

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN –DIGI-  
PROGRAMA UNIVERSITARIO DE INVESTIGACIÓN EN DESARROLLO  
INDUSTRIAL –PUIDI-**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS Y  
BIOLÓGICAS –IIQB-**

**Cultivo de cepas guatemaltecas del hongo comestible Tx'yo! B'aqman  
(*Agrocybe cylindracea* (DC.: Fr.) Maire): caracterización y producción de  
cuerpos fructíferos**

**COORDINADORA**

**Licda. María del Carmen Bran González**

**INVESTIGADORES**

**Lic. Osberth Isaac Morales Esquivel  
Dr. Roberto Enrique Flores Arzú**

**AUXILIAR DE INVESTIGACIÓN**

**Br. Roberto Agustín Cáceres Staackmann  
Br. Carmen Natalia Gurriarán Quiroz**

**Inicio de la Investigación: Enero de 2009  
Conclusión de la investigación: Diciembre de 2009**

**Guatemala, 08 de enero de 2010**

## ÍNDICE GENERAL

	Página
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. ANTECEDENTES	3
A. Generalidades de los hongos	3
B. Hongos comestibles	3
1. Morfología	4
2. Ciclo de vida	4
3. Valor nutricional	5
C. Cultivo de hongos comestibles	5
1. Cultivo de hongos comestibles en Guatemala	6
D. <i>Agrocybe cylindracea</i> (DC.: Fr.) Maire.	7
1. Clasificación taxonómica	7
2. Características morfológicas	7
3. Hábitat	8
4. Etnomicología	8
5. Características miceliares	9
6. Requerimientos para el cultivo de <i>A. cylindracea</i>	9
7. Estudios sobre el cultivo de <i>A. cylindracea</i> en Guatemala	9
8. Propiedades medicinales de <i>A. cylindracea</i> ( <i>A. aegerita</i> )	9
IV. JUSTIFICACIÓN	11
V. OBJETIVOS	12
VI. HIPÓTESIS	13
VII. METODOLOGÍA	14
VIII. RESULTADOS	19
IX. DISCUSIÓN	31
X. CONCLUSIONES	35
XI. RECOMENDACIONES	36
XII. BIBLIOGRAFÍA	37
XIII. ANEXOS	41

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

### TABLAS

	Página
Tabla 1. Crecimiento miceliar de cepas de <i>Agrocybe cylindracea</i> en diferentes medios de cultivo y temperaturas	20
Tabla 2. Características macro y microscópicas de las cepas de <i>A. cylindracea</i> a 18°C	23
Tabla 3. Características macro y microscópicas de las cepas de <i>A. cylindracea</i> a 26°C	24
Tabla 4. Producción de inóculo de cepas de <i>A. cylindracea</i> en diferentes sustratos	27
Tabla 5. Evaluación de las cepas de <i>A. cylindracea</i> para la producción de cuerpos fructíferos	30

### FIGURAS

	Página
Figura 1. Características macroscópicas de la cepa <i>A. cylindracea</i> 58.01	24
Figura 2. Características macroscópicas de la cepa <i>A. cylindracea</i> 59.01	25
Figura 3. Características macroscópicas de la cepa <i>A. cylindracea</i> 60.01	25
Figura 4. Características macroscópicas de la cepa <i>A. cylindracea</i> 112.02	26
Figura 5. Características macroscópicas de la cepa <i>A. cylindracea</i> 638.08	26
Figura 6. Producción de inóculo de cepas de <i>A. cylindracea</i>	29
Figura 7. Fructificación de la cepa <i>A. cylindracea</i> 638.08 en el sustrato S1	30

### GRÁFICAS

	Página
Gráfica 1. Efecto del medio de cultivo sobre el crecimiento miceliar de las cepas de <i>A. cylindracea</i> a dos temperaturas	21
Gráfica 2. Comportamiento general del crecimiento miceliar de las cepas de <i>A. cylindracea</i> en diferentes medios de cultivo y temperaturas	21
Gráfica 3. Efecto general de los medios de cultivo y temperaturas de incubación sobre el crecimiento miceliar de las cepas de <i>A. cylindracea</i>	22
Gráfica 4. Efecto general del medio de cultivo sobre el crecimiento miceliar de las cepas de <i>A. cylindracea</i> incubadas a 18 y 26°C	22
Gráfica 5. Comportamiento general de cepas de <i>A. cylindracea</i> para la producción de inóculo	28
Gráfica 6. Efecto del sustrato en la producción de inóculo de cepas de <i>A. cylindracea</i>	28

## I. RESUMEN

*A. cylindracea* es una especie de reconocida comestibilidad en el mundo, ya que se consume también en Guatemala, México, Italia y China, atribuyéndosele también propiedades anti-inflamatorias, antitumorales, hipoglicémicas, inmunoestimulantes y se ha reportado que contrarresta la diabetes e hipertensión (Poucheret, *et al*, 2006). Por tales razones, el consumo de los cuerpos fructíferos de esta especie no solamente sirve para fines alimenticios, sino que también puede ser utilizado con propósitos medicinales.

Dada la naturaleza saprobia y degradadora de madera de esta especie, puede ser cultivada sobre residuos que se generan en la industria maderera y en las actividades agrícolas que se llevan a cabo en el país, por lo que al estudiar y lograr su cultivo, se estaría dando uso a la diversidad fúngica nativa, para crear alternativas alimenticias, medicinales y económicas que contribuyan al desarrollo de las comunidades campesinas, como estrategia sostenible de los recursos naturales y como parte integral de los sistemas culturales (Bran, *et al*, 2004).

Por tal motivo, en esta investigación se estudiaron cinco cepas nativas de *A. cylindracea* y se evaluó su crecimiento *in vitro*, producción de inóculo, así como su fructificación sobre dos sustratos.

Como resultado de esta investigación se determinó que el medio extracto de malta (EMA) incubado a una temperatura de 18°C, fue el más adecuado para el cultivo de las cepas de *A. cylindracea* evaluadas. Por otra parte, la cepa *A. cylindracea* 60.01 presentó el mayor diámetro de crecimiento en los medios de cultivo y temperaturas evaluados. Asimismo, las cepas de *A. cylindracea* presentaron colonias de color blanco, textura algodonosa, levemente zonada y zonada, así como escasas fíbulas y apresorios.

En la producción de inóculo, los granos de trigo fueron los más adecuados para las cepas de *A. cylindracea* evaluadas y la cepa 60.01 presentó mayor velocidad de crecimiento en los sustratos evaluados.

Finalmente, todas las cepas de *A. cylindracea* colonizaron el sustrato constituido por paja de trigo (S1), sin embargo solamente la cepa 638.08 produjo primordios de cuerpos fructíferos. Además, ninguna de las cepas colonizó el sustrato conformado por olote y caña de maíz (S2). En ninguno de los sustratos fue posible cuantificar la eficiencia biológica y tamaño de los píleos.

Por lo tanto, se recomienda prolongar los tiempos de incubación y fructificación de los sustratos, así como evaluar otros desechos lignocelulósicos, tales como aserrín de encino, para la producción de cuerpos fructíferos.

## II. INTRODUCCIÓN

Guatemala posee una gran diversidad de hongos comestibles que se conocen desde tiempos inmemoriales. Uno de ellos es *Agrocybe cylindracea*, especie que es utilizada como alimento por personas de la etnia Mam que habitan los municipios de San Juan Ostuncalco, Concepción Chiquirichapa, Cajolá y San Miguel Sigüilá (Quetzaltenango), así como en San Antonio Sacatepéquez (San Marcos), lugares en los que se denomina tx'yol b'aqman. También es apreciada por personas de la etnia Kaqchikel del municipio de Tecpán, Chimaltenango (Hostnig, *et al*, 1998; Bran, *et al*, 2003a,b), donde se le conoce como rukoxil tunay che'.

*A. cylindracea* es una especie de reconocida comestibilidad en el mundo, ya que se consume también en China, Italia y México. Asimismo, se ha encontrado también que posee actividad anti-inflamatoria, antitumoral, hipoglicémica, inmunoestimulante y contrarresta la diabetes e hipertensión (Poucheret, *et al*, 2006). De tal manera que el consumo de los cuerpos fructíferos de esta especie, no solamente sirve para fines alimenticios, sino que también puede ser utilizado con propósitos medicinales.

Dada la naturaleza saprobia y degradadora de madera de esta especie, puede ser cultivada sobre residuos que se generan en la industria maderera y en las actividades agrícolas que se llevan a cabo en el país, por lo que al estudiar y lograr su cultivo, se estaría dando uso a la diversidad fúngica nativa, para crear alternativas alimenticias, medicinales y económicas que contribuyan al desarrollo de las comunidades campesinas, como estrategia sostenible de los recursos naturales y como parte integral de los sistemas culturales (Bran, *et al*, 2004).

Actualmente, gracias al financiamiento otorgado por la Universidad de San Carlos de Guatemala, se conoce ya el uso tradicional y el gran aprecio que se tiene hacia *A. cylindracea* en nuestro país. Asimismo, se han aislado ya varias cepas nativas a nivel de laboratorio. Sin embargo, su cultivo no ha sido todavía estudiado, pese a la demanda existente, para consumo y comercialización en las diversas comunidades.

Por tal motivo, este trabajo de investigación estudió cinco cepas nativas, evaluando su crecimiento *in vitro*, la producción de inóculo, así como su cultivo a nivel de sustrato, para fines de producción de cuerpos fructíferos en comunidades campesinas, como una alternativa alimenticia, comercial y medicinal.

### III. ANTECEDENTES

#### A. Generalidades de los hongos

Los hongos forman un grupo taxonómico independiente de los vegetales y los animales, al cual se le denomina Reino Fungi. Los organismos que lo conforman son heterótrofos, inmóviles, poseen talos unicelulares o filamentosos rodeados por paredes celulares y se reproducen por esporas sexuales y asexuales. De acuerdo con el tamaño de las fructificaciones que producen, se pueden clasificar en macrohongos y microhongos, según sean macroscópicos o microscópicos, respectivamente, e incluso existen microhongos que no producen fructificaciones (Alexopoulos, *et al*, 1996, Guzmán, 2003).

Actualmente, los micólogos han tenido un progreso sin precedente al elaborar una clasificación filogenética de los hongos, basada en análisis de ADN, la cual evidenció que son organismos polifiléticos con morfologías convergentes, pero que derivaron independientemente de varios linajes eucarióticos. Así, se clasifican en cuatro phyla: *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota* y *Basidiomycota* (Alexopoulos, *et al*, 1996; Guarro, *et al*, 1999; Galagan, *et al*, 2005; Hawksworth, 2006).

El número de hongos en el mundo suponen 1.5 millones de especies, de manera que, si este estimado es correcto, se han descrito menos del 5 por ciento de las especies (Hawksworth, 1991; 2001). Esto se debe a que aún se tiene información incompleta de muchas especies, ya que los hongos y los grupos parecidos a los hongos (mohos acuáticos, Reino Straminipila, mohos limosos y relacionados, Reino Protista) comprenden una asombrosa variedad de taxa, estrategias de vida y morfologías (desde las formas similares a amebas y chytridiomycetes acuáticos unicelulares, hasta los grandes hongos basidiomycetes) (Mueller, *et al*, 2004).

Los hongos se cuentan entre los más importantes en el mundo, no solo por el papel vital en la función de los ecosistemas, sino que además son esenciales e incluso cruciales en actividades como la descomposición, reciclamiento y transporte de nutrientes y son indispensables para el desarrollo sostenible del ambiente. Algunas especies son patógenas importantes de plantas y animales, mientras que otras forman simbiosis obligadas con algunas especies de plantas, algas, cianobacterias, animales y plantas (Mueller, *et al*, 2004).

Muchos hongos también tienen una gran importancia económica, aquellos que se han domesticado se utilizan en la elaboración de cerveza, en cocina, fermentación industrial, biotecnología y algunas otras especies se cultivan o se recolectan para ser utilizadas como alimento (Guzmán, 2003).

#### B. Hongos comestibles

Los hongos comestibles se conocen desde tiempos inmemoriales. Se estima que cerca de 7,000 especies poseen varios grados de comestibilidad, y más de 3,000 especies de 31 géneros se consideran como las principales comestibles (Chang & Miles, 2004).

## 1. Morfología

Los hongos comestibles se consideran macrohongos y se pueden encontrar principalmente en el grupo Basidiomycota. Los cuerpos fructíferos de este grupo pueden ser carnosos, gelatinosos o pulverulentos y tener forma de sombrilla, oreja, repisa, trompeta, coral, etc.; y poseen basidios, que son estructuras microscópicas especializadas sobre las cuales se producen las esporas (basidiosporas) (Mata, *et al*, 2003).

El típico cuerpo fructífero posee un píleo (sombrero), himenóforo (estructura que sostiene la capa fértil, ya sea lamelas, tubos, etc.), contexto y estípite. Los cuerpos fructíferos sésiles que no tienen estípite no son comunes, como en el caso de las llamadas “orejas de palo”, que se adhieren lateralmente al sustrato; “costras” que no tienen píleo ni estípite, y unos cuantos con características únicas de ellos o típicas de la familia, género o especie a los que pertenecen (Mata, *et al*, 2003).

## 2. Ciclo de vida

Las basidiosporas de los hongos comestibles germinan cuando entran en contacto con un sustrato y encuentran una temperatura, pH y humedad adecuados para su crecimiento. Dan origen a un micelio primario bien desarrollado, conocido como homocarión por tener un solo tipo de núcleos generalmente haploides. En algunas especies donde únicamente hay un núcleo por compartimiento hifal se le llama monocarión. En estos casos, los términos se utilizan como sinónimos. En la mayoría de los basidiomycetes el micelio homocarión no fructifica, pero es capaz de crecer vegetativamente. En ciertos tipos de hongos comestibles, puede formar esporas asexuales del tipo oidio que al germinar dan origen a micelio homocarión. En otros casos los oidios funcionan como gametos masculinos y se unen a hifas de micelio compatible para formar el micelio heterotálico, típico de la reproducción sexual (Huerta, 2002).

Para que el cuerpo fructífero se desarrolle, es necesario que dos micelios homocarióticos compatibles se fusionen y por disolución de la pared del punto de contacto, formen compartimentos hifales de citoplasma continuo y con dos tipos de núcleos provenientes cada uno de los compartimentos que se fusionaron. Es a partir de estos, que por divisiones conjugadas de ambos tipos de núcleos y su posterior migración hacia los compartimientos de compatibilidad sexual contraria al núcleo que migra, se forma el micelio heterocarión o dicarión. A este tipo de micelio también se le conoce como micelio secundario. En la mayoría de casos, este micelio presenta en cada septo una estructura lateral conocida como conexión grapa o fíbula. El micelio que presenta este tipo de estructura frecuentemente se identifica como heterocarión y el que no las tiene como homocarión. Esto no es del todo verdadero, pues en un buen número de hongos el heterocarión no las forma (Huerta, 2002).

El micelio heterocarión es capaz de crecer vigorosamente y de multiplicarse vegetativamente en esta condición de forma indefinida. Aún cuando la inducción y la formación de los basidiocarpos o setas son regulados por la interacción de un gran

número de factores, se pueden mencionar que estas son favorecidas por los cambios bruscos de humedad y concentración de CO<sub>2</sub> (Huerta, 2002).

La cariogamia de los núcleos que forman el micelio heterocariótico, se presenta en las puntas de las hifas que forman la capa fértil del basidiocarpio (himenio), dando origen a basidios monocarióticos y diploides. Posteriormente el núcleo (2n) presenta meiosis y da origen a cuatro núcleos haploides (1n) que migran hacia los esterigmas, para formar las basidiosporas generalmente haploides y con un solo tipo de núcleo (Huerta, 2002).

Las basidiosporas maduras son liberadas y pueden ser diseminadas por el viento, insectos, agua, animales y otros factores, para dar origen a hifas somáticas uninucleadas e iniciar nuevamente el ciclo de vida del hongo (Huerta, 2002).

### **3. Valor nutricional**

Los análisis de la composición de los hongos cultivados han revelado que los hongos comestibles son ricos en proteínas y carbohidratos, moderados en fibra y cenizas, y bajos en grasas. Su valor energético es bajo y son una buena fuente de aminoácidos esenciales, vitaminas y minerales. El potasio y el fósforo son dos elementos dominantes en la porción mineral. Los hongos contienen una porción sustancial de tiamina, riboflavina, niacina y de vitamina B<sub>2</sub>. En 100g de proteína cruda hay 32 a 48g de nueve aminoácidos esenciales. De estos, la lisina es la más abundante, mientras que las cantidades de triptófano y metionina son bajas (Chang & Miles, 2004).

### **C. Cultivo de hongos comestibles**

Se estima que el primer intento por cultivar hongos tuvo lugar en China hace 1,400 años. La primera especie cultivada fue *Auricularia auricula*, la siguiente fue *Flammulina velutipes*, la cual se cultivó 200 a 300 años después y la tercera fue *Lentinula edodes* (Chang & Miles, 2004).

Los hongos pueden ser cultivados a través de una variedad de métodos. Algunas técnicas son simples y requieren de poca o casi nada de experiencia por parte del cultivador. Otros, demandan técnicas sofisticadas ya que incluyen procedimientos como el cultivo de tejido estéril. Los métodos simples toman poco tiempo, pero también requieren mayor paciencia por parte del cultivador. A medida que se progresa hacia métodos más técnicos la probabilidad de éxito se ve incrementada (Quimio, *et al*, 1990).

El cultivo de hongos comestibles requiere el cumplimiento de diferentes fases las cuales comprenden: a) selección del hongo, b) determinación de los requerimientos para el cultivo, c) producción de inóculo, d) preparación del sustrato, e) desarrollo del micelio y f) desarrollo de los cuerpos fructíferos (Chang & Miles, 2004; Huerta, 2002).

El uso extensivo de las técnicas mecanizadas para cultivo de hongos como alimento, en grandes cantidades, es un fenómeno del siglo XX. Actualmente en el

mundo, se han estudiado para fines de cultivo, alrededor de 200 especies, de las cuales aproximadamente 60 se cultivan comercialmente y cerca de 10 se cultivan a escala industrial. Las 10 especies cultivadas más populares a nivel mundial son *Agaricus bisporus/bitorquis*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus* spp., *Auricularia* spp., *Volvariella volvacea*, *Flammulina velutipes*, *Tremella fuciformis*, *Hypsizygus marmoreus*, *Pholiota nameko* y *Grifola frondosa*. En años recientes, se cultivan también varias nuevas especies de hongos comestibles, entre ellos, *Hericium erinaceus*, *Dictyophora indusiata*, *Stropharia rugoso-anulata*, *Lepista nuda*, *A. cylindracea*, *Pleurotus citrinopileatus* y *Cantharellus cibarius* (Chang & Miles, 2004).

El cultivo de hongos se ha popularizado en todo el mundo. En 1999, la producción mundial de hongos cultivados fue estimada en más de 7 millones de toneladas. La producción mundial de hongos se ha incrementado durante las últimas dos décadas, de 1.2 millones de toneladas en 1981 a 6.2 en 1997, siendo China el más grande productor, consumidor y exportador de hongos (Chang & Miles, 2004).

## 1. Cultivo de hongos comestibles en Guatemala

El cultivo de hongos comestibles en Guatemala comenzó en el año 1955, con la implementación del cultivo de champiñón (*Agaricus bisporus* (Lange) Imbach) con cepas de origen norteamericano. Posteriormente, se inició con el cultivo de *Pleurotus* a nivel de laboratorio en el Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial (ICAITI), empleando una cepa inglesa de *P. flabellatus* (Berk. & Br.) Sacc., que cultivaron sobre diversos sustratos (De León, et al, 1983; De León, et al, 1988).

En el año 1977, se estableció la primera planta productora de *Agaricus bisporus* y su actividad continúa hasta ahora. En la actualidad, cuatro compañías cultivan también este hongo y todas utilizan paja de trigo como sustrato. La producción de *Agaricus* en Guatemala es de 68,504 kg por año, el 70% de esta producción se consume en el país y el resto se exporta (De León, 2003).

La primera planta productora de *L. edodes* se estableció en 1979, utilizando troncos de *Quercus* como sustrato. La producción comercial de *Pleurotus* inició en 1986, utilizando paja de trigo y pulpa de café como sustrato. La producción anual de *Pleurotus* es de aproximadamente de 29,580 Kg y la mayoría se consume en Guatemala. Este tipo de hongo se vende en los mercados y supermercados, aunque inicialmente fue consumido por los franceses e italianos residentes en Guatemala (De León, 2003).

La producción total de hongos comestibles en Guatemala ha sido estimada en 132,104 Kg por año, incluyendo *A. bisporus* y *A. bitorquis* (51.9%), *L. edodes* (25.7%), y *Pleurotus* spp. (22.4%) (De León, 2003).

En el país también se han realizado estudios sobre la producción en cultivo *in vitro* de cuerpos fructíferos de una cepa guatemalteca de *Auricularia* aff. *fuscusuccinea* proveniente de una finca del municipio de San Rafael Pie de la Cuesta, San Marcos.

También, varias especies de *Pleurotus* (*P. djamor*, *P. ostreatus* y *P. levis*), fueron cultivadas a nivel artesanal en 205 módulos ubicados en el occidente del país, logrando producir alrededor de 1,200 libras durante el año 2005 (Bran, *et al*, 2005).

Por otra parte, a partir de dos cepas nativas de *P. djamor* y dos de *P. ostreatus*, se obtuvieron tres cruces mejoradas en cuanto a su crecimiento micelial y eficiencia biológica sobre el sustrato de olote de maíz, a través del entrecruzamiento de micelio monocariótico. Dichas cepas mejoradas se consideran promisorias para su cultivo en comunidades rurales (Bran, *et al*, 2006).

Recientemente, se logró el cultivo de cepas nativas de *Neolentinus ponderosus* y *N. lepideus*, utilizando como sustrato aserrín y viruta de pino, enriquecidos con salvado de arroz al 5%. Los resultados generados mostraron que es posible su cultivo a nivel artesanal en comunidades campesinas (Bran, *et al*, 2007).

#### **D. *Agrocybe cylindracea* (DC.: Fr.) Maire.**

*Agrocybe cylindracea*, es un hongo comestible de amplia distribución y ha sido reportado en todos los continentes, sin embargo, es raro en Norteamérica (Walting, 1992).

Existen muchas variaciones morfológicas macro y microscópica observadas en los diferentes especímenes recolectados. Entre estas características se encuentran la coloración del píleo y el número de esporas sobre el basidio (Singer, 1986; Watling, 1992). Sin embargo, la caracterización molecular de los genes morfogénicos de aislamientos de esta especie, reveló un extenso polimorfismo genético (Sirand-Pugnet, & Labarère, 2002).

#### **1. Clasificación taxonómica:**

Se clasifica en el Phylum Basidiomycota, Clase Basidiomycetes, Subclase Agaricomycetidae, Orden Agaricales, Familia *Bolbitiaceae*, género *Agrocybe* (Hawksworth, *et al*, 1995).

*Agrocybe cylindracea* posee más de 20 sinónimos, dentro de los cuales el más ampliamente difundido es *A. aegerita* (Brig.) Singer. Este último nombre es el más conocido en todo el mundo, sin embargo, el uso de este podría ser un error ortográfico o tipográfico y se considera que el epíteto correcto para este sinónimo es "*aegirita*" (Uhart, Albertó, 2007).

#### **2. Características morfológicas (Anexo 1):**

Píleo café, generalmente más oscuro en el centro y blanquecino hacia el margen. El color es más uniforme en los primordios. Superficie del píleo no higrófana, no viscosa, glabra, eventualmente surcada o estriada en algunos especímenes, aunque usualmente es lisa. Convexo a plano, de 8.0 a 22.0 cm de diámetro. Láminas blancas o gris brillante y eventualmente se vuelven de color café o café oscuro; moderadamente anchas, delgadas, adnadas, sinuadas o subdecurrentes, borde liso o crenado. Contexto blanco, olor agradable, afrutado,

sabor excelente. Esporada café. Estípote blanco a café muy pálido, escamoso a fibriloso, cilíndrico, sólido, de 10.0 a 150 x 2.0 – 25.0 cm. El velo forma un anillo ancho y persistente. Gregario (Uhart, Albertó, 2007).

Esporas (8-) 9-16 (-17) x 5-9 (-10)  $\mu\text{m}$ , Q=1.8 (n=700), oblongas, lisas, algunas con gúttulas en el interior, pigmentadas de color miel, con un poro germinativo nunca truncado. Basidios (17-) 22-46 x 5-8  $\mu\text{m}$ , clavados, de paredes delgadas, hialinos, 1 a 4 esporas. Pleurocistidios (18-) 21-65 x (5-) 7-17  $\mu\text{m}$ , clavados a ventricosos, con ápice redondeado, mucronado o capitado, de paredes delgadas, numerosos. Queilocistidios 19-49 x (3-) 5-13  $\mu\text{m}$ , similar a los pleurocistidios o más pequeños, pero entonces cilíndricos a lageniformes. Hifas con fíbulas. Trama himenoforal regular. Epicutis del píleo formado por elementos vesiculares a clavados, 14-42 x 6-25  $\mu\text{m}$ , formando una pared himeniforme. Pileocistidios 17-55 x (5-) 6-13  $\mu\text{m}$ , ventricosos a mucronados, algunas veces con dos constricciones hacia el ápice, lageniformes, raramente agudos. Caulocistidios 16-88 (-95) x 4-16  $\mu\text{m}$ , similares en tamaño a los queilocistidios (Uhart, Albertó, 2007).

### 3. Hábitat:

Saprobio, lignícola. Crece sobre troncos de árboles vivos o muertos, en ramificaciones o heridas cerca de la base. Se ha encontrado sobre *Populus*, *Salix*, *Quercus*, *Ulmus*, *Hacer*, *Melia*, *Robinia*, *Broussonetia*, *Allophylus*, *Cupania*, *Phebe*, *Araucaria augustifolia* (Walting, 1992).

En Guatemala se le ha encontrado creciendo sobre *Sambucus* sp y *Salix* sp. (Morales, O., 2001; Bran, *et al*, 2004; Uhart, Albertó, 2007).

### 4. Etnomicología:

Este hongo comestible es popular en los municipios de San Juan Ostuncalco, Concepción Chiquirichapa, Cajolá y San Miguel Sigüilá en el departamento de Quetzaltenango, donde se conoce como Tx'yol B'aqman, Tx'yol te chib'j (idioma Mam) u hongo del saúco. Las personas de estos municipios lo recolectan al pie de los árboles de sauco viejos (*Sambucus* sp), durante finales del mes de mayo y el mes de junio. Se vende en el mercado a Q6.00 la libra y se prepara en recado y en paches y (Hostnig, *et al*, 1998).

También se consume en el municipio de Tecpán, Chimaltenango, donde se le conoce como hongo del sauco o Rukoxil Tunay Che' (idioma Kaqchikel). Asimismo, se consume en aldeas del municipio de San Antonio Sacatepéquez, San Marcos, donde se le llama hongo del soico (Bran, *et al*, 2003a,b).

En Italia se conoce con los nombres comunes de Piopparello y Pioppino. En Japón se nombra como Yanagi-Matsutake. En China, popular hongo del sur o Zhuzhuang–Tiantougu. En México se conoce como hongo de chopo, hongo negro del álamo y seta del chopo (Stamets, 1993).

## **5. Características miceliales:**

Colonia con crecimiento longitudinal y linear, algodonosa, usualmente con poco micelio aéreo. Color blanco al principio, luego desarrolla manchas de color café y eventualmente se torna de color café. Usualmente se forman primordios en agar extracto de malta. Olor dulce, farináceo a veces no muy agradable (Stamets, 1993).

## **6. Requerimientos para el cultivo de *A. cylindracea***

### **a. Crecimiento miceliar:**

Para el crecimiento miceliar de las cepa se ha recomendado el uso de los medios de cultivo agar malta, levadura y peptona (MYPA), agar papa dextrosa (PDA), agar papa dextrosa y levadura (PDYA), agar con extracto de malta (EMA), agar harina de maíz y levadura (OMYA) y agar comida para perro (DFA) (Stamets, 1993).

### **b. Producción de inóculo:**

Se ha informado que el inóculo primario y secundario se prepara en granos de cereales (centeno, trigo, mijo, sorgo, entre otros). Para el inóculo terciario, se puede usar aserrín (Stamets, 1993).

### **c. Producción de cuerpos fructíferos:**

Se tiene conocimiento de algunos sustratos que se utilizan para la producción de basidiocarpos, entre ellos, paja de trigo (De León, 2003) y paja de trigo adicionada con  $\text{CaCO}_3$  (Uhart, Albertó, 2007).

También se ha indicado que fructifica sobre aserrín o viruta de encino y aliso suplementado. También pueden utilizarse madera de sauce, álamo, chopo y maple. Se recomienda el uso de bolsas de polipropileno para contener los sustratos que se usen para la fructificación (Stamets, 1993).

## **7. Estudios sobre el cultivo de *A. cylindracea* en Guatemala:**

Se han efectuado estudios sobre la fisiología del crecimiento miceliar de cepas guatemaltecas y extranjeras de *Agrocybe aegerita* (Lau, 2001; Vallejo, 2002; Andrade, 2007).

## **8. Propiedades medicinales de *A. cylindracea* (*A. aegerita*):**

A partir de cuerpos fructíferos del hongo comestible *A. aegerita*, se purificó una lectina denominada AAL. La AAL consiste en dos subunidades idénticas de 15.8 kDa, cuyo bloque N-terminal fue secuenciado como QGVNIYNI, mediante piroglutamato aminopeptidasa (Sun, *et al.* 2003).

Se reportó que la lectina de *Agrocybe aegerita* (AAL) tiene un efecto antitumoral inducido vía apoptosis y con actividad de DNAasa. En este estudio se investigaron diferentes líneas celulares derivadas de tumores humanos HeLa, SW480, SCG-7901, MGC80-3, BGC-823, HL-60 y sarcoma de ratón S-180,

demostrándose que AAL inhibe su crecimiento; y que *in vivo* también inhibe la viabilidad de células tumorales S-180.5 (Zhao, C. *et al.* 2003; Castillo-Villanueva, *et al.*, 2005).

Durante las décadas pasadas se ha incrementado el interés en la producción de exopolisacáridos (EPS) de los hongos, debido a que presentan varias actividades fisiológicas. Los EPS producidos por *Agrocybe cylindracea* han mostrado actividades fisiológicas beneficiosas, entre ellas, propiedades antitumorales (Kiho, *et al.*, 1989), propiedades como hipoglicémico (Kiho, *et al.*, 1994), inhibición de la peroxidación lipídica (Lee, *et al.*, 1998) y actividad inmunoestimulante (Yoshida, *et al.*, 1996, Poucheret, *et al.*, 2006).

De esta forma, actualmente ya se ha optimizado la producción de exopolisacáridos (EPS) de *A. cylindracea*, utilizando biomasa miceliar preparada por cultivo sumergido (Kim, 2005).

#### IV. JUSTIFICACIÓN

Es de conocimiento general que enormes cantidades de residuos lignocelulósicos y otros desechos orgánicos se generan anualmente en el mundo, producto de las actividades agrícolas, forestales e industrias de alimentos. Más de 3000 millones de toneladas métricas (TM) de rastrojos estaban disponibles en el mundo en el año 1999, y, alrededor de la mitad de estos residuos no se utilizaron con ningún fin. Si se considera que en el cultivo de hongos comestibles se puede obtener eficiencias biológicas del 60 al 75% en una cosecha y si se lograra cultivar hongos comestibles sobre dichos residuos, se podrían obtener cerca de 803 TM de hongos comestibles frescos (Chang & Miles, 2004)

En tal sentido, las poblaciones silvestres de hongos representan no solo un potencial para ser cultivados, sino también para la búsqueda de metabolitos secundarios de beneficio para la humanidad. Latinoamérica es una región fundamental en la conservación de la biodiversidad, por lo que se hace necesaria la caracterización del germoplasma fúngico nativo (Sobal, M., *et al*, 2007).

En el país, gracias a los estudios financiados por la Universidad de San Carlos de Guatemala, se han aislado cepas nativas de *A. cylindracea*, a partir de especímenes provenientes de las localidades donde se comercializa y se utiliza como alimento. Estas cepas nativas pueden ser utilizadas con fines de bioprospección de la diversidad fúngica y como una alternativa alimenticia y económica, mediante la producción de cuerpos fructíferos en comunidades campesinas, los cuales pueden utilizarse tanto para el autoconsumo como para la venta, así como para la producción de sustancias medicinales antitumorales e inmunoestimulantes, las cuales son de utilidad en las terapias contra el cáncer.

Por lo tanto, se hizo necesario el estudio de estas cepas nativas, para evaluar su crecimiento en diferentes medios de cultivo y temperaturas, producir el inóculo sobre varios sustratos como vehículos y determinar su fructificación sobre varios desechos agrícolas, con el fin de generar una tecnología que posteriormente podría utilizarse para el cultivo en regiones rurales del país, como una alternativa alimenticia, económica y medicinal.

## V. OBJETIVOS

### A. General

Establecer el comportamiento de cepas nativas de *Agrocybe cylindracea* en diferentes medios de cultivo y vehículos, bajo diferentes temperaturas, así como evaluar la productividad sobre diversos sustratos, a nivel de planta piloto.

### B. Específicos

1. Determinar el medio de cultivo y la temperatura de incubación donde las cepas presenten el mayor crecimiento miceliar, a través de la evaluación del diámetro de las colonias.
2. Describir las características macro y microscópicas de cultivo *in vitro*, obtenidas en diferentes medios de cultivo y temperaturas, para documentar las características morfológicas de las colonias y los tipos de hifas que exhiben cada una de las cepas.
3. Evaluar la producción de inóculo sobre diferentes vehículos y a una temperatura de incubación, a través de la determinación del tiempo de colonización miceliar.
4. Evaluar la productividad de las cepas sobre diferentes sustratos, a través de la cuantificación de la eficiencia biológica y tamaño del píleo.

## VI. HIPÓTESIS

1. Las cepas de *Agrocybe cylindracea* evidencian una mayor velocidad de crecimiento miceliar en por lo menos en un medio de cultivo y una temperatura a estudiar.
2. El tiempo de colonización de las cepas de *Agrocybe cylindracea* para la producción de inóculo, es menor sobre granos de sorgo en por lo menos una temperatura a evaluar.
3. La eficiencia biológica de las cepas de *Agrocybe cylindracea*, presentan valores mayores al 50%, al ser cultivadas sobre paja de trigo.

## VII. METODOLOGÍA

### Fase de laboratorio

#### A. Revitalización de las cepas de *Agrocybe cylindracea*:

- Las cepas utilizadas están depositadas en el Cepario de hongos Saprobios y Micorrícicos, del Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica; Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). Las cepas utilizadas fueron las siguientes

Código de la cepa	Procedencia	Sustrato <sup>1</sup>
58.2001	Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos	<i>Sambucus</i> sp
59.2001	Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos	<i>Sambucus</i> sp
60.2001	Aldea Escuachil, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos	<i>Sambucus</i> sp
112.2002	Tecpán, Chimaltenango	<i>Salix</i> sp
638.08	Tecpán G. Chimaltenango	<i>Sambucus</i> sp

1: Sustrato donde se encontraban creciendo los basidiomas de los cuales fue aislada la cepa.

- Las cepas se revitalizaron sembrándolas en agar PDA e incubándolas a 26°C, por 30 días.

#### B. Determinación del diámetro de las colonias de cada una de las cepas, a diferentes temperaturas y medios de cultivo:

El procedimiento se realizó de acuerdo con Mier, *et al*, (2002) y Stamets, (1993).

- Se prepararon los medios de cultivo agar con extracto de malta (AEM), agar papa dextrosa (PDA) y agar harina de maíz y levadura (OMYA).
- Se esterilizaron por 15 minutos a 121°C y 15 lbs/p<sup>2</sup>.
- Se tomó el valor de pH de los medios preparados, el cual estuvo entre 5.5 y 6.8.
- Se inocularon 20 cajas de cada uno de los medios, con cada una de las cepas revitalizadas, con un segmento de 0.5 mm del cultivo.
- Las cajas de Petri conteniendo los medios de cultivo, se identificaron con referencia, nombre de la cepa, fecha de inoculación, medio, temperatura de incubación y número de repetición.
- Se sellaron las cajas inoculadas con papel parafilm, para evitar su deshidratación.
- Las cajas de cada medio inoculadas con las cepas, se incubaron a las temperaturas de 18 y 26°C, durante un máximo de 21 días.
- Se anotó el diámetro alcanzado por las colonias cada 3 días, mediante la medición del diámetro de la colonia en dos planos perpendiculares, los cuales se sumaron y dividieron entre dos, con lo cual se obtuvo el diámetro promedio (mm). Esto se realizó en cada uno de los medios y temperaturas (Anexo 2).
- Con los datos obtenidos se elaboró una base de datos en el programa EXCEL<sup>®</sup>, ordenando los datos en forma vertical, incluyendo los siguientes parámetros en cada columna: Cepa (c/u de las 5 cepas), temperatura de incubación (18 y 26°C),

medio de cultivo (AEM, PDA, CMYA), día de medición (día 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21) diámetro de la colonia de cada una de las repeticiones (mm)

- La base de datos obtenida se importó al programa estadístico SPSS 16.0<sup>®</sup>, para estimar la media y la desviación estándar del diámetro de las colonias (mm).
- Se elaboraron gráficos de interacción, donde se observó el crecimiento de las cepas.

### **C. Determinación de las características macro y microscópicas de las colonias**

El procedimiento se realizó de acuerdo con Nobles (1965).

- Las colonias se caracterizaron macroscópicamente con ayuda de un estereoscopio.
- Se observó el color del anverso y reverso, textura, consistencia, forma, olor, micelio aéreo, producción de exudado, formación de rizomorfos o agregaciones hifales.
- Se describió microscópicamente el micelio de las colonias, realizando preparaciones con azul de lactofenol, para observar las características hifales a 400 aumentos.
- Se observó el diámetro de las hifas ( $\mu\text{m}$ ), fíbulas, clamidosporas, hifas en espiral, apresorios y cualquier otra característica relevante (Anexo 3).

### **D. Producción de inóculo**

El procedimiento se realizó de acuerdo con Coello-Castillo, M., *et al* (2009).

- Se hidrataron los sustratos de granos de trigo, sorgo y cebada, por 18 horas, hasta alcanzar aproximadamente el 80% de humedad.
- Los sustratos se colocaron individualmente en bolsas de polipapel con 20 gramos en peso húmedo y se suplementaron con 1 % p/p de  $\text{CaCO}_3$ .
- Los sustratos se esterilizaron a  $121^\circ\text{C}$  y  $15 \text{ lb/p}^2$ , por 30 minutos.
- Los sustratos se colocaron individualmente esterilizados en cajas de petri de poliestireno (100 x 15 mm).
- Los sustratos se inocularon con 1 fragmento de agar con micelio de 5 mm de diámetro, de cada una de las cepas (20 repeticiones por sustrato y cepa).
- Se identificaron las cajas con la referencia de la cepa, fecha de inoculación, sustrato, temperatura de incubación y número de repetición.
- Los sustratos se incubaron a una temperatura de  $26^\circ\text{C}$ .
- Se observó el crecimiento del micelio sobre el sustrato cada 7 días, hasta que se logró la colonización completa de los sustratos (Anexo 4).
- Se estimó la Tasa de Extensión Radial (RER):  $\text{RER} = \frac{X_2 - X_1}{T_2 - T_1}$  (mm/días), donde **X1** es el diámetro inicial de la colonia en mm, **X2** el diámetro final, **T1** el tiempo inicial en días y **T2** el tiempo final de incubación.
- Se elaboró una base de datos en el programa EXCEL<sup>®</sup>, con los datos ubicados en forma vertical, incluyendo los siguientes parámetros en cada columna: Cepa (c/u de las 5 cepas), temperatura de incubación (18 y  $26^\circ\text{C}$ ), sustrato (trigo, sorgo, cebada) y RER (mm/días).
- La base de datos se importó al programa estadístico SPSS 16.0<sup>®</sup> para estimar la media y desviación estándar de los valores RER.
- Se elaboraron gráficos de interacción.

## **E. Preparación e inoculación de los sustratos para la fructificación.**

Se utilizaron dos métodos tradicionales para el cultivo de hongos comestibles:

- **Sustrato 1:** 29% de paja de trigo, 1% Harina de soya y 70 % de humedad (Uhart, Albertó, 2007).
  - Se pesó 1.0 Kg del sustrato y se colocó en bolsas de polipropileno (polipapel).
  - Las bolsas con los sustratos se esterilizaron por 1 hora a 121°C y 15 lbs/pulg<sup>2</sup>.
- **Sustrato 2:** Caña de maíz picada en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%), Olote de maíz picado en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%):
  - Los materiales se sumergieron en una suspensión de  $\text{Ca(OH)}_2$  al 2%, por 48 horas (Contreras, E., *et al.*, 2004).
  - Posteriormente se eliminó el exceso de cal, mediante un lavado con agua potable y se dejó escurrir por 12 horas.
  - Se pesó 1.0 Kg de la mezcla de sustratos y se colocaron en bolsas de polipropileno.
- Los sustratos 1 y 2 se inocularon con 20.0 g (5%) del inóculo previamente preparado (20 repeticiones por cada sustrato y cepa).
- Una vez inoculados, se les colocó un respiradero elaborado con papel estéril y vasos plásticos para favorecer la aireación.
- Los sustratos se incubaron a temperatura ambiente, hasta que el micelio colonizó totalmente el sustrato.

## **E. Determinación del porcentaje de humedad y peso seco de los sustratos:**

- Se tomó aleatoriamente cinco muestras de los sustratos 1 y 2, cada una con un peso de 10.0 g.
- El porcentaje de humedad y peso seco se determinó utilizando una balanza medidora de humedad.
- Los datos obtenidos en cada uno de las muestras se anotó y calculó el promedio del peso seco para cada uno de los sustratos (gramos).

## **Fase de campo**

### **F. Evaluación de la producción de cuerpos fructíferos a nivel de planta piloto**

Los módulos de producción que se utilizaron para esta fase, fueron facilitados por la Asociación AFDISAL, en un módulo de producción cerrado y exclusivo para el cultivo de hongos comestibles. Se realizaron visitas semanales, para efectuar la supervisión de los cultivos en fase de fructificación.

- Los sustratos se trasladaron a los módulos de producción cerrado y exclusivo para el cultivo de hongos comestibles.

El procedimiento se realizó de acuerdo con lo recomendado por Chang y Miles (2004).

- Los sustratos se colocaron en un área de producción con iluminación natural difusa y ventilación para favorecer la fructificación.
- Los parámetros medioambientales que se registraron durante los meses de producción fueron temperatura y humedad.
- De obtenerse resultados se procedería de la siguiente forma:
  - Los cuerpos fructíferos se pesan expresando la cantidad en gramos.
  - La productividad se expresa en términos de eficiencia biológica (EB), ( $\%EB = (\text{Peso fresco de los cuerpos fructíferos} / \text{peso seco de los sustratos}) \times 100$ ).
  - Se cuenta el número y diámetro de las fructificaciones obtenidas y se clasifican según el diámetro del píleo: grupo 1 (G1) < 2.0 cm, grupo 2 (G2) entre 2.0 y 4.0 cm y grupo 3 (G3), >4.0 cm.
  - Se elabora una base de datos en el programa EXCEL® y gráficos de interacción, para la productividad expresada en porcentaje de eficiencia biológica de cada una de las cepas, mediante el análisis estadístico con el programa estadístico SPSS 16.0®.

## **H. Diseño**

Objetivo 1: Diseño factorial: 5 x 3 x 2 x 19 (5 cepas, 3 medios, 2 temperaturas, 5 días de medición). Réplicas: 20.

Objetivo 2: Descriptivo.

Objetivo 3: Diseño factorial: 5 x 3 x 1 (5 cepas, 3 sustratos, 1 temperatura). Réplicas: 20.

Objetivo 4: Diseño factorial: 5 x 2 (5 cepas, 2 sustratos). Réplicas: 20.

## **I. Análisis de la información**

Objetivo 1:

Se efectuaron análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de Duncan ( $\alpha = 0.05$ ), para evidenciar las diferencias significativas en función del crecimiento de las cepas en los medios de cultivo y temperaturas. Además se elaboraron gráficas de interacción.

Objetivo 2:

Descripción de las características macro y microscópicas de cada una de las cepas en los diferentes medios de cultivos y temperaturas. Se elaboraron tablas y se incluyeron fotografías.

Objetivo 3:

Se efectuaron análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de Duncan ( $\alpha = 0.05$ ), para evidenciar las diferencias significativas en función del tiempo de

colonización de las cepas en los sustratos en 26°C de temperatura de incubación. Además se elaboraron gráficas de interacción.

Objetivo 4:

De obtenerse resultados se deberá efectuar un análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de Duncan ( $\alpha = 0.05$ ), para evidenciar las diferencias significativas en función de la eficiencia biológica obtenida para cada una de las cepas en los diferentes sustratos.

Los diámetros de los píleos clasificados en los grupos G1 al 3, deberán analizarse por medio de la prueba de chi cuadrado ( $\chi^2$ ). Además se deben elaborar gráficas de interacción.

## VIII. RESULTADOS

Respecto al crecimiento miceliar de las cepas de *A. cylindracea*, se pudo observar que de las cepas evaluadas a 18°C, el mayor diámetro lo obtuvo la cepa 638.08 en el medio CMYA (43.14 mm). Asimismo, la cepa 58.01 lo obtuvo en el medio PDA (43.02 mm) y las cepas 59.02, 60.01 y 112.02, en el medio EMA (37.77, 36.74 y 32.44 mm, respectivamente) (Tabla 1, Anexo 5).

De manera general, a esta temperatura de incubación se determinó que los mayores diámetros de las colonias se obtuvieron en el medio EMA y los menores en el medio CMYA. Asimismo los mayores diámetros se obtuvieron con la cepa 638.08 y los menores con la cepa 112.02 (Gráficas 1 y 2).

Aunando los resultados obtenidos en el crecimiento miceliar se comprobó que (sin tomar en cuenta la cepa) existió diferencia entre los medios de cultivo ( $p < 0.05$ ). Asimismo, sin tomar en cuenta el medio de cultivo, no existió diferencia significativa entre las cepas 638.08 y 58.01 ( $p > 0.05$ ), pero si existió entre las dos anteriores y las cepas 59.01, 60.01 y 112.02 ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, en estas tres últimas se observó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) (Tabla 1).

A 26°C, todas las cepas alcanzaron su mayor diámetro en el medio EMA. Específicamente, el diámetro máximo para la cepa 60.01 fue 50.35 mm, para la cepa 58.01 fue de 37.62 mm, para la cepa 638.08 fue de 36.93 mm, para la cepa 59.01 fue de 29.82 mm y para la cepa 112.0 fue de 27.24 mm.

De manera general, los mayores diámetros de las colonias se observaron a 18°C de temperatura de incubación, comparado con los resultados obtenidos a 26°C (con excepción de la cepa 60.01, en los medios PDA y EMA). Asimismo, en el medio EMA se reportaron los mayores diámetros, en tanto que los menores se observaron en el medio CMYA (con excepción de la cepa 58.01 y 638.08 en los medios PDA y CMYA, respectivamente a 18°). Además, la cepa con la mayor respuesta fue la 60.01 y la cepa con la menor respuesta fue la 112.02 (Gráficas 1 y 2).

Aunando los resultados observados en el crecimiento miceliar, se evidenció que existió diferencia significativa entre los medios de cultivo evaluados (sin tomar en cuenta la cepa) ( $p < 0.05$ ). Asimismo (sin tomar en cuenta el medio de cultivo), se comprobó que las cepas 60.01 y 112.02 fueron estadísticamente diferentes que las demás ( $p < 0.05$ ), en tanto que entre las cepas 638.08 y 58.01 no existió diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). Esta última tampoco presentó diferencia con respecto a la cepa 59.01 ( $p > 0.05$ ).

Comparando los resultados obtenidos en los ensayos llevados a cabo con las cepas incubadas a 18 y 26°C en tres medios de cultivo, se pudo obtener las siguientes deducciones:

La cepa con la mejor respuesta fue la 60.01 en los medios de cultivo y temperaturas evaluadas (Gráfica 3).

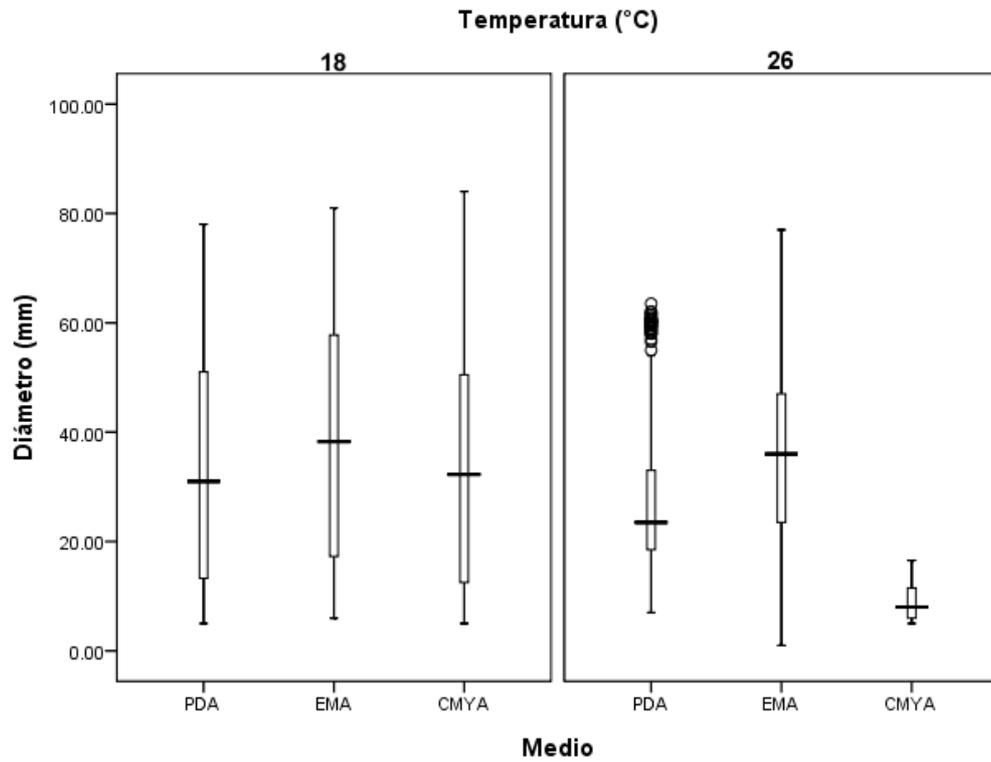
El medio de cultivo donde las cepas obtuvieron los mayores diámetros de crecimiento miceliar fue el medio EMA a las dos temperaturas evaluadas (Gráfica 4).

**Tabla 1. Crecimiento micelial de cepas de *Agrocybe cylindracea* en diferentes medios de cultivo y temperaturas<sup>1</sup>.**

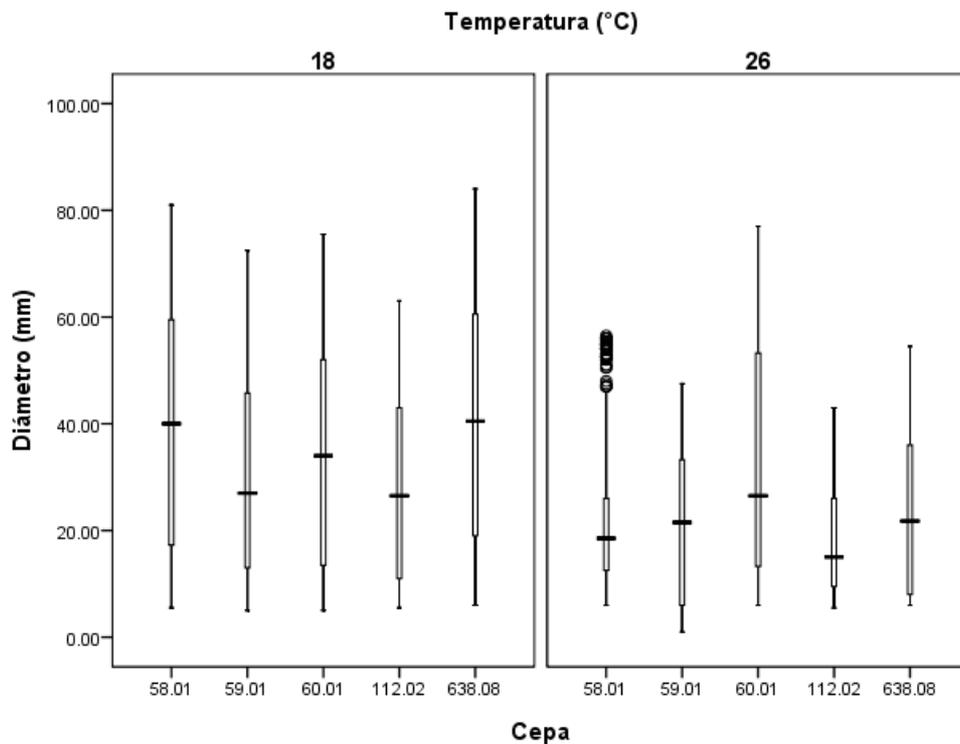
Temperatura (°C)	Cepa	Medio	Diámetro de las colonias (mm)	
18°C	58.01 a	PDA	<b>43.02 ± 23.69</b>	b
		EMA	42.96 ± 24.12	b
		CMYA	35.29 ± 20.89	d, e
	59.01 c	PDA	24.11 ± 16.77	h, j
		EMA	<b>37.77 ± 20.92</b>	c, d
		CMYA	30.57 ± 19.58	f, g
	60.01 b	PDA	32.38 ± 19.22	e, f
		EMA	<b>36.74 ± 21.95</b>	c, d
		CMYA	36.04 ± 21.50	d, e
	112.02 d	PDA	29.85 ± 18.28	f, g
		EMA	<b>32.44 ± 18.64</b>	e, f
		CMYA	22.45 ± 15.27	i, j
638.08 a	PDA	37.88 ± 22.22	c, d	
	EMA	42.89 ± 23.28	b	
	CMYA	<b>43.14 ± 24.25</b>	b	
26°C	58.01 e, f	PDA	18.54 ± 03.93	k
		EMA	<b>37.62 ± 12.96</b>	c, d
		CMYA	10.66 ± 02.45	j
	59.01 f	PDA	27.44 ± 08.28	g, h
		EMA	<b>29.82 ± 10.55</b>	f, g
		CMYA	05.98 ± 0.390	n
	60.01 b	PDA	40.25 ± 16.15	b, c
		EMA	<b>50.35 ± 20.96</b>	a
		CMYA	10.71 ± 03.02	j
	112.02 g	PDA	19.55 ± 6.52	j, k
		EMA	<b>27.24 ± 11.17</b>	g, h
		CMYA	09.12 ± 03.09	l, m
638.08 e	PDA	27.94 ± 07.57	g, h	
	EMA	<b>36.93 ± 13.16</b>	c, d	
	CMYA	07.98 ± 01.51	l, m	

1: Diferentes letras en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa, de acuerdo con la prueba de comparaciones múltiples de Duncan ( $\alpha = 0.05$ ).

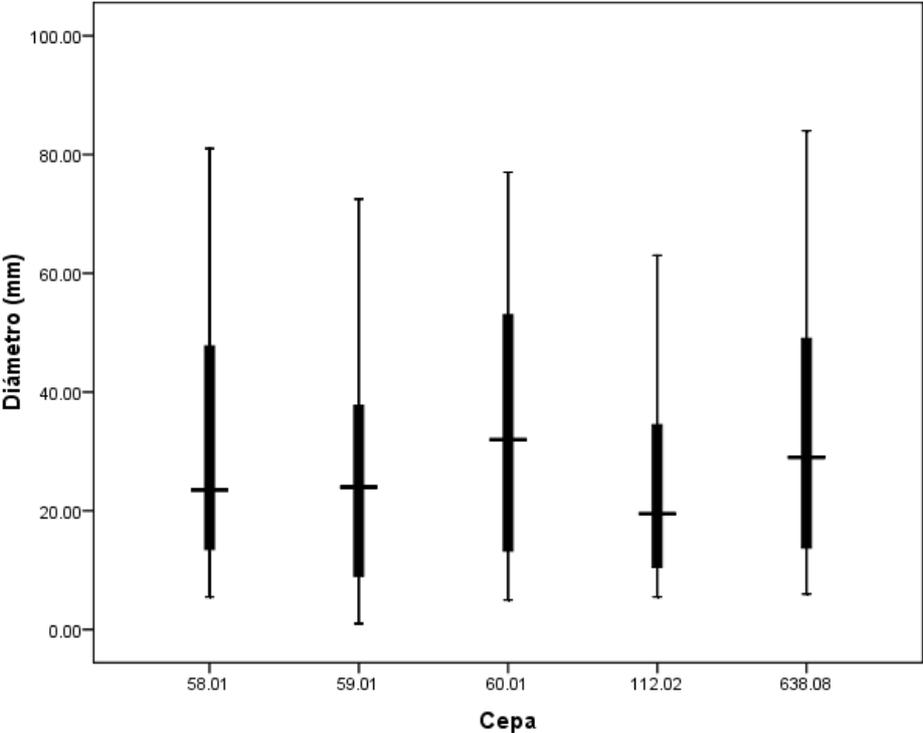
**Gráfica 1. Efecto del medio de cultivo sobre el crecimiento micelial de las cepas de *A. cylindracea* a dos temperaturas**



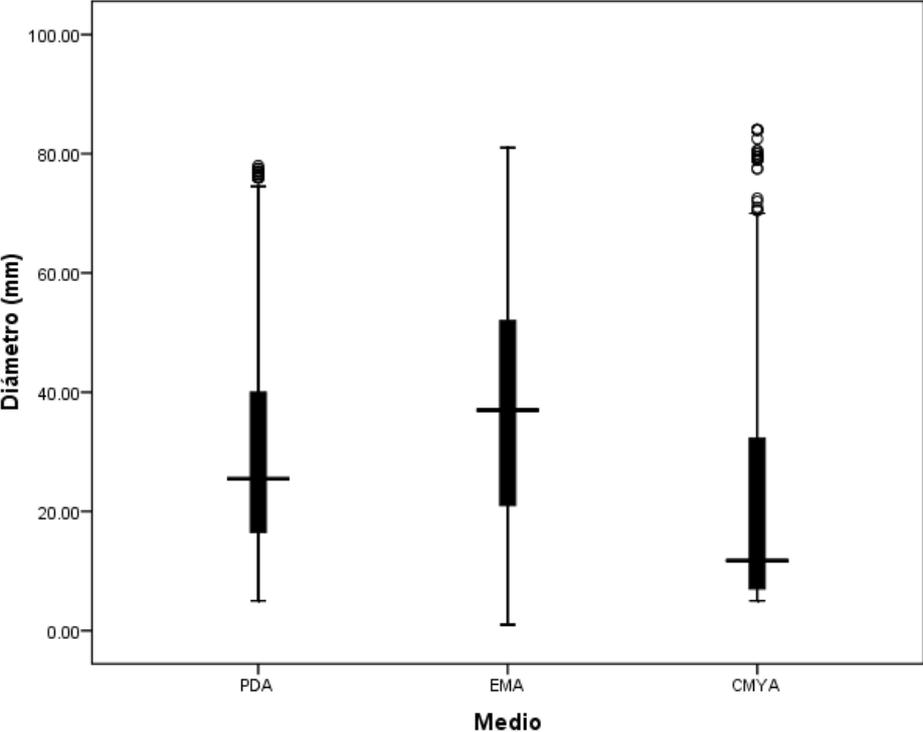
**Gráfica 2. Comportamiento general del crecimiento micelial de las cepas de *A. cylindracea* en diferentes medios de cultivo y temperaturas**



**Gráfica 3. Efecto general de los medios de cultivo y temperaturas de incubación sobre el crecimiento micelial de las cepas de *A. cylindracea*.**



**Gráfica 4. Efecto general del medio de cultivo sobre el crecimiento micelial de las cepas de *A. cylindracea* incubadas a 18 y 26°C.**



Respecto a las características macro y microscópicas de las cepas evaluadas a 18°C de temperatura de incubación, se observó que todas ellas presentaron color blanco en el anverso y ninguna coloración en el reverso. Asimismo, la textura y disposición del micelio varió desde algodonoso (como en las cepas 58.01, 59.01 y 60.01 en el medio PDA), algodonoso levemente zonado (como en la cepa 58.01 en los medios EMA y CMYA) y algodonoso zonado (como en la cepa 638.08 en los tres medios de cultivo). Además, en todos los casos el micelio aéreo fue abundante (Tabla 2, Figuras 1-5).

Microscópicamente las hifas tuvieron un diámetro que varió entre 1.0 a 4.0  $\mu\text{m}$ . En todas las cepas se observaron escasas fíbulas y apresorios, éstos principalmente en la cepa 112.02 (Tabla 2).

**Tabla 2. Características macro y microscópicas de las cepas de *A. cylindracea* a 18°C.**

Cepa	Medio	Características macroscópicas			Características microscópicas		
		Color <sup>1</sup>	Textura <sup>2</sup>	Micelio aéreo <sup>3</sup>	Diámetro ( $\mu\text{m}$ )	Fíbulas <sup>4</sup>	Apresorios <sup>4</sup>
58.01	PDA	BL	A	AB	1.0 – 3.0	ES	--
	EMA	BL	A-LZ	AB	2.0 – 4.0	ES	--
	CMYA	BL	A-LZ	AB	1.5 – 2.0	ES	--
59.01	PDA	BL	A	AB	1.5 – 3.0	ES	ES
	EMA	BL	A-Z	AB	1.0 – 3.0	ES	--
	CMYA	BL	A	AB	1.0 – 3.0	ES	--
60.01	PDA	BL	A	AB	2.0 – 4.0	ES	--
	EMA	BL	A-Z	AB	1.0 – 3.0	ES	--
	CMYA	BL	A	AB	1.0 – 2.5	ES	--
112.02	PDA	BL	A-LZ	AB	1.0 – 3.0	ES	ES
	EMA	BL	A	AB	2.0 – 4.0	ES	ES
	CMYA	BL	A-LZ	AB	1.0 – 3.0	ES	ES
638.08	PDA	BL	A-Z	AB	1.0 – 3.0	ES	ES
	EMA	BL	A-Z	AB	2.0 – 4.0	ES	--
	CMYA	BL	A-Z	AB	1.5 – 3.0	ES	--

1: BL = blanco. 2: A = algodonosa, LZ = levemente zonada, Z = zonada. 3: AB = abundante. 4: ES = escasas

Las características macro y microscópicas observadas en las cepas evaluadas a 26°C de temperatura de incubación, fueron color blanco en el anverso de la colonia y ninguna coloración en el reverso. Asimismo, en todas la textura fue algodonosa, observándose algunas excepciones donde la disposición del micelio varió de algodonoso levemente zonado (como en las cepas 58.01 y 112.02 en los medios EMA y PDA respectivamente) a algodonoso zonado (como en la cepa 638.08 en el medio EMA) (Tabla 3, Figuras 1-5).

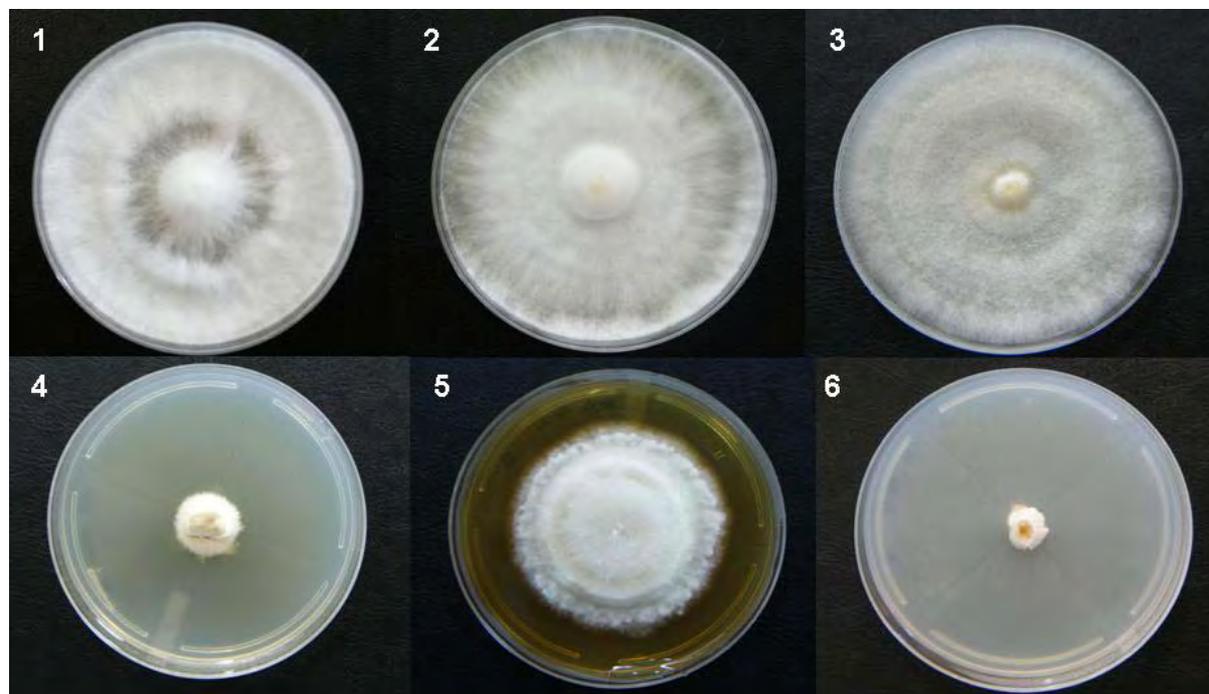
Por otra parte, abundante micelio aéreo se observó solamente en las cepas 60.01 y 112.02 en el medio EMA. En la mayoría de los casos en el medio PDA se observó regular cantidad de micelio aéreo y en el medio CMYA, el micelio aéreo fue escaso en todas las cepas evaluadas (Tabla 3).

Microscópicamente las hifas tuvieron un diámetro que varió entre 1.0 a 3.0  $\mu\text{m}$ . En todas las cepas se observaron escasas fíbulas y apresorios, éstos se observaron principalmente en la cepa 112.02 (Tabla 3).

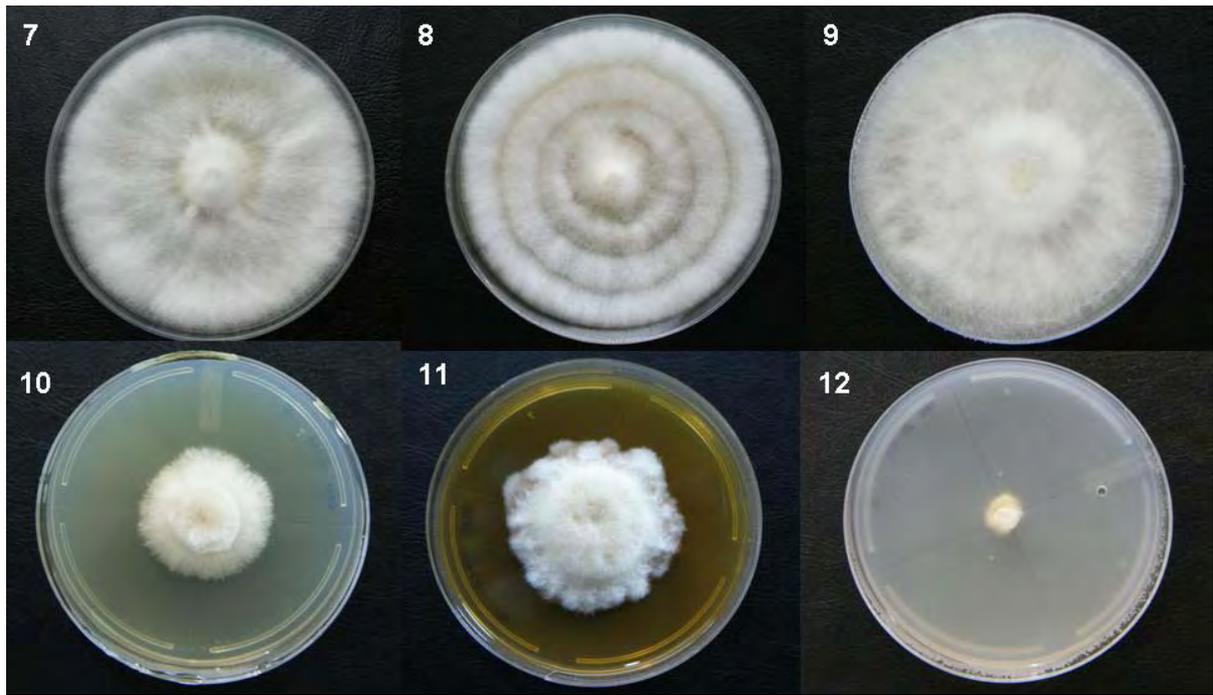
**Tabla 3. Características macro y microscópicas de las cepas de *A. cylindracea* a 26°C**

Cepa	Medio	Características macroscópicas			Características microscópicas		
		Color <sup>1</sup>	Textura <sup>2</sup>	Micelio aéreo <sup>3</sup>	Diámetro ( $\mu\text{m}$ )	Fíbulas <sup>3</sup>	Apresorios
58.01	PDA	BL	A	ES	2.0 – 3.0	ES	ES
	EMA	BL	A-LZ	RG	2.0 – 3.0	ES	--
	CMYA	BL	A	ES	1.5 – 3.0	ES	--
59.01	PDA	BL	A	RG	1.0 – 3.0	ES	ES
	EMA	BL	A	RG	1.0 – 2.0	ES	--
	CMYA	BL	A	ES	1.0 – 3.0	ES	--
60.01	PDA	BL	A	RG	2.0 – 3.0	ES	--
	EMA	BL	A	AB	1.0 – 2.5	ES	--
	CMYA	BL	A	ES	1.0 – 3.0	ES	--
112.02	PDA	BL	A-LZ	RG	1.0 – 2.5	ES	ES
	EMA	BL	A	AB	2.0 – 3.0	ES	ES
	CMYA	BL	A	ES	1.0 – 2.0	ES	ES
638.08	PDA	BL	A	RG	1.0 – 2.0	ES	ES
	EMA	BL	A-Z	RG	2.0 – 3.0	ES	--
	CMYA	BL	A	ES	1.5 – 3.0	ES	--

1: BL = blanco. 2: A = algodonosa, LZ = levemente zonada, Z = zonada. 3: AB = abundante, RG = regular cantidad, ES = escasas.

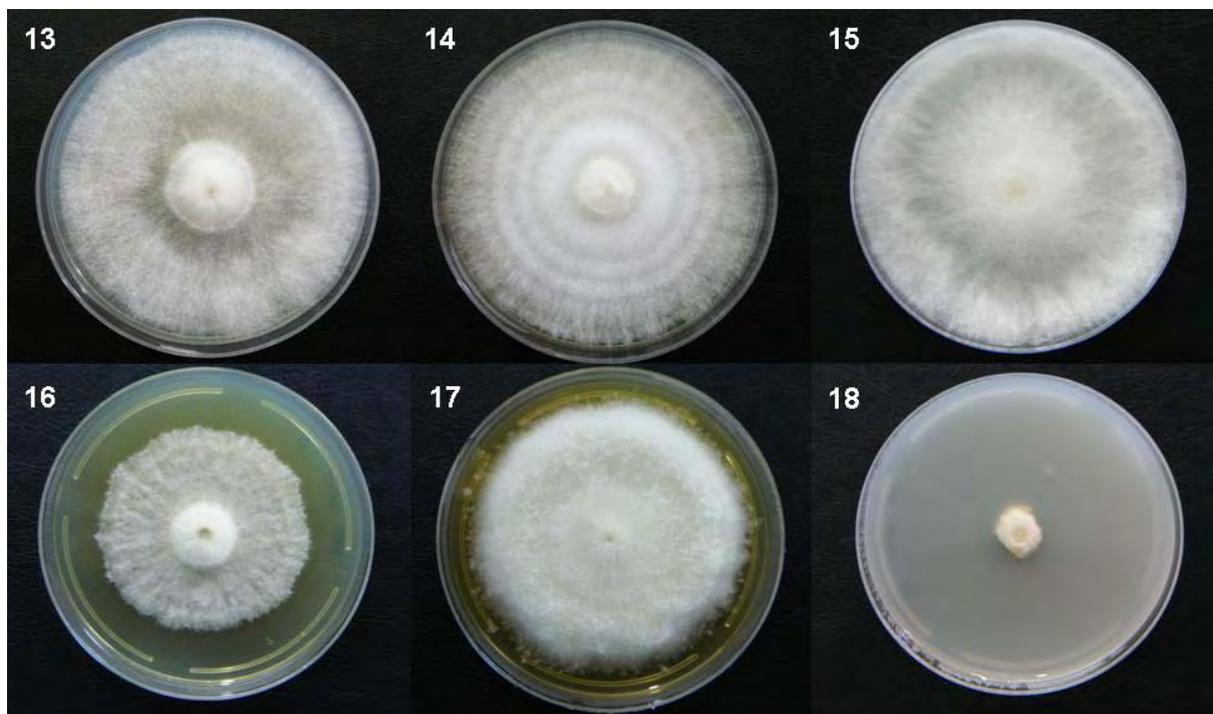


**Figura 1. 1-6. Características macroscópicas de la cepa *A. cylindracea* 58.01.** 1-3. Medios de cultivo incubados a 18°C. 1. Colonia algodonosa en el medio PDA. 2-3. Colonias algodonosas levemente zonadas en los medios EMA y CMYA, respectivamente. 4-6. Medios de cultivo incubados a 26°C. 4. Colonia algodonosa en el medio PDA. 5. Colonia algodonosa levemente zonada en el medio EMA. 6. Colonia algodonosa en el medio CMYA.



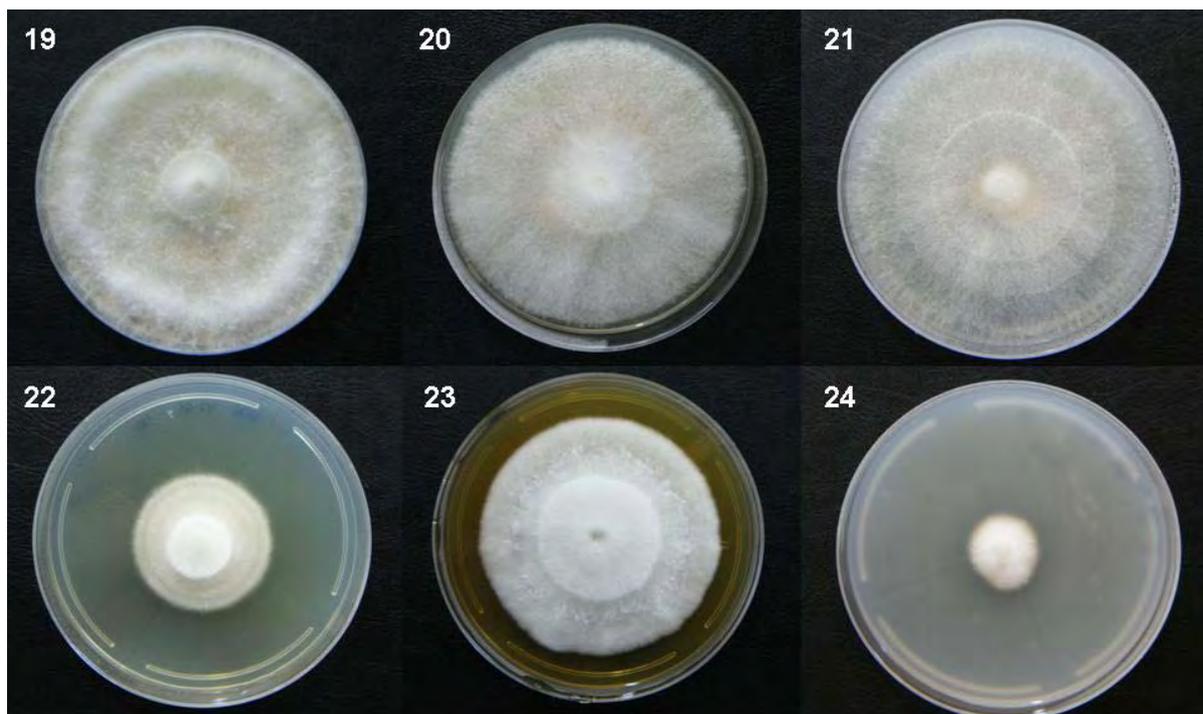
**Figura 2. 7-12. Características macroscópicas de la cepa *A. cylindracea* 59.01.**

7-9. Medios de cultivo incubados a 18°C. 7. Colonia algodonosa en el medio PDA. 8. Colonia algodonosa zonada en el medio EMA. 9. Colonia algodonosa en el medio CMYA. 10-12. Medios de cultivo incubados a 26°C, mostrando colonias algodonosas en los medios PDA, EMA y CMYA, respectivamente.

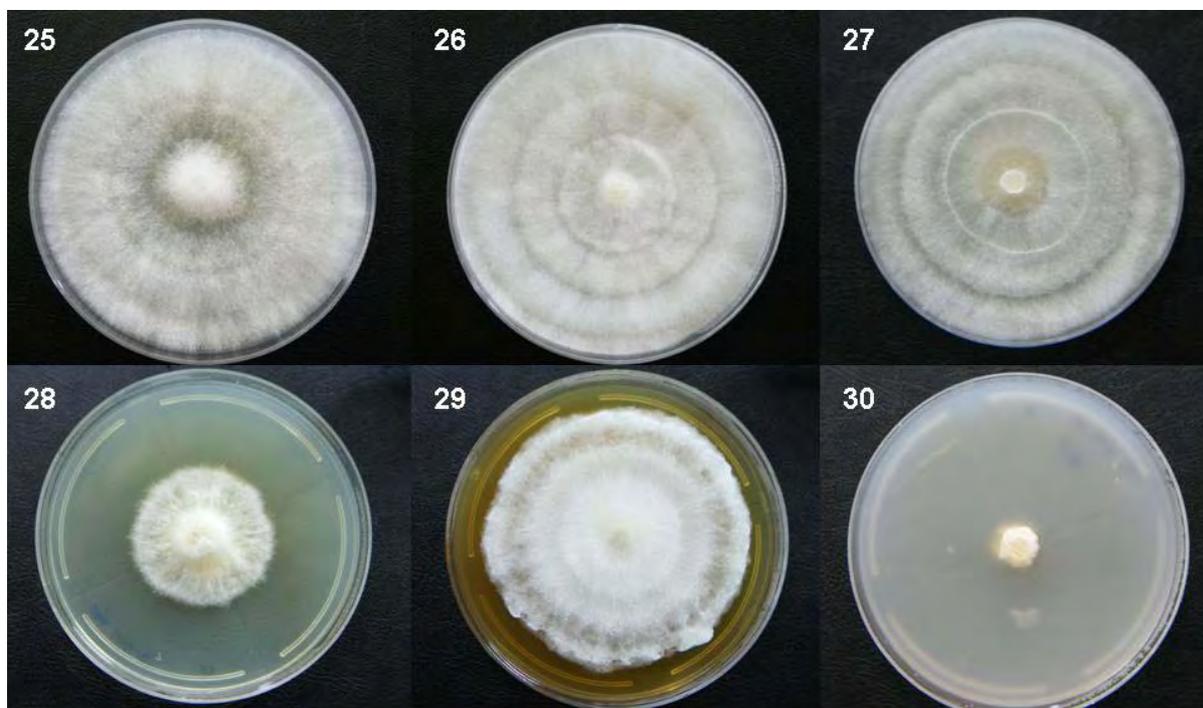


**Figura 3. 13-18. Características macroscópicas de la cepa *A. cylindracea* 60.01.**

13-15. Medios de cultivo incubados a 18°C. 13. Colonia algodonosa en el medio PDA. 14. Colonia algodonosa zonada en el medio EMA. 15. Colonia algodonosa en el medio CMYA. 16-18. Medios de cultivo incubados a 26°C, evidenciando colonias algodonosas en los medios PDA, EMA y CMYA, respectivamente.



**Figura 4. 19-24. Características macroscópicas de la cepa *A. cylindracea* 112.02.** 19-21. Medios de cultivo incubados a 18°C. 19. Colonia algodonosa levemente zonada en el medio PDA. 20. Colonia algodonosa en el medio EMA. 21. Colonia algodonosa levemente zonada en el medio CMYA. 22-24. Medios de cultivo incubados a 26°C. 22. Colonia algodonosa levemente zonada en el medio PDA. 23-24. Colonias algodonosas en los medio EMA y CMYA, respectivamente.



**Figura 5. 25-30. Características macroscópicas de la cepa *A. cylindracea* 638.08.** 25-27. Medios de cultivo incubados a 18°C, mostrando colonias algodonosas zonadas en los medios PDA, EMA y CMYA. 28-30. Medios de cultivo incubados a 26°C. 28. Colonia algodonosa en el medio PDA. 29. Colonia algodonosa zonada en el medio EMA. 30. Colonia algodonosas en el medio CMYA, respectivamente.

Con respecto a la producción de inóculo se determinó que las cepas 58.01, 59.01, 60.01 y 112.02, colonizaron más rápidamente los granos de trigo a razón de 2.29, 1.57, 3.86, y 1.66 mm/día, respectivamente. Por el contrario, para estas cepas el tiempo de colonización fue más lento en los granos de sorgo (Tabla 4, Figura 6, Anexo 6).

Una excepción fue la cepa 638.08, la cual colonizó más rápidamente los granos de cebada (1.79 mm/día) y, al igual que las demás cepas evaluadas, el menor tiempo de colonización se observó también en sorgo (Tabla 4, Figura 6, Anexo 6).

En todas las cepas el tiempo de colonización de los granos de trigo fue intermedio entre la cebada y sorgo.

**Tabla 4. Producción de inóculo de cepas de *A. cylindracea* en diferentes sustratos<sup>1</sup>.**

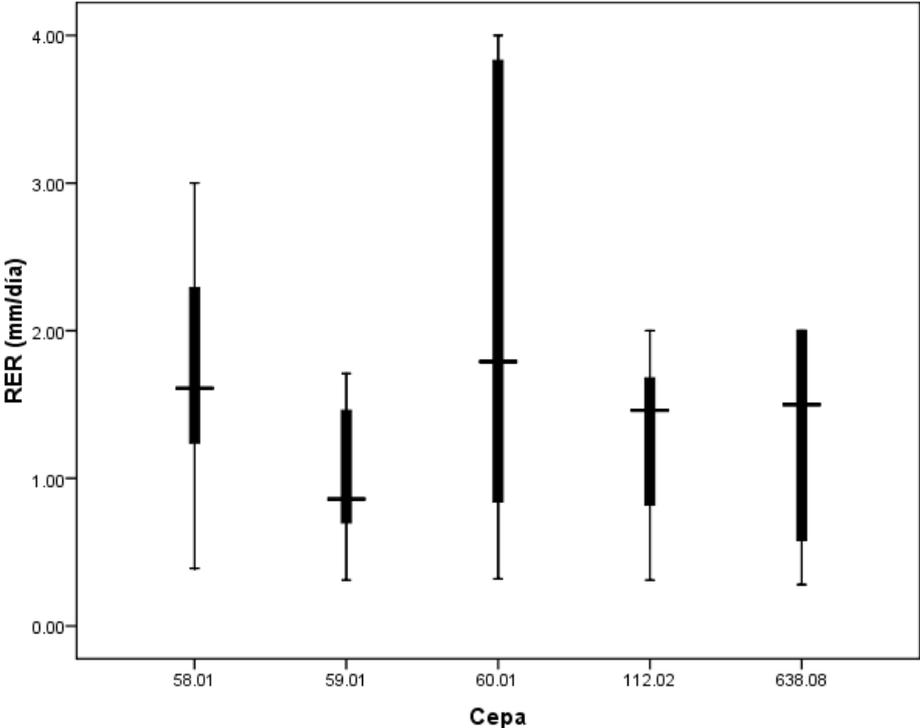
Cepa		Sustrato		RER (mm/día)	
58.01	b	Cebada	b	1.56 ± 0.44	e
		Sorgo	c	1.14 ± 0.41	f
		Trigo	a	<b>2.29 ± 0.14</b>	b
59.01	d	Cebada	b	0.81 ± 0.28	g
		Sorgo	c	0.70 ± 0.33	g, h
		Trigo	a	<b>1.57 ± 0.20</b>	e
60.01	a	Cebada	b	1.99 ± 0.63	c
		Sorgo	c	0.71 ± 0.33	g, h
		Trigo	a	<b>3.86 ± 0.13</b>	a
112.02	c	Cebada	b	1.61 ± 0.17	e
		Sorgo	c	0.59 ± 0.20	g, h
		Trigo	a	<b>1.66 ± 0.24</b>	e
638.08	c	Cebada	b	<b>1.79 ± 0.20</b>	d, e
		Sorgo	c	0.48 ± 0.19	h
		Trigo	a	1.60 ± 0.59	e

1: Diferentes letras en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa, de acuerdo con la prueba de comparaciones múltiples de Duncan ( $\alpha = 0.05$ ).

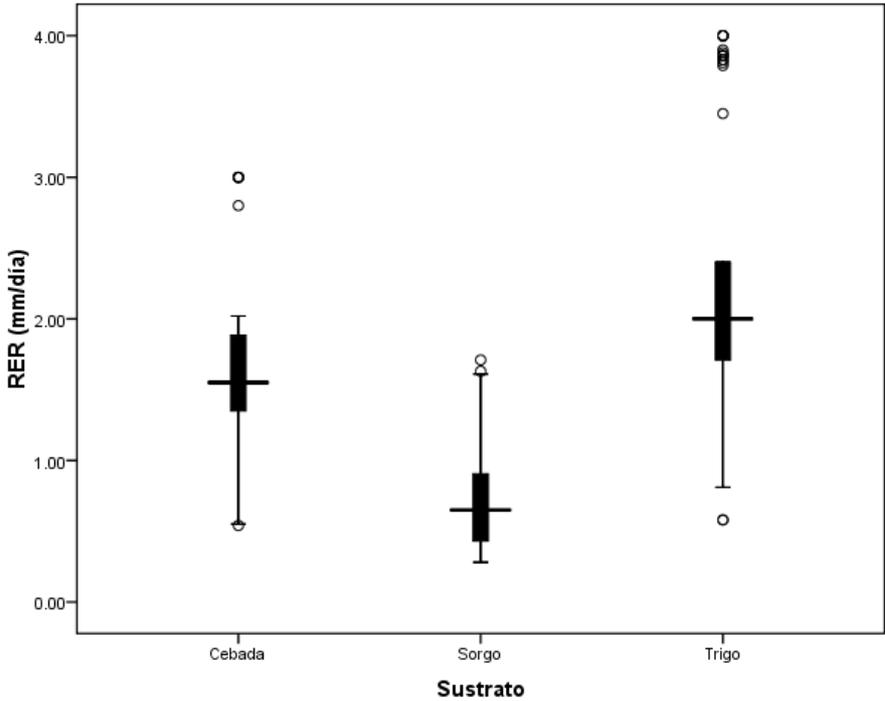
El análisis estadístico (sin tomar en cuenta el sustrato) mostró diferencia significativa entre el valor de RER de las cepas 58.01, 59.01 y 60.01, con respecto a todas las cepas evaluadas ( $p < 0.05$ ). Asimismo, entre las cepas 112.02 y 638.08 no existió diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). Además, se presentó mayor velocidad de producción de inóculo en la cepa 60.01 y por el contrario, la cepa más lenta fue la 59.01 (Gráfica 5).

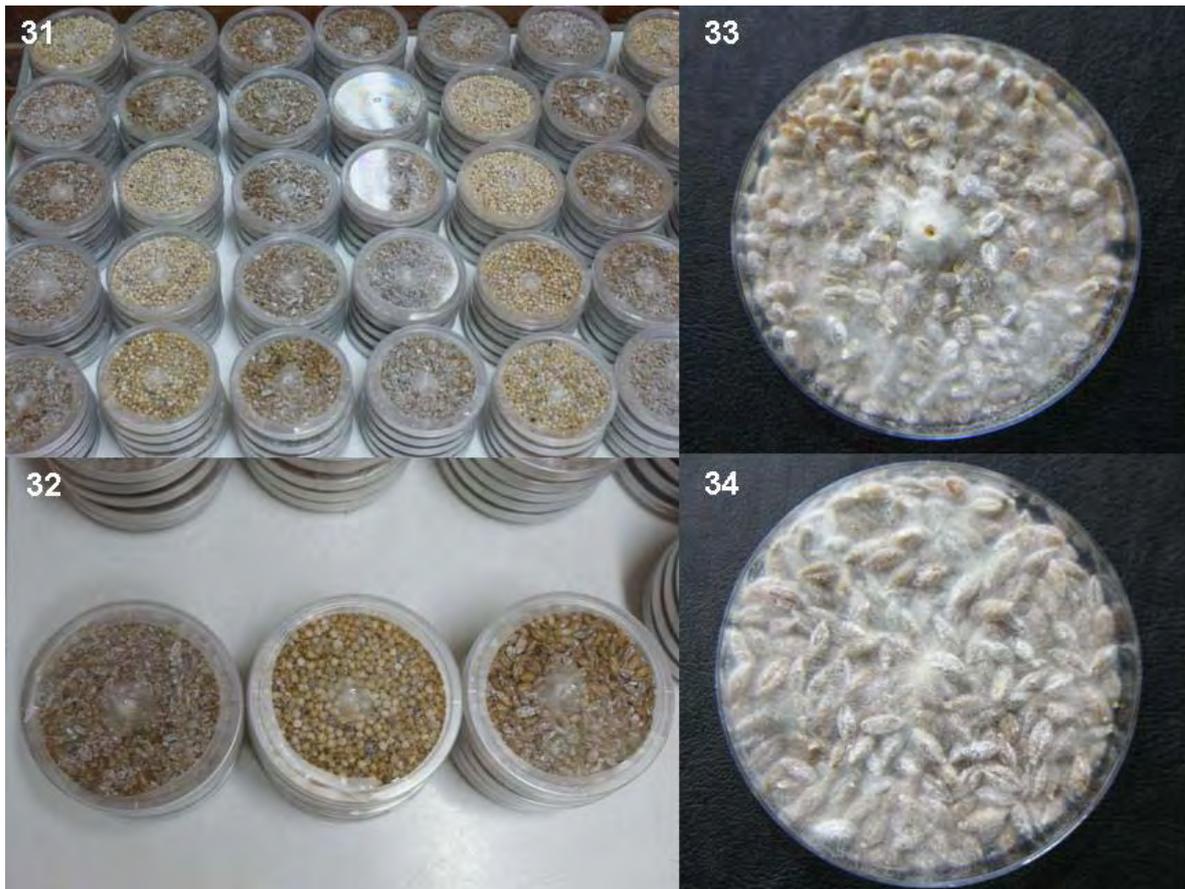
Por otra parte, sin tomar en cuenta la cepa evaluada, se comprobó la existencia de diferencia significativa entre el sustrato de trigo, cebada y sorgo ( $p < 0.05$ ), obteniéndose la mayor velocidad de colonización en el trigo, en tanto que en el sorgo la colonización fue más lenta (Gráfica 6).

**Gráfica 5. Comportamiento general de cepas de *A. cylindracea* para la producción de inóculo.**



**Gráfica 6. Efecto del sustrato en la producción de inóculo de cepas de *A. cylindracea***





**Figura 6. Producción de inóculo de cepas de *A. cylindracea*.** 31. Vista general de los sustratos. 32. Granos de trigo, sorgo y cebada inoculados con las cepas evaluadas. 33. Colonización de los granos de trigo por el micelio de la cepa *A. cylindracea* 60.01. 34. Colonización de los granos de cebada por la cepa *A. cylindracea* 638.08.

Con relación a la producción de cuerpos fructíferos en los sustratos constituidos por paja de trigo (S1) y olote mas caña de maíz (S2), éstos fueron incubados a una temperatura de  $22.53 \pm 0.52$  °C y a una humedad relativa de  $40.66 \pm 3.83$  %.

Referente al cultivo de las cepas de *A. cylindracea* en el sustrato (S1), se observó que la cepa que colonizó más rápidamente fue la 638.08 (34.24 días) y la que más tiempo utilizó fue la cepa 60.01 (49.44 días) (Tabla 5). Posteriormente y luego de permanecer 50 días bajo condiciones de fructificación a una temperatura de  $19.59 \pm 2.68$ °C y humedad relativa de  $73.44 \pm 9.51$  %, no se logró obtener cuerpos fructíferos de ninguna de las cepas evaluadas. Sin embargo, tomando en consideración que este sustrato fue colonizado totalmente por todas las cepas, es posible que se necesite más tiempo y quizás otras condiciones de temperatura, humedad e iluminación para lograr la obtención de los cuerpos fructíferos.

Respecto al cultivo de las cepas en el sustrato S2, lamentablemente el micelio de ninguna de las cepas de *A. cylindracea* evaluadas, no colonizó el sustrato. Por tal razón, solamente se incluyen el tiempo de incubación durante el cual se monitoreó la fase experimental (Tabla 5).

**Tabla 5. Evaluación de las cepas de *A. cylindracea* para la producción de cuerpos fructíferos.**

Sustrato	Peso seco <sup>1</sup> (%)	Cepa	Incubación <sup>1</sup> (días)	Colonización del sustrato	Fructificación (días)	Primordios
S1 (Paja de trigo)	20.88 ± 0.87	58.01	38.98 ± 12.74	Si	27	No
		59.01	41.48 ± 11.98	Si	27	No
		60.01	49.44 ± 02.24	Si	27	No
		112.02	36.64 ± 12.72	Si	27	No
		638.08	34.24 ± 09.54	Si	27	Si
S2 (Olote y caña de maíz)	18.65 ± 3.15	58.01	50	No	--	--
		59.01	50	No	--	--
		60.01	50	No	--	--
		112.02	50	No	--	--
		638.08	50	No	--	--

1. Se indica la media ± la desviación estándar.



**Figura 7. 35-40. Fructificación de la cepa *A. cylindracea* 638.08 en el sustrato S1. 35-37. Formación de los primordios. 38-40. Primordios desarrollados.**

## IX. DISCUSIÓN

*Agrocybe cylindracea* es un excelente hongo comestible muy apreciado por sus propiedades culinarias, así como por su agradable olor y que se cultiva en varios países como China, Tailandia, Japón, Alemania, Grecia Italia y España. Sin embargo la poca disponibilidad de cepas comerciales y la baja productividad de las mismas, ha limitado su cultivo en el mundo (Uhart, *et al*, 2008). Por tal razón es necesario estudiar cepas nativas, para selección en función de alta calidad y productividad, de manera que puedan ser utilizadas para el cultivo a nivel artesanal e industrial.

Una de los primeros aspectos a considerar en el cultivo de hongos, es el estudio de la velocidad de crecimiento micelial, a través del incremento lineal de la colonia (Sánchez, 2001), ya que una cepa con rápida velocidad de crecimiento micelial en el medio de cultivo puede favorecer la reducción de los ciclos de cultivo, cuando se estudia para producción de cuerpos fructíferos (Salmones, *et al*, 1997).

En este sentido, el crecimiento micelial de cuatro de las cepas de *A. cylindracea* evaluadas presentaron mayor vigorosidad del crecimiento de las colonias a 18°C, comparado con el crecimiento a 26°C. Este comportamiento observado se puede atribuir a que esta especie en Guatemala, ocurre naturalmente en regiones de clima frío (San Antonio Sacatepéquez, San Marcos y Tecpán, Chimaltenango) y todas las cepas utilizadas en este estudio proceden de estas regiones (Bran, *et al*, 2003). Asimismo, estos resultados indican que estas cepas están adaptadas a condiciones de temperaturas cercanas a 18°C e incluso menores, caso contrario a lo que ocurre con otras cepas guatemaltecas estudiadas anteriormente, entre ellas *Schizophyllum commune* y *Neolentinus ponderosus*, las cuales disminuyeron su crecimiento al descender la temperatura (Bran, *et al*, 2007; 2008). La temperatura constituye uno de los factores que puede influir en la velocidad de crecimiento (Sánchez, 2004).

La única cepa que incrementó su velocidad de crecimiento a 26°C en los medios PDA y EMA fue la 60.01, lo cual indica que es una cepa con gran capacidad de adaptación a la temperatura y medios de cultivo, tal y como lo confirma el hecho que no haya existido diferencia significativa entre el crecimiento observado a 18 y 26°C. Por otra parte, también es importante señalar que esta capacidad de adaptación a la temperatura y rápido crecimiento bajo estas condiciones, hacen promisoría esta cepa para su cultivo a nivel artesanal y posiblemente industrial.

En un estudio previo donde se evaluaron dos cepas guatemaltecas de *A. cylindracea* (AA1 y AA2) y una cepa europea (AA0), inoculadas en medio Sabouraud (SAB), PDA y EMA a 18, 22 y 24°C (Lau, 2001), y en un estudio preliminar llevado a cabo con cuatro de las cepas utilizadas en esta investigación (58.01, 59.01, 60.01 y 112.02), en los mismos medios de cultivos, pero incubados a 18, 24 y 26°C (Andrade, 2007), se encontró que todas las cepas incrementaron su crecimiento al aumentar la temperatura de incubación. En el caso del estudio preliminar, las cepas utilizadas fueron guardadas en cepario en medio PDA inclinado y a 4-8°C, lo cual puede influir en la vigorosidad de las cepas, puesto que pueden perder viabilidad (Uhart, *et al*, 2008).

Esta podría ser otra de las razones por las cuales, las cepas 58.01, 59.01 y 112.02 disminuyeran su crecimiento. Por el contrario, debido a lo observado en la cepa 60.01, se puede reiterar que dicha cepa es altamente estable y adaptable a diferentes condiciones.

Por otra parte, el hecho que la mayoría de cepas a 18°C (excepto las cepas 58.01 y 638.08) y todas ellas a 26°C, presentaran su máximo diámetro de crecimiento en el medio EMA, concuerda con lo reportado para las cepas guatemaltecas (AA1 y AA2) y la europea (AA0), las cuales presentaron su máximo crecimiento en el medio EMA, cuando se incubaron a 18, 22 y 24°C (Lau, 2001). También confirman lo encontrado en el estudio preliminar con las cepas 58.01, 59.01, 60.01 y 112.02, donde el máximo crecimiento también se observó en el medio EMA a 18, 24 y 26°C (Andrade, 2007).

Además, puede ser posible que el micelio de *A. cylindracea* necesita un medio enriquecido para su desarrollo y, de los medios de cultivo utilizados en esta investigación, el más enriquecido es EMA, ya que está compuesto básicamente por extracto de malta y peptona de harina de soya, lo que provee la mayor calidad de nutrientes utilizables (Manual Oxoid, 1995). Adicionalmente, uno de los medios recomendados para el cultivo de esta especie es el EMA (Stamets, 1993).

En conclusión, debido a su rápido crecimiento, adaptabilidad y estabilidad, la cepa 60.01 es promisoría para su cultivo, con fines de producción biomasa miceliar. Asimismo, debido que todas las cepas estudiadas presentaron su mayor crecimiento miceliar en el medio EMA a 18°C, se acepta la hipótesis planteada.

La cepa usada en el cultivo es crucial por su utilidad en la producción y comercialización de hongos. Una cepa con una alta habilidad para invadir el sustrato y para fructificar, disminuye los tiempos de incubación e incrementa la productividad (Sánchez, 2004).

En cuanto a las características macroscópicas de las colonias, el color blanco y textura algodonosa observado en todos los medios y temperaturas de incubación, concuerda con lo reportado para cultivos de *A. cylindracea* (Stamets, 1993; Lau, 2001; Walther, 2006; Andrade, 2007). Sin embargo, en los anteriores estudios no se indica las características miceliales de la colonia, las cuales en esta investigación, fueron principalmente algodonosas, levemente zonadas y zonadas con abundante micelio aéreo a 18°C; a 26°C, las colonias fueron principalmente algodonosas con escaso o regular cantidad de micelio aéreo, lo cual constituye un aporte de este estudio al conocimiento de la especie.

Microscópicamente, el diámetro de las hifas coincide con lo reportado para estas cepas (Andrade, 2007). La escasa cantidad de fíbulas encontradas concuerda con lo reportado para cultivos miceliales de *A. cylindracea*, los cuales en el estado dicariótico producen pocas fíbulas e incluso pueden esporular escasamente en estado anamorfo en la punta de las hifas, produciendo conidios cilíndricos rectos a levemente curvados (Walther, 2006). La presencia de fíbulas en todas las cepas, indican el estado dicariótico del micelio y garantizan el mantenimiento de este estado, como un paso previo a la fructificación en todos los basidiomicetes (Chang & Miles, 2004).

Por otra parte, en esta investigación no se observó la formación de clamidosporas, las cuales son estructuras de resistencia y se forman cuando las condiciones ambientales son adversas (Chang & Miles, 2004). Por lo tanto se puede inferir que las cepas de *A. cylindracea* evaluadas pueden crecer en condiciones favorables para el desarrollo del micelio.

Otra característica microscópica observada es la formación de apresorios en algunas de las cepas. Estos son órganos de adherencia al sustrato, por medio del cual penetra al hospedero. Esta característica no se ha reportado en la literatura, sin embargo, dado que *A. cylindracea* es un hongo saprobio y degradador de madera, necesita de estas estructuras para penetrar la misma (Uhart, *et al*, 2007).

En este estudio la producción de inóculo se llevó a cabo en menor tiempo en granos de trigo (excepto para la cepa 638.08, que lo produjo en cebada). La producción de inóculo en granos de trigo ha sido utilizada con buenos resultados para la producción de cepas de *A. cylindracea* (Stamets, 1993; Philippoussis, *et al*, 2001) y también se ha reportado para la producción de inóculo de otras especies de hongos comestibles como *Pleurotus ostreatus*, *P. pulmonarius*, *Neolentinus ponderosus* y *N. lepideus*, permitiendo la producción de grandes cantidades del mismo (Martínez-Carrera, *et al*, 1985,1988; Palacios, 2000a,b).

Con respecto a la producción de inóculo en granos de cebada, no se ha encontrado ninguna referencia que indique la utilización de este sustrato para tal fin. Por tal razón, dentro de los aportes de este estudio se puede mencionar que la cebada es un buen sustrato para la producción de inóculo principalmente para la cepa *A. cylindracea* 638.08.

Con relación a la producción de inóculo, es importante señalar que el mejor sustrato o vehículo, es aquel que es colonizado en menor tiempo por una cepa determinada, ya que una prolongación en el tiempo de incubación promueve la contaminación y alarga los ciclos de cultivo (Stamets, 1993).

Debido a que el menor tiempo de colonización de las cepas en ninguno de los casos fue obtenido en sorgo, se descarta la hipótesis referente al inóculo.

Respecto a la producción de cuerpos fructíferos, el sustrato S1 fue colonizado totalmente en el tiempo reportado para otras cepas de *A. cylindracea*. En un estudio realizado en Grecia, las cepas de *A. cylindracea* SIEF0834 y S4021 necesitaron alrededor 43 días para colonizar la paja de trigo; por tal razón, se recomienda la prolongación del período de fructificación de 25 a 50 días, ya que dependiendo de la cepa, puede prolongarse aún más el tiempo de fructificación (Philippoussi, *et al*, 2001).

En este sustrato solamente la cepa 638.08 produjo primordios a los 27 días de salir a fructificación. Estos primordios están pendientes de cosecha, por lo que no fue posible cuantificar la eficiencia biológica al término de éste proyecto de investigación. Las características morfológicas de los primordios obtenidos son similares a los que se desarrollan en la naturaleza (Anexo 1) y concuerdan con la descripción taxonómica de la especie (Uhart, Albertó, 2007).

El prolongado tiempo de cosecha puede deberse a deficiencias en las cepas evaluadas, las cuales proceden del germoplasma fúngico almacenado en cepario, y se ha reportado que uno de los problemas de las cepas de *A. cylindracea* es declinar en su rendimiento de producción de cuerpos fructíferos, después de consecutivos subcultivos y/o largos períodos de almacenamiento en medios de cultivo (Uhart, *et al*, 2008).

No se observó la colonización del sustrato S2, debido a que fue tratado por desinfección con agua alcalina (pH 12.0) lo que probablemente pudo haber afectado el desarrollo del micelio. Como consecuencia se efectuó un trabajo colateral a esta investigación, encontrándose que el pH 6.0 es el adecuado para el crecimiento de las cepas nativas utilizadas en este estudio (Reyes, *et al*, 2009, datos sin publicar). Por tal motivo, se puede inferir que el método de desinfección en agua alcalina no es apropiado para el cultivo de las cepas de *A. cylindracea* evaluadas en esta investigación, a pesar de que este método es de fácil manejo y útil a nivel de comunidades campesinas, quienes trabajan en condiciones artesanales. Sin embargo, ha sido probado con éxito en otras especies de hongos comestibles como *Pleurotus ostreatus* y *P. pulmonarius* (Contreras, *et al*, 2004; Bernabé-González, *et al*, 2009).

Se ha informado que es posible producir cuerpos fructíferos de esta especie en sustratos lignocelulósicos, tales como, desechos de cebada, maíz, paja de trigo, cascarilla de algodón, aserrín, así como en cáscara de naranja, tallos de uva, caña, girasol, cáscara de nuez y cáscara de maní, sin embargo, los rendimientos de los cuerpos fructíferos en *A. cylindracea*, son generalmente más bajos que los reportados para muchos otros hongos cultivados, por lo que su cultivo a gran escala comercial no está difundido ampliamente (Uhart, *et al*, 2008).

## X. CONCLUSIONES

1. El medio agar extracto de malta (EMA) fue el más adecuado para el cultivo de las cepas de *A. cylindracea* evaluadas, a una temperatura de incubación de 18°C.
2. La cepa *A. cylindracea* 60.01 presentó el mayor diámetro de crecimiento en los medios de cultivo y temperaturas evaluados.
3. Las cepas de *A. cylindracea* estudiadas presentaron colonias de color blanco, textura algodonosa, levemente zonada y zonada, así como escasas fíbulas y apresorios.
4. Los granos de trigo fueron los más adecuados para la producción de inóculo de las cepas de *A. cylindracea* evaluadas.
5. La cepa *A. cylindracea* 60.01 presentó mayor velocidad de crecimiento en los sustratos evaluados para la producción de inóculo
6. La cepa 638.08 produjo primordios de cuerpos fructíferos de *A. cylindracea* en el sustrato S1, pero no fue posible cuantificar la eficiencia biológica y tamaño de los píleos.
7. Ninguna de las cepas colonizó el sustrato S2.

## XI. RECOMENDACIONES

1. Recolectar nuevas cepas nativas de *A. cylindracea*, para su domesticación y estudio para producción de cuerpos fructíferos.
2. Evaluar otros desechos lignocelulósicos, tales como aserrín de encino, para la producción de cuerpos fructíferos.
3. Prolongar los tiempos de incubación y fructificación de los sustratos para la producción de cuerpos fructíferos.
4. Evaluar la producción de productos del metabolismo de las cepas, para su utilización en medicina, procesos de biodegradación, entre otros.

## XII. BIBLIOGRAFÍA

1. Alexopoulos C. 1996. Introductory Mycology. 4<sup>th</sup>. ed. USA: John Wiley & Sons Inc. 896p.
2. Andrade, C. 2007. Descripción de las características de cultivo *in vitro* de cepas nativas de *Agrocybe aegerita* (Brigant) Singer. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 76p.
3. Bernabé-González, T., Cayetano-Catarino, M. 2009. Cultivation of *Pleurotus pulmonarius* on substrates treated by immersion in alkaline water in Guerrero, Mexico. *Micol. Apl. Int.* 21 (1): 19-23.
4. Bran M. *et al.* 2003a. Contribución al conocimiento de los hongos comestibles de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas. *Revista Científica.* Guatemala. 1 (1): 2-24.
5. Bran M. *et al.* 2003b. Hongos comestibles de Guatemala: Diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula. (Fase III). Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación (DIGI). Informe final técnico. Guatemala, 58p.
6. Bran M. *et al.* 2004. Hongos comestibles de Guatemala: Diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula. (Fase IV). Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación (DIGI). Informe final técnico. Guatemala 60p.
7. Bran M.C., *et al.* 2005. Producción de inóculo de cepas nativas para estimular el cultivo de hongos comestibles en comunidades campesinas, como alternativa de autoconsumo y comercialización. Informe Técnico Final. Dirección General de Investigación. USAC. 55p.
8. Bran M.C., *et al.* 2006. Mejoramiento genético y producción de inóculo de cepas nativas de *Pleurotus* spp. Informe Técnico Final. Dirección General de Investigación. USAC. 44p.
9. Bran, M.C. *et al.* 2007. Caracterización y producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas de *N. ponderosus* y *N. lepideus*. Informe Técnico Final. Dirección General de Investigación. USAC. 50p.
10. Bran, M.C. *et al.* 2008. Caracterización y producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas del hongo comestible Asam (*Schizophyllum commune* Fr.). Informe Técnico Final. Dirección General de Investigación. USAC. 59p.
11. Bull, A. *et al.* 2000. Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64 (3): 573–606.
12. Castillo-Villanueva A, *et al.* 2005. Lectinas vegetales y sus efectos en el cáncer. *Rev. Invest. Clin.* 57 (1): 55-64.
13. Chang S., Miles P. 2004. Mushrooms cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. 2<sup>nd</sup>. ed. USA: CRC Press. 451p.
14. Coello-Castillo, M., Sánchez, J., Royse, D. 2009. Production of *Agaricus bisporus* on substrates pre-colonized by *Scytalidium thermophilum* and supplemented at casing with protein-rich supplements. *Biores. Tech.* 100: 4488-4492.
15. Contreras, E., *et al.* 2004. Soaking of substrate in alkaline water as a pretreatment for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *J. Hort. Scien. Biotech.* 79 (2): 234-240.
16. De León, R., Morales, E., de Agreda, L., Rolz, C. 1983. Coffee by products and citronella bagasee as substrates for *Pleurotus* production. *Mush. News. Trop.* 4 (1): 13-16.

17. De León, R., Guzmán, G., Martínez-Carrera, D. 1988. Planta productora de hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus*) en Guatemala. Rev. Mex. Mic. 4: 297-301.
18. De León, R. 2003. Cultivation of edible and medicinal mushrooms in Guatemala, Central America. Micol. Apl. Int. 15 (1): 31-35.
19. Duarte, O. et al. 2006. La bioprospección como mecanismo de cooperación para la construcción de capacidades endógenas en ciencia y tecnología y análisis de las capacidades de Colombia para adelantar procesos de bioprospección. Resúmenes de las VI Jornadas Latinoamericanas de estudios sociales de la ciencia y la tecnología –ESOCITE-. Bogotá, Colombia, Abril de 2006.
20. Galagan, J., Henn, M., Cuomo, C., Birren, B. 2005. Genomics of the fungal kingdom: Insights into eukaryotic biology. Genome Res. 15: 1620-163.
21. Guarro J., Gené J., Stchigel A. 1999. Developments in fungal taxonomy. Clin. Microbiol. Rev. 12 (3): 454-500.
22. Guzmán G. 2003. Los hongos del Edén, Quintana Roo; Introducción a la microbiota tropical de México. México: Instituto de Ecología, 316p.
23. Hawksworth, D. 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. Mycol. Res. 95 (6): 641-655.
24. Hawksworth, D. 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. Mycol. Res. 105 (12): 1422-1432.
25. Hawksworth, D. 2006. Pandora's mycological box: molecular sequences vs. morphology in understanding fungal relationships and biodiversity. Rev. Iberoam. Micol. 23: 127-133.
26. Hawksworth, D., et al. 1995. Ainsworth & Bisby's, dictionary of the fungi. 8<sup>th</sup> ed. CAB International. United Kingdom. 616p.
27. Hostnig, R. et al. 1998. Etnobotánica Mam. GTZ-Helvetas. 90p.
28. Huerta G. 2002. Generalidades sobre los hongos, con énfasis en los basidiomicetos. En: La Biología y el Cultivo de *Pleurotus* spp. Sánchez J., Royse D. eds. México: Editorial Limusa. 294p.
29. Kiho, T., Sobue, S., Ukai, S., 1994. Structural features and hypoglycemic activities of two polysaccharides from a hot-water extract of *Agrocybe cylindracea*. Carbohydr. Res. 251: 81–87.
30. Kiho, T., Yoshida, I., Nagai, K., Ukai, S. 1989. (1-3)-a-D-Glucan from an alkaline extract of *Agrocybe cylindracea*, and antitumor activity of its o-carboxymethylated derivatives. Carbohydr. Res. 189: 273–279.
31. Kim, H. et al. 2005. Optimization of submerged culture condition for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by *Agrocybe cylindracea*. Biores. Tech. 96: 1175-1182.
32. Lau Bonilla D. 2001. Factores que afectan el crecimiento micelial y la degradación del sustrato por *Agrocybe aegerita*. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de Graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 56p.
33. Lee, I.K., Yun, B.S., Yoo, I.D., 1998. A nucleoside with lipid peroxidation inhibitory activity from *Agrocybe cylindracea*. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 26: 558–561.
34. Manual Oxoid. UNIPATH España S.A. 1995. 394p.
35. Martínez-Carrera, D., Soto, C., Guzmán, G. 1985. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* en pulpa de café con paja como sustrato. Rev. Mex. Mic. 1: 101-108.

36. Martínez-Carrera, D., Morales, P., Sobal, M. 1988. Cultivo de Diversas cepas Mexicanas de *Pleurotus ostreatus* sobre pulpa de café y paja de cebada. Rev. Mex. Mic. 4:153-160.
37. Martínez-Carrera, D., Sobal, M., Morales, P., Martínez, W., Mayett, Y. 2004. Los hongos comestibles: propiedades nutricionales, medicinales, y su contribución a la alimentación mexicana. COLPOS-BUAP-UPAEP-IMINAP, Puebla. 30p.
38. Mata M. Mueller, G, Halling, R. 2003. Macrohongos de Costa Rica. Costa Rica: Editorial INBio. Vols. 2, Vol 2, 240p.
39. Mier T., Toriello C., Ulloa M. 2002. Hongos microscópicos saprobios y parásitos: Métodos de Laboratorio. 1ª. Ed. Universidad Nacional Autónoma de México, México, 34p.
40. Morales O. 2001. Estudio etnomicológico de la cabecera municipal de Tecpán Guatemala, Chimaltenango. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 92p.
41. Mueller G. et al. 2004. Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods. Elsevier Academic Press. USA. 777p.
42. Nobles, M. 1965. Identification of cultures of wood-inhabiting Hymenomyces. Can. J. Bot. 43: 1097-1139.
43. Palacios, A. 2000a. Investigación sobre la potencialidad de cultivo de dos cepas silvestres de *Neolentinus lepideus* y *N. ponderosus*. En: Memorias del VII Congreso Nacional de Micología, Querétaro, México. p53-54.
44. Palacios, A. 2000b. Evaluación de un filtro de fibra sintética para el intercambio de gases en el desarrollo de *Neolentinus lepideus* (Fr.:Fr) Fr. en viruta de *Pinus* spp pasteurizada, en condiciones rústicas. En: Memorias del VII Congreso Nacional de Micología, Querétaro, México. p54-55.
45. Philippoussis, A., Zevarkis, G., Diamantopoulou, P. 2001. Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp. World J. Microbiol. Biotech. 17: 191-200.
46. Poucheret, P., Fons, F., Rapior, S. 2006. Biological and pharmacological activity of higher fungi: 20-year retrospective análisis. Cryp. Mycol. 27 (4): 311-333.
47. Quimio T., Chang S. 1990. Technical guidelines for mushroom growing in the tropics. Italia: FAO, 102p.
48. Salmones, D. et al. 1997. Estudios sobre el género *Pleurotus*. VIII. Interacción entre el crecimiento micelial y productividad. Rev. Iberoam. Micol. 14: 173-176.
49. Sánchez, C. 2004. Modern aspects of mushrooms culture technology. Appl. Microbiol. Biotechnol. 64: 756-762.
50. Sánchez, J. 2001. Crecimiento y fructificación. En: La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. Ed. LIMUSA, S. A. México. 294p.
51. Stamets, P. 1993. Growing and medical mushrooms. Ten Speed Press & Mycomedica. Olympia, WA, USA. 554p.
52. Singer, 1986. The Agaricales in modern taxonomy. Koeltz Scientifics Books, Koenigstein. Germany.
53. Sirand-Pugnet. P., Labarère, J. 2002. Molecular characterization of the Pri3 gene encoding a cysteine-rich protein, specifically expressed during fruiting initiation within the *Agrocybe aegerita* complex. Curr. Gen. 41:31-42.
54. Sobal, M., et al. 2007. Classical characterization of mushrooms genetic resources from temperate and tropical regions of Mexico. Micol. Apl. Int. 19 (1): 15-23.
55. Stamets, P. 1993. Growing gourmet & medicinal mushrooms. Ten Speed Press & Mycomedica. Olympia, WA, USA. 554p. p220-223.

56. Sun, H. *et al.* 2003. A lectin with mycelia differentiation and antiphytovirus activities from the edible mushroom *Agrocybe aegerita*. J. Biochem. Mol. Biol. 36 (2): 214-222.
57. Uhart, M., Albertó, E. 2007. Morphologic characterization of *Agrocybe cylindracea* (Basidiomycetes, Agaricales) from America, Europe and Asia. Rev. Mex. Mic. 24: 9-18.
58. Uhart, M., Piscera, J., Albertó, E. 2008. Utilization of new naturally occurring strains and supplementation to improve the biological efficiency of the edible mushroom *Agrocybe cylindracea*. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 35: 595-602.
59. Vallejo R. 2002. Análisis Químico de la paja de cebada sin y con suplemento para el cultivo de *Agrocybe aegerita*. (Tesis de Graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 48p.
60. Walther, G., Weiß, M. 2006. Anamorphs of the Bolbitiaceae (Basidiomycota, Agaricales). Mycologia 98 (5): 792-800.
61. Watling, R., 1992. Observations on the *Bolbitiaceae* – 30. Some Brazilian taxa. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica 28 (1-4): 77-103.
62. Yoshida, I., Kiho, T., Usui, S., Sakushima, M., Ukai, S., 1996. Polysaccharides in fungi. XXXV. Immunomodulating activities of carboxymethylated derivatives of linear (1-3)- $\alpha$ -D-glucans extracted from the fruiting bodies of *Agrocybe cylindracea* and *Amanita muscaria*. Biol. Pharm. Bull. 19: 114–121.
63. Zhao, C., Sun, H., Tong, X., Qi, Y. 2003. An antitumour lectin from the edible mushroom *Agrocybe aegerita*. Biochem. J. 374: 321-327.

### XIII. ANEXOS

Anexo 1. Basidiomas del hongo comestible Tx'yol B'aqman, *A. cylindracea* (DC.: Fr.) Maire, en el departamento de San Marcos.



1. Primordios saliendo del sustrato (tronco) de *Sambucus* sp.

2. Basidiomas maduros recién recolectados.

## Anexo 2. Hoja de toma de datos de crecimiento micelar

Cepa: \_\_\_\_\_ Medio: \_\_\_\_\_ Temperatura \_\_\_\_\_ Fecha de Inicio \_\_\_\_\_

Fecha												
Rep.	X	Y	P	X	Y	P	X	Y	P	X	Y	P
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												
10												
11												
12												
13												
14												
15												
16												
17												
18												
19												
20												

Observaciones: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

### Anexo 3. Hoja de toma de datos de características de las colonias

Cepa: \_\_\_\_\_ Medio: \_\_\_\_\_ Temperatura \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

R	Macroscópica						Microscópicas			
	Color Anverso			Textura	Pigmento	Color Reverso	Diám. Hifas (µm)	Fibulas	Clamidosporas	Otros
	Centro	Margen	Borde							
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
12										
13										
14										
15										
16										
17										
18										
19										
20										

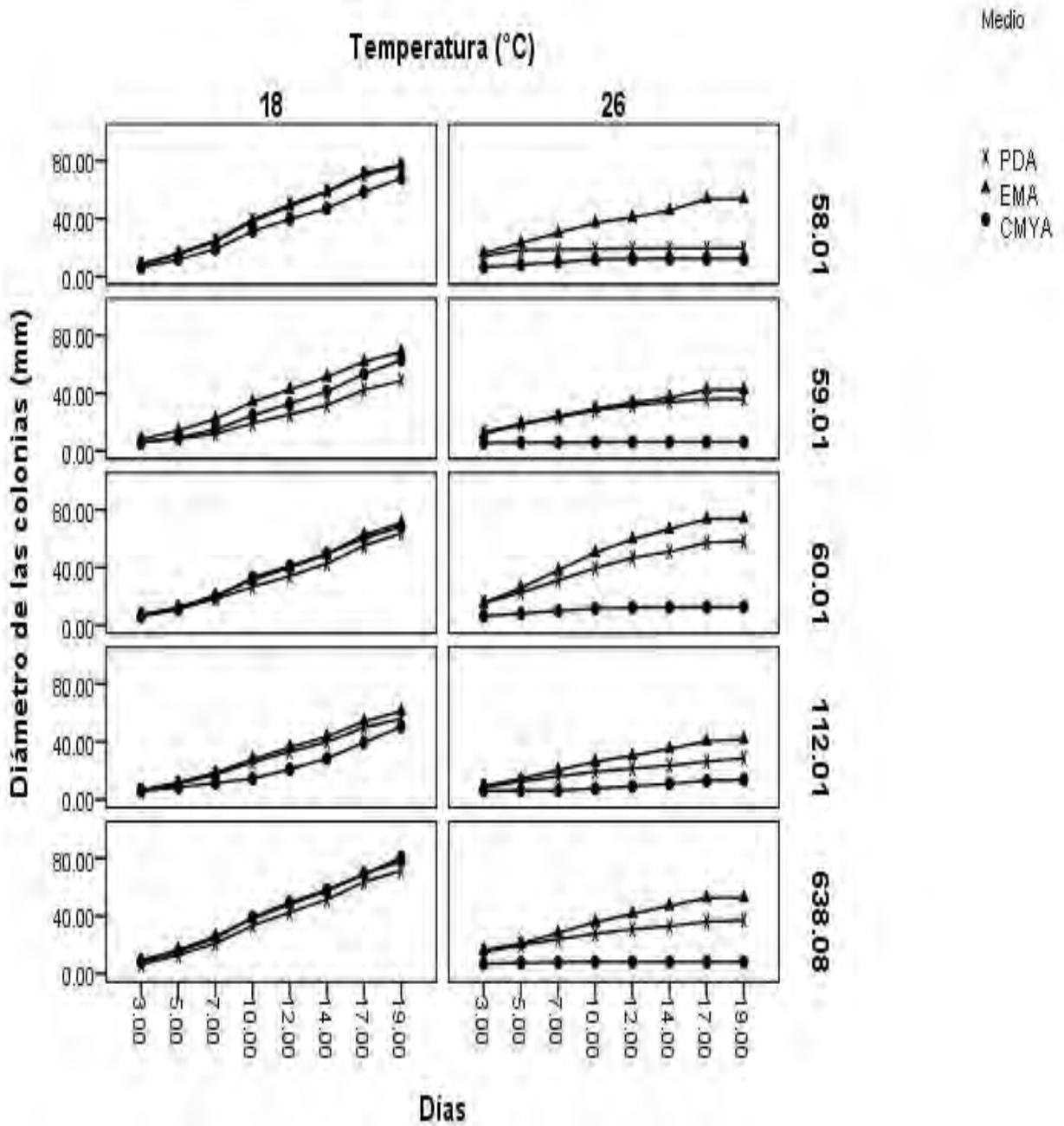
**Anexo 4. Hoja de toma de datos de la producción de inóculo**

Cepa: \_\_\_\_\_ Sustrato: \_\_\_\_\_ Fecha de Inicio \_\_\_\_\_

Fecha												
Rep.	X	Y	P	X	Y	P	X	Y	P	X	Y	P
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												
10												
11												
12												
13												
14												
15												
16												
17												
18												
19												
20												

Observaciones: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

**Anexo 5. Crecimiento micelial de las cepas de *A. cylindracea* durante 19 días en tres medios de cultivo y dos temperaturas de incubación**



**Anexo 6. Tasa de extensión radial (RER) de las cepas de *A. cylindracea* en tres sustratos.**

