

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL GÉNERO AURICULARIA EN ZONAS BOSCOSAS DEL ÁREA OESTE DE PUERTO RICO

por

Paola N. González Colón

Tesis sometida en cumplimiento parcial
Para los requerimientos del grado de

MAESTRÍA en CIENCIAS
en
BIOLOGÍA

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO DE MAYAGUEZ
2018

Sandra L. Maldonado Ramírez, PhD
Presidenta, Comité Graduado

Fecha

Matías J. Cafaro, PhD
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Carlos J. Santos Flores, PhD
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Ana Vélez, MS
Directora Interina, Departamento de Biología

Fecha

Lydia Rivera Vargas, PhD
Representante de Estudios Graduados

Fecha

ABSTRACT

Auricularia is a taxonomically complex genus, which requires the use of traditional techniques such as tissue evaluation and staining for its characterization. These traditional techniques have not been re-evaluated in more than 60 years. The similarity of species and the complexity to find stable characters to identify specimens lead us to analyze and study new morphological features. This taxonomic complexity may lead to misidentification of specimens, due to the lack of a standard methodology and more inclusive taxonomic tools to identify species. In order to contribute to the taxonomy of Auriculariales, specimens of *Auricularia* were collected in forested areas in Sabana Grande, San Sebastián, Rincón, Aguada and Mayagüez, Puerto Rico. Slides from longitudinal cuts were prepared and stained, and specimens were identified using available taxonomic keys. After the morphometric analysis of 197 specimens, these were grouped into 11 morphotypes that could represent new species or variations within the genus. In addition, *Auricularia americana* and the genus *Exidia* are reported for the first time in Puerto Rico, bringing the number of *Auricularia* species reported for Puerto Rico to eight. We propose a new character for the identification of species in the genus *Auricularia*, helping to distinguish *A. peltata*, *A. mesenterica* and *A. americana*.

RESUMEN

Auricularia es un género taxonómicamente complejo, que requiere el uso de técnicas tradicionales como la evaluación de tejidos y tinciones, para la caracterización de especies. Estas técnicas tradicionales no han sido reevaluadas hace más de 60 años. La similitud entre las especies y la complejidad de encontrar caracteres estables para identificar especímenes nos lleva a estudiar y analizar caracteres morfológicos. Esta complejidad taxonómica pudiera llevar a identificaciones erróneas por la falta de una metodología estándar y herramientas taxonómicas más inclusivas para la identificación de especies. Para contribuir a la taxonomía de los Auriculariales, especímenes de *Auricularia* fueron colectados en áreas boscosas en los municipios de: Sabana Grande, San Sebastián, Rincón, Aguada y Mayagüez, Puerto Rico. Se prepararon laminillas de cortes longitudinales de tejidos y se identificaron los especímenes utilizando claves taxonómicas disponibles. Después del análisis morfométrico de 197 especímenes, pudimos identificar un 94% de los especímenes colectados y un 6% fueron agrupados en 11 morfotipos que pueden representar especies nuevas o variaciones dentro del género. En adición se reporta por primera vez en Puerto Rico *Auricularia americana* y *Exidia* spp., aumentando el número de especies reportadas para Puerto Rico a ocho. Proponemos un nuevo carácter para la identificación de especies dentro del género *Auricularia*, ayudando a distinguir *A. peltata*, *A. mesenterica* y *A. americana*.

.

© Paola Nicole González Colón 2018

DEDICATORIA

A mis padres, Paula Colón y Edgardo González, por darme la oportunidad de educarme y ser mejor persona. A mi amor, Reinaldo Marrero Benítez, por su apoyo, su amor y compañía durante estos años de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A Sandra L. Maldonado, por su mentoría y proveer los materiales e instrumentos necesarios para realizar la investigación. A Carolyn Rivera, por facilitar el microscopio y facilidades de laboratorio. Al Departamento de Biología, por darme la oportunidad de crecer profesionalmente. A Matías Cafaro y Carlos Santos, por sus correcciones y consultas. A Hernán Torres Pratts, por el diseño estadístico y la preparación de la clave taxonómica. A Reinaldo Marrero, por su compañía, amor, apoyo y colaboración en la colecta de especímenes. A mis amigos, Gualberto Rosado, Zuleimary Vélez y Jacob López, por la amistad y el apoyo en esta trayectoria.

A las estudiantes subgraduados que ayudaron en la preparación de muestras, medidas, cortes de los especímenes: Bryan Padua, Stephanie Fumero y Érica Sánchez.

TABLA DE CONTENIDO

ABSTRACT.....	II
RESUMEN.....	III
DEDICATORIA.....	V
AGRADECIMIENTOS.....	VI
LISTA DE TABLAS	IX
LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XII
CAPÍTULO 1- INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 2- OBJETIVOS.....	4
CAPÍTULO 3- REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
CAPÍTULO 4- METODOLOGÍA.....	8
4.1 DESCRIPCIÓN DE LAS ÁREAS DE COLECTA.....	8
4.2 COLECTA DE HONGOS	9
4.3 CORTES A MANO LIBRE E IDENTIFICACIÓN DE ESPECÍMENES.....	10
4.4 DESCRIPCIÓN DE LA ANATOMÍA INTERNA DEL BASIDIOCARPO.....	10
4.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	12
CAPÍTULO 5- RESULTADOS	13
5.1 TAXONOMÍA LOS ESPECÍMENES ESTUDIADOS	13
5.2 NUEVA CLAVE TAXONÓMICA PARA ESPECÍMENES DE <i>AURICULARIA</i> COLECTADOS EN EL ÁREA OESTE DE PUERTO RICO	17
5.3 HOJA DE DATOS PARA <i>AURICULARIA</i>	18
5.4 REVISIÓN DE LITERATURA DE LAS CLAVES TAXONÓMICAS UTILIZADAS LOWY, 1951, KOBAYASHI, 1987, MONTOYA <i>ET AL.</i> 2011 & LOONEY <i>ET AL.</i> 2013.....	20
5.5 COMPARACIÓN DE DESCRIPCIONES DE ESPECIES DEL GÉNERO <i>AURICULARIA</i> POR LOS AUTORES LOWY, 1951, KOBAYASHI, 1987, MONTOYA <i>ET AL.</i> 2011 & LOONEY <i>ET AL.</i> 2013.....	23
5.6 IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE <i>AURICULARIA</i>	27

5.7 CARÁCTER DE PIGMENTACIÓN EN ETANOL AL 70%. VARIACIONES EN COLOR, SIN EMBARGO, LAS TONALIDADES ROJO Y ÁMBAR SON IMPORTANTES.....	28
5.8. ESPECÍMENES REPRESENTATIVOS DE LAS OCHO ESPECIES DE <i>AURICULARIA</i> REPORTADAS EN ESTE ESTUDIO.....	29
5.9 ESPECÍMENES DESCONOCIDOS.....	33
5.10 DESCRIPCIÓN DE <i>EXIDIA</i> SPP.....	39
CAPÍTULO 6- DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	40
CAPÍTULO 7- RECOMENDACIONES	45
LITERATURA CITADA	46

LISTA DE TABLAS

Tabla 5-1 Revisión de literatura de publicaciones comúnmente utilizadas para la identificación de especies de <i>Auricularia</i>	18
Tabla 5-2. Comparación de descripciones entre las especies de <i>Auricularia</i> reportadas en este estudio.....	21
Tabla 5-3. Especímenes de <i>Auricularia</i> identificadas en este trabajo para todas las áreas de colecta.....	25
Tabla 5-4. Especímenes identificados según Montoya <i>et al.</i> [2011], debido a que, estos autores utilizaron agua destilada para trabajar sus especímenes.....	28
Tabla 5-5. Detalles del basidiocarpo y anatomía interna de los especímenes que no pudieron ser identificados con las claves taxonómicas disponibles incluyendo la clave taxonómica propuesta en este estudio.....	33
Tabla 5-6: Caracterización macroscópica de los especímenes no identificados con la clave taxonómica propuesta en este estudio.....	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 4-1. Mapa de Puerto Rico indicando las zonas en donde se colectaron los especímenes de <i>Auricularia</i> para este trabajo investigativo.....	8
Figura 4-2. Basidiocarpos frescos de <i>Auricularia</i>	9
Figura 4-3. Descripción de zonas de la anatomía interna del basidiocarpo del hongo <i>Auricularia</i> . [Gonzalez-Colon & Maldonado-Ramírez, 2017].....	11
Figura 5-1. Hoja de caracterización para especies de <i>Auricularia</i>	19
Figura 5-2. Localidades en donde se encuentran las especies reportadas en este estudio en zonas boscosas del área oeste de Puerto Rico incluyendo lugar en donde se encuentran las especies desconocidas.....	27
Figura 5-3. Tonalidades de pigmentos solubles en etanol 70%, donde A, no tiene pigmento; B-E son tonalidades de ámbar; F-O tonalidades de rojo.....	28
Figura 5-4. Basidiocarpo de <i>Auricularia delicata</i> . A: Zona pilosa y B: Himenóforo.....	29
Figura 5-5. <i>A. fuscusuccinea</i> Basidiocarpo A: Zona Pilosa. B: Himenóforo. C: Foto en magnificación 10x. D: Tricomas, en magnificación 40x.....	29
Figura 5-6. <i>A. cornea</i> Basidiocarpo A: Zona Pilosa B: Himenóforo.. C: Foto en magnificación 4x. D: Tricomas, en magnificación 40x.....	30
Figura 5-7. <i>A. ornata</i> Basidiocarpo A: Zona Pilosa. B: Himenóforo. C: Foto en magnificación 10x. D: Tricomas, en magnificación 40x.....	30
Figura 5-8. <i>A. peltata</i> Basidiocarpo A: Zona Pilosa. B: Himenóforo. C: Foto en magnificación 10x. D: Tricomas, en magnificación 40x.....	31
Figura 5-9. <i>A. polytricha</i> Basidiocarpo A: Zona Pilosa. B: Himenóforo. C: Foto en magnificación 4x D: Tricomas, en magnificación 40x.....	31
Figura 5-10. <i>A. americana</i> Basidiocarpo A: Zona Pilosa. B: Himenóforo. C: Foto en magnificación 10x. D: Tricomas, en magnificación 40x.....	32
Figura 5-11. <i>A. mesenterica</i> Basidiocarpo A: Zona Pilosa. B: Himenóforo. C: Foto en magnificación 10x. D: Tricomas, en magnificación 40x.....	32
Figura 5-12. Anatomía interna del espécimen desconocido M7. A: Foto anatomía interna en magnificación 10x, B: Tricomas, en magnificación 40x.....	35
Figura 5-13. Anatomía interna del espécimen desconocido R56. A: Foto anatomía interna en magnificación 10x, B: Tricomas, en magnificación 40x.....	35
Figura 5-14. Anatomía interna del espécimen desconocido R66. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.....	35
Figura 5-15. Anatomía interna del espécimen desconocido R83. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.....	36
Figura 5-16. Anatomía interna del espécimen desconocido R88. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.....	36
Figura 5-17. Anatomía interna del espécimen desconocido R89. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.....	36
Figura 5-18. Anatomía interna del espécimen desconocido R100. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.....	37
Figura 5-19. Anatomía interna del espécimen desconocido R114. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.....	37

Figura 5-20. Anatomía interna del espécimen desconocido R131. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.....	37
Figura 5-21. Anatomía interna del espécimen desconocido G5. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.....	38
Figura 5-22. Anatomía interna del espécimen desconocido G19. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.....	38
Figura 5-23. Muestra dos posibles especies de <i>Exidia</i> , donde A, sería la especie 1 y B, especie 2.....	39
Figura 5-24. <i>Exidia</i> spp. en sustrato, madera en descomposición (A & B). Lugar de colecta: Gozalandia, San Sebastián, Puerto Rico.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS

P: Zona Pilosa (promedio)

C: Zona Compacta

SSC: Zona Superior Subcompacta

INL: Zona Intermedia

SL: Zona Superior Laxa

M: Médula

IL: Zona Inferior Laxa

ISC: Inferior Subcompacta

H: Himenio

CAPÍTULO 1 - INTRODUCCIÓN

Los hongos tienen un rol ecológico importante como descomponedores, contribuyendo al mantenimiento de los bosques y estableciendo relaciones simbióticas con la comunidad forestal que los rodea. Además, pertenecen a diversas cadenas tróficas y pueden servir de hábitat a otros organismos, como los insectos [Osorio, 2013], lo que los hace importantes para la supervivencia de éstos. Dentro del Reino Fungi se reconoce el Filo Basidiomycota, al cual pertenecen la mayoría de los hongos comestibles como las setas y otros como los Auriculariales. En este orden se incluyen hongos con distintos roles ecológicos y económicos como *Auricularia* y *Exidia*.

Auricularia es un género de hongos comestibles, cosmopolita y saprofítico, asociado normalmente a madera en descomposición. La mayoría de las especies son predominantes en el trópico [Malysheva & Bulakh, 2014]. Este género, produce diversos polisacáridos con propiedades antitumorales, antivirales, antiparasíticas y antibacteriales, por lo cual se le atribuye importancia económica y medicinal [Du et al., 2011; Bandara et al., 2015] con gran potencial de desarrollo y explotación comercial. El género *Auricularia* fue descrito por Bulliard en 1785 [Malysheva & Bulakh, 2014] y desde entonces se han descrito más de 100 especies. Minter et al., [2001] reportaron 6 especies de *Auricularia* hasta ese año para Puerto Rico, incluyendo a *A. delicata*, *A. fuscusuccinea*, *A. mesenterica*, *A. auricula*, *A. cornea* y *A. peltata*. Sin embargo, en páginas cibernéticas, que llevan registros de hongos en Puerto Rico, se han reportado 7 especies: *A. delicata*, *A. fuscusuccinea*, *A. mesenterica*, *A. polytricha*, *A. auricula*, *A. cornea*, *A. peltata* [Cybertruffle, 2006; Basidiomycetes Greater Antilles, n.d.]. Se entiende que estas especies son comunes en la isla, sin embargo; para Puerto Rico no se ha reportado ningún trabajo investigativo donde se analicen y comparen especies de *Auricularia* y así reevaluar y documentar

los cambios, si alguno, en el número de especies reportadas para Puerto Rico desde el informe de Minter *et al.* [2001].

Según datos disponibles en *Species Fungorum*, existen aproximadamente 160 especies de *Auricularia* publicadas válidamente en distintas partes del mundo. Sin embargo, se desconoce el número exacto de especies debido a la inestabilidad de los caracteres que se han usado hasta el momento y las discrepancias en medidas y características de especímenes [Lowy, 1951; Lowy 1952; Kobayashi, 1987; Montoya *et al.* 2011; Looney *et al.* 2013; Bandara *et al.* 2015 & Bandara *et al.* 2017].

El problema taxonómico que detectamos en el género *Auricularia*, reside en que actualmente no hay disponible una clave taxonómica universal, que utilice caracteres estables representativos de la mayoría de las especies descritas. Por ejemplo, la clave de Lowy [1951] y las claves taxonómicas recientes de Montoya *et al.* [2011] & Looney *et al.* [2013] solo permiten identificar especímenes comunes en sus respectivas áreas de estudio, Colombia y el sureste de Estados Unidos, respectivamente.

Han transcurrido más de 65 años sin una revisión de las descripciones publicadas de *Auricularia*, lo cual pudo haber contribuido a la falta de reportes de ciertas especies y a descubrir quizás complejos de especies como el de *Auricularia auricula-judae* [Wu *et al.*, 2015] y la descripción de nuevas especies como *A. thailandica* [Bandara *et al.*, 2015]. El problema taxonómico nos ha limitado en el número de especies conocidas y/o reportadas realmente para Puerto Rico por la falta de estudios y claves taxonómicas más inclusivas o por haber identificado erróneamente las especies reportadas.

La presente investigación se concentró en comparar morfológicamente especímenes del género *Auricularia* en zonas boscosas del área oeste de Puerto Rico. Esto se realizó para

contribuir a su taxonomía, pues es un grupo complejo y requiere el uso de técnicas morfológicas y la confirmación de especies por técnicas moleculares para su identificación [*Malysheva & Bulakh*, 2014]. Además, para facilitar la documentación de caracteres morfológicos y ecológicos durante la investigación, se creó una hoja detallada de datos [*González-Colón & Maldonado-Ramírez*, 2017] para *Auricularia*.

CAPÍTULO 2- OBJETIVOS

Esta investigación tuvo como objetivo principal determinar el número de especies de *Auricularia* en el área oeste de Puerto Rico, haciendo uso de la caracterización morfológica de los especímenes para:

1. crear una hoja de datos que facilitara la documentación de características morfológicas y ecológicas.
2. llevar a cabo un análisis morfológico de los especímenes colectados comparándoles con las especies documentadas en la literatura científica.
3. diseñar una clave taxonómica que facilitara la identificación de los especímenes colectados durante el periodo de estudio.

CAPÍTULO 3 - REVISIÓN DE LITERATURA

Existe una gran cantidad de hongos pertenecientes al filo Basidiomycota, entre ellos el orden Auriculariales, establecido por Schröter en 1889 [Zhou & Dai, 2013]. Anteriormente, la taxonomía del orden *Auriculariales* incluía 5 familias: *Auriculariaceae*, *Exidiaceae*, *Sebacinaceae*, *Aporpiaceae* y *Hyaloriaceae* [Weis & Oberwinkler, 2001]. Actualmente, según Zhou & Dai [2013], este orden incluye 7 familias: *Aporpiaceae*, *Auriculariaceae*, *Exidiaceae*, *Hyaloriaceae*, *Sebacinaceae*, *Patouillardinaceae* y *Tremellodendropsidaceae*, con 30 géneros y 200 especies descritas [Hibbet et al. 2014]. Hibbet et al. [2014] indica que todas las especies de Auriculariales reportadas son causantes de pudrición blanca (*white rot*), ya que son capaces de degradar componentes de la lignocelulosa. La mayoría de los Auriculariales tiene basidias balitospóricas, sin embargo, *Auricularia* presenta basidias transversales [Hibbet et al. 2014]. Para clasificar a los *Auriculariales* se utilizan estructuras, como el aparato del poro septal (mediante microscopía electrónica de transmisión), al igual que datos ecológicos [Zhou & Dai, 2013].

La identificación y clasificación del género *Auricularia* [Lowy, 1951 1952; Kobayashi, [1987]; Montoya et al. [2011]; Looney et al. [2013];;Bandara et al. 2015, 2017] utilizan mayormente características morfológicas, como (1) el color de los tricomas, aunque no se lo considera un carácter taxonómico estable, pues varía dependiendo de su exposición a la luz y la edad del espécimen [Lowy 1951], (2) tamaño de los tricomas, (3) tamaño de la médula y otros caracteres. Por esta razón Lowy [1951] propuso utilizar la anatomía interna o zonas del basidiocarpo observadas cuando se realiza un corte longitudinal del mismo. Aun así, Looney et al. [2013] utilizó el carácter del color de los tricomas a nivel microscópico utilizando la homogenización o no del color en los mismos.

Algunas similitudes morfológicas en tamaño de zonas de la anatomía interna, forma y color del espécimen entre especies del género *Auricularia*, muestran la necesidad del uso de técnicas moleculares y métodos morfológicos más precisos para la identificación correcta de estos hongos [Looney *et al.* 2013], para evitar identificaciones erróneas. Sin embargo, antes de hacer un análisis molecular se necesita un análisis morfológico detallado para proponer los caracteres taxonómicos estables, de esta manera se estarían reevaluando las descripciones de especies de este género que lleva más de 60 años sin revisar y carece de trabajos investigativos base para muchas regiones. Como posible solución a las similitudes morfológicas entre dos o más especies, Looney *et al.* [2013] propusieron un nuevo carácter taxonómico, la esquisomédula, debido a las similitudes morfológicas de *A. subglabra* y *A. scissa* con *A. delicata*. Éstos concluyeron que los caracteres taxonómicos como retículos y la superficie himenial medular no son caracteres morfológicos únicos de *A. delicata*. Por esta razón, se estima necesaria la técnica molecular para una identificación correcta de las especies.

Se observa, además, inconsistencia con el método de preparación de laminillas semi-permanentes para la evaluación de caracteres microscópicos importantes en los cortes de tejido. Esta inconsistencia en la preparación de laminillas provee diversas identificaciones para los especímenes, pues las claves de identificación no especifican cuáles fueron los tintes y/o técnicas específicas utilizadas. Por ejemplo, Wu *et al.* [2015] presentaron el complejo de especies de *A. auricula-judae*, luego de realizar los cortes con especímenes secos y sus laminillas fueron preparadas utilizando KOH 5%, lactofenol con azul de algodón y Congo Red. Bandara *et al.* [2015] & Bandara *et al.* [2017] presentaron especies nuevas, como *A. thailandica* y *A. asiatica*, evaluando cortes con especímenes secos y laminillas preparadas en agua destilada. En el caso de

Montoya et al. [2011], estos realizaron los cortes con especímenes de Colombia rehidratados en alcohol y agua y sus laminillas fueron preparadas en agua, Congo Red y KOH 5%. *Looney et al.* [2013] realizaron cortes con especímenes secos y sus laminillas fueron preparadas en KOH 5%. Sin embargo, Lowy, [1951] quien propuso el uso de la anatomía interna del basidiocarpo como carácter taxonómico, no indica la forma en que trabajó sus especímenes. La diversidad de métodos que se utilizan para la preparación de tejidos podría estar afectando la capacidad de evaluar los especímenes y detectar caracteres estables en especímenes de *Auricularia*. Kobayasi, [1981] sugirió una reexaminación de especímenes para asegurar su identificación, pues las especies de *Auricularia* pueden producir híbridos fácilmente. Ante tantas discrepancias es necesario estandarizar la metodología para tratar los especímenes de la misma forma y poder contribuir correctamente a la taxonomía de este género.

CAPÍTULO 4- METODOLOGÍA

4.1 Descripción de las áreas de colecta

Se colectaron aleatoriamente especímenes maduros representativos de *Auricularia* en zonas boscosas de Puerto Rico: Bosque Susúa, Sabana Grande, (N 18°4'12" W -66° 54' 21") (representados por la letra "S - # de muestra"), área boscosa de Biología, RUM, Mayagüez, (N 18° 12'48" W -67° 8'18") (representados por la letra "M - # de muestra"), Gozalandia, San Sebastián (N 18° 21'40" W -66° 59' 0.47") (representados por la letra "G - # de muestra"), Aguada (N 18° 21'33" W -67° 8' 26") (representados con la letra "A- # de muestra") y Rincón (N 18° 19'0" W -67° 13' 5") (representados con la letra "R - # de muestra"). Las muestras de *Exidia* se colectaron en Gozalandia, San Sebastián, (N 18° 21'40" W -66° 59' 0.47").

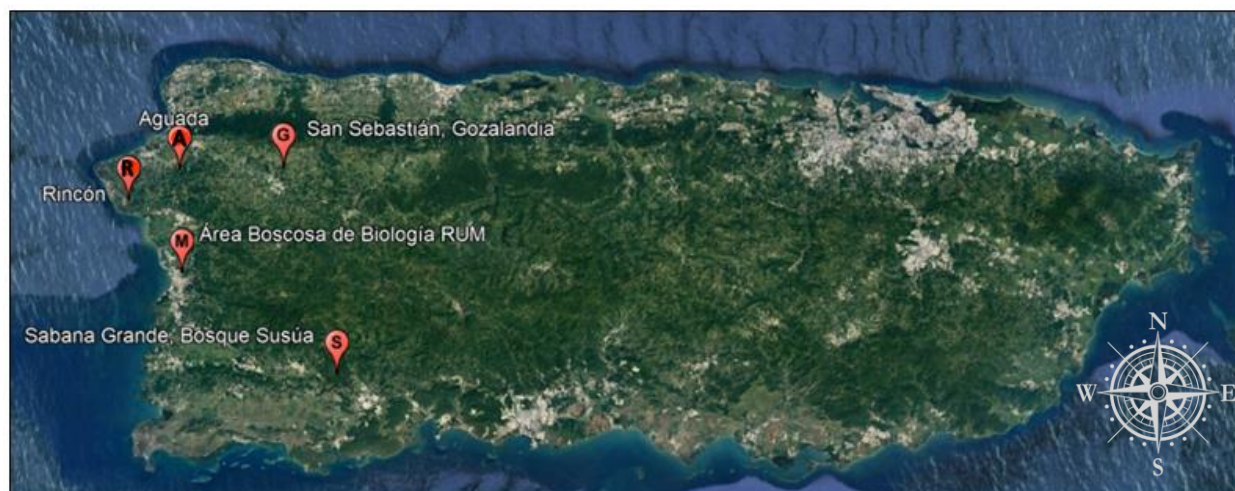


Figura 4-1. Mapa de Puerto Rico indicando las zonas en donde se colectaron los especímenes de *Auricularia* para este trabajo investigativo.

4.2 Colecta de hongos

Se colectaron 197 especímenes del género *Auricularia* [Fig. 4-2] de manera aleatoria en las zonas indicadas anteriormente, utilizando el protocolo recomendado por Lodge *et al.* [2004] para la recolección de hongos macroscópicos. Se utilizó una navaja para retirar el basidiocarpo completo del sustrato y las muestras se colocaron en bolsas de papel traza, y se secaron en un horno a 150°F por 24 horas (de no trabajarse el día de la colecta). Para facilitar la documentación de características morfológicas, se diseñó una hoja de datos [González-Colón & Maldonado-Ramírez, 2017] que incorpora elementos importantes de identificación según Lowy, [1951], Montoya *et al.* [2011] y Looney *et al.* [2013]. En la hoja se documentan datos de campo como medidas de los basidiocarpos, sustrato, características del himenóforo y zona pilosa, entre otras. También se documentaron las características de los especímenes frescos mediante fotografías digitales. Luego de trabajar los especímenes, éstos fueron preservados en frascos de cristal con etanol 70% en el congelador (0°C).



Figura 4-2. Basidiocarpos frescos de *Auricularia* en madera en descomposición en Mayagüez, P.R.

4.3 Cortes a mano libre e identificación de especímenes

Se prepararon laminillas semi-permanentes con lactofenol sin azul de algodón. Los cortes a mano libre se realizaron longitudinalmente en especímenes rehidratados en agua, que estaban preservados en etanol al 70% en un congelador. Se midió la longitud de 20 tricomas en 40x en un microscopio de luz Nikon Eclipse E200, para utilizar el promedio de los tricomas para identificar los especímenes con las claves taxonómicas publicadas, mientras que las otras zonas, médula, por ejemplo, se midieron en magnificación 10x, según sugiere *Looney et al.* [2013]. Los datos se documentaron en la hoja de datos [González-Colón & Maldonado-Ramírez, 2017], para comparar las características con las descripciones en las claves taxonómicas de Lowy [1951] y *Looney et al.* [2013]. Los cortes realizados se fotografiaron con una cámara Nikon DS-13.

4.4 Descripción de la anatomía interna del basidiocarpo

Según Lowy [1951] las descripciones de la anatomía interna del basidiocarpo de *Auricularia* incluyen: la *zona pilosa* o zona estéril, que se encuentra en la parte superior del basidiocarpo y puede variar en color y tamaño, depende de la especie y la exposición a la luz; *zona compacta* que se encuentra en todas las especies y de donde provienen los tricomas; *zona subcompacta superior*, donde las hifas están menos compactas y, generalmente, es perpendicular a la superficie; *zona laxa superior*, que solo está presente en especies que tienen médula; *médula*, en las especies que la presentan es bien característica, localizada comúnmente en el centro del basidiocarpo, se puede distinguir por el pigmento (si alguno) y las hifas completamente paralelas; *zona laxa intermedia*, presente solamente en especies carentes de médula, por tanto, es el tejido entre medio de la zona compacta superior y zona compacta inferior; *zona laxa inferior*,

al igual que la zona laxa superior, está presente en especies con médula y la parte inferior a la médula; *zona subcompacta inferior*, zona que aparece justo antes del himenio; e *himenio*, tejido reproductivo denso usualmente bien pigmentado en la parte inferior del basidiocarpo, donde están las basidias [Fig. 4-3]. Las especies que tienen médula se reconocen como Tipo A y tienen ocho zonas. Sin embargo, las especies que carecen de médula tienen seis zonas y pertenecen al Tipo B.

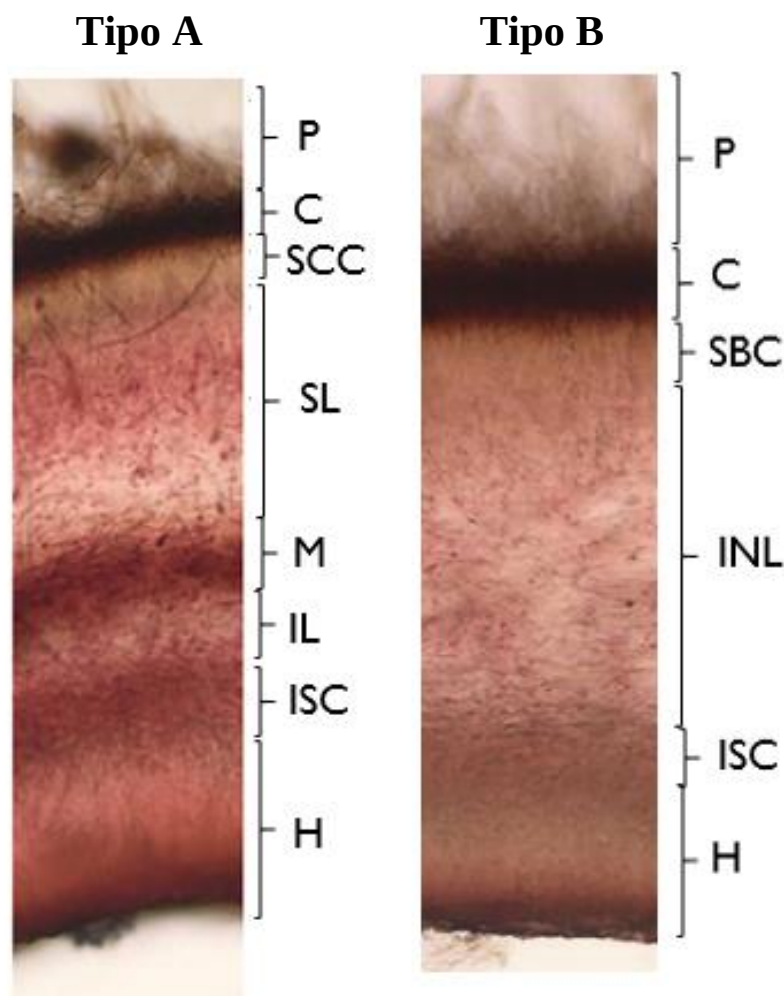


Figura 4-3. Descripción de zonas de la anatomía interna del basidiocarpo del hongo *Auricularia*. [González-Colón & Maldonado-Ramírez, 2017]

4.5 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa Excel ® (Microsfot Office 365) se creó una matriz y se segregaron los caracteres dándoles a cada uno estados entre 0 y 5, caracteres que tenían más estados no fueron considerados como un carácter estable.

CAPÍTULO 5- RESULTADOS

5.1 Taxonomía de los especímenes estudiados

Con los datos documentados de los especímenes colectados se identificó un 94% de los mismos. De estos se realizó la descripción representativa de siete especies que siguen a continuación. Debido a la dificultad para obtener cortes longitudinales del basidiocarpo de *A. delicata*, no se presentan medidas de la anatomía interna del espécimen. Sin embargo, las características macroscópicas del espécimen fueron suficientes para su identificación. *A. delicata* ha sido reportada en países como: Puerto Rico (Florida, Guánica, Mayagüez, Peñuelas, Río Grande y San Germán), Islas Vírgenes Americanas, Cuba, República Dominicana, Haití, Jamaica, Colombia, Trinidad y Tobago [Minter, 2001]. África [Lowy, 1952].

A. cornea **Ehrenb, 1820**

Colectado en: Mayagüez.

Sustrato: Madera en descomposición

Colector: Paola González

Basidiocarpo: Tiene pigmentación de tonalidad roja [Fig. 5-3] en etanol 70%. Textura del himenóforo con pliegues. Margen uniforme. El basidiocarpo puede variar entre 20-82mm de largo y 23-127mm de ancho. El himenóforo pudiera tener los siguientes colores: *Dark Grayish Brown*, Gris Oscuro, Negro, *Reddish Black*, *Dark Reddish Brown*, *Very Dark Brown* y Marrón Oscuro [Munsell, 2000]. Los tricomas pudieran presentar los siguientes colores: Negro, *Dark Grayish Brown*, Marrón, *Yellowish Brown*, *Very Dark Brown*, *Dark Yellowish Brown* [Munsell, 2000].

Características Internas: Zona Pilosa: 147 μm , Zona Compacta: 24 μm , Zona Sub Compacta: 30 μm , Zona Superior Laxa: 269 μm , Médula: 145 μm , Zona inferior laxa 181 μm , Zona Inferior Subcompacta: 124 μm y el Himenio: 108 μm

Distribución: Bahamas, Cuba, República Dominicana, Haití, Jamaica, Monserrat, Santa Lucía, Puerto Rico (Lares, Las Marías, Luquillo, Mayagüez y Río Grande), Trinidad y Tobago [Minter 2001]. Asia [Looney *et al.* 2013]. China, Hawaii [Lowy, 1952].

A. fuscosuccinea (Mont.) Henn. 1893

Colectado en: Mayagüez, Rincón y Sabana Grande.

Sustrato: Madera en descomposición

Colector: Paola González, Reinaldo Marrero y Catherine Osorio

Basidiocarpo: Tiene pigmentación de tonalidad roja [Fig. 5-3] en etanol 70%. Textura del himenóforo lisa. Margen liso. El basidiocarpo puede variar entre 16-62mm de largo y 17-79mm de ancho. El himenóforo pudiera tener los siguientes colores: *Dark Grayish Brown*, Gris Oscuro, Negro, *Reddish Black*, *Dark Reddish Brown*, *Very Dark Brown*, *Very Dusky Red*, *Very Dark Gary*, *Very Dark Grayish Brown* y Marrón Oscuro [Munsell, 2000]. Los tricomas pudieran presentar los siguientes colores: Negro, *Dark Grayish Brown*, Marrón, Marrón Oscuro, *Dark Brown*, *Very Dark Brown*, *Grayish Brown*, *Very Dark Grayish Brown*, *Dark Yellowish Brown* [Munsell, 2000].

Características Internas: Zona Pilosa: 31-94 µm, Zona Compacta: 27-41 µm, Zona Sub Compacta: 35-178 µm, Zona Superior Laxa: 92-375 µm, Médula: 45-135 µm, Zona Inferior Laxa 65-179 µm, Zona Inferior Subcompacta: 67-152 µm y el Himenio: 64-179 µm.

Distribución: Cuba, República Dominicana, Haití, Jamaica, Puerto Rico (Aguas Buenas, Isabela, Luquillo, Mayagüez, San Juan y Río Grande), Trinidad y Tobago [Minter 2001]. Las Américas desde Tennessee hasta Argentina, Asia, Oceanía [Looney *et al.* 2013; Lowy, 1952]]

A. peltata Lloyd 1922

Colectado en: San Sebastián.

Sustrato: Madera en descomposición

Colector: Reinaldo Marrero

Basidiocarpo: No tiene pigmentación en etanol 70% [Fig. 5-3]. Textura del himenóforo lisa. Margen liso. El basidiocarpo puede tener 16mm de largo y 24mm de ancho. El himenóforo puede ser de color marrón [Munsell, 2000] al igual que los tricomas.

Características Internas: Zona Pilosa: 161 µm, Zona Compacta: 42 µm, Zona Sub Compacta: 88 µm, Zona Intermedia: 816 µm, Zona Inferior Subcompacta: 155 µm y el Himenio: 105 µm.

Distribución: Puerto Rico (Naguabo) [Minter, 2001]. Africa, China, India, Panamá y Filipinas [Lowy, 1952].

A. polytricha sin. *A. nigricans* (Mont.) Sacc. 1885

Colectado en: Mayagüez, Rincón y San Sebastián

Sustrato: Madera en descomposición

Colector: Paola González y Reinaldo Marrero

Basidiocarpo: Tiene pigmentación de tonalidad roja [Fig. 5-3] en etanol 70%. Textura del himenóforo lisa. Margen liso. El basidiocarpo puede variar entre 1-72mm de largo y 0.9-91mm de ancho. El himenóforo pudiera tener los siguientes colores: Negro, *Reddish Black*, *Very Dark Red*, Marrón Oscuro, *Dark Reddish Brown*, *Very Dark Brown*, *Dark Yellowish*, *Very Dark Grayish Brown* y Marrón [Munsell, 2000]. Los tricomas pudieran presentar los siguientes colores: Negro, *Very Dark Brown*, *Very Grayish Brown*, Marrón Oscuro, *Dark Yellowish Brown*, Marrón, *Grayish Brown*, *Light Olive Brown*, *Yellowish Brown* [Munsell, 2000].

Características Internas: Zona Pilosa: 208-458 µm, Zona Compacta: 36-73 µm, Zona Sub Compacta: 27-125 µm, Zona Superior Laxa: 83-314 µm, Médula: 194-481 µm, Zona Inferior Laxa 54-239 µm, Zona Inferior Subcompacta: 44-111 µm y el Himenio: 38-97 µm.

Distribución: Colombia, Sureste de Estados Unidos [Looney *et al.* 2013]. Puerto Rico, Centro de Estados Unidos, República Dominicana, Cuba, América Central, América del Sur, África, Australia y China [Lowy, 1952].

A. americana Parmasto & I. Parmasto ex Audet, Boulet & Sirard 2003

Colectado en: Rincón

Sustrato: Madera en descomposición

Colector: Paola González y Reinaldo Marrero

Basidiocarpo: Tiene pigmentación de tonalidad roja [Fig. 5-3] en etanol 70%. Textura del himenóforo lisa. Margen liso. El basidiocarpo puede variar entre 34-41mm de largo y 43-48mm de ancho. El himenóforo pudiera tener los siguientes colores: *Very Dark Brown* y *Reddish Black* [Munsell, 2000]. Los tricomas pudieran presentar los siguientes colores: Marrón Oscuro y *Very Dark Brown* [Munsell, 2000].

Características Internas: Zona Pilosa: 66-68 µm, Zona Compacta: 31-44 µm, Zona Sub Compacta: 113-133 µm, Zona Intermedia 420-622 µm, Zona Inferior Subcompacta: 163-176 µm y el Himenio: 80-88 µm.

Distribución: Sureste de Estados Unidos, México [Looney *et al.* 2013] y Puerto Rico reportado por primera vez en este estudio.

***A. mesenterica* (Dicks.) Pers. 1822**

Colectado en: Rincón

Sustrato: Madera en descomposición

Colector: Paola González y Reinaldo Marrero

Basidiocarpo: Tiene pigmentación de tonalidad ámbar [Fig. 5-3] en etanol 70%. Textura del himenóforo lisa. Margen lobulado. El basidiocarpo puede variar entre 25-41mm de largo y 27-52mm de ancho. El himenóforo pudiera tener los siguientes colores: Marrón y *Very Dark Brown* [Munsell, 2000]. Los tricomas pudieran presentar los siguientes colores: Negro y *Very Dark Brown* [Munsell, 2000].

Características Internas: Zona Pilosa: No data, Zona Compacta: 57 µm, Zona Sub compacta: 97 µm, Zona Intermedia 441 µm, Zona Inferior Subcompacta: 107 µm y el Himenio: 83 µm.

Distribución: Cuba, República Dominicana, Haití, Jamaica, Grenada, Puerto Rico (Lajas, Luquillo, San Juan y Rio Grande), Trinidad y Tobago [Minter 2001]. Europa, Asia, Australia, Sureste de Estados Unidos [Looney *et al.* 2013]. África [Lowy, 1952].

***A. ornata* Pers. 1827**

Colectado en: Mayagüez y Rincón.

Sustrato: Madera en descomposición

Colector: Paola González y Reinaldo Marrero

Basidiocarpo: Tiene pigmentación de tonalidad ámbar [Fig. 5-3] en etanol 70%. Textura del himenóforo en pliegues. Margen lisa. El basidiocarpo puede variar entre 23-51mm de largo y 17-66mm de ancho. El himenóforo pudiera tener los siguientes colores: *Reddish Black*, Marrón Oscuro y *Dark Yellowish Brown* [Munsell, 2000]. Los tricomas pueden ser de color *Very Dark Brown* [Munsell, 2000].

Características Internas: Zona Pilosa: 422 µm, Zona Compacta: 146µm, Zona Sub Compacta: 155 µm, Zona Intermedia 1631 µm, Zona Inferior Subcompacta: 217 µm y el Himenio: 104µm.

Distribución: Filipinas, Islas del Pacífico [Lowy, 1952]. Puerto Rico [Cybertruffle, 2006]

5.2 Nueva clave taxonómica para los especímenes de *Auricularia* colectados en el área oeste de Puerto Rico

Luego de evaluar los caracteres documentados, se diseñó una clave taxonómica para la identificación de *Auricularia* en el área oeste de Puerto Rico. La clave taxonómica incorpora los caracteres más estables e importantes según claves publicadas por otros autores y el análisis de nuestros especímenes. Incluye la adición de un carácter que detectamos que se mantiene estable, aun en especímenes de herbario. Este carácter que se propone aquí como uno estable es la presencia de pigmento en etanol al 70%.

Clave taxonómica para identificar especies de *Auricularia* en el área oeste de Puerto Rico

- 1a. Especímen en etanol 70% no libera pigmento con textura y margen liso *A. peltata*
- 1b. Especímen en etanol 70% libera pigmento.....2
- 2a. Textura del basidiocarpo rugosa.....3
- 2b. Textura del basidiocarpo suave..... 4
- 3a. Arreglo del himenóforo reticulado..... *A. delicata*
- 3b. Arreglo del himenóforo con pliegues.....4
- 4a. Margen del basidiocarpo irregular.....5
- 4b. Margen del basidiocarpo liso.....6
- 5a. Margen uniforme..... *A. cornea*
- 5b. Margen lobulado..... *A. mesenterica*
- 6a. Ausencia de médula en la anatomía interna del basidiocarpo7
- 6b. Presencia de médula en la anatomía interna del basidiocarpo.....8
- 7a. El promedio de 20 tricomas menor de 100µm..... *A. americana*
- 7b. El promedio de 20 tricomas mayor de 500µm..... *A. ornata*
- 8a. Medida de la médula menor de 150µm.....*A. fuscosuccinea*
- 8b. Medida de la médula mayor de 150µm.....*A. polytricha*

5.2 Hoja de datos para *Auricularia*

Con el propósito de facilitar la caracterización de especímenes se diseñó la hoja de datos en la Figura 5-1 [González-Colon & Maldonado-Ramírez, 2017] que incluye caracteres taxonómicos comúnmente utilizados para identificar especies de *Auricularia*, según Lowy, [1951], Montoya *et al.*, [2011], Looney *et al.* [2013]

Auricularia macro- and microscopic data sheet

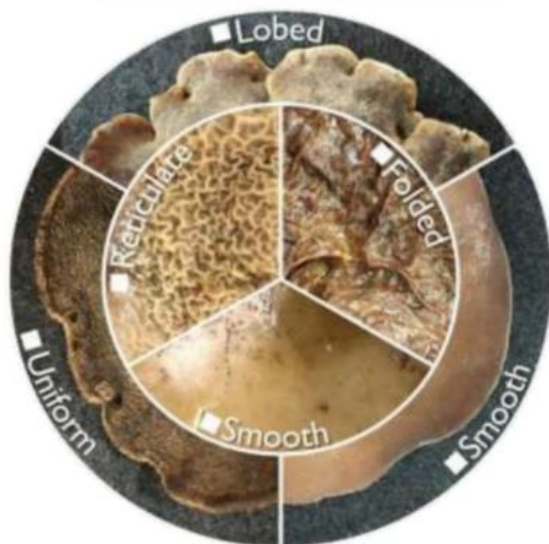
Created by Paola González-Colón

Collector: _____ Substrate: _____ Length (mm): _____ Width (mm): _____

Collection Area: _____ ID: _____

Hymenophore Characteristics

Color: _____

**Macro- & Microscopic Pilose Zone Characteristics**

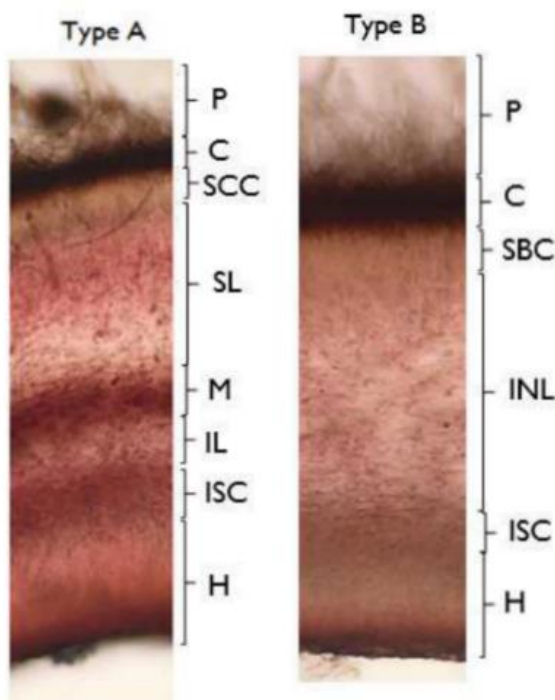
Macroscopic	
Color:	
Other Characteristics:	
Microscopic (40 X)	
Pilose (P) Average of 20	
☐ Homogeneous color	
Color	
Other color	
☐ Heterogeneous color	
Dark in bottom	
Dark in top	
Other	

Other Characteristics:Consistency: ☐ Gelatinous ☐ Slimy ☐ Cartilaginous**Microscopic Characteristic**

Note: Make a longitudinal cut using a scalpel (No. 10). See the image below to know the type of the anatomy. The color of the internal anatomy varies from hyaline to different shades of pink and brown. Color intensity helps to distinguish zones.

General Observations:Zones with different colors **YES** or **NO**Zones easy to distinguish **YES** or **NO**

Other Zone Measurements in 10 X	
Zones	Measurements (µm)
Compact (C)	
Superior subcompact (SSC)	
Intermedia laxa (INL)	
Superior laxa (SL)	
Medulla (M)	
(Easy to distinguish YES or No)	
Inferior laxa (IL)	
Inferior subcompact (ISC)	
Hymenium (H)	
Basidia (100 X)	
Width	
Length	
Spores (100 X)	
Color	
Width	
Length	
Shape	



Adaptation of Looney et al. 2013

Figura 5-1. Hoja de caracterización para especies del género *Auricularia*.

5.4 Revisión de literatura de las claves taxonómicas de: Lowy, 1951, Kobayashi, 1987, Montoya *et al.* 2011 y Looney *et al.* 2013.

Estas claves taxonómicas presentan discrepancias en las características para especies representadas en nuestra investigación.

La Tabla 5-1 se presenta los puntos de discrepancia entre especies por autor y la estadística de las muestras del presente estudio que se pudieron identificar utilizando la clave propuesta en este estudio.

Tabla 5-1 Revisión de literatura de las claves taxonómicas utilizadas Lowy, 1951, Looney *et al.* 2013, Montoya *et al.* 2011 & Kobayashi, 1987.

	Lowy, 1951	Looney <i>et al.</i> , 2013	Montoya <i>et al.</i> , 2011	Kobayashi, 1987
Problemática	Antes de analizar los datos de los especímenes, con esta clave se pudo identificar un 40% de nuestros especímenes.	Antes de analizar los datos de los especímenes, con esta clave se pudo identificar un 59% de nuestros especímenes.	Esta clave taxonómica utiliza como carácter principal la textura del himenóforo, pero se pudo identificar un 11% de nuestros especímenes.	Esta clave taxonómica presenta un mayor grado de dificultad pues la descripción de especies está en forma de párrafo. La descripción de especies no es clara y no permitió la identificación de nuestros especímenes.
	Los caracteres importantes utilizados son: la medida de los tricomas y la medida de la médula. Sin embargo, algunas medidas de los tricomas están en mm, lo que no deja claro la unidad de medida utilizada.	El rango de valores para la medida de los tricomas varía de 200-499um teniendo un 41% de nuestras muestras que no pudieron ser identificadas con esta clave.	La clave comienza con la textura del himenóforo, teniendo de opción: reticulado o liso. Sin embargo, entre los especímenes estudiados tenemos algunos que no son lisos ni reticulados que no pudieron ser identificados.	El autor presenta un diagrama de las zonas de la anatomía interna que no concuerda con la descripción de Lowy, 1951. Lowy, [1951] y quien describe la medula como una orientación paralela de hifas, mientras Kobayashi
	Presenta discrepancias entre lo que se presenta en la clave y la descripción de las especies que el autor	Describe una especie como <i>A. nigricans</i> , sin embargo no hace referencia que es sinónimo de <i>A. polytricha</i>	Utiliza como carácter principal la medida de los tricomas.	

provee en su monografía de 1952. Utiliza como carácter principal, la presencia de médula.	esas características y no se pueden identificar. Utiliza como carácter principal la textura del himenóforo.	describe la médula con las hifas no paralelas. No queda claro si la Zona IL, es lo mismo que la INL para el autor, esta zona es utilizada solamente para especies de <i>Auricularia</i> sin médula. En esta clave se describen los especímenes igual que Lowy, [1951] pero sin la referencia. Por lo que no queda claro si es un trabajo original o es una recopilación de información de otros autores. No queda claro cuál es la característica más importante para este autor.
---	---	---

Cont. Tabla 5-1

Ventajas	Presenta 10 especies en la clave taxonómica	Tiene análisis molecular Tiene pocas especies Describe especies que no están en la clave taxonómica.	Tiene análisis molecular	Descripciones específicas No incluye análisis molecular, no tiene una clave taxonómica
Desventajas	No tiene datos moleculares.	Propone caracteres que no son estables, por ejemplo: <i>A. scissa</i> , según el autor, tiene esquizomédula, no siempre está presente.	Utilizó pocas especies	Según el formato de la clave taxonómica presentada, se debe tener una posible identificación para confirmar con sus descripciones.
	La monografía que publica la clave taxonómica no tiene descripción de especímenes. Sin embargo, especies que él publica en su monografía del 1951 no aparecen en la monografía del mismo autor publicado en 1952.	No es consistente con la descripción de <i>A. delicata</i> de otros autores. Presenta confusión en algunos caracteres como la presencia o ausencia de la médula, lo cual puede cambiar drásticamente la identificación del espécimen.		No hay consistencia en la abreviatura de zonas de la anatomía interna del basidiocarpo, lo que crea confusión. No concuerdan sus descripciones con las de otros autores.

5.5 Comparación de descripciones de especies del género *Auricularia* por Lowy, 1951, Kobayashi, 1987, Montoya *et al.* 2011 y Looney *et al.* 2013.

La Tabla 5-2 compara los caracteres morfométricos de nuestros especímenes con los datos morfométricos disponibles en trabajos previos.

Tabla 5-2. Comparación de descripciones entre las especies de *Auricularia* reportadas en este estudio

Especie	Zona	Lowy, 1951	Looney <i>et al.</i> 2013	Montoya <i>et al.</i> 2011	Kobayashi, 1987	Este estudio
<i>A. americana</i> Parmasto & I. Parmasto ex Audet, Boulet & Sirard 2003	P		67–136 μm			66-68 μm
	C		20– 51 μm			31-44 μm
	SSC		29–67 μm			113-133 μm
	INL	No se describe	477–1807 μm	No se describe	No se describe	420-622 μm
	ISC		102–169 μm			163-176 μm
	H		78–109 μm			80-88 μm
<i>A. fuscusuccinea</i> (Mont.) Henn. 1893	P	60-80 μm	38–136 μm	20-90 μm	35-90 μm	31-94 μm
	C	25-35 μm	13–45 μm	20-60 μm	30-35 μm	27-41 μm
	SSC	10-15 μm	30–111 μm	10-50 μm	50-55 μm	35-178 μm
	SL	140-150 μm	82–607 μm	80-200 μm	90 μm	92-375 μm
	M	35-50 μm	32–361 μm	30-110 μm	-	45-135 μm
	IL	150-160 μm	26–506 μm	35-300 μm	100 μm	65-179 μm
	ISC	60-70 μm	55–224 μm	40-90 μm	-	67-152 μm
	H	70-80 μm	41–86 μm	70-90 μm	40 μm	64-179 μm

Cont. Tabla 5-2

<i>A. cornea</i> Ehrenb, 1820	P	180-200 µm	211–336 µm		70-310 µm	147 µm
	C	70-80 µm	6–29 µm		25 µm	24 µm
	SSC	20-30 µm	45–79 µm		65 µm	30 µm
	SL	40-50 µm	320–410 µm	No se describe	180-185 µm	269 µm
	M	570-600 µm	131–135 µm		130 µm o mas	145 µm
	IL	30-40 µm	119–223 µm		150 µm	181 µm
	ISC	70-80 µm	87–143 µm		35-40 µm	124 µm
	H	80-90 µm	93–99 µm		115-120 µm	108 µm
<i>A. eminii</i> Henn. 1893	P				30-50 µm	
	C				60-70 µm	
	SSC				40-50 µm	
	SL				150-160 µm	
	M	No se describe	No se describe	No se describe	90-100 µm	No se describe
	IL				-	
	ISC				140-150 µm	
	H				60-70 µm	
<i>A. ornata</i> Pers. 1827	P	Cerca de 450 µm				422 µm
	C	40-50 µm				146 µm
	SSC	285-305 µm	No se describe	No se describe	No se describe	155 µm
	INL	360-375 µm				1631 µm
	ISC	260-270 µm				217 µm
	H	60-75 µm				104 µm

Cont. Tabla 5-2

<i>A. peltata</i> Lloyd 1922	P	70-80 µm			70-80 µm	161 µm
	C	50-60 µm			50-60 µm	42 µm
	SSC	290-310 µm	No se describe	No se describe	290-310 µm	88 µm
	INL	345-360 µm			345-360 µm	816 µm
	ISC	315-335 µm			315-335 µm	155 µm
	H	Cerca de 150 µm			Cerca de 150 µm	105 µm
<i>A. polytricha</i> Según index fungorum como <i>A. nigricans</i> (Mont.) Sacc. 1885	P	Cerca de 450 µm	865-897 µm	115-550 µm	Mas de 600 µm	208-458 µm
	C	20-25 µm	13-45 µm	30-80 µm	40-45 µm	36-73 µm
	SSC	75-85 µm	30-111 µm	80-270 µm	60 µm	27-125 µm
	SL	250-260 µm	82-607 µm	80-260 µm	370-380 µm	83-314 µm
	M	Cerca de 250 µm	32-361 µm	60-250 µm	65-70 µm	194-481 µm
	IL	250-260 µm	26-506 µm	35-300 µm	440-445 µm	54-239 µm
	ISC	90-100 µm	55-224 µm	40-90 µm	65-70 µm	44-111 µm
<i>A. scissa</i> Looney, Birkebak & Matheny 2013	H	80-90 µm	41-86 µm	60-80 µm	80-85 µm	38-97 µm
	P		38-132 µm			
	C		15-50 µm			
	SSC		9-45 µm			
	SL	No se describe	64-135 µm	No se describe	No se describe	No se describe
	M		38-57 µm			
	IL		52-124 µm			
	ISC		39-98 µm			
	H		29-71 µm			

Cont. Tabla 5-2

<i>A. mesenterica</i> (Dicks.) Pers. 1822	P	500 µm o mas	402–986 µm	120-560 µm	130-500 µm	No data
	C	80-90 µm	29–38 µm	32-46 µm	80-90 µm	57 µm
	SSC	130-150 µm	58–89 µm	140-160 µm	130-150 µm	97 µm
	INL	575-600 µm	464–787 µm	320-580 µm	No presenta medidas	441 µm
	ISC	165-180 µm	104–114µm	138-152 µm	165-180 µm	217 µm
	H	115-125 µm	61–69 µm	68-120 µm	100-125 µm	104 µm
<i>A. delicata</i> (Mont. Ex Fr.) Henn. 1893	P	Variable, 60-175 µm	Ausente	20-180 µm	50-100 µm o mas	
	C	20-30 µm	58–114 µm	20-110 µm	12-14 µm	
	SSC	40-50 µm	27–81 µm	40-270 µm	40 µm	
	SL	-	130 µm	-	-	
	M	-	70–85 µm	-	-	No se describe
	IL	-	99–264 µm	-	-	
	INL	400-500 µm	-	60-700 µm	1,300-1800 um	
	ISC	135-145 µm	24–45 µm	35-270 µm	30-40 µm	
	H	56–135 µm	40-50 µm			

5.6 Identificación de especies de *Auricularia*

Utilizando la clave taxonómica que se diseñó en este estudio se identificó el 94% de los especímenes colectados, correspondientes a ocho especies colectadas de zonas boscosas en el área oeste de Puerto Rico. La distribución de las especies colectadas por área de colecta se presenta en la Figura 5-2



Figura 5-2. Localidades en donde se encuentran las especies reportadas en este estudio en zonas boscosas del área oeste de Puerto Rico incluyendo lugar en donde se encuentran las especies desconocidas.

Tabla 5-3 Especímenes de *Auricularia* identificadas con la clave taxonómica propuesta en este trabajo para todas las zonas de colecta.

Especie	Cantidad de especímenes	Frecuencia (%)
<i>A. fuscosuccinea</i>	68	34
<i>A. polytricha</i>	83	42
<i>A. americana</i>	2	1
<i>A. cornea</i>	25	13
<i>A. delicata</i>	1	0.5
<i>A. mesenterica</i>	3	1.5
<i>A. ornata</i>	3	1.5
<i>A. peltata</i>	1	1.5
Desconocidas	11	6
Total	197	100

Tabla 5-4. Especímenes identificados utilizando la clave taxonómica de Montoya et al. [2011], debido a que utilizaron agua destilada para trabajar sus especímenes.

Espécimen	ID por morfometría en Agua Destilada	ID por morfometría en Lactofenol
M15 **	<i>A. fuscusuccinea</i>	<i>A. polytricha</i>
G16 **	<i>A. polytricha</i>	<i>A. fuscusuccinea</i>
S4	<i>A. fuscusuccinea</i>	<i>A. fuscusuccinea</i>
R-33 **	<i>A. polytricha</i>	<i>A. fuscusuccinea</i>
R-34	<i>A. polytricha</i>	<i>A. polytricha</i>
R36	<i>A. fuscusuccinea</i>	<i>A. fuscusuccinea</i>
R-50	<i>A. fuscusuccinea</i>	<i>A. fuscusuccinea</i>
R-37 **	<i>A. polytricha</i>	<i>A. fuscusuccinea</i>
R44 **	<i>A. auricula-judae</i>	<i>A. fuscusuccinea</i>
R-30 **	<i>A. polytricha</i>	<i>A. fuscusuccinea</i>
R-3	<i>A. fuscusuccinea</i>	<i>A. fuscusuccinea</i>
R-90 **	<i>A. polytricha</i>	<i>A. fuscusuccinea</i>

**Identificación cambia, dependiendo si la muestra está en agua destilada o lactofenol. Ver datos crudos en el Apéndice A.

5.7 Carácter de pigmentación en etanol al 70%. Variaciones en color, sin embargo, las tonalidades rojo y ámbar son importantes.

Los especímenes fueron preservados en etanol 70%, luego de varias horas fortuitamente se observó un tipo de pigmento que liberaban algunos especímenes que tornaba el etanol 70% en tonalidades ámbar o rojas. Esta determinación de colores se realizó con la carta de colores de Munsell [2001]. Para determinar si la presencia de pigmento se preservaba en especímenes preservados, se removieron especímenes de la colección de hongos y se expusieron a etanol 70%. Luego de una hora se observó que estos pigmentos son persistentes aún en especímenes de herbario.



Figura 5-3. Tonalidades de pigmentos en etanol 70%, donde A no tiene pigmento; B-E muestran tonalidades de ámbar; F-O tienen tonalidades de rojo. Para observar el pigmento se debe utilizar

especímenes de más de 1 cm de ancho y colocar en frascos con al menos 20 mL de etanol al 70% y mantenerlos en Etanol al 70% por una hora para tener resultado.

5.8. Especímenes representativos de las ocho especies de *Auricularia* reportadas en este estudio

Luego del análisis morfométrico se lograron identificar ocho especies de *Auricularia* para el área oeste de Puerto Rico. Las figuras 5-4 – 5-11 representan los especímenes colectados representativos de estas especies, incluyendo la anatomía interna del basidiocarpo.

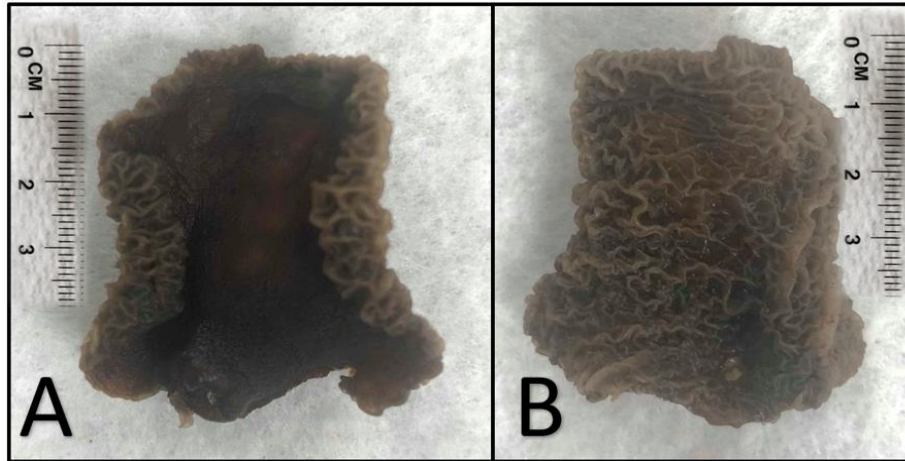


Figura 5-4. Basidiocarpo de *A. delicata*. A: Zona pilosa y B: Himenóforo.

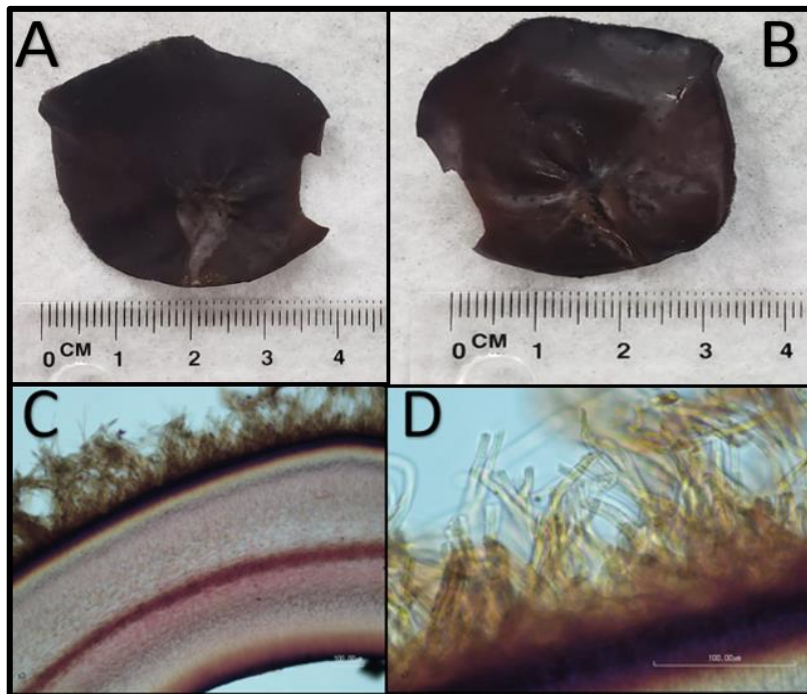


Figura 5-5. *A. fuscusuccinea* Basidiocarpo. A: Zona Pilosa. B: Himenóforo. C: Foto en magnificación 10x. D: Tricomas, en magnificación 40x.

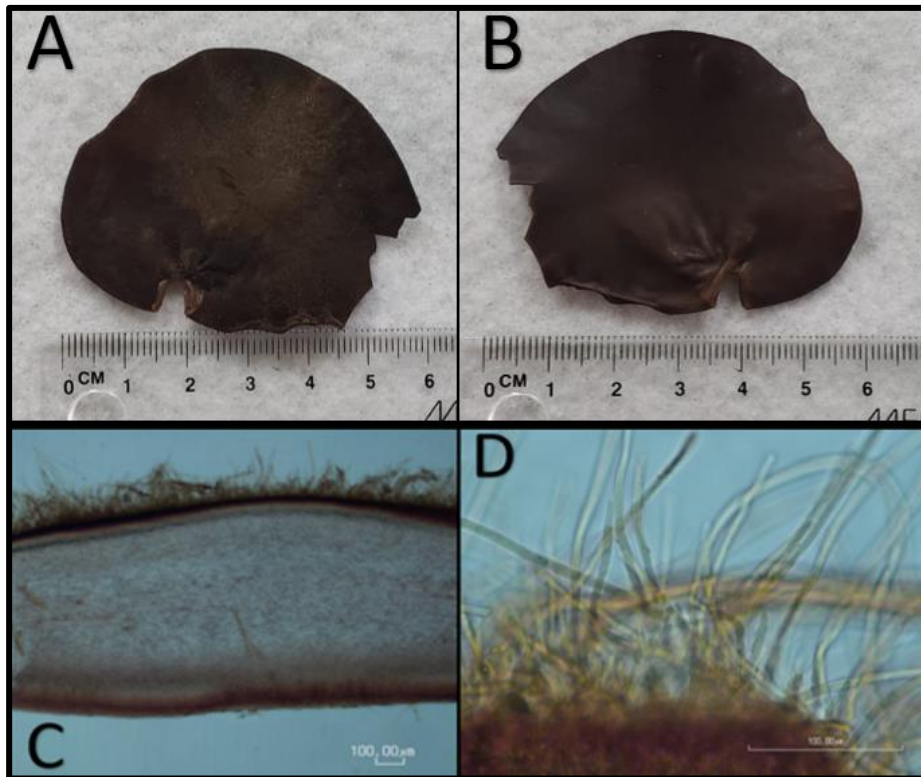


Figura 5-6. *A. cornea* Basidiocarpo. A: Himenóforo. B: Zona Pilosa. C: Foto en magnificación 10x. D: Tricomas, en magnificación 40x.

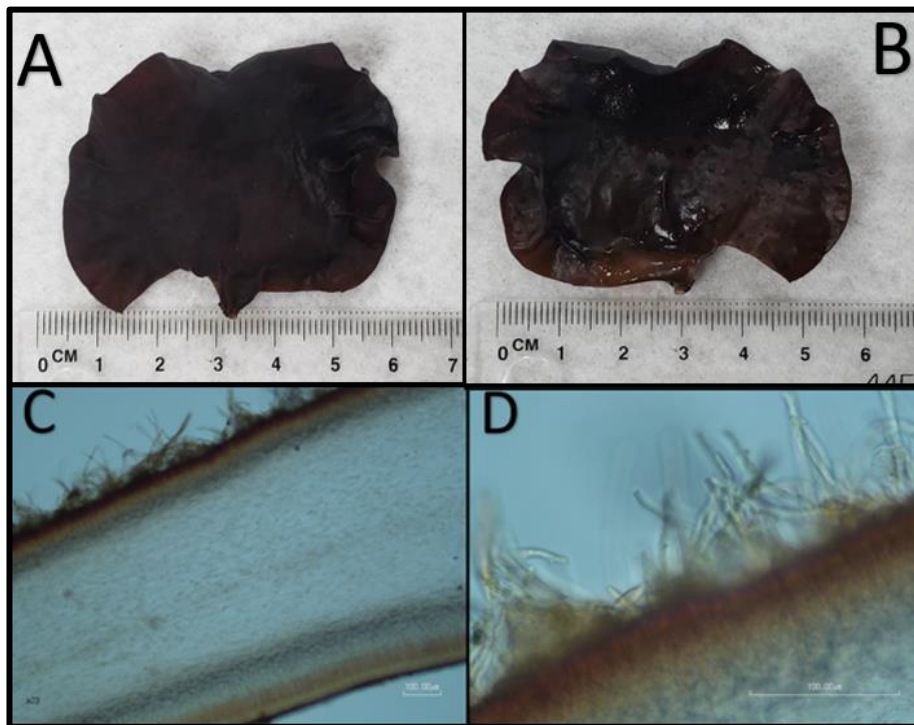


Figura 5-7. *A. ornata* Basidiocarpo. A: Himenóforo. B: Zona Pilosa. C: Foto en magnificación 10x. D: Tricomas, en magnificación 40x.

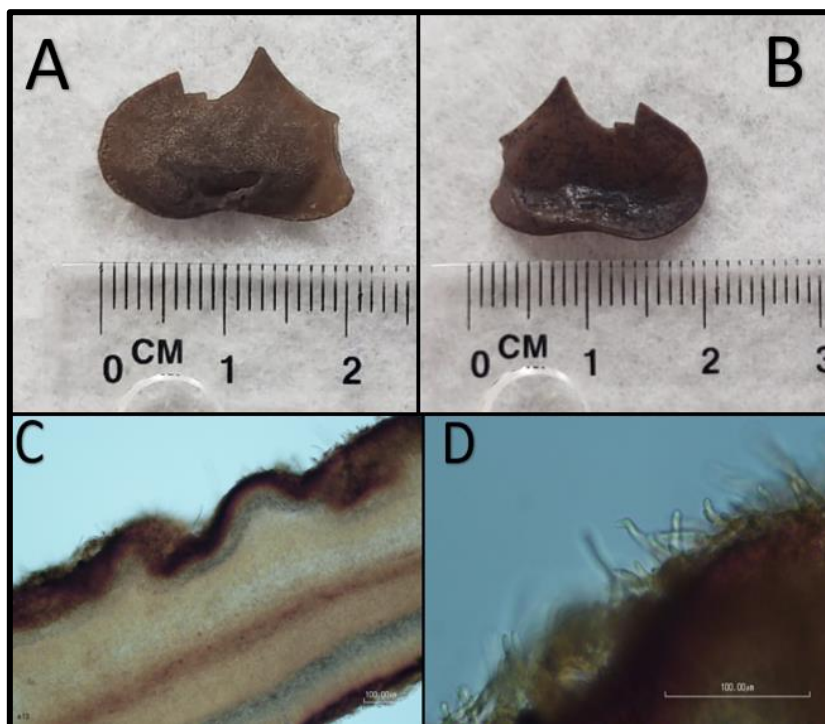


Figura 5-8. *A. peltata* Basidiocarp. A: Himenóforo. B: Zona Pilosa. C: Foto en magnificación 10x. D: Tricomas, en magnificación 40x.

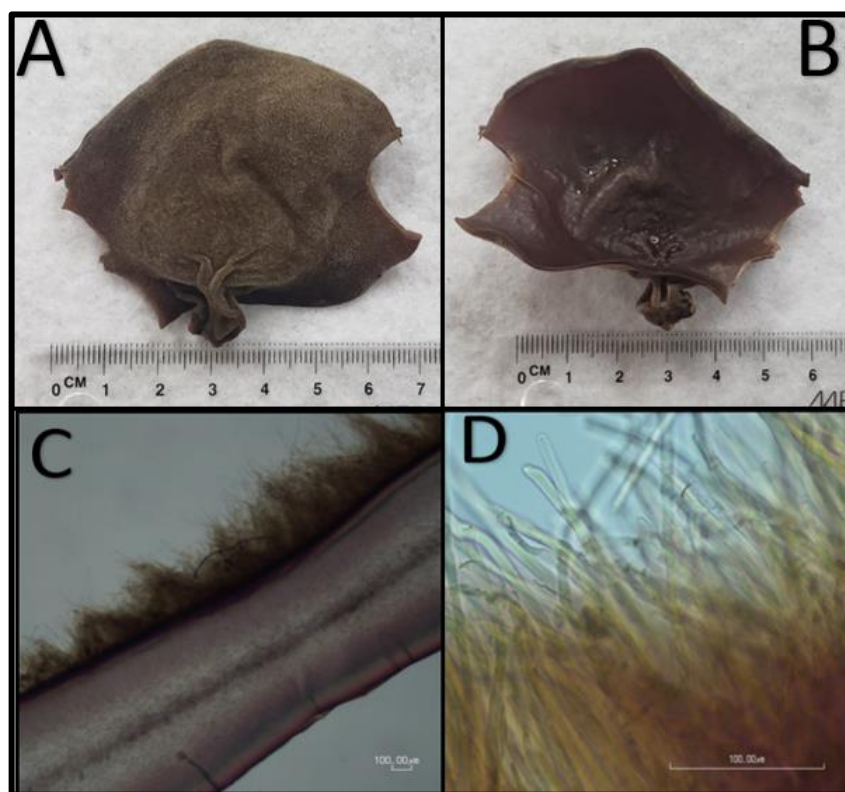


Figura 5-9. *A. polytricha* Basidiocarp. A: Zona Pilosa. B: Himenóforo. C: Foto en magnificación 10x. D: Tricomas, en magnificación 40x

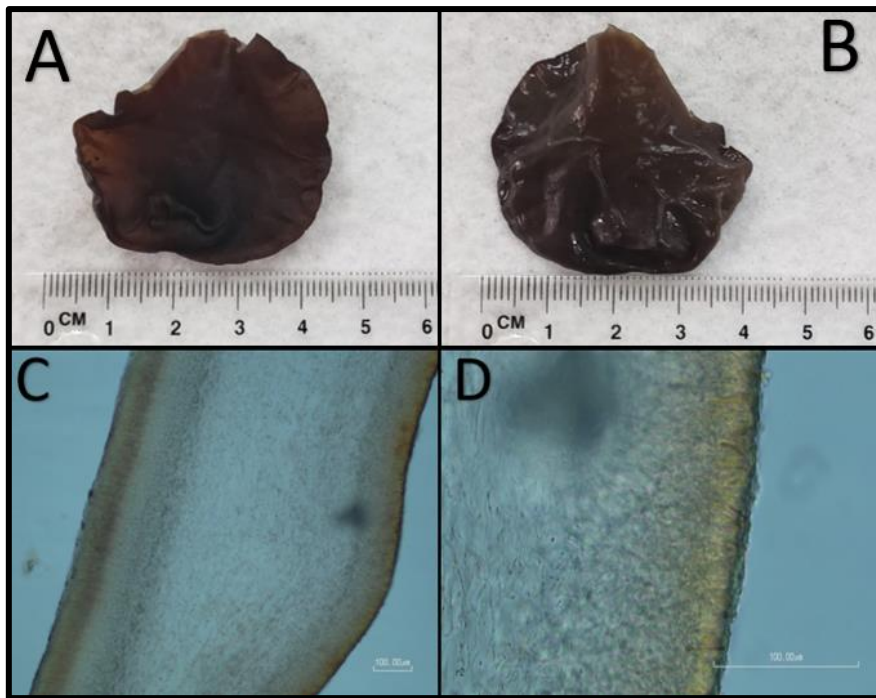


Figura 5-10. *A. americana* Basidiocarp. A: Zona Pilosa. B: Himenóforo. C: Foto en magnificación 10x. D: Tricomas, en magnificación 40x.

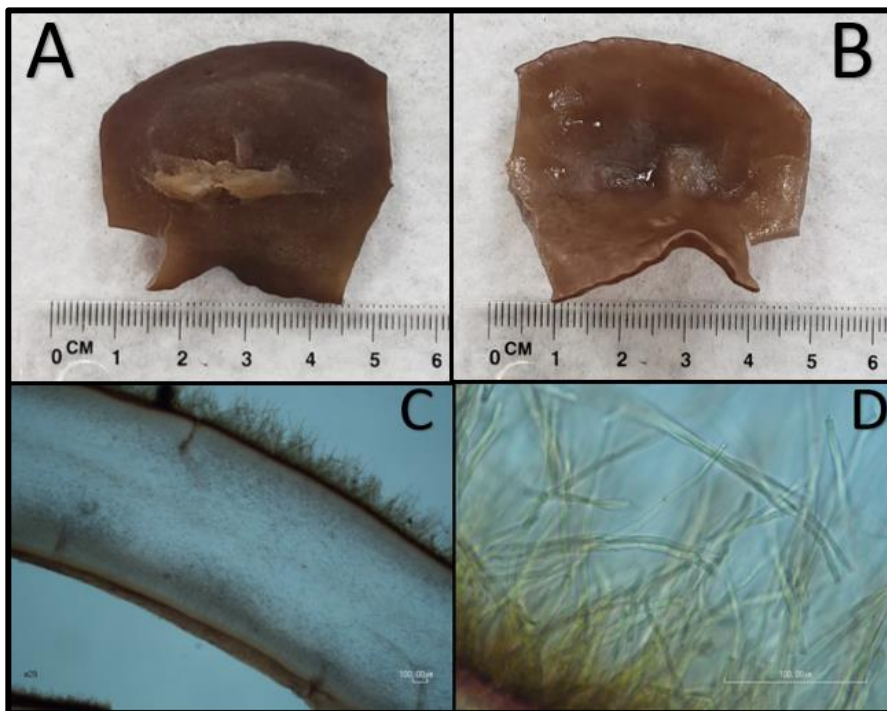


Figura 5-11. *A. mesenterica* Basidiocarp. A: Zona Pilosa. B: Himenóforo. C: Foto en magnificación 10x. D: Tricomas, en magnificación 40x.

5.9 Especímenes desconocidos

Un 6% de los especímenes colectados no pudieron ser identificados con las claves taxonómicas disponibles incluyendo la clave taxonómica que se propone en esta investigación. A continuación, se incluye una descripción de las características macroscópicas y microscópicas del basidiocarpo de estos especímenes no identificados.

Tabla 5-5: Detalles de la anatomía interna de los especímenes que no pudieron ser identificados con las claves taxonómicas disponibles incluyendo la clave taxonómica propuesta en este estudio.

Especímen (#muestra)	Margen	Textura	P	C	SSC	SL	M	INT	IL	ISC	H	Pigmentación en Etanol 70%
<i>Auricularia</i> Morfotipo 1 (M7)	Liso	Rugosa	113	37	53	179	114	-	91	54	63	Tonalidad roja
<i>Auricularia</i> Morfotipo 2 (R56)	Uniforme	Liso	-	57	97	-	-	441	-	107	83	Tonalidad roja
<i>Auricularia</i> Morfotipo 3 (R66)	Liso	Liso	67	32	114	-	-	420	-	176	88	Tonalidad roja
<i>Auricularia</i> Morfotipo 4 (R83)	Uniforme	Liso	88	67	67	-	-	713	-	198	79	No pigmentación
<i>Auricularia</i> Morfotipo 5 (R88)	Liso	Liso	256	82	163	-	-	305	-	181	65	Tonalidad ambar
<i>Auricularia</i> Morfotipo 6 (R89)	Liso	Liso	-	75	88	-	-	901	-	177	114	No pigmentación
<i>Auricularia</i> Morfotipo 7 (R100)	Liso	Liso	-	53	58	-	-	667	-	71	70	Tonalidad roja
<i>Auricularia</i> Morfotipo 8 (R114)	Liso	Liso	66	44	133	-	-	622	-	164	80	Tonalidad roja
<i>Auricularia</i> Morfotipo 9 (R131)	Liso	Liso	-	53	37	-	-	511	-	53	97	Tonalidad ambar
<i>Auricularia</i> Morfotipo 10 (G5)	Liso	Liso	161	42	88	-	-	816	-	155	105	No pigmentación
<i>Auricularia</i> Morfotipo 11 (G19)	Liso	Liso	-	46	59	-	-	612	-	76	72	No pigmentación

Tabla 5-6: Caracterización macroscópica de los especímenes no identificados con la clave taxonómica propuesta en este estudio.

Especímen (#muestra)	Margen	Textura	Largo del basidiocarpio (mm)	Ancho del basidiocarpio (mm)	Color de himenoforo (Munsell, 2000)	Color zona Pilosa (Munsell, 2000)
<i>Auricularia</i> Morfotipo 1 (M7)	Liso	Rugosa	46	57	Negro	Marrón
<i>Auricularia</i> Morfotipo 2 (R56)	Uniforme	Liso	50	40	<i>Very Dark Brown</i>	Marrón
<i>Auricularia</i> Morfotipo 3 (R66)	Liso	Liso	31	37	Marron Oscuro	Marrón
<i>Auricularia</i> Morfotipo 4 (R83)	Uniforme	Liso	21	28	Marrón	<i>Light Olive Brown</i>
<i>Auricularia</i> Morfotipo 5 (R88)	Liso	Liso	19	23	<i>Very Dark Brown</i>	Marrón Oscuro
<i>Auricularia</i> Morfotipo 6 (R89)	Liso	Liso	27	26	Marrón Oscuro	Marrón
<i>Auricularia</i> Morfotipo 7 (R100)	Liso	Liso	19	18	Negro	Marrón Oscuro
<i>Auricularia</i> Morfotipo 8 (R114)	Liso	Liso	23	21	<i>Reddish Black</i>	Marrón Oscuro
<i>Auricularia</i> Morfotipo 9 (R131)	Liso	Liso	37	30	<i>Dark Grayish Brown</i>	Marrón Oscuro
<i>Auricularia</i> Morfotipo 10 (G5)	Liso	Liso	29	29	Marrón Oscuro	<i>Grayish brown</i>
<i>Auricularia</i> Morfotipo 11 (G19)	Liso	Liso	38	49	<i>Very Dark Grayish Brown</i>	<i>Dark Yellowish Brown</i>

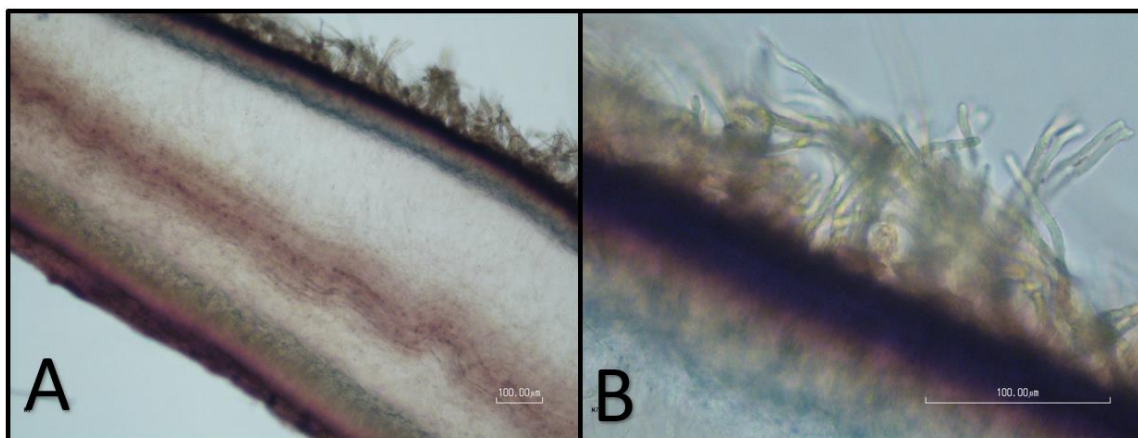


Figura 5-12. Anatomía interna del espécimen desconocido M7. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.

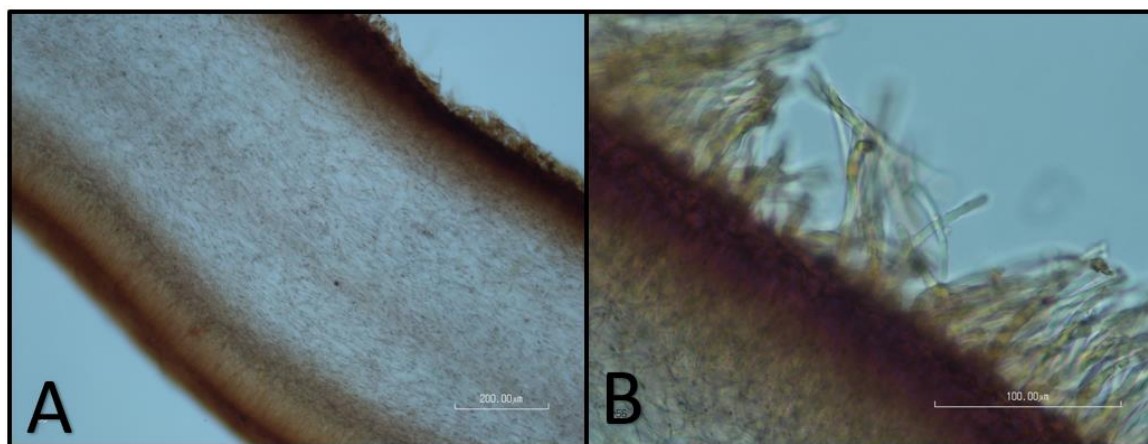


Figura 5-13. Anatomía interna del espécimen desconocido R56. A: Foto anatomía interna en magnificación 10x, B: Tricomas, en magnificación 40x.

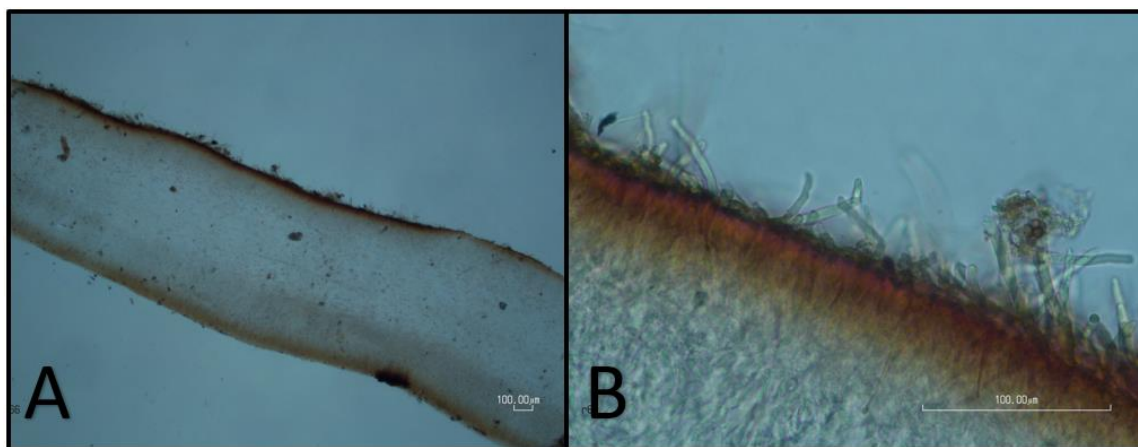


Figura 5-14. Anatomía interna del espécimen desconocido R66. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.

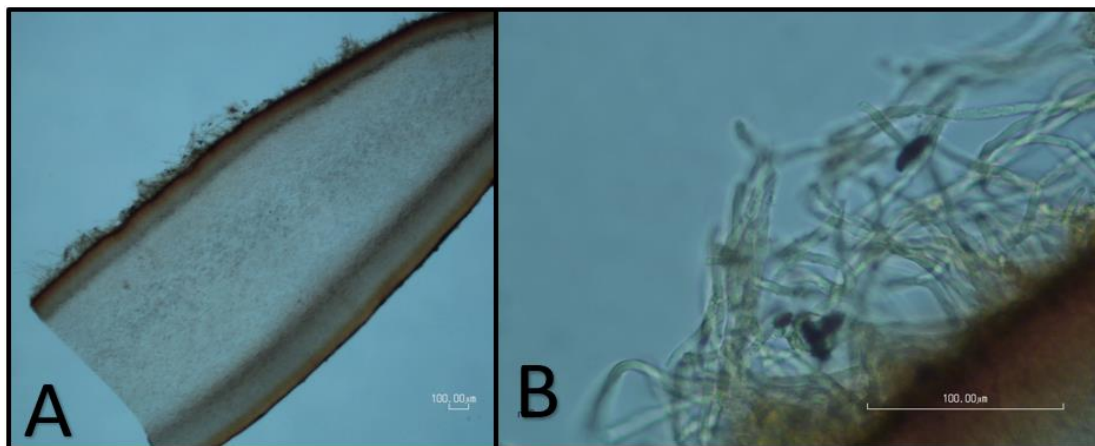


Figura 5-15. Anatomía interna del espécimen desconocido R83. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.

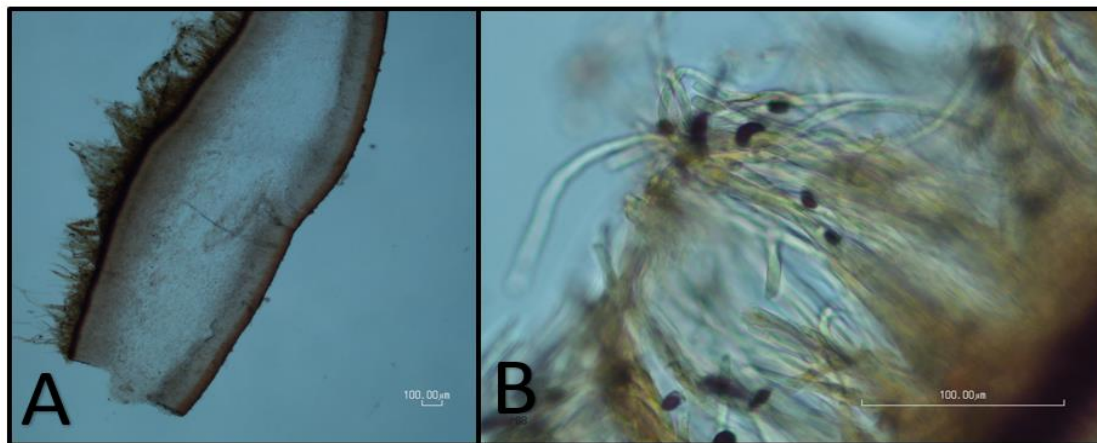


Figura 5-16. Anatomía interna del espécimen desconocido R88. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.

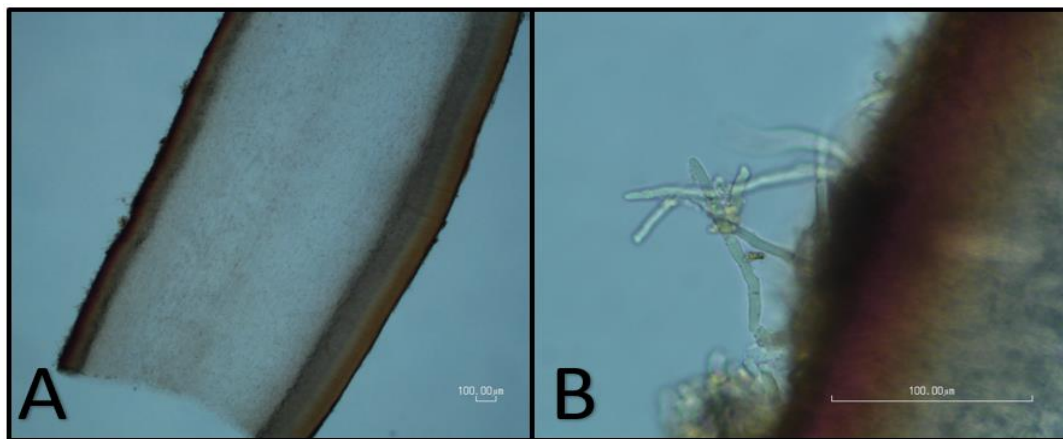


Figura 5-17. Anatomía interna del espécimen desconocido R89. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.

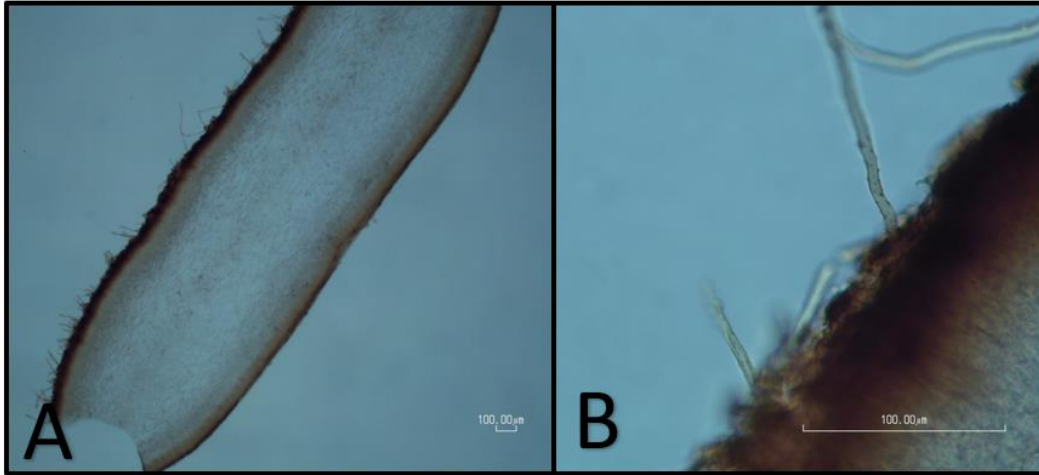


Figura 5-18. Anatomía interna del espécimen desconocido R100. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.

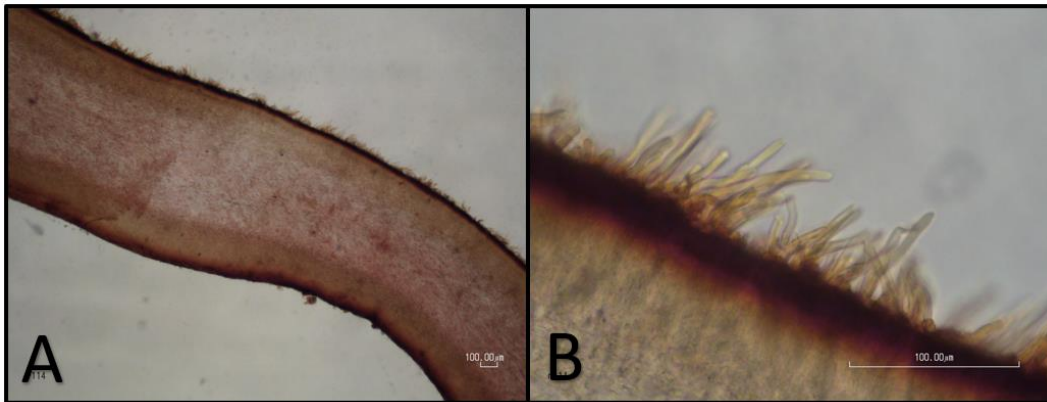


Figura 5-19. Anatomía interna del espécimen desconocido R114. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.

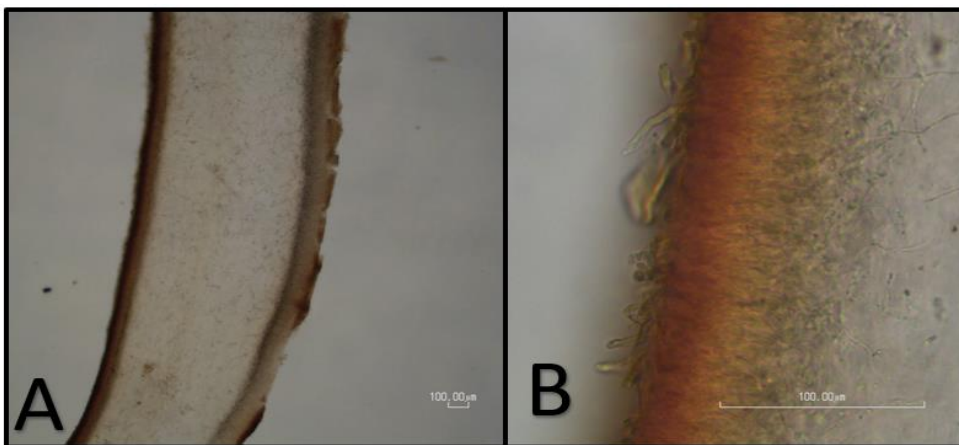


Figura 5-20. Anatomía interna del espécimen desconocido R131. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.

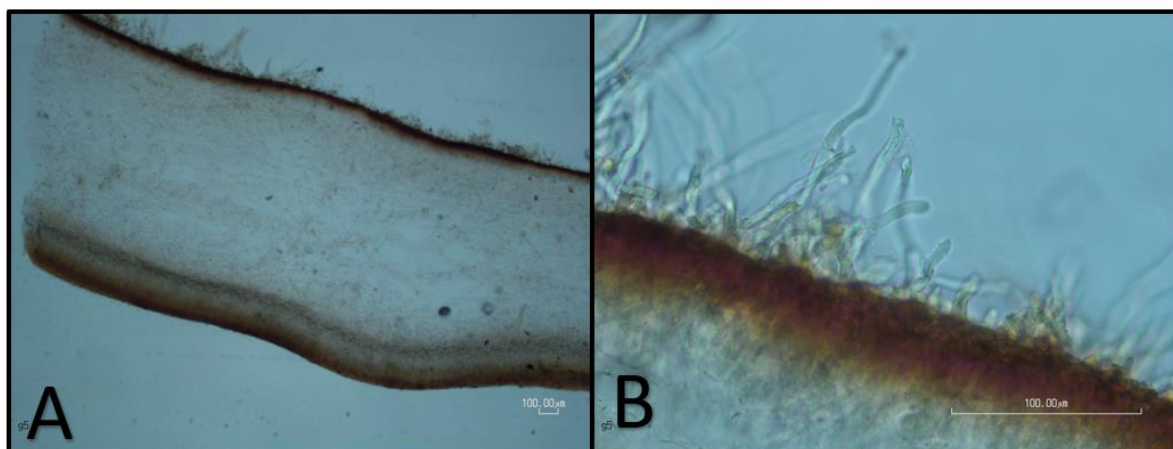


Figura 5-21. Anatomía interna del espécimen desconocido G5. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.

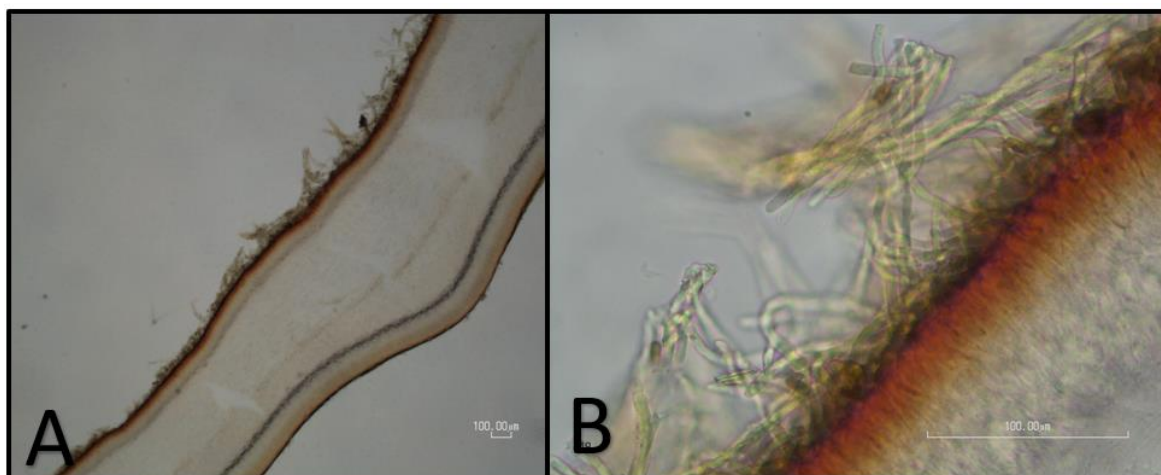


Figura 5-22. Anatomía interna del espécimen desconocido G19. A: Foto anatomía interna en magnificación 4x, B: Tricomas, en magnificación 40x.

5.10 Descripción de *Exidia* spp.

Se colectaron 43 especímenes del género *Exidia* (Auriculariales) siendo este el primer reporte para Puerto Rico. Estos especímenes presentaron basidiocarpio negro (Munsell, 2000) y miden 17mm de ancho y 14mm de largo, en promedio (7 medidas promediadas). Este género también libera pigmento de tonalidad ámbar en etanol al 70%.

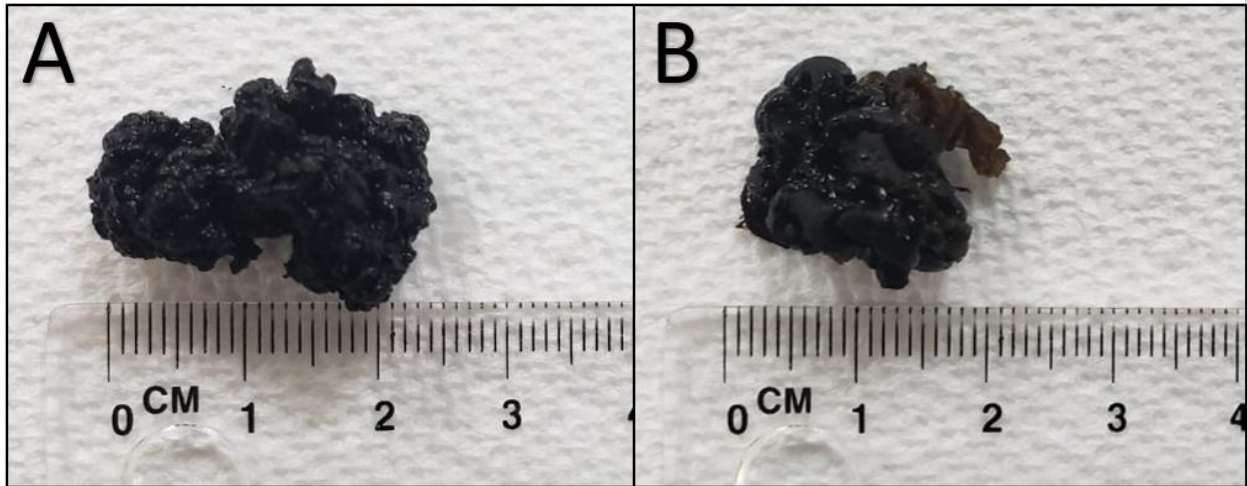


Figura 5-23. Muestra dos posibles especies de *Exidia*, A: especie 1 y B: especie 2

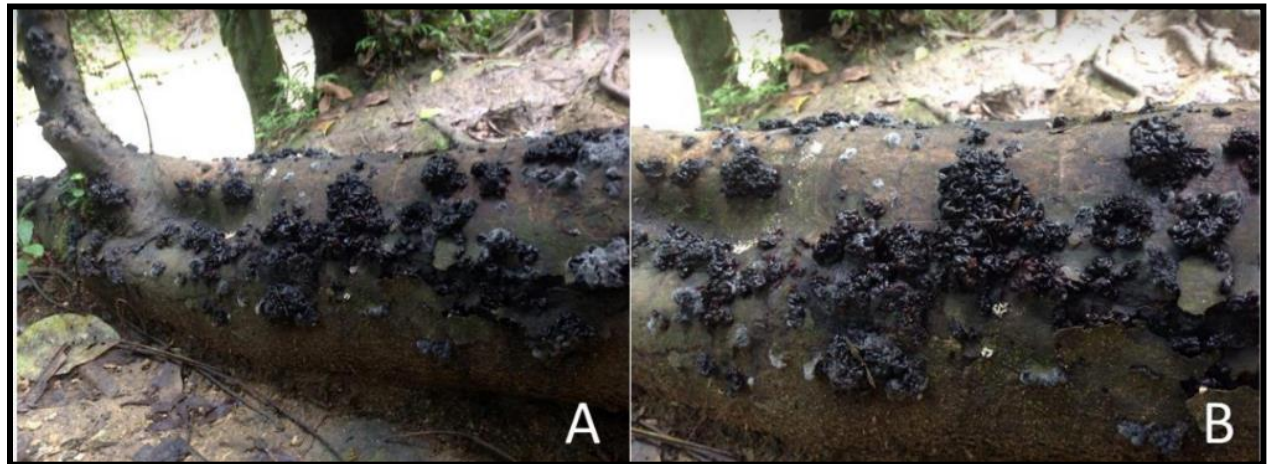


Figura 5-24. *Exidia* spp. en sustrato, madera en descomposición (A & B) en Gozalandia, San Sebastián, Puerto Rico.

CAPÍTULO 6- DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Para esta investigación se analizaron 197 especímenes de *Auricularia* colectados en distintas zonas boscosas del área oeste de Puerto Rico. El propósito principal fue estandarizar la metodología al trabajar con los especímenes y facilitar su identificación. Al concluir la investigación se creó una clave taxonómica que incorpora los hallazgos, los caracteres importantes y más estables para la identificación de especies de *Auricularia*. Lowy [1951] propuso la descripción de la anatomía interna del basidiocarpo y publica en su monografía una clave taxonómica para el género. A través de los años en países como Colombia [Montoya *et al.* 2011], el sureste de los Estados Unidos [Looney *et al.* 2013] y Tailandia [Bandara *et al.* 2015 & Bandara *et al.* 2017] se ha estudiado este género, incluso se han reportado especies nuevas como *Auricularia thailandica* [Bandara *et al.* 2017]. A pesar de los trabajos recientes, *Auricularia* continúa siendo un género taxonómicamente problemático. Las dificultades que se atendieron en esta investigación y se detallan en la Tabla 5-1 muestran que las claves taxonómicas disponibles publicadas por Lowy, 1951; Kobayashi, 1987; Montoya *et al.* 2011; Looney *et al.* 2013; no son específicas y el manejo de los especímenes varía según el investigador. En la Tabla 5-4 se presentan los resultados de una comparación en donde se prepararon laminillas semipermanentes de los especímenes en agua destilada y en lactofenol y se demostró que la identificación de especímenes es dependiente del medio de montaje de tejidos laminillas. La diferencia entre el grosor de los cortes longitudinales fue de un 33%. De los especímenes que se lograron identificar (se estudiaron 30 en total) solo 5 se pudieron asociar con la misma especie utilizando la clave de Montoya *et al.* [2011]. Esto indica que, la identificación pudiera cambiar dependiendo del medio para preparar una laminilla semi-permanente de un corte longitudinal y la clave que se utilice. Además, 18 de los especímenes que no se lograron identificar, presentaron discrepancias con los

tricomas (largos [no se podían medir], doblados, partidos o ausentes) y el manejo de los especímenes pudiera dificultar la identificación.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa Excel ® (Microsoft Office 365) en donde se creó una matriz y se segregaron los caracteres otorgando a cada uno estados entre 0 y 5, caracteres con más estados no fueron considerados como un carácter estable. Luego del análisis se observó que el color del basidiocarpo tiene más de 10 estados por lo que no se consideró y no se recomienda como un carácter taxonómico. Lowy, [1951], Kobayashi [1987], Montoya *et al.* [2011] y Looney *et al.* [2013], utilizan la medida en promedio de 20 tricomas. Sin embargo, en nuestro estudio la medida de los tricomas fue el problema principal para identificar las especies. Los tricomas se pueden partir, conglomerar, doblar o perder durante la colecta o preparación de laminillas. Además, el análisis en la Tabla 5-2 documenta la inestabilidad y lo poco que concuerdan los autores en estas medidas.

Utilizando las claves taxonómicas publicadas por Lowy, [1951], Kobayashi, [1987], Montoya *et al.* [2011] y Looney *et al.* [2013], se identificó un 74% de los especímenes colectados. Luego del análisis morfométrico y utilizando la clave taxonómica que se generó en este estudio se logró identificar un 94% de los especímenes colectados, siendo *A. polytricha*, *A. fuscosuccinea* y *A. cornea* las especies con más ocurrencia para el área oeste de Puerto Rico (Tabla 5-3). Un 6% de los especímenes colectados en áreas boscosas de Rincón y San Sebastián no pudieron asociarse a especies conocidas (Figs 5-1 a 5-22) (Tabla 5-5 y Tabla 5-6).

En este estudio, proponemos estandarizar la manera en que los especímenes de *Auricularia* son manipulados y detectar caracteres morfológicamente consistentes para su identificación. La medida de los tricomas, a pesar de que los especímenes de *Auricularia*, en su mayoría, tienen tricomas es un carácter de poca utilidad como evidenciamos antes. Sin embargo, proponemos

utilizar la presencia de pigmentos en etanol 70% como un nuevo carácter estable. Se pudo observar que los especímenes liberan pigmentos de un color particular luego de rehidratarse en agua y dejar reposar en etanol 70% por una hora. Se observó que especímenes del Herbario MAPR, de los años 1953-1969, aún liberaban estos pigmentos luego de más de 65 años de estar preservados. Por tanto, en especímenes frescos o especímenes preservados se puede realizar la prueba. Este carácter nos ayudó a diferenciar entre *A. mesenterica*, *A. peltata* y *A. americana*, siendo esta última un nuevo registro para Puerto Rico. Es importante que se utilice las tonalidades del pigmento y no el color. La Figura 5-3 presenta un ejemplo de las tonalidades de ámbar, rojos y etanol 70% sin pigmento. Se desconoce el origen o la función del pigmento, y se debería analizar para estudiar si tienen alguna relación con las propiedades anti-bacterianas y anti-tumorales que tienen estos hongos [Du *et al.* 2011 y Bandara *et al.* 2015].

Para la caracterización de los especímenes en nuestro estudio se utilizaron las claves taxonómicas de Lowy, [1951], Montoya *et al.* [2011] y Looney *et al.* [2013]. Sin embargo, la nueva clave taxonómica que proponemos toma en consideración el análisis de las publicaciones de Montoya *et al.* [2011] y Looney *et al.* [2013] pues estos autores tienen evidencia molecular en sus estudios, lo que hace que su análisis morfológico sea más confiable. A pesar de que Lowy, [1951] propone el utilizar la anatomía interna del espécimen, su clave taxonómica tiene discrepancias con las descripciones que el mismo publica un año más tarde. Kobayashi [1981] presenta solo descripciones de especies por lo que, para utilizar sus descripciones, se debe tener una idea de las especies que se están identificando. Además, su publicación no es consistente con la abreviación y la descripción de zonas de la anatomía interna del basidiocarpo de *Auricularia* que publican otros autores.

Looney *et al.* [2013], en su clave dicótoma, agrupan las características de: 1) médula levemente diferenciada y 2) no tener médula. Sin embargo, estas características diferencian los dos grupos principales de *Auricularia*, las especies de *Auricularia* que no presentan médula (Tipo B) y las especies que presentan médula (Tipo A) [Lowy, 1951]. Esta diferencia entre especímenes Tipo A y Tipo B cambia el número de zonas que se pueden observar y medir al observar un corte longitudinal en el microscopio [Lowy, 1951].

La clave taxonómica de Lowy [1951] presenta los siguientes problemas: 1) mezcla medidas en milímetros (mm) de los tricomas con la medida de la médula y algunos especímenes pueden caer bajo una sola categoría, por lo que no se puede continuar su identificación; 2) incluye criterios como “tricomas más de 450 μm ”, “tricomas cerca de 200 μm ”, “medula no menos de 250 μm ”, y otros, que son poco específicos.

La clave taxonómica de Looney *et al.* [2013] a pesar de que ha sido utilizada por Bandara *et al.* [2015] y Bandara *et al.* [2017], es una clave poco útil para nuestro estudio debido a: 1) el rango de la medida promedio de los tricomas es demasiado amplio (30-200 y 500-2,500 μm). 2) Tenemos especímenes que no se lograron identificar con dicha clave; lo que nos confirma que el utilizar la medida de los tricomas no debería ser la característica principal para separar especies. 3), las medidas entre 201- 499 μm no están presentes en esta clave, combina características de Tipo A y Tipo B en un solo criterio, lo que puede llevarnos a identificaciones erróneas.

La falta de estandarización del manejo de muestras y análisis de descripciones entre las publicaciones disponible nos ha llevado a no tener una clave taxonómica universal y, a su vez, a complicar la taxonomía del género *Auricularia*. Por esta razón es necesario que se revalúen especímenes de herbarios añadiendo el carácter de pigmentos en etanol 70% para ayudar a separar grupos de especies. Este carácter también puede utilizarse en el campo, al momento de la colecta

ya se pudiera tener una idea de que especies pudiera ser sin la necesidad de hacer un corte longitudinal al momento.

CAPITULO 7: RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar un análisis filogenético con los caracteres comúnmente utilizados para identificar especies de *Auricularia* para aquellos especímenes que son desconocidos [Rosado, comunicación personal].

Se debería expandir las áreas de colecta para poder hacer analizar la morfometría a nivel de la isla. De esta manera, podemos tener información completa con el número exacto de especies de *Auricularia*.

Se debería estudiar con más detalles el pigmento que liberan estos hongos en alcohol, *Exidia*, es parte del orden Auriculariales y libera un pigmento color ámbar. ¿Será el pigmento liberado compartido con otras especies dentro del orden?

Para la utilización del pigmento liberado en etanol 70% por los basidiocarpos es necesaria una estandarización con la cantidad de tejido (gramos). También, se sugiere estandarizar la evaluación de la presencia de pigmento haciendo uso de un espectrofotómetro para determinar la absorbancia de cada tonalidad.

Para *Exidia*, es necesaria la identificación a nivel de especie y/o una identificación molecular, utilizando iniciadores específicos para amplificar un gen que codifique para proteínas, *rpb2*, por ejemplo. La clave disponible Lowy [1980] para su identificación morfológica tiene vocabulario el cual no tiene definición concreta para identificar y caracterizar las estructuras, por lo que se recomienda un análisis detallado de estructuras de estos especímenes comparándolos con especímenes de herbario (especímenes tipo).

LITERATURA CITADA

- Bandara, A., Chen, J. Karunarathna, S., Hyde, K. & Kakumyan, P., [2015]. “*Auricularia thailandica* sp. nov. (Auriculariaceae, Auriculariales) a widely distributed species from Southeastern Asia.” *Phytotaxa* 208:147–156.
- Bandara, A., Karunarathna, S., Philips, A., Mortimer, P., Xu, J., Kakumyan, P. & Hyde K. [2017] “Diversity of *Auricularia* (Auriculariaceae, Auriculariales) in Thailand.” *Phytotaxa* 292: 019-034
- CABI_Biosciences, 2016. *Auricularia*. Species Fungorum.
<http://www.speciesfungorum.org/Names/Names.asp>
- Cantrell S., Lodge D., Minter D. & Ortiz B. 2006. *Auricularia*. Cybertruffle.
<http://www.cybertruffle.org.uk/puerfung/esp/index.htm>
- Du, P., Cui, B. & Dai, Y., [2011] “Genetic diversity of wild *Auricularia polytricha* in Yunnan Province of South-western China revealed by sequence-related amplified polymorphism (SRAP) analysis.” *Journal of Medicinal Plants Research* 5: 1374-1381
- González-Colón, P.N.& Maldonado-Ramírez, S.L., [2017] “Characterization data sheet for the genus *Auricularia*.” *Current Research in Environmental & Applied Mycology* 7:90-93, Doi 10.5943/cream/7/2/5
- Hibbett, D. S., Bauer, R., Binder, M., Giachini, A. J., Hosaka K., Justo A., Larsson E., Larsson K.H., Lawrey J.D., Miettinen O., Nagy L.G., Nilsson R.H., Weiss M., & Thorn R.G, [2014] “Agaricomycetes.” In: McLaughlin, D. J. and Spatafora, J. W. (eds), *The Mycota. VII. Systematics and evolution. Part A*. Springer, pp. 373–429.
- Kobayasi, Y., [1981]. “The Genus *Auricularia*.” *Bulletin of the National Science Museum Tokyo* 2:41-67
- Lodge D., Baroni T., Nakasone K., Ryvarden L., n.d. *Auricularia*. Basidiomycetes of The Greather Anthilles. <http://facultyweb.cortland.edu/NeoTropicalFungi/NSF/list.asp>
- Lodge, D., Ammirati, J., O’Dell, T., & Mueller, G., [2004]. “Collecting and describing macrofungi.” *Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods*, GM, Mueller, G. Bills y MS Foster (eds.). Elsevier Academic. San Diego, California pp. 128-158.
- Looney, B, Birkebak, J., & Matheny, P., [2013]. “Systematics of the genus *Auricularia* with an emphasis on species from the southeastern United States.” *North America of Fungi* 8: 1-25
- Lowy, B., [1951]. “A morphological basis for classifying the species of *Auricularia*.” *Mycologia* 43:351-358.
- Lowy, B., [1952] “The Genus *Auricularia*.” *Mycologia*, 44 (5) pp. 656-692

- Malysheva, V. & Bulakh, E., [2014]. "Contribution to the study of the genus *Auricularia* (Auriculariales, Basidiomycota) in Russia." *Novosti Sistematiki Nizaikh Rastanii* 48: 164–180
- Minter, D., Rodríguez, M. & Mena, J., [2001]. *Fungi of the Caribbean: An Annotated Checklist*.
- Montoya, A., Hayakawa, H., Minamya, Y., & Fukuda, T., [2011]. "Phylogenetic relationships and review of the species of *Auricularia* (Fungi: Basidiomycetes) in Colombia." *Botanica- Sistemática* 33: 55-66.
- Munsell Color Soil Chart. [2010] "Munsell soil color charts: with genuine Munsell color chips." Grand Rapids, MI.
- Osorio, C. 2013. "Entomofauna Asociada a *Pleurotus* spp. y *Auricularia* spp. de los bosques de La Olimpia, Susua y Rio Abajo, en Puerto Rico." [Tesis] Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez pp 3
- Weis, M., & Oberwinkler, F., [2001]. "Phylogenetic relationships in Auriculariales and related groups—hypotheses derived from nuclear ribosomal DNA sequences." *Mycological Research* 105: 403-415.
- Wu, F., Yuan Y., He, S., Bandara, A., Hyde K., Malysheva V., Li D., & Dai Y., [2015]. "Global diversity and taxonomy of the *Auricularia auricula-judae* complex (Auriculariales, Basidiomycota)." *Mycological Progress* 14:1-16
- Zhou, L., & Dai, Y. [2013]. "Phylogeny and taxonomy of poroid and lamellate genera in the Auriculariales (Basidiomycota)." *Mycologia* 105:1219-1