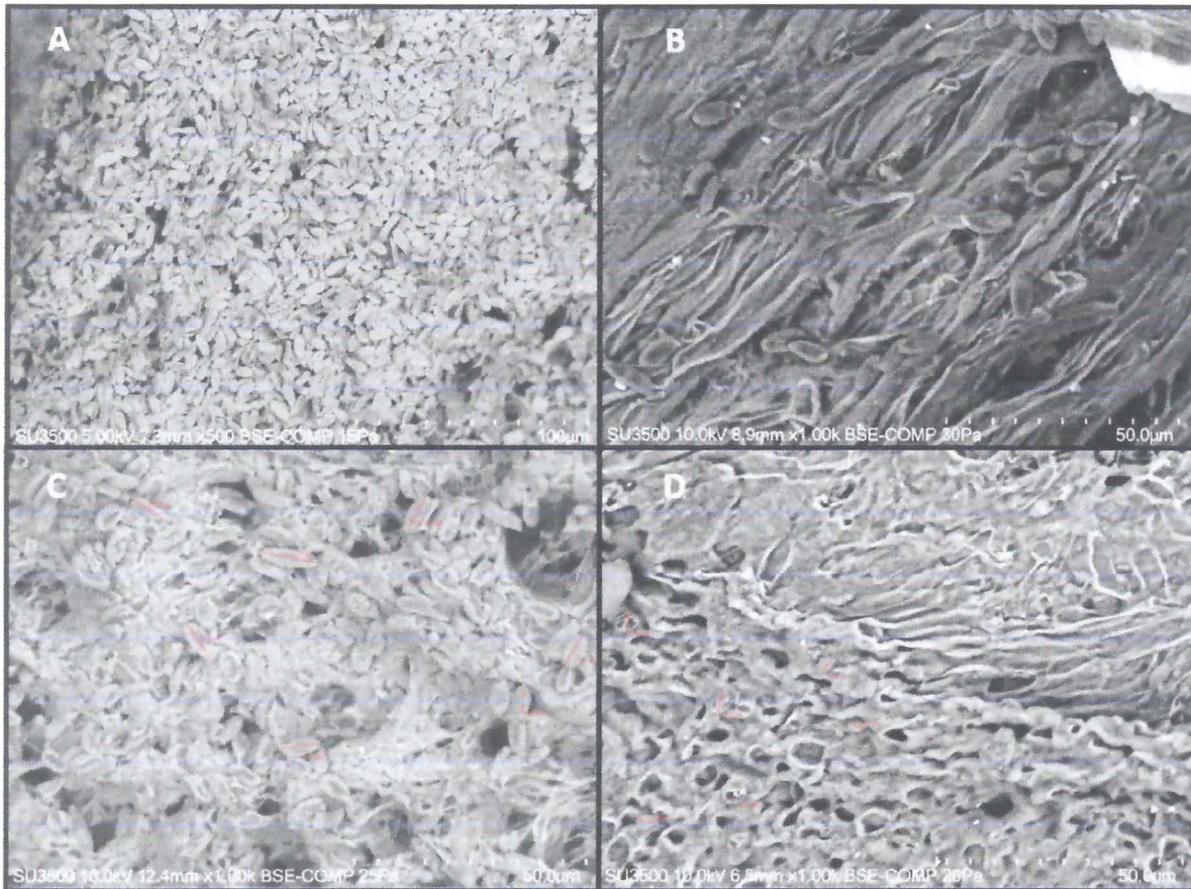


**Figura 18.** (A) análisis del crecimiento radial del micelio de *Ramaria* sp. en diferentes medios de cultivos mínimos suplementados con Fructosa, Sucrosa, Glucosa y Medio de cultivo Harina tipo T. (B). Imagen representativa del crecimiento radial del micelio de *Ramaria* sp. en medio mínimo suplementado con glucosa. Cambio de coloración indica el crecimiento radial del micelio sobre el agar.

### **3.7.- Caracterización del micelio de changle obtenido *in vitro*.**

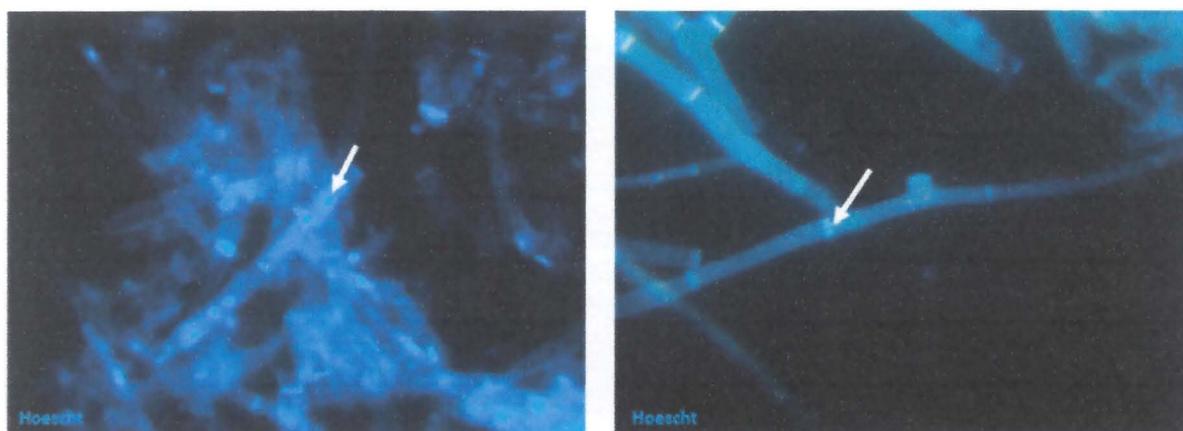
Los aislamientos obtenidos desde los basidiocarpos y purificados en medios mínimos suplementados con glucosa (como mejor suplemento) fueron caracterizados según su forma y subestructuras por distintos métodos. En primera instancia, Las basidiósporas obtenidas desde la capa más externa del basidiocarpo, fue evaluada en el microscopio de barrido (SEM) para determinar la localización de este material reproductivo. Se observó que las muestras presentaban una gran cantidad de basidiósporas sobre el tejido vegetativo (Figura 19A), estas, posicionadas principalmente sobre una capa de surcos de diferente espesor permitiendo la exposición de las células hacia el exterior (Figura 19B).

La externalización de las basidiósporas en el tejido es aleatoria, se observan segmentos en lo que no aparecen células, especialmente los segmentos más profundos del tejido (Figura 19C). A medida que estas células son externalizadas queda en evidencia la presencia de pequeños orificios por donde las basidiosporas son transportadas desde la matriz hacia el exterior del basidiocarpo, donde principalmente son propagadas por el viento para la colonización rizosférica contigua (Figura 19D).



**Figura 19:** Microscopía electrónica de barrido de *Ramaria sp.* En A; basidiosporas. En B; pliegues de posicionamiento de basidiósporas. En C; ordenamiento aleatorio de externalización de basidiósporas. En D; pliegues y orificios de externalización de basidiosporas.

La producción principal de micelio propagativo en placas de medio mínimo suplementado fue partiendo desde basidiosporas. La posterior propagación y evaluación de pureza fue realizada por una tinción azul-fluorescente HOESCHT, sonda permeable a la membrana y que se une irreversiblemente a los núcleos celulares. El objetivo de este análisis es caracterizar el micelio en busca de septos y núcleos en pares como principales características de micelios de basidiomicetes. En este análisis observamos que la sonda HOESCHT marca irreversiblemente los núcleos de los micelios, principalmente en pares (Figura 20A, flecha blanca) y separadas por septos. Sorprendentemente, el marcaje también fue observado en los septos en todas las muestras evaluadas (Figura 20B), a nuestro entendimiento, este efecto es un artefacto de la técnica, ya que esta sonda ha sido utilizada como referente en el marcaje de ADN y no de compartimentos celulares o estructuras complejas.



**Figura 20.** Marcaje fluorescente con Hoescht 33254. En A; flecha blanca indica la presencia de núcleos de fluorescencia intensa separado entre los septos del micelio. En B; flecha blanca indica septos.

### **3.8.- Elaboración del inóculo de changle.**

Teniendo el micelio de changle puro, se iniciaron las pruebas para obtener la semilla del hongo, multiplicándolo en diferentes tipos de arroz como sustrato, los que incubados a 28°C en oscuridad y 80% de humedad, permitieron observar la colonización del micelio sobre los granos de arroz aproximadamente a los 10 días (Figura 21). Transcurrido el tiempo de incubación, se descartaron los sustratos que contenían arroz integral cocido, debido a la baja propagación del micelio como consecuencia de la consistencia viscosa adquirida por el arroz tras su cocción y autoclavado. También fue descartado el sustrato que contenía arroz integral crudo, debido a que presentaba una gran tendencia a contaminarse con levaduras, que impiden la colonización completa por parte del hongo. Mientras que el sustrato preparado con arroz blanco, presentó la colonización completa de los granos luego de 10 días de incubación y no se encontraron otros contaminantes al momento de evaluar la pureza del micelio en el sustrato.



**Figura 21-** Sistema de arroz montado como sustrato con 24 horas de inoculado para la producción de micelio de changle.

### **3.9.- Propagación y fructificación en sustrato del inóculo de changle.**

Una vez obtenida la semilla del hongo en arroz, se buscó obtener una mezcla de sustrato para la propagación de la semilla de changle y a la vez donde se pudiera obtener los cuerpos fructíferos del hongo. Para esto la semilla obtenida, de acuerdo a los descrito en el punto 3.8, se mezcló con los diferentes sustratos para su fructificación en proporción 1:2 (250 g de arroz colonizado y 500 g de sustratos S1, S2, S3, S4), los cuales fueron incubados a 28°C por 15 días, cada uno con 10 repeticiones. Luego del tiempo de incubación, los sustratos S1 (Fibra de coco) y S2 (Biofert) fueron descartados, debido a que no presentaban crecimiento del micelio luego del periodo de incubación. Junto a esto el sustrato S4 también fue descartado por presentar contaminación ambiental con *Penicillium* sp. y *Trichoderma* sp., por lo tanto, las evaluaciones posteriores fueron realizadas en base al sustrato que contenía la mezcla de trigo y arroz. Esta mezcla, fue dividida en dos grupos: Grupo A) Sustrato para Fructificación en plantas trampa y Grupo B) Sustrato para fructificación sin plantas trampa. Para el grupo A, una vez propagado el micelio, fue inoculado en la raíz de cinco plantas de *Nothofagus obliqua* (hualle), donde transcurridos aproximadamente 7 meses desde la inoculación se podrán evaluar si la inoculación fue efectiva observándose la formación de ectomicorrizas y luego de 1 a 2 años se podrán evaluar la producción de carpóforos en las plantas.

Por otra parte, para el Grupo B, luego de la propagación del micelio en sustrato, se evaluó por entre 15 y 30 días la aparición de primordios, sin embargo, fue imposible establecer la aparición de

cuerpos fructíferos a partir de esta metodología. Esto se debe a que los hongos del género *Ramaria*, crecen formando asociaciones micorrícicas principalmente con especies del género *Nothofagus* sp. y *Pinus* sp. Donde dentro de esta asociación benéfica, el hongo entrega a la planta fósforo asimilable, nitrógeno y oligoelementos, mientras que la planta otorga al hongo el ambiente óptimo en pH, humedad y temperatura para su crecimiento, además de un 20% de carbono usado por el hongo para la formación de carpóforos (Heinonsalo, Juurola, Linden, & Pumpanen, 2015; Roman, 2000; Terror, Vicca, Hungate, Phillips, & Prentice, 2016). Por lo tanto, no se puede establecer un método de fructificación del hongo en sustrato sin la interacción del micelio con la planta, por lo que se sugiere seguir indagando en metodologías de micorrización para elaborar protocolos de crecimiento específicos para especies del género *Ramaria* sp., teniendo en cuenta las características nutricionales y fisicoquímicas del suelo para su desarrollo y posterior fructificación.

#### 4.- Conclusiones

- 1.- De los sectores muestreados se recolectaron 16 muestras de changle que presumiblemente eran *Ramaria flava*.
- 2.- Las características morfológicas de color y textura difieren entre las muestras colectadas las que pueden agruparse en cuanto a color en amarillas, cafés, burdeo, naranja y rosado.
- 3.- Los resultados de las secuenciaciones indican que ninguna de las muestras corresponde a *Ramaria flava*, dos de las muestras corresponderían a *Ramaria* indeterminada o bien, a especies que no han sido descritas anteriormente.
- 4.- Las muestras C3 y C1 mostraron una baja similitud de secuencias con la base de datos, demostrando ser géneros no reportados anteriormente, lo cual es un importante aporte de este trabajo de investigación, que debe ser registrado, ya que demuestran ser, según este estudio, únicas en su tipo.
- 5.- los resultados muestran que existen diferencias significativas en el contenido de polifenoles y antioxidantes con valores de algunas muestras que superan incluso a las frutas con mayor contenido de polifenoles y actividad antioxidante, como el arándano.
- 6.- Los resultados de la actividad antimicrobiana sugieren que de las tres cepas evaluadas el mejor efecto antimicrobiano fue frente a la cepa *Listeria monocytogenes*, donde de los 14 extractos evaluados 9 generaron susceptibilidad en el crecimiento del microorganismo, siendo similar el efecto a 0.5 µg/mL de Gentamicina utilizado como patrón estándar de la prueba.
- 7.- El crecimiento del hongo en los medios de cultivos mínimos suplementados con glucosa, permitieron el crecimiento del micelio de changle, superando el crecimiento obtenido en los medios suplementados con sucrosa y también del medio de cultivo Harina T. En los medios suplementados con fructosa fue donde el hongo tuvo el peor desempeño en la velocidad de crecimiento.
- 8.- Los resultados obtenidos indican que el changle sería un hongo medianamente exigente en sus requerimientos nutricionales, aunque son básicos son esenciales, como la glucosa, lo que le permite el desarrollo de micelio solo en 5 días a diferencia de en otros medios donde el micelio es muy pobre y se tarda una semana.

9.- La caracterización del micelio obtenido *in vitro* fue corroborado por secuenciación y microscopia SEM y de fluorescencia, corroborando que efectivamente corresponde al género *Ramaria*, no se ha podido determinar la especie.

## **5.- Proyecciones**

1.- El determinar que en las 16 muestras de changles obtenidas en 5 sectores de la Comuna de Carahue existe una amplia diferencia tanto morfológicas, como de color y textura, lo cual también sucedió en análisis moleculares realizados, y en las determinaciones de polifenoles totales y actividad antioxidante y antimicrobiana, amerita que estos importantes Recursos Forestales No Madereros continúen siendo investigados, por un lado para preservar este patrimonio, que cada año se ve disminuido y por otro lado para darle a los lugareños un producto con características propias que podrían producir.

2.- La obtención de micelio bajo condiciones *in vitro* ha sido un gran paso para lograr domesticar este importante recurso forestal, ahora se requiere continuar investigando para lograr el desarrollo de los cuerpos fructíferos del hongo.

3.- La Sala de Mínimo Proceso, que con este proyecto quedo instalada, requiere que se le de un buen uso por parte de la Agrupación de Recolectores de Changle, lo cual a su vez requiere del apoyo científico y económico para continuar el proceso y lograr que esta agrupación tenga junto a esta una sala de ventas.

## **6.- Recomendaciones**

1.- Que exista la forma de lograr una continuidad de los proyectos.

## 7.- Referencias Bibliográficas

- Angeles De Ita, M., Aranda, D., Parraguirre Lezama, C., Reyes, J. R. T., Ibañes Martinez, A., & Romero Arenas, O. (2018). *Evaluation of Substrates in the Elaboration of Secondary Inoculum for the Cultivation of Pleurotus ostreatus* (Vol. 12).
- Aprotosoiaie, A. C., Zavastin, D. E., Mihai, C. T., Voichita, G., Gherghel, D., Silion, M., . . . Miron, A. (2017). Antioxidant and antigenotoxic potential of *Ramaria largentii* Marr & D. E. Stuntz, a wild edible mushroom collected from Northeast Romania. *Food Chem Toxicol*, *108*(Pt B), 429-437. doi: 10.1016/j.fct.2017.02.006
- Bala, N., A.B. Aitken, E., Fechner, N., Cusack, A., & Steadman, K. (2011). *Evaluation of antibacterial activity of Australian basidiomycetous macrofungi using a high-throughput 96-well plate assay* (Vol. 49).
- Barros, L., Venturini, B. A., Baptista, P., Estevinho, L. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2008). Chemical Composition and Biological Properties of Portuguese Wild Mushrooms: A Comprehensive Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(10), 3856-3862. doi: 10.1021/jf8003114
- Bermúdez, R. C., García, N., Gross, P., & Serrano, M. (2001). Cultivation of *Pleurotus* on agricultural substrates in Cuba. *Micología Aplicada Internacional*, *13*(1), 25-29.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *28*(1), 25-30. doi: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *26*(5), 343-356. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>
- Damiano, S., Forino, M., De, A., Vitali, L. A., Lupidi, G., & Tagliatela-Scafati, O. (2017). Antioxidant and antibiofilm activities of secondary metabolites from *Ziziphus jujuba* leaves used for infusion preparation. *Food Chem*, *230*, 24-29. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.02.141
- Exeter, R., Norvell, L., & Cazares, E. (2006). *Ramaria of the Pacific Northwest*.
- Gaitan-Hernandez, R. S., Dulce; Perez Merlo, Rosalía, Mata, Gerardo. (2009). Evaluación de la eficiencia biológica de cepas de *Pleurotus pulmonarius* en paja de cebada fermentada. *Revista Mexicana de Microbiología*, *30*.
- Giri, S., Biswas, G., Pradhan, P., C. Mandal, S., & Acharya, K. (2012). *Antimicrobial Activities of Basidiocarps of Wild Edible Mushrooms of West Bengal, India* (Vol. 4).
- Haraguchi, H., Tanimoto, K., Tamura, Y., Mizutani, K., & Kinoshita, T. (1998). Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. *Phytochemistry*, *48*(1), 125-129.
- Heinonsalo, J., Juurola, E., Linden, A., & Pumpanen, J. (2015). Ectomycorrhizal fungi affect Scots pine photosynthesis through nitrogen and water economy, not only through increased carbon demand. *Environmental and Experimental Botany*, *109*, 103-112. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.08.008>
- Jofré, I., Pezoa, C., Cuevas, M., Scheuermann, E., Freires, I. A., Rosalen, P. L., . . . Romero, F. (2016). Antioxidant and Vasodilator Activity of *Ugni molinae* Turcz. (Murtilla) and Its Modulatory Mechanism in Hypotensive Response. *Oxid Med Cell Longev*, *2016*, 6513416-6513416. doi: 10.1155/2016/6513416

- Khatua, S., Mitra, P., Chandra, S., & Acharya, K. (2015). In Vitro Protective Ability of *Ramaria aurea* Against Free Radical and Identification of Main Phenolic Acids by HPLC. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 21(4), 380-391. doi: 10.1080/10496475.2014.994085
- Kim, Y.-J., & Son, D.-Y. (2011). Antioxidant effects of solvent extracts from the dried jujube (*Zizyphus jujube*) sarcocarp, seed, and leaf via sonication. *Food Science and Biotechnology*, 20(1), 167-173. doi: 10.1007/s10068-011-0023-8
- Li, H. (2017). Extraction, purification, characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Ramaria botrytis* (Pers.) Ricken. *Chem Cent J*, 11, 24. doi: 10.1186/s13065-017-0252-x
- Medina-Remon, A., Barrionuevo-Gonzalez, A., Zamora-Ros, R., Andres-Lacueva, C., Estruch, R., Martinez-Gonzalez, M. A., . . . Lamuela-Raventos, R. M. (2009). Rapid Folin-Ciocalteu method using microtiter 96-well plate cartridges for solid phase extraction to assess urinary total phenolic compounds, as a biomarker of total polyphenols intake. *Anal Chim Acta*, 634(1), 54-60. doi: 10.1016/j.aca.2008.12.012
- Ohemeng, K. A., Schwender, C. F., Fu, K. P., & Barrett, J. F. (1993). DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones(1). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 3(2), 225-230. doi: [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(01\)80881-7](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(01)80881-7)
- Porebski, S., Bailey, L. G., & Baum, B. R. (1997). Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Molecular Biology Reporter*, 15(1), 8-15. doi: 10.1007/bf02772108
- Roman, M., Velasco. (2000). IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LAS ECTOMICORRIZAS DE QUERCUS ILEX L. SUBSP. BALLOTA (DESF.) SAMP. EN UNA ZONA QUEMADA Y UNA ZONA SIN ALTERAR DEL CARRASCAL DE NAZAR (NAVARRA).
- Romero-Arenas, O., Huerta Lara, M., Damián Huato, M. A., Domínguez Hernández, F., & Arellano Victoria, D. A. (2009). Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XI(2), 143-151.
- Sadi, G., Kaya, A., Yalcin, H. A., Emsen, B., Kocabas, A., Kartal, D. I., & Altay, A. (2016). Wild Edible Mushrooms from Turkey as Possible Anticancer Agents on HepG2 Cells Together with Their Antioxidant and Antimicrobial Properties. *Int J Med Mushrooms*, 18(1), 83-95. doi: 10.1615/IntJMedMushrooms.v18.i1.100
- Téllez Téllez, M., & Talavera Ortiz, A. (2016). Hongos patógenos, especies amigables con el ambiente. *2016*, 12(27), 5.
- Terrer, C., Vicca, S., Hungate, B. A., Phillips, R. P., & Prentice, I. C. (2016). Mycorrhizal association as a primary control of the CO<sub>2</sub> fertilization effect. *Science*, 353(6294), 72-74. doi: 10.1126/science.aaf4610
- Toledo, C. V., Barroetavena, C., Fernandes, A., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2016). Chemical and Antioxidant Properties of Wild Edible Mushrooms from Native *Nothofagus* spp. Forest, Argentina. *Molecules*, 21(9). doi: 10.3390/molecules21091201
- Tsuchiya, H., & Inuma, M. (2000). Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone G isolated from *Sophora exigua*. *Phytomedicine*, 7(2), 161-165. doi: 10.1016/s0944-7113(00)80089-6
- Yang, N.-Y., Tao, W.-W., & Duan, J.-A. (2010). Antithrombotic flavonoids from the faeces of *Trogopterus xanthipes*. *Natural Product Research*, 24(19), 1843-1849. doi: 10.1080/14786419.2010.482057
- Yang, R., Li, S., Qin, Z., Cai, X., Li, X., Christie, P., . . . Gai, J. (2018). Importance of AM fungi and local adaptation in plant response to environmental change: Field evidence at contrasting elevations. *Fungal Ecology*, 34, 59-66. doi: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.04.006>

Zhou, R., Han, Y. J., Zhang, M. H., Zhang, K. R., Ng, T. B., & Liu, F. (2017). Purification and characterization of a novel ubiquitin-like antitumour protein with hemagglutinating and deoxyribonuclease activities from the edible mushroom *Ramaria botrytis*. *AMB Express*, 7(1), 47. doi: 10.1186/s13568-017-0346-9



CHILE LO  
HACEMOS  
TODOS



## ANEXO 2

### OBJETIVO 2

#### 1. CHANGLE CONGELADO

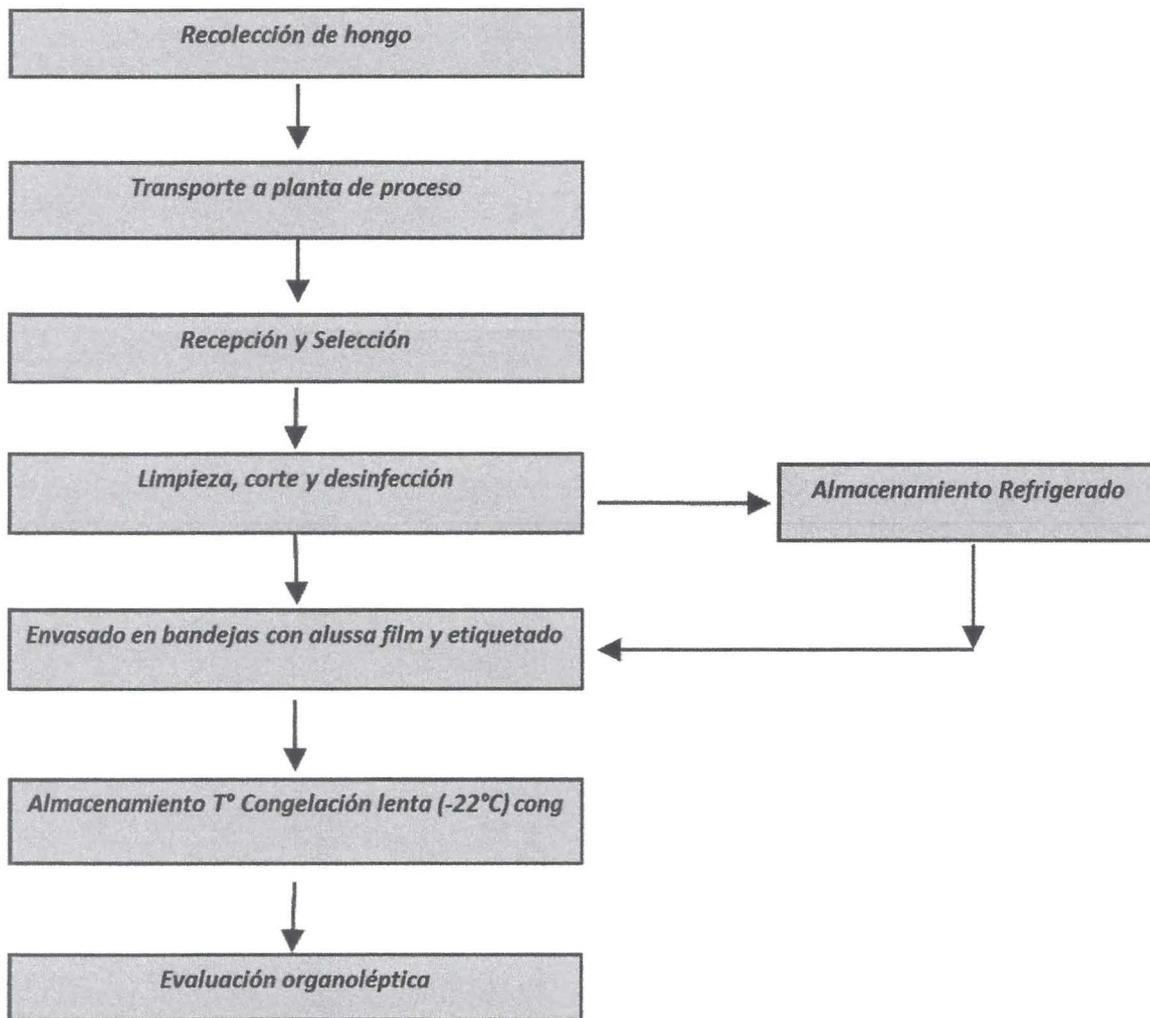
De acuerdo a la Norma General del Codex para hongos comestibles, define este proceso como sigue: Los hongos comestibles frescos de una sola especie que, luego de ser limpiados, lavados y blanqueados, se someten a un proceso de congelación en una instalación apropiada y que se ajusta la temperatura de tal manera que el producto finalmente alcance una temperatura en su centro entre  $-18$  y  $-22^{\circ}$  C.

Las pruebas de congelación realizadas en el Instituto de Agroindustria, se realizaron en un congelador doméstico vertical. Primeramente se limpió el Changle, se clasificaron por tamaño y daños físicos presentes y posteriormente se envasaron en bandejas de plumavit, cubiertas con alussa film plástico transparente y etiquetadas, luego siendo puestas en el congelador. Los días siguientes se fue observando el comportamiento del Changle a las bajas temperaturas, no existiendo cambio de coloración aparente, ni ninguna característica extraña a la vista. Sólo en algunos casos, se evidencia un pequeño cambio de coloración, el cual torna de café claro (color original) a una muy leve coloración café un poco más oscura.

**Evaluación Sensorial:** Luego de pasado 3 meses, sin existir ningún cambio organoléptico aparente en las setas, se realizaron pruebas sensoriales, donde se evaluó sabor y textura, parámetros de importancia luego de cualquier proceso y se determinó que luego de descongelar y preparar (sólo salteado en aceite) los hongos pierden su textura turgente, y el sabor disminuye sólo un poco su intensidad. Es importante destacar que todo vegetal o fruta que haya pasado por un proceso de congelación siempre pierde en más o menos intensidad sus características sensoriales, como sabor y textura principalmente.

**Etiquetado Nutricional:** También se realizaron análisis de composición nutricional para elaborar las etiquetas del este producto cumpliendo toda la normativa de etiquetado vigente en Chile en el Reglamento Sanitario de los Alimentos.

### 1.1. LÍNEA DE FLUJO CHANGLE CONGELADO.





#### 4. CHANGLE EN CONSERVA.

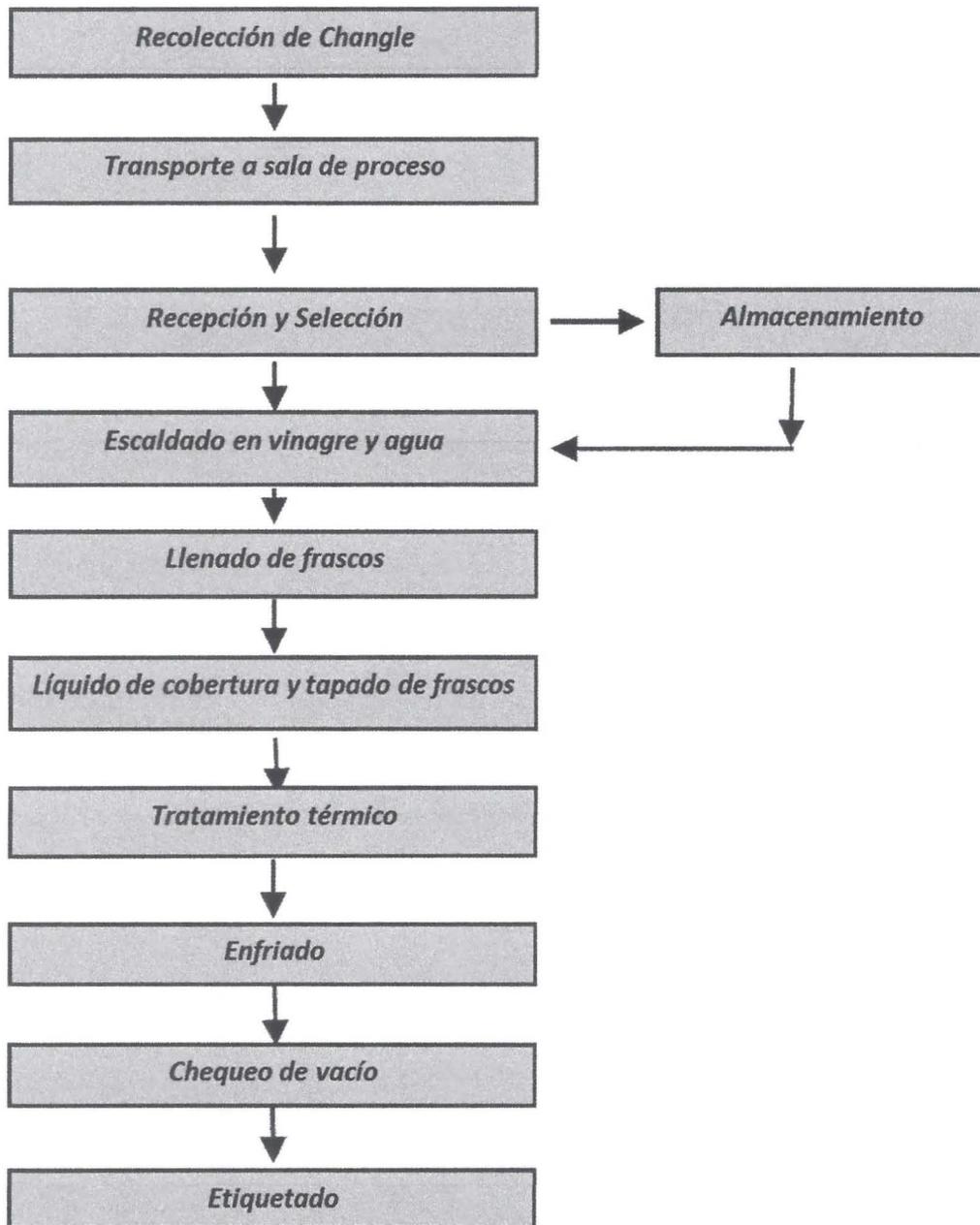
Conserva es aquel producto que generalmente esterilizado, permanece sin contaminarse a temperatura ambiente durante largos períodos de tiempo (1 a 2 años), preparado en recipientes metálicos, de vidrio, o de plástico, que tiene cierre hermético y ha sido sometido a un tratamiento que debe garantizar la destrucción de todas las formas bacterianas vegetativas o esporuladas y de cualquier enzima.

En este caso se desarrolló el protocolo de conservas ácidas, las cuales son aún más seguras, ya que al utilizar un líquido de gobierno o cobertura en base a agua y vinagre, le otorga un pH ácido al producto, lo cual lo hace más seguro, debido a que la acidez es una barrera para el crecimiento de microorganismos patógenos y además con el tratamiento térmico aumenta la seguridad e inocuidad del producto final.

**Evaluación Sensorial:** Luego de pasado 3 y 6 meses, sin existir ningún cambio aparente en las setas envasadas, se realizaron pruebas sensoriales, donde se evaluó color, sabor y textura, se determinó que el Changle pierde aproximadamente un 50% su textura comparado con producto fresco, esto debido al escaldado previo y al tratamiento térmico final realizado con envase. El sabor y color fueron muy bien evaluados, ya que el sabor se acentúa con la mezcla de vinagre-agua-sal y el color por el efecto antioxidante del vinagre se mantiene un café claro y sin manchas, otorgando al producto una excelente apariencia visual para el consumidor.

**Etiquetado Nutricional:** También se realizaron análisis de composición nutricional para elaborar las etiquetas del este producto cumpliendo toda la normativa de etiquetado vigente en Chile en el Reglamento Sanitario de los Alimentos.

## 2.1 LÍNEA DE FLUJO CONSERVA DE CHANGLE.



2.2 FOTOS CHANGLE EN CONSERVA



### 3. CHANGLE DESHIDRATADO

Se entiende por hongos deshidratados, desecados o secados al producto obtenido por desecación de hongos comestibles de una sola especie o mezclas de éstos, ya sean enteros o en lonjas.

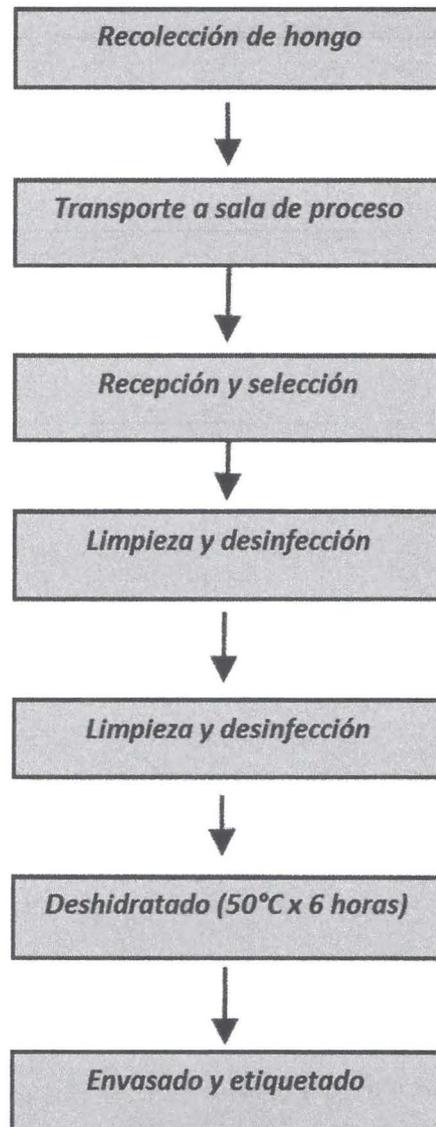
El secado de los hongos es una técnica de conservación que generalmente es utilizada cuando los mercados son muy lejanos o cuando son para utilizarlos posteriormente en otro tipo de alimentos, además para este tipo de proceso no se necesitan hongos de alta calidad como si lo requiere el estado fresco y en segundo lugar el congelado.

Para este proceso se utilizó un secador de bandeja con circulación de aire forzado, que cuenta con 5 bandejas circulares y la fuente de calor es corriente eléctrica. La temperatura alcanzada para el deshidratado era de 50° C por 6 horas, obteniendo un producto con 8 % de humedad, siendo muy efectivo el deshidratado.

**Evaluación Sensorial:** Luego de pasado 3 meses, sin existir ningún cambio organoléptico aparente en el producto deshidratado y envasado, se realizaron pruebas sensoriales, donde se evaluó sabor, aroma y textura, parámetros de importancia luego de cualquier proceso y se determinó que luego de deshidratado y envasado el Changle mantiene un aroma y sabor intenso y textura crujiente. Al momento de rehidratar con agua, pierde su textura, pero mantiene intensidad de sabor y aroma.

**Etiquetado Nutricional:** Se realizaron análisis de composición nutricional para elaborar las etiquetas del este producto cumpliendo toda la normativa de etiquetado vigente en Chile en el Reglamento Sanitario de los Alimentos.

### 3.1. LÍNEA DE FLUJO DE CHANGLE DESHIDRATADO.



### 3.2 FOTOS DE CHANGLE DESHIDRTADO



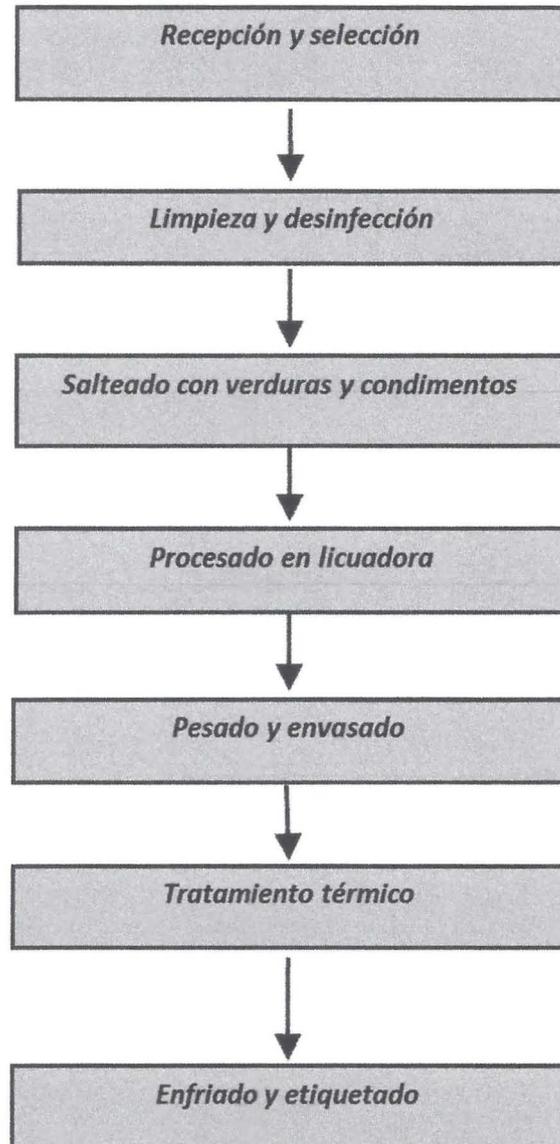
#### 4. PASTA DE CHANGLE.

La pasta de Changle corresponde a un tipo de conserva vegetal, la diferencia es que este caso el Changle junto con los vegetales y condimentos están todos formado una emulsión coloidal al procesarse en una licuadora. Esta mezcla debe agregarse un conservante sorbato de potasio para asegurar su conservación debido a que su pH es mayor a 4,6. Este producto además, del conservante debe aplicarse un tratamiento térmico en autoclave a 120°C por 10 minutos. Con esto aseguramos la vida útil del producto por 1 año.

**Evaluación Sensorial:** Luego de transcurrir 6 meses, sin existir ningún cambio aparente en el producto envasado, se realizaron pruebas sensoriales, donde se evaluó color, sabor, aroma y textura (untuosidad), el panel de expertos determinó que el producto posee un sabor y aroma agradable y característico del Changle, acentuado con la incorporación de algunos condimentos. La textura que presenta el producto es muy adecuada para consumir con pan o galletas y muy suave al paladar.

**Etiquetado Nutricional:** Se realizaron análisis de composición nutricional para elaborar las etiquetas del este producto cumpliendo toda la normativa de etiquetado vigente en Chile en el Reglamento Sanitario de los Alimentos.

#### 4.1 LÍNEA DE FLUJO DE PASTA DE CHANGLE



#### 4.2 FOTOS DE PASTA DE CHANGLE.





CHILE LO  
HACEMOS  
TODOS



## ANEXO 3

### OBJETIVO 2

# DIARIO OFICIAL

DE LA REPUBLICA DE CHILE  
Ministerio del Interior y Seguridad Pública

VI  
SECCIÓN

---

---

### MARCAS, IG/DO, PATENTES DE INVENCION, MODELOS Y DISEÑOS INDUSTRIALES

---

---

Núm. 42.184

Viernes 19 de Octubre de 2018

Página 1 de 1

---

---

### Marcas y Patentes

CVE 1478660

---

---

#### MARCA COLECTIVA DE PRODUCTOS

Solicitud: 1.285.982.- RECOLECTORES DE CHANGLE DE CARAHUE, CHILE.-  
Denominativa: **CHOZ**.- Marca Colectiva de P&S: Setas u hongos (procesados enteros y/o fraccionados en conserva, transformados en salsa y/o pasta, deshidratados enteros y/o molidos), de la clase 29.  
Fecha de pago de publicación: 12 de Octubre de 2018.



## ANEXO 4

### OBJETIVO 2



UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA  
Instituto de Agroindustria

### INFORME DE ENSAYO AREA ALIMENTOS Y AGUA N°452/18

N° solicitud	26662
Fecha recepción	26-03-2018
Fecha informe	19-04-2018
Página	1 de 2

#### 1. IDENTIFICACIÓN DEL CLIENTE

Empresa			
Atención	Karín Basaul Muñoz		
Dirección		Fono/Fax	
Ciudad		RUT	

#### 2. IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

Muestra	Changle Congelado	Tipo de muestra	Alimento
26603	26662-1	N° de muestras	1/2
Responsable muestreo	Cliente		
Fecha muestreo	05-05-2017	Hora muestreo	s/i hrs.
Fecha ingreso	26-03-2018	Hora ingreso	11:00 hrs.
Punto de muestreo	Campo Lonquimay – Proyecto Lleuque		

#### 3. RESULTADOS

PARÁMETRO	METODOLOGÍA	FECHA ANÁLISIS	UNIDAD	RESULTADO
HUMEDAD	Gravimetría, secado a 100±/2°Cx 1° periodo :3 hrs ; 2° periodo 2 hora ,hasta peso constante (1) (1)	27-03-2018	%	85,28
MATERIA GRASA	Grasa total (2)(5)	02/04-04-2018	%	0,46
PROTEINA (Nx6,25)	Kjeldahl (3) (5)	27-03-2018	%	5,01
FIBRA CRUDA	Hidrólisis ácida-alkalina (5)	05-04-2018	%	2,69
CENIZAS*	Gravimetría, calcinación a 550-/+25 C. (6)(5)	27/28-03-2018	%	0,62
EXTRACTO NO NITROGENADO	Fórmula (4) (5)	n/a	%	5,94
Kcalorías	Formua Atwater (7)	n/a	Kcal/100g	47,94
SODIO*	Absorción Atómica (5)(8)	18/19-04-2018	mg//100g	<4

<http://agroindustria.ufro.cl>



INFORME DE ENSAYO  
AREA ALIMENTOS Y AGUA  
N°452/18

N° solicitud	26662
Fecha recepción	26-03-2018
Fecha informe	19-04-2018
Página	2 de 2

OBSERVACIONES:

- (1) ME-711-02-023.Determinacion de humedad en alimentos ,Método de estufa universal y/o estufa al vacío
  - (2) IT.LBA-02 Determinación de materia grasa con hidrólisis acida
  - (3) IT.LBA-01 Determinación de proteína
  - (4) Cálculo por diferencia entre 100% y la sumatoria de: humedad ,materia grasa, proteína, fibra cruda y cenizas
  - (5) Resultados expresados en base Húmeda
  - (6) ME-711.02.011 ISP 2014.Determinacion de cenizas totales en Alimentos. Método Gravimetrico
  - (7) Formula Atwater, sumatoria de: ( 9\* grasa+ 4\* proteína +4\*extracto no nitrogenado)- Ciencia y Tecnología de los Alimentos Hermann Schmidt- Hebbel
  - (8) IT.LBA-04.v2 Determinación de sodio
- \* Limite de cuantificación para este ensayo

---

<http://agroindustria.ufro.cl>



INFORME DE ENSAYO  
AREA ALIMENTOS Y AGUA  
N°453/18

N° solicitud	26662
Fecha recepción	26-03-2018
Fecha informe	13-04-2018
Página	1 de 2

1. IDENTIFICACIÓN DEL CLIENTE

Empresa			
Atención	Karin Basaul Muñoz		
Dirección		Fono/Fax	
Ciudad		RUT	

2. IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

Muestra	Changle en conserva	Tipo de muestra	Alimento
26603	26662-2	N° de muestras	2/2
Responsable muestreo	Cliente		
Fecha muestreo	05-11-2017	Hora muestreo	s/i hrs.
Fecha ingreso	26-03-2018	Hora ingreso	11:00 hrs.
Punto de muestreo	Planta Piloto Ufro.		

3. RESULTADOS

PARÁMETRO	METODOLOGÍA	FECHA ANÁLISIS	UNIDAD	RESULTADO
HUMEDAD	Gravimetría, secado a 100+/- 2°Cx 1° periodo :3 hrs ; 2° periodo 2 hora ,hasta peso constante (1) (1)	27-03-2018	%	89,20
MATERIA GRASA	Grasa total (2)(5)	02/04-04-2018	%	0,75
PROTEINA (Nx6,25)	Kjeldahl (3) (5)	27-03-2018	%	3,26
FIBRA CRUDA	Hidrólisis ácida-alcalina (5)	05-04-2018	%	1,81
CENIZAS*	Gravimetría, calcinación a 550-/+25 C (6)(5)	27/28-03-2018	%	0,8
EXTRACTO NO NITROGENADO	Fórmula (4) (5)	n/a	%	4,18
Kcalorias	Formula Atwater (7)	n/a	Kcl/100g	36,51
SODIO*	Absorción Atómica (5)(8)	08/12-04-2018	mg//100g	148,9

<http://agroindustria.ufro.cl>



INFORME DE ENSAYO  
AREA ALIMENTOS Y AGUA  
N°453/18

N° solicitud	26662
Fecha recepción	26-03-2018
Fecha informe	13-04-2018
Página	2 de 2

OBSERVACIONES:

- (1) ME-711-02-023. Determinación de humedad en alimentos, Método de estufa universal y/o estufa al vacío
  - (2) IT.LBA-02 Determinación de materia grasa con hidrólisis ácida
  - (3) IT.LBA-01 Determinación de proteína
  - (4) Cálculo por diferencia entre 100% y la sumatoria de: humedad, materia grasa, proteína, fibra cruda y cenizas
  - (5) Resultados expresados en base Húmeda
  - (6) ME-711.02.011 ISP 2014. Determinación de cenizas totales en Alimentos. Método Gravimétrico
  - (7) Formula Atwater, sumatoria de: ( 9\* grasa+ 4\* proteína +4\*extracto no nitrogenado)- Ciencia y Tecnología de los Alimentos Hermann Schmidt- Hebbel
  - (8) IT.LBA-04.v2 Determinación de sodio
- \*Ensayos acreditados según Nch17025



CHILE LO  
HACEMOS  
TODOS



## ANEXO 5

### OBJETIVO 2

ASOCIACIÓN DE RECOLECTORES  
DE CHANGLE DE CARAHUE

# CHOZ

COMO EL COLOR DEL SOL

**Changle congelado**

Contenido:  
Changle recolectado,  
seleccionado, limpio y  
congelado.

**Conservación y duración:** mantener a  $-18^{\circ}\text{C}$  en el congelador del refrigerador, hasta su consumo. Si se descongela, consúmalo durante el día, no vuelva a congelar. Consumir antes de la fecha de vencimiento del envase.

**Ingredientes:** Changle laminado

INFORMACIÓN NUTRICIONAL		
Porción 50 g		
Porciones por envase 3		
	100 g	1 Porción
Energía (Kcal)	60.5	47.8
Proteínas (g)	0.2	0.5
Grasa total (g)	0.5	0.25
Hidratos de Carbono disponibles (g)	6.0	3.0
Azúcares totales (g)	0.3	0.15
Sodio (mg)	4	2

Contenido neto 150 g

**Elaborado y envasado por:** Asociación de recolectores de Changle de Carahue, Alcalde Floody 310, Carahue, Región de la Araucanía, Chile. Res. Sanitaria N° Seromi Salud Araucanía

**Ingredientes:**  
Changle deshidratado.

INFORMACIÓN NUTRICIONAL		
Porción: 1 cucharadita picada (1,5 g)		
Porciones por envase: Aprox. 23		
	100 g	1 Porción
Energía (Kcal)	274	4
Proteínas (g)	15,8	0,2
Grasa Total (g)	3,5	0,1
Hidratos de Carbono disponibles (g)	44,8	0,7
Azúcares totales (g)	0,5	0,0
Sodio (mg)	4	0

Contenido neto 35 g

**Duración:** Consumir antes de la fecha de vencimiento del envase.  
Conservar en un lugar fresco y seco.



**CHOZ**  
COMO EL COLOR DEL SOL

**Changle deshidratado**

**Modo de uso:** Úsela en la preparación de salsas, estofados, carnes y también para acompañar pastas y guisos. Hidratar el contenido en dos tazas de agua por 2 horas antes de usar.

**Elaborado y envasado por:**  
Asociación de recolectores de Changle de Carahue.  
Alcalde Floody 310,  
Carahue, Región de la Araucanía, Chile.  
Res. Sanitaria N° Seremi Salud Araucanía

**Ingredientes:** Changle, agua, vinagre blanco de alcohol y sal.

INFORMACIÓN NUTRICIONAL		
Porción: 80 g		
Porciones por envase: 4		
	100 g	1 Porción
Energía (Kcal)	36,5	18,2
Proteínas (g)	3,3	1,6
Grasa Total (g)	0,8	0,4
Hidratos de Carbono disponibles (g)	4,2	2,1
Azúcares totales (g)	0,17	0,1
Sodio (mg)	149	75

Contenido neto 200 g



**CHOZ**  
COMO EL COLOR DEL SOL

**Changle en conserva**

**Modo de uso:**  
Producto listo para consumir.

**Duración:** Una vez abierto el envase mantener refrigerado y consumir antes de 5 días.

**Elaborado y envasado por:**  
Asociación de recolectores de Changle de Carahue.  
Alcalde Floody 310,  
Carahue, Región de la Araucanía, Chile.  
Res. Sanitaria N° Seremi Salud Araucanía

**Ingredientes:** Changle, cebolla, aceite, ajo, agua, vinagre blanco de alcohol, y sal.

**INFORMACIÓN NUTRICIONAL**

Porción: 30 g (2 cucharadas)

Porciones por envase: Aprox. 9

	100 g	1 Porción
Energía (Kcal)	186	56
Proteínas (g)	4,0	1,2
Grasa Total (g)	13	3,9
Grasa Saturada (g)	1,8	0,5
Grasa monoinsaturada (g)	3,9	1,8
Grasa poliinsaturada (g)	7,2	2,16
Ac. grasos tras (g)	0,1	0,03
Colesterol (mg)	0	0
Hidratos de Carbono disponibles (g)	4,2	1,3
Azúcares totales (g)	0,17	0,05
Sodio (mg)	149	45

Contenido neto 250 g



**CHOZ**  
COMO EL COLOR DEL SOL

**Pasta  
de  
Changle**

**Modo de uso:**  
Producto listo para consumir.

**Duración:** Una vez abierto el envase mantener refrigerado y consumir antes de 5 días.

**Elaborado y envasado por:**  
Asociación de recolectores de Changle de Carahue,  
Alcalde Floody 310,  
Carahue, Región de la Araucanía, Chile.  
Res. Sanitaria N° Seremi Salud Araucanía



## ANEXO 6

### OBJETIVO 4

#### Lista de asistencia

#### Curso Buenas Prácticas de Recolección (parte práctica)

7-06-2017

Nombre	RUT	Firma
Guido Leal Herrera		
Viviana Vera Palacios		
Roberto Parrón Huenuñe		
Andrés Rebolledo Rizzo		
Bl. Horacio Tomasec Ojeda		
Gabriel Sotomayor Delgado		
Cesar Osorio Millán		

#### Lista de asistencia

#### Curso Buenas Prácticas de Recolección (parte práctica)

7-06-2017

Nombre	RUT	Firma
Karin Bassal Muñoz		
Paucico Rafael Palacios		
Jorge Enrique Carrillo		
Carolina Altamirano		



"RESCATE Y PROTECCIÓN DE RAMARIA FLAVA (CHANGLE) PARA FORTALECER LA PRODUCCIÓN, COMERCIALIZACIÓN, IDENTIDAD Y USOS GASTRONÓMICOS EN LA CORDILLERA DE LA COSTA DE LA COMUNA DE CARAHUE"  
Lista de Asistencia

TALLER BUENAS PRÁCTICAS DE RECOLECCION DE HONGOS SILVESTRES

Fecha: 31 de Mayo 2017

	Nombre	Firma
1	Gabriel Ignacio Sanhueza Delgado	
2	Cesar Omar Fuler	
3	Walter Leal Herrera	
4	Juana Beatriz Ovalle	
5	Catalina de la Cruz Quijada	
6	Maribel Payado Boes	
7	Viviana Vera Irujo	
8	Roberto Navaril Huemulca	



## ANEXO 7

### OBJETIVO 4







# ANEXO 8

## OBJETIVO 4



"RESCATE Y PROTECCIÓN DE RAMARÍA FLAVA (CHANGLE) PARA FORTALECER LA PRODUCCIÓN, COMERCIALIZACIÓN, IDENTIDAD Y USOS GASTRONÓMICOS EN LA CORDILLERA DE LA COSTA DE LA COMUNA DE CARAHUE"

Lista de Asistencia Reunión

Reunión: Taller de Buenas Prácticas de Manufactura (Carahue)

Fecha: 06 de octubre de 2017. y manipulación de alimentos.

Nombre	Firma
1. Javier Quiroga	
2. Liliana Souza Fonseca	
3. Waldo Leal Herrera	
4. Bernardo A. Huebnerman Huebnerman	
5. Tania Carrasco de Arce	
6. M. Contreras	
7. Juan D. Humberto Solari	
8. Eduardo José Muñoz Castillo	
9. ESPERANZA BECERRA ARRIAGADA	

10. Jaime E. Pozuelo Zamora	
11. Mariel G. Condessa Carrasco	
12. Carlos A. Becerra	
13. Ana María	
14. Paulina Alvarado	
15. Osvaldo Rojas	
16. Gabriela	
17. Andrea	
18. Gabriela	

Nombre	Firma
19. Gabriel Sanhueza	



## ANEXO 9

### OBJETIVO 4





## ANEXO 10

### OBJETIVO 4



Fundación para la  
Innovación Agraria



UNIVERSIDAD  
DE LA FRONTERA

"RESCATE Y PROTECCIÓN DE RAMARIA FLAVA (CHANGLE) PARA FORTALECER LA PRODUCCIÓN, COMERCIALIZACIÓN, IDENTIDAD Y USOS GASTRONÓMICOS EN LA CORDILLERA DE LA COSTA DE LA COMUNA DE CARAHUE"

Lista de Asistencia Reunión

Reunión: Luzo desarrollo de productos

Fecha: 20 octubre 2017

	Nombre	Firma
1	Waldo Leal Henríquez	
2	Roberto Navarrete Huamilla	
3	María E. Cárdenas	
4	José Rivas Cardillo	
5	Alisa Suazo Fonseca	
6	Quetzal Rebolledo Ziffo	
7	Donaldo Larraín	
8	María María	
9	Paulina Altamirano	



## ANEXO 11





# ANEXO 12



UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA  
Instituto de Agroecología



LISTADO DE ASISTENCIA PARTICIPACIÓN DE SPA DE MÍNIMO PROCESO  
"VALORIZACIÓN DEL CHARRAL COMÚN EN LOS DISTRITOS RURALES DE LA COMUNA DE CARAHUE"  
FINA 22 DE NOVIEMBRE 2018

Nº	NOMBRE	EMPRESA O INSTITUCIÓN	TELÉFONO	CORREO ELECTRÓNICO	FIRMA
1	José Luis Silva Barros	EAT - PMST			
2	Roberto Iru Golbuck				
3	José María Bascos	Particular			
4	Olga Solana M	Particular			
5	Quintín Recalde R	Particular			
6	Armonía Jara J	INACAP			
7	Roberto Gascón	INACAP			
8	Dennis Acevedo	Instituto de Agroecología Univ. La Frontera			
9	Coroiza Blanco C	Estudiante Univ. La Frontera			
10					
11	Yermin Bravo Castro	Coop. Comunal			
12	María Victoria Rodríguez	Particular			
13	Ed. Escobar	Particular			
14	Juan Pablo Escobar	CCAF			
15	León Figueroa	Particular			
16	Benilde A. Huamán	Particular			
17	Roberto Gutiérrez	IAS			
18	León Jara	Asociación de Agricultores			
19	Cristina Díaz	Municipalidad Carahue			
20	Humberto Tomasco	PREG 15310			
21	Alejandro Seg	Particular			
22	José Luis	Particular			
24	León Figueroa	Particular			
25	León Figueroa	Particular			
26					



MINISTERIO AGRICULTURA ELEVADOR EN TALLERES MINIMO PROCESO  
 "VALORACIONES CANTAS COMO PRODUCTOS GASTRONOMICOS EN LA CIUDAD DE QUITO"  
 Fecha: 26 de febrero 2018

Nº	NOMBRE	EMPRESA O INSTITUCIÓN	TELÉFONO	CORREO ELECTRÓNICO	EMAIL
1	Karin Barral P.	DAT OFFICE			
2	Alba Patricia H.	Unidad técnica de apoyo con personas			
3	Silvana Cevallos P.	Colectiva Bacter			
4	Roberto Barral Barral M.	Producción de alimentos			
5	Luis Torres Pizarro	Asesoría particular			
6	Florencia Cevallos				
7	Carolina Maldonado	Productora de alimentos			
8	Daniela Cevallos	CHOF			
9	María del Toro	Estudiante			
10					
11	Tatiana Varela P.	Comunicación			
12	Blanca Rodríguez Velasco	Lic. Comunicación Social			
13	Bryan Paz Hernández	Lic. Comunicación Social			
14	Sandra Cordero Pineda	Lic. Comunicación Social			
15	Roberto Barral Barral	DOCENTE LCC			
16	María del Toro	UTRO			
17	José María Barral	Coop			
18	Andrés Barral	Industria alimentaria			
19	Simón Maldonado	UTRO			
20	Clara Barral P.	Taller de alimentación			
21	Carolina Barral P.	UTRO			
22	María del Toro	UTRO			
23					
24	Soy Soy Soy	Alimentos			
25	Patricia Barral	UTRO			
26	Carolina Barral P.	UTRO			
27	Carolina Barral P.	UTRO			
28	Carolina Barral P.	UTRO			
29	Carolina Barral P.	UTRO			
30	Teléfono celular	Agencia de alimentos			
	Franca Barral	particular			



UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA  
Instituto de Agronomía



LISTADO DE ASISTENCIA INAUGURACIÓN DE SALA DE MÍNIMO PROCESO  
"VALORIZACIÓN DEL CHANGUE COMO RECURSO GASTRONÓMICO DE LA COMUNA DE CHANGUE"  
Fecha 22 DE NOVIEMBRE 2018

Nº	NOMBRE	EMPRESA O INSTITUCIÓN	TELÉFONO	CORREO ELECTRONICO	FIRMA
1	Fernán Viquez Viquez	EAT PHSE			
2	Po				
3	Elba Guisado	condinat Sultano			
4	Roberto P. P.	com. de desarrollo			
5	DEQUIPO LÓPEZ P.	Psicólogos			
6	Luzmila Fuentetaja	Psicóloga			
7	JOSÉ RIVERA	LICIA COMERCIAL			
8	Bella BARRERA CABRILLO	Recursos Humanos CHANGUE			
9	Maria E. Cruz Hernandez	Asesoría Científica			
11	Monsieur P. P.	Surveillance			
12	Marta P. P.	Com. de desarrollo Municipalidad			
13	Elio Luna	Psicólogo			
14	John Jose Fuentetaja	UPRO			
15	Ramon Ponce Lina	INDAP			
16	Beatriz Hernández	Maestría en Gestión			
17	Ysmael Ponce	Psicólogo			
18	Willy Ponce	UPRO			
19	José Ponce	UPRO			
20	Franco Ponce	UPRO			
21	Ana María Ponce	UPRO			
22					



## ANEXO 13

### OBJETIVO 4





CHILE LO HACEMOS TODOS



# ANEXO 14

## OBJETIVO 4



**Objetivo 4**  
"Fomentar y promover la agrupación de recolectores de changle (champiñón) para fortalecer los grandes hitos, como: cultura, identidad y auto-gestionamiento ante los desafíos de la venta de la comida de Carahue"

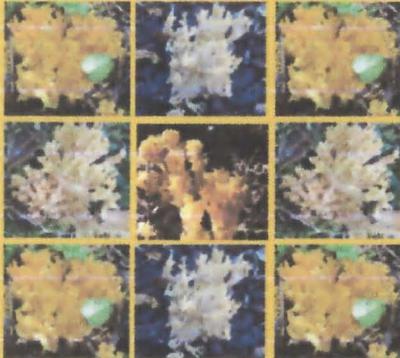
**SEMINARIO**

**Apoyado por:**

**INSTITUTO DE AGRINDUSTRIA**  
Av. Francisco Salazar 21140, Temuco Chile  
Fono: (56-49) 2322020 / (56-49) 2322012  
Cavilla 14 - Código Postal 4780000  
e-mail: agrindustria@fontarri.com

PROYECTO

**“Rescate y protección de Ramaria flava (changle) para fortalecer la producción, comercialización, identidad y usos gastronómicos en la cordillera de la costa de la comuna de Carahue”**



**CHANGLE**



PROYECTO

**“RESCATE Y PROTECCIÓN DE RAMARIA FLAVA (CHANGLE) PARA FORTALECER LA PRODUCCIÓN, COMERCIALIZACIÓN, IDENTIDAD Y USOS GASTRONÓMICOS EN LA CORDILLERA DE LA COSTA DE LA COMUNA DE CARAHUE”**

Coordinado por:

Elaborado por:

Apoyado por:



UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA  
CENTRO DE AGRICULTURA

INIA  
INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA

FIDA  
FUNDACIÓN PARA EL DESARROLLO AGRARIO

**OBJETIVO GENERAL**  
Rescatar el hongo comestible Changle (Ramaria flava), a partir del desarrollo de nuevas alternativas para su conservación y buen manejo de recolección junto a sus usos gastronómicos promoviendo la diversificación productiva, culinaria y fortalecer la identidad del territorio costero de la Región de La Araucanía.

**OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar especies, características nutricionales, atributos saludables y potenciales beneficios del hongo comestible (Ramaria flava).
- Determinar las mejores prácticas de conservación del hongo comestible changle (Ramaria flava) y potenciar las utilidades gastronómicas.
- Determinar los hábitos de desarrollo y requerimientos nutricionales del hongo comestible Ramaria flava que permitan generar el conocimiento de base para el cultivo del Changle bajo condiciones controladas.
- Desarrollar un programa de difusión y transferencia tecnológica que permita a los recolectores conocer y practicar los conocimientos adquiridos durante la ejecución de proyecto.

Apoyado por:





## ANEXO 15

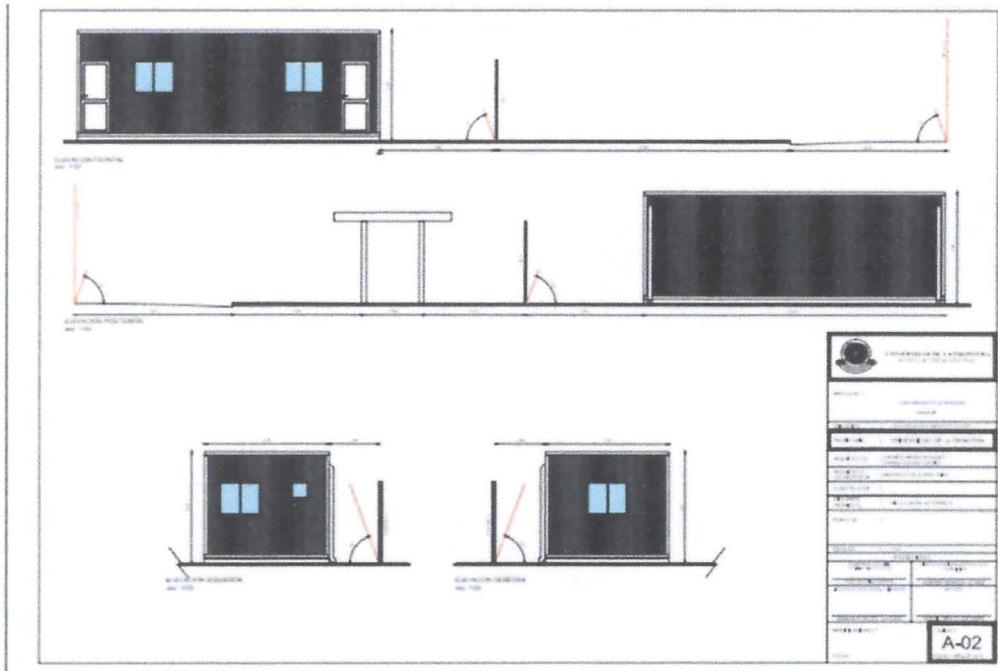
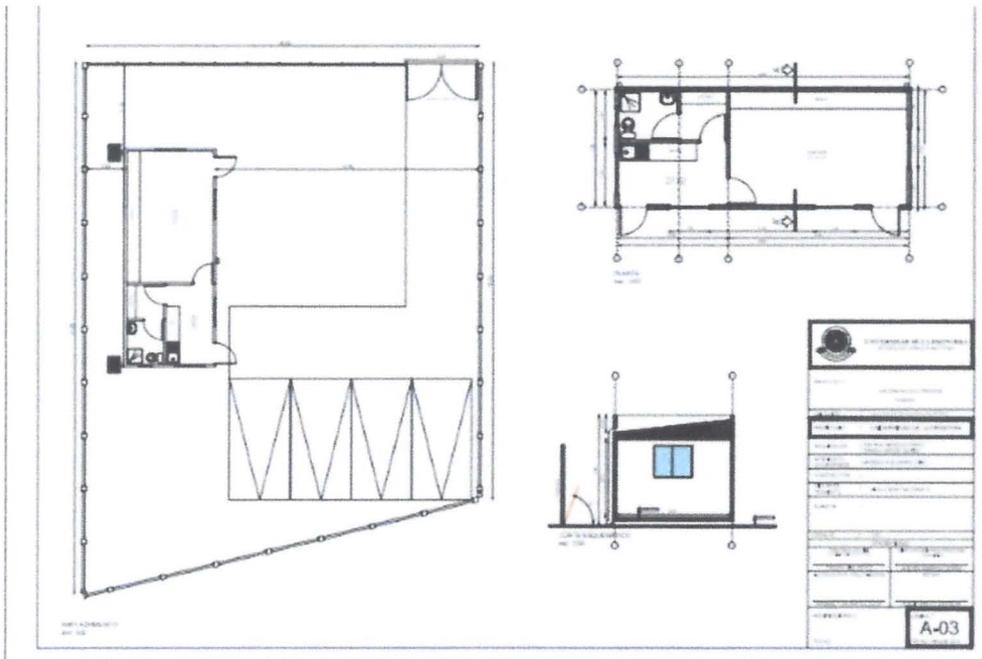
### OBJETIVO 4





## ANEXO 16

### OBJETIVO 4





CHILE LO  
HACEMOS  
TODOS



## ANEXO 17

### OBJETIVO 4

#### ESPECIFICACIONES TÉCNICAS.

##### Proyecto Módulo para procesamiento del changle

Unidad mandante: Instituto de Agroindustria – Universidad de la Frontera

Unidad Técnica: División de Infraestructura – Universidad de la Frontera.

#### 1. CIERRE PERIMETRAL

Se considera un cierre perimetral con placas de hormigón microvibrado tipo pandereta en los deslindes oriente, poniente y sur. En tanto para el deslinde norte se consulta cerco metálico.

#### 2. LIMPIEZA DE TERRENO

Se efectuará un escarpe de la capa vegetal en el área de emplazamiento del módulo.

#### 3. FUNDACIONES

Se consulta fundaciones tipo aisladas con utilización de dados de hormigón prefabricado.

#### 4. OBRA GRUESA

La obra gruesa de la edificación se realizará por medio del sistema modular, considerando construir en fábrica los paneles para estructuras de piso, muros perimetrales, muros interiores y estructura de techumbre.

##### 4.1 Estructura de piso:

Se consulta envigado metálico con perfil canal de 150 x 100 x 3 mm montado sobre dados de fundación. Sobre el envigado se instalará placa de terciado estructural de 18 mm.

##### 4.2. Estructura de muros.

Tanto para muros perimetrales como para muros interiores se considera paneles de perfil de metalcom de 90 mm de espesor, a instalarse según plano. Los muros serán revestidos con placa tipo OSB de 9,5 mm en ambas caras.

##### 4.3. Estructura de techumbre.

Se consulta cerchas prefabricadas de metalcom de 90 instaladas a un agua según diseño. Las costaneras serán de perfil de metalcom de 50 mm sobre la cual se instalará placa tipo OSB de 9,5 mm y aislación con fieltro de 10 Lbs.

#### 5. CUBIERTA

Sobre estructura de techumbre se instalará planchas de zinc alum acanalado de 0.4 mm de espesor con traslape de 2 ondas y sus respectivas hojalaterías en forros de coronación, forros laterales y canaletas de desarrollo 0.50 mts.

## **6. REVESTIMIENTO EXTERIOR**

Se consulta revestimiento exterior de muros perimetrales con planchas tipo instapanel PV4 instaladas sobre aislación de fieltro de 10 Lbs.

## **7. REVESTIMIENTOS INTERIORES**

### **7.1. Revestimiento de muros-**

Se consulta revestimiento con plancha de yeso cartón de 10 mm para muros. En zona de baños se consulta plancha de yeso cartón R.H. de 15 mm.

### **7.2. Revestimiento de pisos.**

Para pisos interiores se considera revestimiento lavable en todos los espacios.

### **7.3. Revestimiento de cielos.**

Bajo estructura de techumbre se instalará cielo raso revestido con planchas de yeso cartón de 10 mm.

## **8. PINTURA**

### **8.1. Pintura exterior.**

Para muros exteriores se aplicará 3 manos de pintura látex sobre previa preparación de superficie.

### **8.2. Pintura interior.**

En muros y cielos interiores se aplicarán 2 manos de esmalte al agua sobre una mano de látex aparejo y previa preparación de superficie.

## **9. PUERTAS Y VENTANAS**

### **9.1. Puertas.**

Para acceso principal, vestidor, baño y salida posterior se consultan puertas de tipo atablerada. En puerta divisoria entre área limpia y área sucia se considera puerta de aluminio medio cuerpo vidriado.

### **9.2. Ventanas.**

Las ventanas serán de aluminio con un paño fijo y una hoja proyectante color mate.

## **10. SERVICIOS HIGIÉNICOS**

Se consulta instalar lavamanos, inodoro y ducha en sala de baño. En zona de área sucia se consulta la instalación de fuentón o lavafondo.

## **11. RED DE AGUA Y ALCANTARILLADO**

Las redes de agua potable y alcantarillado se efectuarán según proyecto elaborado para la especialidad basado en reglamento R.I.D.A. Las instalaciones exteriores se efectuarán de acuerdo a certificados de factibilidad de la empresa de servicios sanitarios.

## **12. ELECTRICIDAD**

Las instalaciones eléctricas interiores se efectuarán según proyecto elaborado para la especialidad. El empalme se realizará según lo establecido en el certificado de factibilidad.

## **13. INSTALACIONES DE GAS**

### **13.1. Acceso**

Se considera la construcción de pavimento tipo acera peatonal para facilitar el tránsito hasta el acceso al módulo.

### **13.2. Limpieza.**

Se deberá realizar la limpieza del recinto, con el retiro de todos los escombros. Además se considera limpiar la superficie de terreno hasta la puerta de salida del área sucia para facilitar el tránsito vehicular.

#### **14. RECEPCIÓN MUNICIPAL**

Los trámites administrativos para obtener recepción municipal estarán a cargo de la unidad mandante (Instituto de Agroindustria de la Universidad de la Frontera).

Samuel García Gatica

---

Arquitecto  
División de Infraestructura  
Universidad de la Frontera

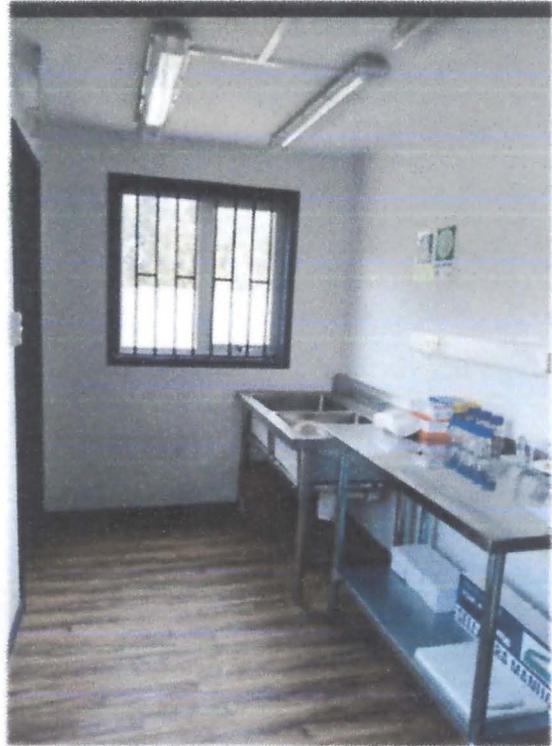


CHILE LO  
HACEMOS  
TODOS



## ANEXO 18

### OBJETIVO 4





CHILE LO  
HACEMOS  
TODOS



## ANEXO 19

### OBJETIVO 4

En el contexto de la asesoría de obtención “RESOLUCION SANITARIA SALA PROCESO DE CHANGLE “se entrega el presente informe que detalla las actividades desarrolladas por el profesional asesor Sra. Ana María Mora.

Este informe describe el trabajo desarrollado hasta el ingreso de la carpeta de Agua Potable y Alcantarillado en la Empresa Aguas Araucanía de la sala de changle, para su posterior ingreso de antecedentes ante la Seremi de Salud en la oficina ubicada en la Comuna de Imperial y autorizar la **SALA DE PROCESO DE CHANGLE**.

#### Objetivo General

Implementar asesoría para la obtención de Resolución Sanitaria de alimentos, para que ésta pueda funcionar dentro de la normativa de la Seremi de Salud.

#### Objetivos Específicos

- OE1. Recopilar y preparar antecedentes
- OE2. Elaborar documentos y preparar carpeta

#### Descripción de la Asesoría

Esta Asesoría contempló el desarrollo de diversas actividades, las cuales se detallan a continuación:

**1.-Ingreso de carpeta a la oficina de Aguas Araucanía:** De forma personal en el mes de junio el día 29-06-18 se ingresa la carpeta que reúne todos los antecedentes del proyecto en Agua Potable y Alcantarillado, de la sala de proceso para su revisión el día 4 de julio del 2018 se devuelven los antecedentes con observaciones por parte de la empresa revisora.

**1.- La cual indica que debe adjuntar los planos de arquitectura de la sala y el permiso de edificación.**

Se reingresa el proyecto de forma personal el día 13-11-2018 y se encuentra en la etapa de revisión fecha máxima de respuesta por parte de la empresa el 18-12-18.

Para su posterior aprobación de los proyectos mencionados anteriormente y hacer los trabajos en terreno que corresponden de permisos de romper calles y hacer atravesos para la conexión de Informe técnico final

V 2018-06-29

agua potable a la red pública, en el caso del alcantarillado deben conectarse al colector público que pasa por fuera de la sala de changle, de igual forma en ambos casos deben cancelar los permisos que corresponden en vialidad este ítem está coordinado con la empresa contratista.

**2.- Ingreso carpeta servicio de salud:** Este proceso no se puede realizar hasta obtener los certificados del saneamiento básico.

Posterior al trámite antes mencionado, se deben recopilar los documentos para el proyecto de Resolución sanitaria de sala proceso de changle.

Se solicitara documentación cuando esté completamente equipada la sala de changle con lo mencionado anteriormente, para su posterior ingreso na la SEREMI DE SALUD DE IMPERIAL, y obtener la Resolución de Funcionamiento de la sala de proceso.

Ana María Mora Parada

---

Coordinadora y Gestora de Proyectos Sanitarios

## 17. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- Angeles De Ita, M., Aranda, D., Parraguirre Lezama, C., Reyes, J. R. T., Ibañes Martinez, A., & Romero Arenas, O. (2018). *Evaluation of Substrates in the Elaboration of Secondary Inoculum for the Cultivation of Pleurotus ostreatus* (Vol. 12).
- Aprotosoai, A. C., Zavastin, D. E., Mihai, C. T., Voichita, G., Gherghel, D., Silion, M., . . . Miron, A. (2017). Antioxidant and antigenotoxic potential of *Ramaria largentii* Marr & D. E. Stuntz, a wild edible mushroom collected from Northeast Romania. *Food Chem Toxicol*, 108(Pt B), 429-437. doi: 10.1016/j.fct.2017.02.006
- Bala, N., A.B. Aitken, E., Fechner, N., Cusack, A., & Steadman, K. (2011). *Evaluation of antibacterial activity of Australian basidiomycetous macrofungi using a high-throughput 96-well plate assay* (Vol. 49).
- Barros, L., Venturini, B. A., Baptista, P., Estevinho, L. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2008). Chemical Composition and Biological Properties of Portuguese Wild Mushrooms: A Comprehensive Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(10), 3856-3862. doi: 10.1021/jf8003114
- Bermúdez, R. C., García, N., Gross, P., & Serrano, M. (2001). Cultivation of *Pleurotus* on agricultural substrates in Cuba. *Micología Aplicada Internacional*, 13(1), 25-29.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. doi: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343-356. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>
- Damiano, S., Forino, M., De, A., Vitali, L. A., Lupidi, G., & Tagliatela-Scafati, O. (2017). Antioxidant and antibiofilm activities of secondary metabolites from *Ziziphus jujuba* leaves used for infusion preparation. *Food Chem*, 230, 24-29. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.02.141
- Exeter, R., Norvell, L., & Cazares, E. (2006). *Ramaria of the Pacific Northwest*.
- Gaitan-Hernandez, R. S., Dulce; Perez Merlo, Rosalía, Mata, Gerardo. (2009). Evaluación de la eficiencia biológica de cepas de *Pleurotus pulmonarius* en paja de cebada fermentada. *Revista Mexicana de Microbiología*, 30.
- Giri, S., Biswas, G., Pradhan, P., C. Mandal, S., & Acharya, K. (2012). *Antimicrobial Activities of Basidiocarps of Wild Edible Mushrooms of West Bengal, India* (Vol. 4).
- Haraguchi, H., Tanimoto, K., Tamura, Y., Mizutani, K., & Kinoshita, T. (1998). Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. *Phytochemistry*, 48(1), 125-129.
- Heinonsalo, J., Juurola, E., Linden, A., & Pumpanen, J. (2015). Ectomycorrhizal fungi affect Scots pine photosynthesis through nitrogen and water economy, not only through increased carbon demand. *Environmental and Experimental Botany*, 109, 103-112. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.08.008>
- Jofré, I., Pezoa, C., Cuevas, M., Scheuermann, E., Freires, I. A., Rosalen, P. L., . . . Romero, F. (2016). Antioxidant and Vasodilator Activity of *Ugni molinae* Turcz. (Murtilla) and Its Modulatory Mechanism in Hypotensive Response. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 6513416-6513416. doi: 10.1155/2016/6513416
- Khatua, S., Mitra, P., Chandra, S., & Acharya, K. (2015). In Vitro Protective Ability of *Ramaria aurea* Against Free Radical and Identification of Main Phenolic Acids by HPLC. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 21(4), 380-391. doi: 10.1080/10496475.2014.994085

- Kim, Y.-J., & Son, D.-Y. (2011). Antioxidant effects of solvent extracts from the dried jujube (*Zizyphus jujube*) sarcocarp, seed, and leaf via sonication. *Food Science and Biotechnology*, 20(1), 167-173. doi: 10.1007/s10068-011-0023-8
- Li, H. (2017). Extraction, purification, characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Ramaria botrytis* (Pers.) Ricken. *Chem Cent J*, 11, 24. doi: 10.1186/s13065-017-0252-x
- Medina-Rejon, A., Barrionuevo-Gonzalez, A., Zamora-Ros, R., Andres-Lacueva, C., Estruch, R., Martinez-Gonzalez, M. A., . . . Lamuela-Raventos, R. M. (2009). Rapid Folin-Ciocalteu method using microtiter 96-well plate cartridges for solid phase extraction to assess urinary total phenolic compounds, as a biomarker of total polyphenols intake. *Anal Chim Acta*, 634(1), 54-60. doi: 10.1016/j.aca.2008.12.012
- Ohemeng, K. A., Schwender, C. F., Fu, K. P., & Barrett, J. F. (1993). DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones(1). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 3(2), 225-230. doi: [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(01\)80881-7](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(01)80881-7)
- Porebski, S., Bailey, L. G., & Baum, B. R. (1997). Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Molecular Biology Reporter*, 15(1), 8-15. doi: 10.1007/bf02772108
- Roman, M., Velasco. (2000). IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LAS ECTOMICORRIZAS DE QUERCUS ILEX L. SUBSP. BALLOTA (DESF.) SAMP. EN UNA ZONA QUEMADA Y UNA ZONA SIN ALTERAR DEL CARRASCAL DE NAZAR (NAVARRA).
- Romero-Arenas, O., Huerta Lara, M., Damián Huato, M. A., Domínguez Hernández, F., & Arellano Victoria, D. A. (2009). Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XI(2), 143-151.
- Sadi, G., Kaya, A., Yalcin, H. A., Emsen, B., Kocabas, A., Kartal, D. I., & Altay, A. (2016). Wild Edible Mushrooms from Turkey as Possible Anticancer Agents on HepG2 Cells Together with Their Antioxidant and Antimicrobial Properties. *Int J Med Mushrooms*, 18(1), 83-95. doi: 10.1615/IntJMedMushrooms.v18.i1.100
- Téllez Téllez, M., & Talavera Ortiz, A. (2016). Hongos patógenos, especies amigables con el ambiente. 2016, 12(27), 5.
- Terrer, C., Vicca, S., Hungate, B. A., Phillips, R. P., & Prentice, I. C. (2016). Mycorrhizal association as a primary control of the CO<sub>2</sub> fertilization effect. *Science*, 353(6294), 72-74. doi: 10.1126/science.aaf4610
- Toledo, C. V., Barroetavena, C., Fernandes, A., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2016). Chemical and Antioxidant Properties of Wild Edible Mushrooms from Native *Nothofagus* spp. Forest, Argentina. *Molecules*, 21(9). doi: 10.3390/molecules21091201
- Tsuchiya, H., & Iinuma, M. (2000). Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone G isolated from *Sophora exigua*. *Phytomedicine*, 7(2), 161-165. doi: 10.1016/s0944-7113(00)80089-6
- Yang, N.-Y., Tao, W.-W., & Duan, J.-A. (2010). Antithrombotic flavonoids from the faeces of *Trogopterus xanthipes*. *Natural Product Research*, 24(19), 1843-1849. doi: 10.1080/14786419.2010.482057
- Yang, R., Li, S., Qin, Z., Cai, X., Li, X., Christie, P., . . . Gai, J. (2018). Importance of AM fungi and local adaptation in plant response to environmental change: Field evidence at contrasting elevations. *Fungal Ecology*, 34, 59-66. doi: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.04.006>
- Zhou, R., Han, Y. J., Zhang, M. H., Zhang, K. R., Ng, T. B., & Liu, F. (2017). Purification and characterization of a novel ubiquitin-like antitumour protein with hemagglutinating and deoxyribonuclease activities from the edible mushroom *Ramaria botrytis*. *AMB Express*, 7(1), 47. doi: 10.1186/s13568-017-0346-9