

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN –DIGI-  
PROGRAMA UNIVERSITARIO DE INVESTIGACIÓN EN ALIMENTACIÓN Y  
NUTRICIÓN –PRUNIAN-**

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

**Evaluación de la producción de cuerpos fructíferos de cepas guatemaltecas  
del hongo comestible Rukoxil Tunay Che' (*Agrocybe cylindracea* (DC.: Fr.)  
Maire) en diferentes sustratos**

**COORDINADORA**

**Licda. María del Carmen Bran González**

**INVESTIGADORES**

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

**AUXILIAR DE INVESTIGACIÓN**

**Br. Carmen Natalia Gurriarán Quiróz**

**Inicio de la Investigación: Enero de 2012  
Conclusión de la investigación: Diciembre de 2012**

**Guatemala, abril de 2013**

## ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
2. MARCO TEÓRICO	5
A. Generalidades de los hongos	5
B. Hongos comestibles	5
C. Cultivo de hongos comestibles	6
1. Cultivo de hongos comestibles en Guatemala	6
D. <i>Agrocybe cylindracea</i> (DC.: Fr.) Maire	7
1. Características miceliales	8
2. Etnomicología	8
3. Cultivo de <i>A. cylindracea</i>	9
4. Estudio de <i>A. cylindracea</i> en Guatemala	9
5. Propiedades nutritivas y medicinales <i>A. cylindracea</i>	10
3. JUSTIFICACIÓN	11
4. OBJETIVOS	12
5. HIPÓTESIS	13
6. METODOLOGÍA	14
7. RESULTADOS	19
8. DISCUSIÓN	30
9. CONCLUSIONES	35
10. RECOMENDACIONES	36
11. REFERENCIAS	37
12. ANEXOS	42

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

### CUADROS

	Página
Cuadro 1. Cepas utilizadas para el desarrollo de la investigación	14
Cuadro 2. Pruebas y métodos para análisis proximal	17
Cuadro 3. Eficiencia biológica de las cepas de <i>A. cylindracea</i> en diferentes sustratos	20
Cuadro 4. Clasificación de los píleos producidos por las cepas de <i>A. cylindracea</i> en diferentes sustratos en base al diámetro	23
Cuadro 5. Número de basidiomas producidos por las cepas de <i>A. cylindracea</i> , en diferentes sustratos	25
Cuadro 6. Diámetro y peso del píleo producido por las cepas de <i>A. cylindracea</i> , en diferentes sustratos	26
Cuadro 7. Análisis químico proximal de basidiomas de <i>A. cylindracea</i>	29
Cuadro 8. Proteína cruda, grasas, fibra cruda y carbohidratos de las cepas nativas de <i>A. cylindracea</i> comparadas con otros hongos comestibles, determinados en % de base seca	33

### FIGURAS

	Página
Figura 1. Producción de basidiomas de la cepa 58.01 de <i>A. cylindracea</i> , en los sustratos S1, S2, S3, PS1 y PS2, respectivamente.	27
Figura 2. Producción de basidiomas de la cepa 59.01 de <i>A. cylindracea</i> , en los sustratos S2, S3, PS1, PS2 y PS3, respectivamente.	27
Figura 3. Producción de basidiomas de la cepa 60.01 de <i>A. cylindracea</i> , en los sustratos S1, S3, PS1, PS2 y PS3, respectivamente.	28
Figura 4. Producción de basidiomas de la cepa 638.08 de <i>A. cylindracea</i> , en los sustratos S1 y S2.	28

### GRÁFICAS

	Página
Gráfica 1. Eficiencia biológica de las cepas de <i>A. cylindracea</i> en diferentes sustratos	19
Gráfica 2. Efecto general de los sustratos sobre la eficiencia biológica de las cepas de <i>A. cylindracea</i>	21
Gráfica 3. Comportamiento general de la eficiencia biológica de <i>A. cylindracea</i> en todos los sustratos evaluados	22
Gráfica 4. Número de los basidiomas producidos por las cepas de <i>A. cylindracea</i> en diferentes sustratos	24
Gráfica 5.	28

**Hoja de firmas del informe final del proyecto**

**Evaluación de la producción de cuerpos fructíferos de cepas guatemaltecas del hongo comestible Rukoxil Tunay Che' (*Agrocybe cylindracea* (DC.: Fr.) Maire) en diferentes sustratos**

**Licda. María del Carmen Bran González  
COORDINADORA/INVESTIGADORA**

**Lic. Roberto Cáceres Staackmann  
Investigador**

**Lic. Osberth Morales Esquivel  
Investigador**

**Dr. Roberto Flores Arzú  
Investigador**

**Br. Natalia Gurriarán Quiróz  
Auxiliar de Investigación II**

**Dr. Roberto Flores Arzú  
DIRECTOR  
Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas  
-IIQB-**

## Resumen

Los hongos han sido utilizados tradicionalmente como alimento y como medicina desde tiempos ancestrales. El basidiomicete saprobio *Agrocybe cylindracea* conocido popularmente en Guatemala como "Hongo del sauco", "Rukoxil tunay che" y "Tx'yol B'aqman" (en los idiomas mayas Kaqchikel y Mam, respectivamente) es una especie de reconocida comestibilidad no solo en el país sino también en otras partes mundo, además de poseer propiedades medicinales (Poucheret, Fons & Rapior, 2006).

En Guatemala, desde tiempos ancestrales este hongo ha sido utilizado como alimento en poblaciones de la etnia Mam de los municipios de San Juan Ostuncalco, Concepción Chiquirichapa, Cajolá y San Miguel Sigüilá (Quetzaltenango), así como en San Antonio Sacatepéquez (San Marcos). También es apreciado por personas de la etnia Kaqchikel del municipio de Tecpán, Chimaltenango (Hostnig, Hostnig y Vásquez, 1998; Bran, Morales, Cáceres y Flores, 2003a,b).

Dada la popularidad de este hongo y su demanda para consumo y comercialización en diversas comunidades del país, en años anteriores se aislaron varias cepas nativas y se estudiaron *in vitro*, a nivel de laboratorio, utilizando diferentes medios de cultivo y temperaturas. Las cepas también fueron evaluadas en cuanto a la producción de inóculo en diferentes vehículos (Bran, Morales, Flores, Cáceres y Gurriarán, 2009), sin embargo se hizo necesario evaluar la producción de cuerpos fructíferos de las cepas aisladas, utilizando diferentes sustratos agrícolas y forestales bajo condiciones artesanales.

En este proyecto se determinó la productividad de las cepas nativas de *A. cylindracea* sobre diferentes sustratos y tratamientos de desinfección, a través de la cuantificación de la eficiencia biológica, así como la clasificación de los cuerpos fructíferos producidos a través de la cuantificación del diámetro de los píleos.

Al respecto, se encontró que la mayor eficiencia biológica de las cepas en los sustratos evaluados fue 115.84 % en el sustrato PS2, obtenida por la cepa 58.01. También al comparar la productividad general de las cepas se encontró que esta misma cepa, obtuvo las mayores eficiencias biológicas en todos los sustratos evaluados. Al comparar la eficiencia biológica en los diferentes sustratos, mostró que todas las cepas obtuvieron valores altos en el sustrato PS3.

Con respecto al diámetro de los cuerpos fructíferos, las cepas 58.01, 59.01, 60.01 y 638.08 produjeron píleos de las tres categorías (G1, G2 y G3) en los diferentes sustratos y tratamientos, excepto la cepa 59.01 que no produjo G3 en el sustrato PS2.

El análisis proximal de los basidiomas de las cepas evaluadas presentaron un alto porcentaje de proteínas, fibra cruda, y carbohidratos así como bajo porcentaje de grasas.

Se recomienda utilizar paja de trigo suplementada para la producción de cuerpos fructíferos de *A. cylindracea* en futuras investigaciones y/o transferencia de tecnología a otras comunidades o entidades interesadas en el cultivo de este hongo.

**Palabras claves:** Hongos comestibles, cultivo, saprobio, cepas nativas, sustratos, cuerpo fructífero.

## 1. Introducción

Desde hace muchos años, los hongos comestibles silvestres han jugado un importante papel en la alimentación humana. Sin embargo, los métodos empíricos para su cultivo son relativamente recientes y se desarrollaron en forma independiente en China hace unos 1,000 años, con el cultivo de especies de *Auricularia* y *Lentinula edodes*, luego en Francia hace unos 350 años con el cultivo de *Agaricus bisporus*. Durante los últimos 50 años, estos métodos se han mejorado considerablemente y las tecnologías actuales permiten el cultivo de cerca de 20 especies en diferentes partes del mundo (Martinez-Carrera *et al.*, 2000; Chang & Miles, 2004).

Datos recientes demuestran que la producción comercial de hongos comestibles frescos es una actividad industrial de rápido crecimiento y representa cerca de  $5 \times 10^6$  toneladas por año. Durante el período de 1995 a 2005, la producción mundial de hongos se incrementó en un 35.9% y el monto económico global se ha estimado en más de 9.8 billones de dólares por año, tan solo por el cultivo de algunas pocas géneros (*Agaricus*, *Lentinula*, *Pleurotus*, *Volvariella*, *Flammulina*, *Tremella*, entre otros) (Kües & Liu, 2000).

El cultivo de hongos no solamente reduce el impacto de los residuos agrícolas y forestales, ya que éstos se utilizan como sustratos para su producción, sino que ofrece también una alternativa económicamente aceptable para la producción de alimentos de alta calidad nutritiva y de buen sabor. Varios sustratos lignocelulósicos abundantes y disponibles pueden ser utilizados para la producción de hongos, entre ellos, desechos de la industria maderera (diversos tipos de aserrines), así como varios desechos agrícolas (paja de trigo, rastrojo de maíz y cáscara de arroz entre otros). Varias especies de hongos se cultivan sobre diferentes sustratos, entre las que se pueden mencionar *Pleurotus ostreatus*, *P. sajor-caju*, *P. pulmonarius*, *P. cornucopiae*, *Lentinula edodes*, *Volvariella volvacea* y *Polyporus umbellatus* (Omarini, Lechner & Albertó, 2009)

En la actualidad, algunos estudios se han centrado en la búsqueda de nuevas especies de hongos comestibles silvestres factibles de ser cultivadas, con el fin de aumentar el número de especies disponibles para consumo humano. Por otra parte, el cultivo de estas especies podrían permitir su continua producción y disponibilidad en los mercados (Omarini, *et al.* 2009).

*Agrocybe cylindracea*, es una especie comestible silvestre que se cuenta entre las más apreciadas en el occidente de Guatemala, y además por ser un hongo capaz de degradar sustratos lignocelulósicos, posee gran potencial de ser cultivada sobre diversos desechos agrícolas y forestales que se generan en el país.

La Universidad de San Carlos de Guatemala ha financiado estudios que documentan su uso tradicional, el aislamiento de varias cepas nativas a nivel de

laboratorio, la evaluación de su crecimiento micelial en diferentes medios de cultivo y temperaturas, lográndose la producción de inóculo en diferentes vehículos (Bran *et al* 2003a,b; Bran, *et al.*, 2009). Sin embargo, se hace necesaria la realización de estudios que evalúen la producción de cuerpos fructíferos bajo condiciones artesanales, utilizando diferentes sustratos y tratamientos de desinfección.

Por tal razón el objetivo de este estudio fue evaluar la productividad de cuerpos fructíferos de cepas guatemaltecas de *Agrocybe cylindracea* a nivel de laboratorio efecto de establecer la mejor cepa, el mejor sustrato y tratamiento de desinfección para la producción de cuerpos fructíferos de *A. cylindracea*, y desarrollar posteriormente la tecnología apropiada como paso previo a su transferencia a comunidades campesinas. Mediante su cultivo, se estaría dando uso no solo a la diversidad fúngica nativa, sino que también se utilizarían parte de los residuos para producir cuerpos fructíferos comestibles, con lo que se crearían alternativas alimenticias y económicas que contribuyan al desarrollo de las comunidades campesinas (Bran, *et al*, 2004).



## **2. Marco teórico**

### **A. Generalidades de los hongos**

Los hongos forman un grupo taxonómico denominado 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 (Alexopoulos, 1996, Guzmán, 2003).

Actualmente los micólogos elaboran las clasificaciones filogenéticas de los hongos en base a los análisis de ADN, los cuales evidencian que son organismos polifiléticos con morfologías convergentes, que derivaron de varios linajes eucarióticos. A nivel mundial se estima que existen 5.1 millones de especies de hongos, de los cuales se han descrito menos del 10% de las especies (Hawksworth, 2001; Blackwell, 2011).

Los hongos desempeñan un papel fundamental en los ecosistemas como la descomposición, reciclamiento y transporte de nutrientes, y son indispensables para el desarrollo sostenible del ambiente. Algunas especies son patógenas de plantas y animales, mientras que otras forman simbiosis obligadas con algunas especies de plantas, algas, cianobacterias, animales y plantas (Mueller, Bill & Foster, 2004).

### **B. Hongos comestibles**

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). Todos estos hongos se conocen como macrohongos del grupo Basidiomycota. Sus cuerpos fructíferos pueden ser carnosos, gelatinosos o pulverulentos y tener forma de sombrilla, oreja, repisa, trompeta, coral, etc.; y se reproducen por medio de esporas (Mata, Mueller y Halling, 2003).

Los análisis de la composición de los basidiomycetos comestibles cultivados, han revelado que 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 éstos, la lisina es la más abundante, mientras que las cantidades de triptófano y metionina son bajas (Chang & Miles, 2004).

## C. Cultivo de hongos comestibles

Los hongos pueden ser cultivados a través de gran variedad de métodos, algunas son técnicas simples que requieren paciencia por parte del cultivador, y otros demandan técnicas sofisticadas como el cultivo de tejido estéril. El cultivo de hongos comestibles se debe realizar por fases: 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). A medida que se progresa hacia métodos más técnicos, la probabilidad de éxito se ve incrementada (Quimio & Chang, 1990).

El uso extensivo de las técnicas mecanizadas para cultivo de hongos como alimento, en grandes cantidades, es un fenómeno del siglo XX. Actualmente 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. En 1999, la producción mundial de hongos cultivados fue estimada en más de 7 millones de toneladas. 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). La producción mundial de hongos se ha incrementado, 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

La investigación del cultivo de hongos comestibles en Guatemala, comenzó en 1955 con la implementación del champiñón (*A. bisporus*) con cepas de origen norteamericano. La primera planta productora de *L. edodes* se estableció en 1984 utilizando troncos de *Quercus* como sustrato. El 70% de la producción era consumido en Guatemala y el otro 30% se exportaba a México y Panamá. La producción anual en esos años alcanzó cerca de 37,000 kg, no obstante, en 1993 la empresa clausuró actividades (De León, 2003).

La producción comercial de *Pleurotus* inició en 1986, utilizándose paja de trigo y pulpa de café como sustrato. En 1999, se estableció la producción de *P. eryngii* sobre aserrín de árbol de caucho y mazorca de maíz. La producción anual de *Pleurotus* hacia el año 2003, era aproximadamente de 29,586 kg y la mayoría se consumía en Guatemala (90%) y el resto (10%) era exportado a El Salvador y Honduras (De León, 2003).

Hacia el año 2003, se producían cerca de 34,020 kg por año de *L. edodes* (shiitake), empleando aserrín de *Hevea brasiliensis* como sustrato. La mayoría de estos hongos se exportaron (80%), mientras que una pequeña proporción (20%) se comercializó en Guatemala. Por otra parte, existían pequeñas granjas donde se cultivan shiitake sobre troncos de encino como sustrato, alrededor de la ciudad de Guatemala. Esta producción era consumida en los mercados locales (De León, 2003).

La producción total de hongos comestibles en Guatemala se estima 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).

El cultivo de *Pleurotus* a nivel comunitario inició en el año 1990, financiado por Christian Children Foundation, que capacitó a personas de Santa María de Jesús, Sacatepéquez. En el año 1991 se capacitó a un grupo de campesinos de Totonicapán, a través de un proyecto financiado por Helvetas. Posteriormente en 1995 el sacerdote belga César Mass enseñó a cultivar *Pleurotus* a un grupo de campesinos de San José Ojetenam, San Marcos. En 2002 se fundaron pequeños proyectos en Huehuetenango (San Sebastián Coatán, San Rafael La Independencia y Cooperativa Joya Hermosa, ubicada en Aguacatán), así como en San Marcos La Laguna, Sololá. En la actualidad, se calcula que existen 300 familias o personas involucradas en este cultivo, quienes venden el producto de la cosecha en mercados locales (De León, 2007).

En 2005, la Dirección General de Investigación -USAC-, financió el entrenamiento de 245 personas en comunidades del occidente el país, cultivándose varias especies de *Pleurotus* (*P. djamor*, *P. ostreatus*. y *P. levis* a nivel artesanal). El sustrato más utilizado fue el olote de maíz, aunque se utilizaron otros como el rastrojo de maíz y paja de trigo. En la comercialización local, los precios de *Pleurotus* spp tuvieron un rango entre Q10.00 y Q20.00 la libra, y, en supermercados o restaurantes los precios oscilaron entre Q19.00 y Q25.00 la libra, con un ingreso neto por venta de los hongos de Q39,223.00, en ese año, lo que representó un ingreso per cápita de hasta Q506.82 (Bran *et al*, 2005).

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

*Agrocybe cylindracea* es de amplia distribución y ha sido reportado en todos los continentes, sin embargo, es raro en Norteamérica (Watling, 1992). Es una especie saprobia y 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*, *Broussonettia*, *Allophylus*, *Cupania*, *Phebe*, *Araucaria augustifolia* (Walting, 1992). En Guatemala y Argentina se le ha encontrado creciendo sobre especies de *Sambucus* y *Salix* (Morales, O., 2001; Bran, *et al*, 2004; Uhart & Albertó, 2007).

Se clasifica como Basidiomycota del orden Agaricales y familia *Bolbitiaceae*, género *Agrocybe* (Hawksworth, Pegler, Kirk, & Sutton, 1995). Posee más de 20 sinónimos, dentro de los cuales el más ampliamente difundido es *A. aegerita* (Brig.) Singer (Uhart & Albertó, 2007).

Los cuerpos fructíferos o basidiomas de esta especie presentan 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 víscida, 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 15.0 x 2.0 – 25.0 cm. El velo forma un anillo ancho y persistente. 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 (Uhart, Albertó, 2007).

En cuanto a la composición nutritiva se ha reportado 1% de grasas, 3.1% de proteínas, 1.4% de cenizas y 12.9% de carbohidratos en 100 gramos de hongos frescos (Manzi, Marconi, Aguzzi & Pizzoferrato, 2004).

### **1. Características miceliares:**

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).

### **2. 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 saúco 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 (Hostnig, Hostnig, Vázquez, 1998). También se consume en el municipio de Tecpán, Chimaltenango, donde se le conoce como hongo del saúco 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*, 2003 a,b).

### **3. Cultivo de *A. cylindracea*:**

Para el crecimiento micelial 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). 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).

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 (29%) adicionada con CaCO<sub>3</sub> (1%) y humedad (70%) (Uhart, Albertó, 2007). También se ha reportado 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). Para el tratamiento del sustrato se ha utilizado esterilización con vapor a presión (autoclave) a 120°C durante 2 horas (dos veces). Además se ha incubado el sustrato inoculado a 25°C por 30 días en la oscuridad. Las condiciones de fructificación han sido entre 18-20°C con exposición a 9 hrs. de luz/15 horas en la oscuridad (Uhart, Piscera & Albertó, 2008).

### **4. Estudios de cultivo de *A. cylindracea* en Guatemala:**

Se han efectuado estudios sobre la fisiología del crecimiento micelial de cepas guatemaltecas y extranjeras de *Agrocybe aegerita* (Lau, 2001; Vallejo, 2002; Andrade, 2007). Recientemente se estudiaron cinco cepas nativas de *A. cylindracea* evaluándose 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 evaluadas. En la producción de inóculo, los granos de trigo fueron los más adecuados para el crecimiento de las cepas. Asimismo, todas las cepas colonizaron el sustrato constituido por paja de trigo, sólo la cepa *A. cylindracea* 638.08 produjo cuerpos fructíferos en el sustrato indicado, obteniéndose una baja eficiencia biológica (15.23 %) (Bran *et al.*, 2009).

### **5. Propiedades medicinales de *A. cylindracea*:**

A partir de cuerpos fructíferos del hongo, se purificó una lectina denominada AAL, reportándose que tiene un efecto antitumoral inducido vía apoptosis y actividad de DNAasa (Sun, Guang, Tong & Peng, 2003). En este estudio se investigaron diferentes líneas celulares derivadas de tumores humanos demostrándose que AAL inhibe su crecimiento y que *in vivo* también inhibe la

viabilidad de células tumorales S-180.5 (Zhao, Sun, Tong, & Qi. 2003; Castillo-Villanueva & Abdullaev, 2005).

Durante las décadas pasadas se ha incrementado el interés en la producción de exopolisacáridos (EPS) de los hongos. Los EPS producidos por *A. cylindracea* han mostrado actividades antitumorales (Kiho, Yoshida, Nagai & Ukai, 1989), propiedades como hipoglicémico (Kiho, Sobue & Ukai, 1994), inhibición de la peroxidación lipídica (Lee, Yun, Yoo, 1998) y actividad inmunoestimulante (Yoshida, Kiho, Usui, Sakushima & Ukai, 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).

### 3. Justificación:

El cultivo de hongos comestibles posee no solo un gran potencial biotecnológico para convertir eficientemente grandes cantidades de desechos agrícolas y forestales en cuerpos fructíferos aptos para el consumo humano, sino que también pueden elaborarse diversos productos considerados nutraceuticos. Es de conocimiento 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 fuente 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, Martinez-Carrera, Morales & Roussos, 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* (depositadas en la "Colección de Germoplasma Fúngico Rubén Mayorga "de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 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 de interés para el hombre.

Por tal motivo, se hizo necesario realizar estudios adicionales de dichas cepas, para evaluar su productividad a nivel de laboratorio y bajo condiciones artesanales utilizando diferentes sustratos y tratamientos, con el fin de generar posteriormente una tecnología que en el futuro pueda transferirse y utilizarse para el cultivo en regiones rurales del país, tomando en consideración la demanda existente, como una alternativa alimenticia, socioeconómica y medicinal en el país.

Por lo anterior este proyecto, está enmarcado dentro de los Acuerdos de Paz: Acuerdo sobre Identidad y Derechos de los Pueblos Indígenas, apartado III: Derechos Culturales, sección F: Ciencia y Tecnología, incisos del 1 al 3, que estimulan estudios de este tipo (Anexo 12.1).

## **4. Objetivos**

### **4.1 General**

Evaluar la productividad de cuerpos fructíferos de cepas guatemaltecas de *Agrocybe cylindracea* a nivel de planta piloto.

### **4.2 Específicos**

1. Determinar la productividad de las cepas nativas de *A. cylindracea* sobre diferentes sustratos y tratamientos de desinfección, a través de la cuantificación de la eficiencia biológica.
2. Clasificar los cuerpos fructíferos producidos a través de la cuantificación del diámetro de los píleos de las cepas estudiadas de *A. cylindracea*.



## **5. Hipótesis**

Las eficiencias biológicas de por lo menos una cepa de *Agrocybe cylindracea*, presentan valores mayores al 15% en por lo menos uno de los sustratos y tratamientos de desinfección a evaluar.

Los diámetros de los píleos producidos por las cepas de *Agrocybe cylindracea*, son mayores a 3 cm en por lo menos uno de los sustratos y tratamientos de desinfección a evaluar.

## 6. Metodología

### 6.1 Método, técnicas e instrumentos

#### Fase de laboratorio

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

Las cepas que se revitalizaron están depositadas en el Cepario de hongos Saprobios y Micorrícicos "Rubén Mayorga Peralta", del Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica; Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

**Cuadro 1.** Cepas utilizadas para el desarrollo de la investigación.

Código de la cepa	Procedencia	Sustrato*
58.01	Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos	<i>Sambucus</i> sp
59.01	Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos	<i>Sambucus</i> sp
60.01	Aldea Escuachil, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos	<i>Sambucus</i> sp
112.02	Tecpán Guatemala, Chimaltenango	<i>Salix</i> sp
638.08	Tecpán Guatemala, Chimaltenango	<i>Sambucus</i> sp

\* Sustrato donde se encontraban creciendo los basidiomas de los cuales fue aislada la cepa.

##### B. Producción de inóculo

Para la producción de inóculo fue necesario obtener biomasa de las cepas revitalizadas, para ello se sembraron en agar extracto de malta para cada una de las cepas siguiendo el siguiente procedimiento:

- Preparar los medios de cultivo agar con extracto de malta (AEM).
- Esterilizar los medios por 15 minutos a 121°C.
- Tomar el pH de los medios preparados, el cual debe estar entre 5.5 y 6.8.
- Inocular las cajas de agar AEM con cada una de las cepas revitalizadas, con un segmento de 5 mm del cultivo.
- Identificarlas con referencia, nombre de la cepa, fecha de inoculación, medio, temperatura de incubación.
- Sellar las cajas inoculadas con papel Parafilm, para evitar su deshidratación.
- Incubarlas durante un máximo de 21 días.

El inóculo se preparó utilizando como vehículo granos de trigo de conformidad con el procedimiento recomendado por Quimio & Chang, (1990) y Bran *et al.*, (2009).

- Hidratar los granos de trigo, por 24 horas, hasta alcanzar aproximadamente el 80% de humedad.
- Someter los granos hidratados a un proceso de cocción durante 20 minutos. Enfriar y escurrir.
- Colocar los sustratos individualmente en bolsas de polipapel con 200 gramos en peso húmedo y suplementarlos con 1 % p/p de CaCO<sub>3</sub>
- Esterilizar los granos por 1 hora a 121°C y 15 lbs/pulgada<sup>2</sup> de presión. Enfriar.
- Cortar porciones de aproximadamente 1.0 cm<sup>2</sup> del micelio que ha crecido en medio de cultivo, de cada una de las cepas.
- Inocular los granos de trigo esterilizados con 5 fragmentos de agar con micelio, de cada una de las cepas (20 repeticiones por cepa).
- Identificar las bolsas con referencia, nombre de la cepa, fecha de inoculación, sustrato, temperatura de incubación.
- Incubar a una temperatura de 26°C.

Se controló el crecimiento del micelio sobre el sustrato cada 5 días, hasta que se observó la colonización completa, la cual se evidenció mediante el crecimiento del micelio en el interior y exterior del sustrato.

### C. Sustratos para la fructificación:

Se utilizaron tres sustratos para el cultivo de las cepas de *A. cylindracea*: **Sustrato 1 (S1)**: 29 % de paja de trigo, 1% p/p de CaCO<sub>3</sub> p/p y 70% de humedad (Uhart & Albertó, 2007). **Sustrato 2 (S2)**: 29% de paja de trigo, 1% p/p Harina de soya y 70 % de humedad (Uhart, Piscera & Albertó, 2008). **Sustrato 3 (S3)**: 28 % de paja de trigo, 1% p/p de harina de soya, 1% p/p de CaCO<sub>3</sub> y 70% de humedad (Uhart & Albertó, 2009). Se realizaron 15 repeticiones por sustrato con un peso de 1.0 Kg cada uno.

#### 1. Tratamiento para desinfección de los sustratos:

- **Tratamiento 1 (Esterilización) (S)**: Se colocaron los sustratos en bolsas de polipropileno (polipapel) y se esterilizaron por 2.5 horas a 121°C (2 veces).
- **Tratamiento 2 (Pasteurización) (PS)**: Se colocaron los sustratos en bolsas de manta y se pasteurizaron por tratamiento en inmersión en agua caliente a 90°C por dos horas.

## **2. Inoculación de sustratos:**

El procedimiento fue realizado de acuerdo con lo recomendado por Chang y Miles (2004) y Uhart, Piscera y Albertó (2008). Los sustratos fueron inoculados con 130.00 g del inóculo previamente preparado, se les colocó un respiradero con gasa estéril al inicio, luego se utilizaron bolsas de polipropileno esterilizables, con respiradero incorporado. Se determinó el porcentaje de humedad a una muestra aleatoria por sustrato y tratamiento. Fueron incubados a temperatura ambiente y en oscuridad hasta que el micelio colonizó totalmente el sustrato, luego fueron inspeccionados cada dos días.

## **3. Evaluación de la producción de cuerpos fructíferos a nivel de planta piloto, incubación y fructificación:**

El procedimiento se realizó de acuerdo con lo recomendado por Uhart, Piscera y Albertó 2008.

### **Incubación:**

- El módulo de producción que se utilizó para esta fase fue implementado en una habitación de producción cerrada, exclusiva para el cultivo de hongos comestibles.

### **Fructificación:**

- Traslado de los sustratos al módulo de producción cerrado y exclusivo para el cultivo de hongos comestibles.
- Se colocaron los sustratos 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 (temperatura y humedad).
- Se pesaron los cuerpos fructíferos cosechados, expresando la cantidad en gramos.
- Se evaluó la productividad expresada en términos de eficiencia biológica (EB), la cual se determina expresando en porcentaje la relación entre peso fresco de las fructificaciones de los hongos producidos y el peso seco del sustrato ( $\%EB = (\text{Peso fresco de los cuerpos fructíferos} / \text{peso seco de los sustratos}) \times 100$ ).

Se elaboró una base de datos con el programa EXCEL<sup>R</sup> y también gráficos de interacción, para la productividad expresada en % EB de cada una de las cepas, mediante el análisis estadístico con el programa SPSS 19.0.

#### D. Determinación del diámetro de los píleos:

A cada uno de los cuerpos fructíferos, se midió el diámetro del píleo, posteriormente se clasificaron según su diámetro en: grupo 1 (G1) < 2.0 cm, grupo 2 (G2) entre 2.0 y 4.0 cm y grupo 3 (G3), >4.0 cm.

#### E. Determinación del análisis químico proximal de cuerpos fructíferos de *A. cylindracea*

Se realizó como análisis complementario la determinación del análisis químico proximal de los cuerpos fructíferos producidos, lo cual fue efectuado por el Laboratorio de Bromatología, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Las determinaciones llevadas a cabo y metodología usada se presentan en el cuadro 2.

**Cuadro 2. Pruebas y métodos para análisis proximal**

Prueba	Método de Referencia
Materia Seca	AOAC: 930.15
Proteína Cruda	AOAC: 976.05 Tecator: Manual del Kjeltex Auto 1030 Analyzer
Fibra Cruda	AOAC: 962.09 Bateman Tecator: Manual del 1010/1021 Fibertec System I
Extracto Etéreo	Bateman 9.110
Cenizas	AOAC: 942.05
Extracto Libre de Nitrógeno	Bateman: 10.200

### 6.2 Metodología de análisis de la información

#### 6.2.1 Diseño

**Objetivo 1:** Diseño factorial: 5x3x2 (5 cepas, 3 sustratos, 2 tratamientos). Réplicas: 15.

**Objetivo 2:** Descriptivo.

#### 6.2.2 Análisis de la información

**Objetivo 1:** Se efectuaron análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ), para evidenciar las diferencias significativas en función de la eficiencia biológica obtenida para cada una de las cepas en los diferentes sustratos y tratamientos.

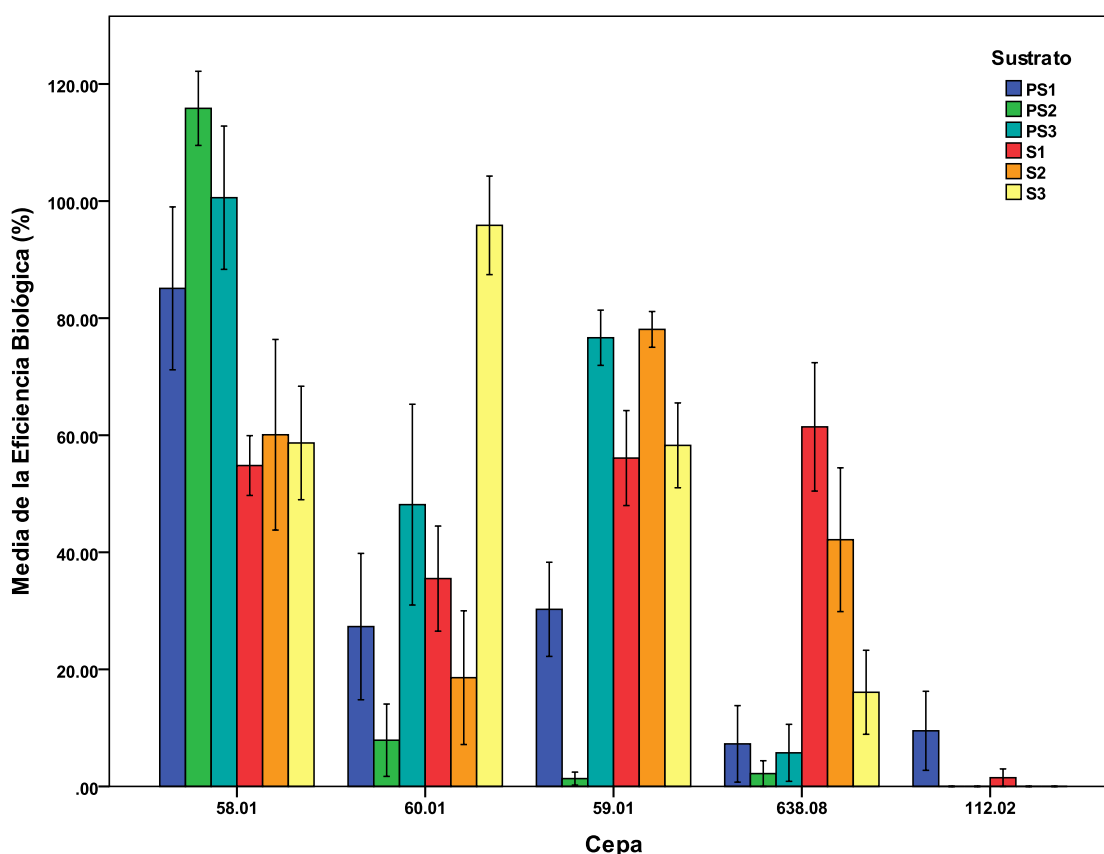
**Objetivo 2:** Los diámetros de los púleos clasificados en los grupos G1 al 3, se analizaron por medio de la prueba de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ). Además se elaborarán gráficas de interacción.

## 7. Resultados

Se observó que la mayor Eficiencia Biológica (%EB) correspondió a la cepa 58.01 en el sustrato PS2 (115.84%), seguida por esta misma cepa en el sustrato PS3 (100.58%), luego por la cepa 60.01 en el sustrato S3 (95.85%) y después por la cepa 58.08 en el sustrato PS1 (85.09%), finalmente por la cepa 59.01 en los sustratos S2 (78.08%) y PS3 (76.65%) (Gráfica 1). Entre estas eficiencias biológicas, cepas, sustratos y tratamientos no existió diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) (Cuadro 3).

La cepa 112.02 no produjo cuerpos fructíferos en los sustratos S2, S3, PS2 y PS3 y las eficiencias obtenidas en los sustratos S1 y PS1 fueron de 1.49 y 9.50% respectivamente. La eficiencia más baja se observó en la cepa 59.01 en el sustrato PS2 (1.34%) (Gráfica 1, Cuadro 3).

**Gráfica 1. Eficiencia biológica de las cepas de *A. cylindracea* en diferentes sustratos.**



**Cuadro 3. Eficiencia Biológica de las cepas de *A. cylindracea* en diferentes sustratos.**

Cepa	Sustrato	Eficiencia Biológica (%)*	
58.01	S1	54.82 ± 19.78	c,d,e,f,g **
	<b>S2</b>	<b>60.08 ± 63.06</b>	b,c,d,e,f
	S3	58.68 ± 37.55	b,c,d,e,f
	PS1	85.09 ± 53.89	a,b,c,d
	<b>PS2</b>	<b>115.84 ± 24.53</b>	a
	PS3	100.58 ± 47.42	a,b
60.01	S1	35.51 ± 34.77	e,f,g,h,i
	S2	18.58 ± 44.24	f,g,h,i
	<b>S3</b>	<b>95.85 ± 32.61</b>	a,b,c
	PS1	27.31 ± 48.43	f,g,h,i
	PS2	7.90 ± 23.95	h,i
	<b>PS3</b>	<b>48.14 ± 66.42</b>	d,e,f,g,h
59.01	S1	56.10 ± 31.42	b,c,d,e,f
	S2	<b>78.08±11.83</b>	a,b,c,d,e
	S3	58.26±28.05	b,c,d,e,f
	PS1	30.26±31.16	f,g,h,i
	PS2	1.34±4.30	l
	PS3	<b>76.65±18.28</b>	a,b,c,d,e
638.08	S1	<b>61.43±42.48</b>	b,c,d,e,f
	S2	42.15±47.57	d,e,f,g,h,i
	S3	16.09±27.80	f,g,h,i
	PS1	<b>7.27±25.32</b>	h,i
	PS2	2.20±8.51	l
	PS3	5.74±18.86	h,i
112.01	S1	1.49±5.78	l
	S2	0	l
	S3	0	l
	PS1	9.50±26.15	g,h,i
	PS2	0	l
	PS3	0	l

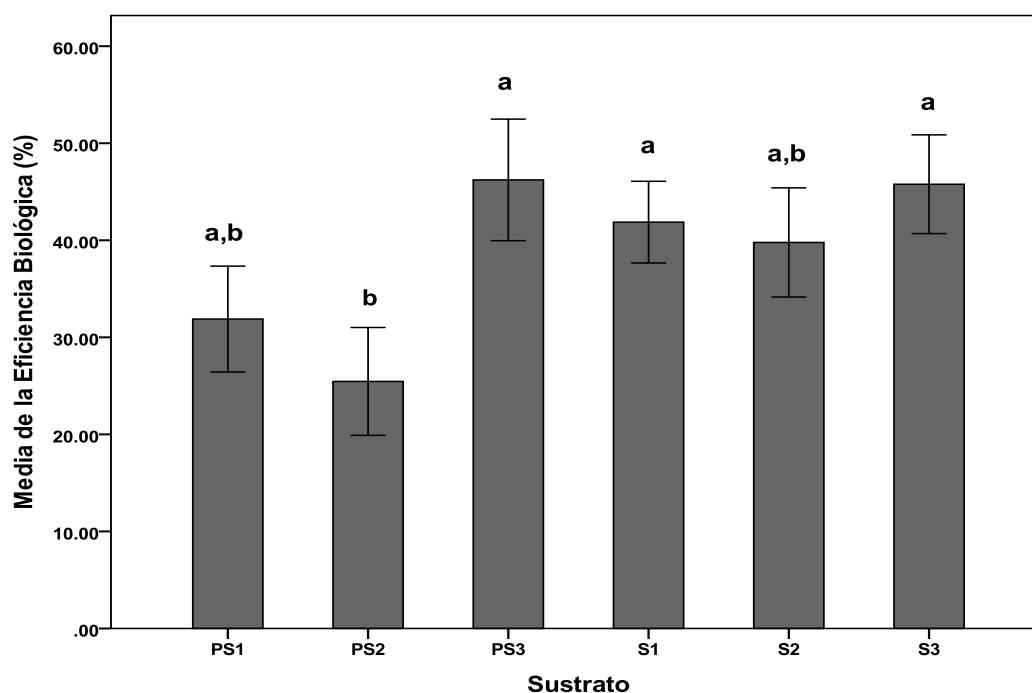
\*Media ± la desviación estándar.

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



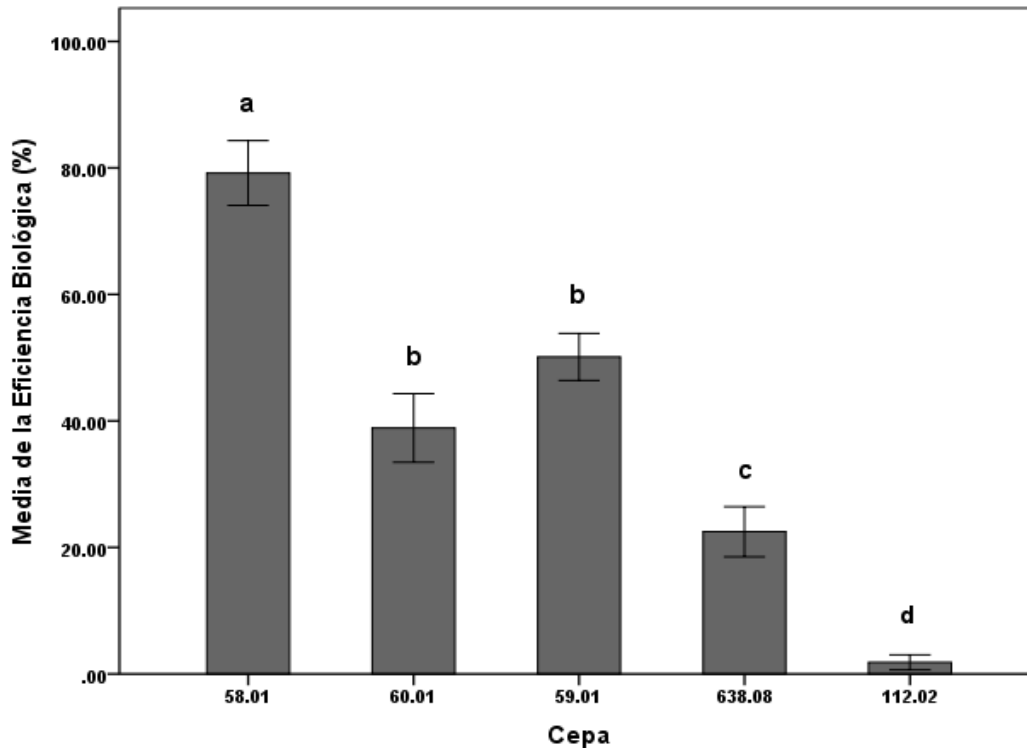
De manera general se observó que la eficiencia biológica en los diferentes sustratos fue mayor en el PS3, sin embargo no se observó diferencia significativa con los sustratos S3, S1, S2 y PS1 ( $p>0.05$ ). El sustrato que presentó la menor eficiencia biológica fue el PS2 (Gráfica 2).

**Gráfica 2. Efecto general de los sustratos sobre la eficiencia biológica de las cepas de *A. cylindracea*.**



La productividad general de las cepas nativas en todos los sustratos evaluados, mostró que la mayor eficiencia biológica se encontró en la cepa 58.01, que fue significativamente diferente con respecto a las demás ( $p=0.000$ ). Entre las cepas 60.01 y 59.01 no existió diferencias significativa ( $p=0.156$ ). La cepa 112.01 presento la eficiencia más baja y fue significativamente diferente a las demás ( $p<0.009$ ) (Gráfica 3).

**Gráfica 3. Comportamiento general de la Eficiencia Biológica de las cepas de *A. cylindracea*, en todos los sustratos evaluados.**



Las cepas 58.01, 59.01, 60.01 y 638.08 produjeron púleos de las tres categorías (G1, G2 y G3), excepto la cepa 59.01 en el sustrato PS2 que no lo hizo en la categoría G3, sin embargo, esta misma cepa presentó los de mayor diámetro (13.20 cm) en el sustrato S2 (Cuadro 4).

**Cuadro 4. Clasificación de los púleos producidos por las cepas de *A. cylindracea*, en diferentes sustratos en base al diámetro**

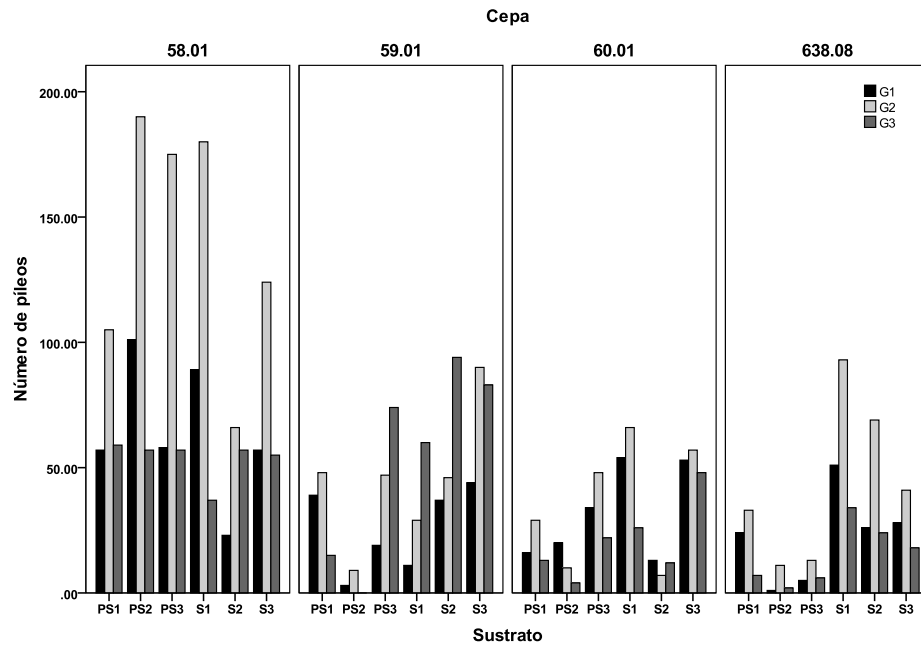
Cepa	Sustrato	Diámetro de los púleos (cm)			
		G1*	G2*	G3*	Máximo
58.01	S1	1.49 ± 0.27	2.73 ± 0.57	5.03 ± 1.07	9.00
	S2	1.45 ± 0.26	2.84 ± 0.56	<b>5.34 ± 1.09</b>	8.30
	S3	1.35 ± 0.31	2.95 ± 0.58	4.87 ± 0.97	8.60
	PS1	1.37 ± 0.26	2.88 ± 0.60	<b>5.41 ± 1.10</b>	8.90
	PS2	1.36 ± 0.26	2.78 ± 0.54	5.22 ± 1.36	10.30
	PS3	1.46 ± 0.26	2.96 ± 0.64	5.20 ± 0.92	8.00
59.01	S1	1.37 ± 0.18	2.80 ± 0.55	<b>6.26 ± 1.58</b>	11.60
	S2	1.34 ± 0.29	2.93 ± 0.54	5.92 ± 1.54	<b>13.20</b>
	S3	1.44 ± 0.28	2.88 ± 0.54	5.54 ± 1.38	10.20
	PS1	1.50 ± 0.22	2.69 ± 0.53	6.23 ± 2.16	10.60
	PS2	1.57 ± 0.30	2.58 ± 0.59	0.00	3.70
	PS3	1.23 ± 0.22	2.88 ± 0.60	<b>6.40 ± 1.75</b>	10.60
60.01	S1	1.36 ± 0.28	2.85 ± 0.62	5.30 ± 1.12	8.30
	S2	1.24 ± 0.54	3.30 ± 0.50	5.87 ± 1.43	9.50
	S3	1.47 ± 0.28	2.90 ± 0.65	<b>5.90 ± 2.00</b>	12.00
	PS1	1.48 ± 0.26	2.74 ± 0.73	<b>5.47 ± 1.10</b>	7.30
	PS2	1.35 ± 0.31	2.60 ± 0.45	4.87 ± 1.42	7.00
	PS3	1.32 ± 0.27	2.82 ± 0.59	4.61 ± 0.43	5.30
638.08	S1	1.44 ± 0.40	2.87 ± 0.61	<b>5.39 ± 1.13</b>	8.60
	S2	1.50 ± 0.36	2.98 ± 0.62	4.92 ± 0.74	7.00
	S3	1.48 ± 0.29	2.81 ± 0.58	5.11 ± 0.82	7.40
	PS1	1.51 ± 0.29	2.91 ± 0.67	<b>4.67 ± 0.67</b>	6.00
	PS2	1.80 ± 0.00	2.88 ± 0.48	4.15 ± 0.07	4.20
	PS3	1.16 ± 0.11	2.92 ± 0.44	4.57 ± 0.37	5.10

\*Media ± la desviación estándar

La cepa 58.01 obtuvo el mayor diámetro del los pñeos en el sustrato S2 (5.41 cm), la cepa 60.01 en el sustrato S3 (5.90 cm), la cepa 59.01 en el sustrato PS3 (6.40 cm) y la cepa 638.01 en el sustrato S1 (5.39 cm).

En general el mayor número de basidiomas los produjo la cepa 58.01 en los diferentes sustratos y técnicas de tratamiento probadas, sin embargo la mayor cantidad se produjeron en el sustrato PS2 (348), de esta misma cepa (Gráfica 4, Cuadro 5).

**Gráfica 4. Número de los basidiomas producidos por las cepas de *A. cylindracea* en diferentes sustratos.**



**Cuadro 5. Número de basidiomas producidos por las cepas de *A. cylindracea*, en diferentes sustratos**

Cepa	Sustrato	Número de basidiomas			Total
		G1*	G2*	G3*	
58.01	S1	5.93 ± 4.38	12.00 ± 7.16	2.47 ± 2.13	306
	S2	2.55 ± 2.55	7.33 ± 5.52	<b>6.33 ± 3.24</b>	146
	S3	4.38 ± 4.25	9.53 ± 9.74	4.23 ± 3.34	236
	PS1	3.80 ± 6.67	7.00 ± 7.54	3.93 ± 3.10	224
	PS2	<b>6.73 ± 7.76</b>	<b>12.67 ± 10.64</b>	3.80 ± 2.27	<b>348</b>
	PS3	4.14 ± 2.80	12.50 ± 7.79	4.07 ± 2.43	290
	59.01	S1	0.85 ± 1.14	2.23 ± 2.13	4.61 ± 2.57
	S2	2.47 ± 4.40	3.07 ± 3.47	<b>6.27 ± 2.34</b>	177
	S3	3.14 ± 1.83	<b>6.43 ± 5.09</b>	5.93 ± 3.00	<b>217</b>
	PS1	<b>3.90 ± 3.28</b>	4.80 ± 3.79	1.50 ± 1.84	102
	PS2	1.50 ± 0.71	4.50 ± 4.95	0	12
	PS3	1.27 ± 2.15	3.13 ± 1.99	4.93 ± 2.02	140
60.01	S1	6.00 ± 4.15	7.33 ± 2.65	2.89 ± 2.26	146
	S2	4.33 ± 7.50	2.33 ± 1.53	<b>4.00 ± 1.00</b>	32
	S3	3.53 ± 5.53	3.80 ± 3.53	3.20 ± 2.37	<b>158</b>
	PS1	4.00 ± 2.16	7.25 ± 4.79	3.25 ± 1.71	58
	PS2	<b>6.67 ± 8.33</b>	3.33 ± 0.58	1.33 ± 2.31	32
	PS3	5.67 ± 4.18	<b>8.00 ± 4.30</b>	3.67 ± 2.42	104
	638.08	S1	4.64 ± 4.22	8.45 ± 6.19	3.10 ± 1.97
	S2	2.89 ± 2.62	7.67 ± 6.85	2.67 ± 1.19	119
	S3	5.60 ± 5.94	8.20 ± 11.78	<b>3.60 ± 1.82</b>	87
	PS1	<b>8.00 ± 6.08</b>	<b>11.00 ± 8.54</b>	2.33 ± 2.52	64
	PS2	1.00 ± 0.00	11.00 ± 0.00	2.00 ± 0.00	14
	PS3	2.50 ± 3.53	6.50 ± 3.53	3.00 ± 4.24	24

\*Media ± la desviación estándar

**Cuadro 6. Diámetro y peso del píleo producidos por las cepas de *A. cylindracea*, en diferentes sustratos**

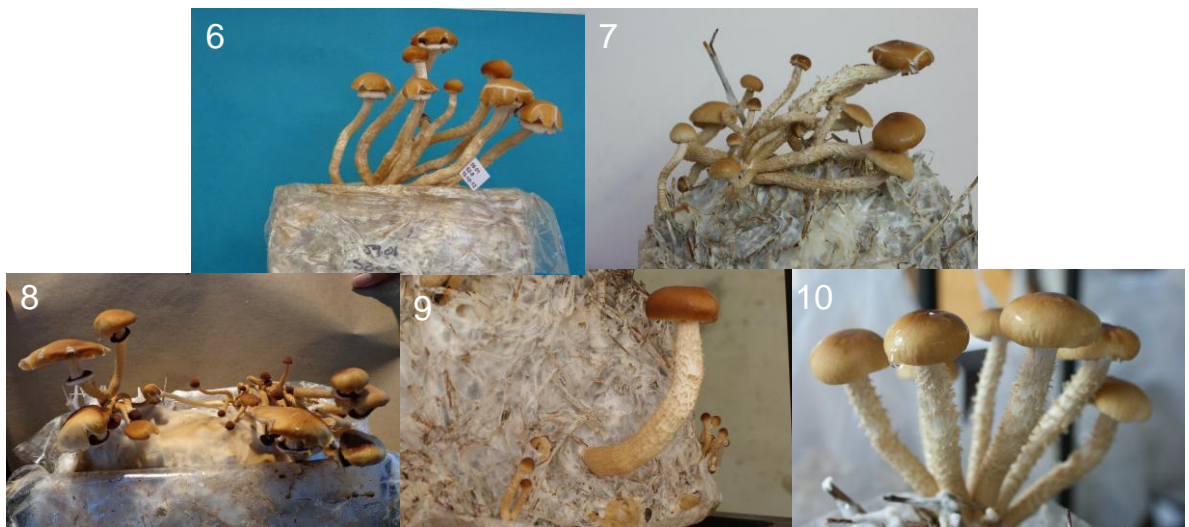
Cepa	Sustrato	Diámetro (cm)*	Peso (g)*
58.01	S1	2.65 ± 1.66	2.57 ± 3.52
	S2	<b>3.59 ± 1.67</b>	<b>5.31 ± 6.22</b>
	S3	3.01 ± 1.37	3.23 ± 5.18
	PS1	3.20 ± 1.66	3.07 ± 3.90
	PS2	2.77 ± 1.43	2.86 ± 3.80
	PS3	3.10 ± 1.36	3.05 ± 3.25
	59.01	S1	<b>4.75 ± 2.30</b>
S2		4.19 ± 2.25	6.16 ± 6.60
S3		3.60 ± 1.86	4.28 ± 5.22
PS1		2.75 ± 1.79	2.96 ± 5.36
PS2		2.32 ± 0.70	0.93 ± 0.62
PS3		4.51 ± 2.45	7.71 ± 7.77
60.01		S1	2.74 ± 1.52
	S2	<b>3.42 ± 2.28</b>	5.34 ± 7.75
	S3	3.33 ± 2.15	<b>5.98 ± 8.55</b>
	PS1	3.00 ± 1.61	4.02 ± 4.55
	PS2	2.11 ± 1.31	2.07 ± 4.12
	PS3	2.71 ± 1.28	3.75 ± 3.49
	638.08	S1	2.94 ± 1.51
S2		3.04 ± 1.26	3.24 ± 2.59
S3		2.86 ± 1.41	2.54 ± 2.98
PS1		2.58 ± 1.13	1.92 ± 2.09
PS2		2.12 ± 1.05	0.96 ± 0.85
PS3		<b>3.32 ± 0.85</b>	2.07 ± 1.37

\*Media ± la desviación estándar

Con relación al promedio de los diámetros de los píleos y peso de los basidiomas, la cepa 59.01 (sustrato S1) presentó el mayor diámetro y peso. La cepa 58.01 fue en el sustrato S2, mientras que la cepa 60.01 el mayor diámetro se observó en el sustrato S2 y el mayor peso en el S3. El mayor diámetro del píleo y peso de la cepa 638.08 se obtuvieron en el sustrato PS3 y S1, respectivamente (Cuadro 6) (Figura 1-4).



**Figura 1.** 1-5. Producción de basidiomas de la cepa 58.01 de *A. cylindracea*, en los sustratos S1, S2, S3, PS1 y PS2, respectivamente.



**Figura 2.** 5-10. Producción de basidiomas de la cepa 59.01 de *A. cylindracea*, en los sustratos S2, S3, PS1, PS2 y PS3, respectivamente.



**Figura 3.** 11-15. Producción de basidiomas de la cepa 60.01 de *A. cylindracea*, en los sustratos S1, S3, PS1, PS2 y PS3, respectivamente.



**Figura 4.** 1-5. Producción de basidiomas de la cepa 638.08 de *A. cylindracea*, en los sustratos S1 y S2.

Como análisis complementario, en el cuadro 7, se presentan los resultados del análisis proximal de los basidiomas de cuatro de las cepas analizadas.



**Cuadro 7. Análisis químico proximal de basidiomas de *A. cylindracea***

Cepa	Base	Agua	M.S.T. <sup>1</sup>	Porcentaje (%)*			Cenizas	E.L.N. <sup>5</sup>
				E.E. <sup>2</sup>	F.C. <sup>3</sup>	P.C. <sup>4</sup>		
58.01	Seca	11.68	88.32	0.40	18.04	32.03	8.05	41.48
59.01	Seca	10.43	89.57	1.08	24.15	28.50	7.91	38.36
60.01	Seca	11.72	88.28	0.68	32.77	30.82	7.52	28.22
638.01	Seca	07.93	92.07	0.67	15.84	28.06	9.74	45.69

\* Porcentaje en base seca

<sup>1</sup> Materia seca total

<sup>2</sup> Extracto etéreo (grasas)

<sup>3</sup> Fibra cruda

<sup>4</sup> Proteína cruda

<sup>5</sup> Extracto libre de nitrógeno (carbohidratos digeribles, vitaminas y demás compuestos orgánicos solubles no nitrogenados)

Cenizas: minerales totales o material inorgánico

Se puede observar que los basidiomas de las cepas evaluadas presentan un alto porcentaje de proteínas, fibra cruda, y carbohidratos así como bajo porcentaje de grasas.

## 8. Discusión

*Agrocybe cylindracea* es un hongo comestible que se ha utilizado como alimento o como saborizante en varios países, como consecuencia de su agradable sabor (Tsai, *et al.*, 2007). Debido a esto, su cultivo se ha extendido principalmente en países como China, Tailandia, Japón, Alemania, Grecia, Italia y España y, más recientemente, se ha comenzado a estudiar la fisiología y el cultivo experimental de cepas en Argentina (Uhart, *et al.*, 2008).

En esta misma línea de investigación, en este trabajo se evaluó la productividad de cinco cepas nativas del país, en tres diferentes sustratos tratados por medio de pasteurización y esterilización. En este sentido, es interesante observar que los mayores porcentajes de EB se obtuvieron principalmente con la cepa 58.01, lo cual demuestra que esta cepa es más competitiva que las demás, ya que coloniza y produce enzimas eficientemente (Mueller, *et al.*, 2004). Las cepas 60.01 y 59.01 también tienen gran capacidad de colonización pero son menos eficientes.

También es importante señalar que los valores de EB obtenidos en esta investigación, fueron más altos que los obtenidos por estas mismas cepas en un trabajo anterior (Bran *et al.* 2009), en el cual, todas las cepas colonizaron el sustrato compuesto por paja de trigo pero la única cepa que logró fructificar fue la 638.08 con una EB de 15.23%. En el actual trabajo se usó paja de trigo suplementada y se menciona que la cepa 638.08 alcanzó su mejor eficiencia biológica en el sustrato S1. Esta cepa, obtuvo una EB más baja en los sustratos PS1, PS2 y PS3, debido a la contaminación de los mismos por otros microorganismos, por las desventajas del tratamiento de desinfección del sustrato por pasteurización.

En un estudio efectuado en Argentina, se determinó que una cepa guatemalteca (558/03) colectada en Tecpán-Guatemala, Chimaltenango, cultivada en paja de trigo no suplementada, alcanzó una EB aproximada del 28% (Uhart, *et al.*, 2008). Al respecto, las cepas evaluadas en este estudio obtuvieron en general mayores EB. También, la cepa 638.08 procedente de la misma localidad, obtuvo mayores eficiencias biológicas en paja de trigo suplementada con CaCO<sub>3</sub> o harina de soya (61.43 y 42.15% respectivamente).

La variación de la EB entre cepas, puede deberse a que la productividad depende del genotipo de cada una de ellas, lo que se refleja también en su habilidad degradativa (Uhart, *et al.*, 2008). En este caso, se evidenció en el hecho que la cepa 58.01 obtuvo la mayor EB en el sustrato PS3, en tanto que la 59.01 la obtuvo en el S3, la 60.01 en el S2, la 638.08 en el S1 y la 112.02 en el PS1. Además se debe considerar que la fructificación es un proceso que depende de varios estímulos externos como la temperatura, la iluminación y el agotamiento de los nutrientes (Luang, *et al.*, 2010). Al respecto, cada una de las cepas puede tener condiciones óptimas de fructificación específicas y dado que el presente

estudio se llevó a cabo en condiciones ambientales no controladas (similares a las que se dan en los módulos artesanales de cultivo de hongos), pudo influir en la gran variabilidad de EB observadas.

Lo anterior puede comprobarse en el cultivo de otros hongos comestibles, como en el caso de *Pleurotus*, donde la pérdida de materia orgánica y la deslignificación del sustrato son mayores cuando se da en una atmósfera del 100% de O<sub>2</sub> y la concentración de CO<sub>2</sub> las influencia negativamente. La fructificación del hongo suele darse en condiciones normales cuando se tiene una atmósfera de 20% de O<sub>2</sub> y 800 ppm de CO<sub>2</sub> (Kamra, & Zadrazil, 1986). Además, otros factores que afectan el crecimiento y la fructificación de *Pleurotus* son la temperatura, el pH, la humedad del sustrato y del aire, así como el tamaño de la partícula, la aireación y la luz (Sánchez, 2001).

Por otra parte, se observó también que la paja de trigo adicionada con los dos suplementos utilizados (CaCO<sub>3</sub> y harina de soya, tratamientos PS3 y S3) obtuvieron las mayores EB, lo cual puede indicar que se obtienen mejores resultados al utilizar ambos suplementos, independientemente de si se pasteuriza o esteriliza. Además, las consecuencias prácticas de que no hubo diferencia significativa entre los tratamientos de pasteurización y esterilización, son importantes para la transferencia de tecnología, debido a que es mucho más fácil y económico utilizar la pasteurización.

Sin embargo, el problema de la pasteurización es que solo reduce la población de los microorganismos contaminantes (formas vegetativas) (Madigan, Martinko, Dunlap y Clark, *et al.*, 2009). La acumulación de los productos del metabolismo durante el crecimiento y colonización del sustrato por parte del hongo, pueden contribuir a crear las condiciones nutricionales para la germinación de las esporas y el crecimiento de contaminantes, provocando así, la acumulación de grandes cantidades de CO<sub>2</sub> que inhiben el metabolismo del hongo y por ende la formación de cuerpos fructíferos. Por lo anterior durante el desarrollo de esta investigación se descartaron muchas réplicas de los tratamientos por pasteurización.

En general no se observó un claro efecto de la suplementación de los sustratos, ya que las EB fueron variables, y como ya se ha mencionado anteriormente, puede depender del genotipo de la cepa. Sin embargo, el efecto del CaCO<sub>3</sub> es amortiguar los cambios del pH durante el crecimiento del hongo y promover el crecimiento apical de las hifas, así como en la diferenciación y esporulación de diferentes especies de hongos, tales como *A. bisporus* y *Cyathus stercoreus* (Chang & Miles, 2004, Coello-Castillo, Sánchez & Royse, 2009). Respecto al efecto de la harina de soya, es proveer una fuente de nitrógeno el cual es necesario para el crecimiento micelial y para la fructificación (Chang & Miles, 2004). Por lo anterior es importante suplementar la paja de trigo, para proveer de calcio y nitrógeno al hongo, sin embargo se debe trabajar bajo condiciones controladas.

La cepa 112.02 presentó la Eficiencia Biológica más baja y fue significativamente diferente a las demás. Esto puede deberse a que dicha cepa no se adaptó a los sustratos probados o bien a que haya perdido potencia en la capacidad de fructificación por múltiples pases a nivel de laboratorio. La mayoría de los micelios de los hongos disminuye su viabilidad en almacenamiento (Labarére y Boi, 2001). El ejemplar procede del germoplasma fúngico almacenado en cepario. Se ha reportado además 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).

Luan, R., *et al.* (2010), investigaron el funcionamiento de galectinas (AAL) en la diferenciación del micelio y formación de cuerpos fructíferos, y encontraron que AAL tiene gran importancia durante la formación de primordios. Por lo anterior habría que realizar estudios para determinar la presencia de estas proteínas en la cepa 112.02 evaluada en este estudio.

Así también es importante señalar que esta cepa en su forma silvestre fue colectada creciendo sobre *Salix*, por lo que se recomendaría emplear como sustrato aserrín o tacos de madera o extractos de esa planta en los medios de cultivo para evaluar la producción de cuerpos fructíferos, tomando en cuenta que es su hábitat natural.

Todas las cepas evaluadas superaron los 4.0 cm de diámetro del píleo, con excepción de la 59.01 en el sustrato PS2. La cepa que produjo los basidiomas con los píleos más grandes fue la 59.01 en el sustrato S2 donde alcanzó 13.20 cm de diámetro. En la naturaleza *A. cylindracea* produce basidiomas de 4.0 a 25 cm de diámetro en madera de *Sambucus* (Andrade, 2007), de manera que el máximo diámetro alcanzado por las cepas evaluadas es aproximadamente la mitad de lo que se producen en condiciones naturales.

En general el número total de basidiomas se correlacionó con la EB, sin embargo en los casos que no fue así, fue debido a que los basidiomas fueron menos numerosos, pero de mayor diámetro. Con respecto al peso, se observó un comportamiento similar, ya que se tenía mayor cantidad de píleos con diámetro pequeño, que pesaban poco.

Otra forma de evaluar la capacidad de las cepas en cuanto a su fructificación es el diámetro de los píleos, encontrándose mucha variabilidad entre cepas, lo cual se debe como anteriormente se mencionó al genotipo de la cepa (Uhart, *et al.*, 2008).

Al comparar los diámetros de los píleos en los sustratos suplementados con harina de soya de este trabajo, con los obtenidos por Uhart, *et al.*, 2008, en cepas Argentinas, se encontró que las cepas guatemaltecas mostraban diámetros superiores.

En cuanto al análisis proximal (Cuadro 7) complementario de las cepas nativas de *A. cylindraceae* que fructificaron, se encontró que el contenido de proteína cruda es mayor para esta misma especie, que el encontrado por Tsai, Tsai & Mau, (2008) (16.3-16.80 %) y comparable con el de Uhart, *et al.*, (2008) (21.8-29.8 %). En relación con otras especies es comparable con el de *Agaricus bisporus* (23.9-34.8 %) (Chang & Miles, 2004) y mas alto que el obtenido para *Lentinula edodes* (13.4-17.5%) y *Pleurotus ostreatus* (10.5-30.4) (Chang & Miles, 2004) (Cuadro 8).

En cuanto al contenido de grasas de los cuerpos fructíferos de las cepas evaluadas se encontró que es más bajo que el obtenido en otros trabajo para *A. cylindracea*: 1.4-3.8 % (Uhart, *et al.*, 2008) y 3.42-384% (Tsai, *et al.*, 2008), así como para otras especies: *A. bisporus* (1.7-8 %), *L. edodes* (4.9-8%) y *P. ostreatus* (1.6-2.2%) (Chang & Miles, 2004) (Cuadro 8).

Así mismo el contenido de fibra cruda es más alto que los reportados para *A. cylindracea* 14.9-17.8%, (Uhart, *et al.*, 2008) y 19.28-19.80% (Tsai, *et al.*, 2008); así como para otras especies *A. bisporus* (8.0-10.4 %), *L. edodes* (7.3-8.0%) y *P. ostreatus* (7.5-8.7%)(Chang & Miles, 2004) (Cuadro 8).

Por otro lado el contenido de carbohidratos es comparable con lo reportado para *A. cylindracea* por Uhart, *et al.*, (2008) (34.3-45.5%) y más bajo que lo informado por Tsai *et al.*, 2008 (53.63-53.78%); así como para otras especies: *A. bisporus* (51.3-62.5 %), *L. edodes* (67.5-78.0) y *Pleurotus ostreatus* (57.6-81.8%) (Chang & Miles, 2004) (Cuadro 8).

**Cuadro 8. Proteína cruda, grasas, fibra cruda y carbohidratos de las cepas nativas de *A. cylindracea* (nativas) comparadas con otros hongos comestibles, determinados en % de base seca**

	<i>A. cylindracea</i> <sup>1</sup>	<i>A. cylindracea</i> <sup>2</sup>	<i>A. cylindracea</i> <sup>3</sup>	<i>A. bisporus</i> <sup>4</sup>	<i>L. edodes</i> <sup>4</sup>	<i>P. ostreatus</i> <sup>4</sup>
Proteína	28.06 – 32.03	16.13 – 16.81	21.00 – 29.80	23.90 – 34.80	13.40 – 17.50	10.50 – 30.40
Grasas	00.40 – 01.08	03.42 – 03.84	01.40 – 03.80	01.70 – 08.00	04.90 – 08.00	02.60 – 02.00
Fibras	15.84 – 32.77	19.28 – 19.80	14.90 – 17.80	08.00 – 10.40	07.30 – 0 8.00	07.50 – 0 8.70
Carbohidratos	28.22 – 45.69	53.63 – 53.79	34.30 – 45.50	51.30 – 62.50	67.50 – 78.00	57.60 – 81.80

1 Datos obtenidos del proyecto

2 Tsai, Tsai & Mau, 2008

3 Uhart, *et al.*, 2008

4 Chang & Miles, 2004

En conclusión se puede afirmar que los contenidos de proteínas, carbohidratos, fibra cruda y grasas, de las cepas evaluadas, están dentro de los parámetros generales para los hongos comestibles (Chang & Miles, 2004).

Es importante hacer notar que los altos contenidos de proteína y fibra cruda y bajos contenido de grasas son beneficiosos para la salud (Chang & Miles,

2004), por lo que los cuerpos fructíferos de las cepas evaluadas de *A. cylindracea* son recomendables como alimento saludable para el ser humano como parte de una dieta nutritiva y balanceada.

El actual trabajo justifica el uso de paja de trigo suplementada para la producción de basidiomas de *A. cylindracea* (cepas 58.01, 59.01, 60.01 y 638.08) en futuras investigaciones y/o transferencia de tecnología a otras comunidades o entidades interesadas en el cultivo de este hongo.

## **9. Conclusiones**

La mayor eficiencia biológica de las cepas en los sustratos evaluados fue 115.84 % en el sustrato PS2, obtenida por la cepa 58.01.

La productividad de las cepas en todos los sustratos evaluados fue mayor en la cepa 58.01.

La eficiencia biológica en los diferentes sustratos fue mayor en el PS3.

Las cepas 58.01, 59.01, 60.01 y 638.08 produjeron píleos de las tres categorías (G1, G2 y G3) en los diferentes sustratos y tratamientos, excepto la cepa 59.01 que no los produjo en la G3 en el sustrato PS2.

Los basidiomas de las cepas evaluadas presentan un alto porcentaje de proteínas, fibra cruda, y carbohidratos así como bajo porcentaje de grasas.

## 10. Recomendaciones

Se recomienda la determinación de la relación C/N en los tres sustratos suplementados a efecto de establecer la disponibilidad de nitrógeno para el crecimiento del hongo.

Ensayar otros sustratos y tratamientos ricos en nitrógeno para incrementar el % de eficiencia biológica.

Continuar los estudios de evaluación de pasteurización y esterilización bajo condiciones controladas.

Evaluar la colonización y productividad de la cepa 112.02 en aserrín de *Salix sp.*

Comparar la composición proximal de hongos frescos y cultivados.

Colectar nuevas cepas nativas de *A. cylindracea* para el enriquecimiento del germoplasma fúngico nativo.

Realizar estudios moleculares para establecer la variabilidad genotípica de las cepas evaluadas.

Los basidiomas de las cepas evaluadas de *A. cylindracea* son recomendables como alimento saludable para el ser humano como parte de una dieta nutritiva y balanceada.

Se recomienda utilizar paja de trigo suplementada para la producción de cuerpos fructíferos de *A. cylindracea* en futuras investigaciones y/o transferencia de tecnología a otras comunidades o entidades interesadas en el cultivo de este hongo.



## 11. Referencias

- Alexopoulos C. (1996). *Introductory Mycology*. 4ª. ed. USA: John Wiley & Sons Inc. 896p.
- 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.
- Blackwell, M. (2011). The Fungi: 1,2,3..... 5.1 million species?. *Amer. J. Botany* 98(3): 426-438.
- Bran, M., Morales, O., Cáceres, R. y Flores, R. (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.
- Bran, M., Morales, O., Cáceres, R., y Flores, R. (2003b). Hongos comestibles de Guatemala: Diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula. (Fase III). Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación (DIGI). Informe técnico final 2003. Guatemala, 58p.
- Bran, M., Morales, O., Cáceres, R., Flores, R., Andrade C., Quezada A., Salazar, J., Alarcón, D. y Carranza, C. (2004). Hongos comestibles de Guatemala: Diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula. (Fase IV). Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación (DIGI). Informe de Avance 2004. Guatemala 60p.
- Bran, M., Morales, O., Cáceres, R., Flores, R., Alvarez, G., Mazariegos A. y Quan, L. (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. 30 p.
- Bran, M., Morales, O., Flores, R., Cáceres, R. y Gurriarán, N. (2009). Cultivo de cepas guatemaltecas del hongo comestible Tx'yol B'aqman (*Agrocybe cylindracea* (DC.: Fr.) Maire): caracterización y producción de cuerpos fructíferos. Dirección General de Investigación, Universidad de san Carlos de Guatemala. Informe final técnico. 46 p.
- Castillo-Villanueva A, Abdullaev, K. (2005). Lectinas vegetales y sus efectos en el cáncer. *Rev. Invest. Clin.* 57 (1): 55-64.

- Chang S., Miles P. (2004). Mushrooms cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. 2a. ed. USA: CRC Press. 451p.
- Coello-Castillo, M., Sánchez, J. & Royse, D. (2009). Produccion of *Agariucus bisporus* on substrates pre-colonized by *Scytalidium Thermophilum* and supplemented at casing with protein-rich supplements. Biores. Tech. 100: 4488-4492.
- De León, R. (2003). Cultivation of edible and medicinal mushrooms in Guatemala, Central America. Micol. Apl. Int. 15 (1): 31-35.
- De León, R. (2007). Cultivo de *Pleurotus* spp y buenas prácticas de manejo para la producción de cuerpos fructíferos inocuos. En Sanchez J., Martínez-Carrera D., Mata G., Leal H. (Eds). El cultivo de setas de *Pleurotus* spp en México. El colegio de la FRONTERA SUR- ECOSUR-, México. 177-183.
- Guzmán G. (2003). Los hongos del Edén, Quintana Roo; Introducción a la micobiota tropical de México. México: Instituto de Ecología, 316p.
- Hawksworth, D. (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. Mycol. Res. 105 (12): 1422-1432.
- Hawksworth, D., Pegler, D., Kirk, P. & Sutton, B. (1995). Ainsworth & Bisby's, dictionary of the fungi. 8<sup>th</sup> ed. CAB International. United Kingdom. 616p.
- Hostnig, R., Hostnig., R y Vásquez, L. (1998). Etnobotánica Mam. GTZ-Helvetas. 90p.
- 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.
- Kamra, D. & Zadrazil, F. (1986). Influence of gaseous phase, light and substrate preatmente on fruit body formation, lignina degradation and in vitro digestibility of wheat Straw fermented with *Pleurotus* spp. Agr. wastes 18:1-17
- 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.
- 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.

- Kim, H. (2005). Optimization of submerged culture condition for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by *Agrocybe cylindracea*. *Biores. Tech.* 96: 1175-1182.
- Kues, U. & Liu, Y. (2000) Fruiting body production in basidiomycetes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 54: 141-152.
- Labarére, J. y Bois, F. (2001) La conservación y el uso de los recursos genéticos de *Pleurotus* (En Sanchez, J & Royse, D. La biología y el cultivo de *Pleurotus* sp. México: ECOSUR-UTHEA. Pág.114.
- 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.
- 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.
- Luan, R., Liang, Y., Chen, Y., Liu, H., Jiang, S., Che, T., Wong, B. & Sun, H. (2010). Opposing developmental functions of *Agrocybe aegerita* gelectin (AAL) during mycelia differentiation. *Fungal Biology* 114:599-608
- Madigan, M., Martinko, J., Dunlap, P. y Clark, D. 2009. Brock Biología de los microorganismos. 12 Ed. Traductor: Barrachina, C., et al. Madrid: Pearson. Pag 869.
- Martínez-Carrera, D., Aguilar, A., Martínez, W., Bonilla, N., Morales, P. & Sobal, M. (2000). Comercial production and marketing of edible mushrooms cultivated on coffee pulp in Mexico. Chapter 45, pp.471-488. In Sera, T., Socol, C., Pandey, A. & Roussos, S. (Eds). *Coffee biotechnology and quality*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. ISBN 0-7923-6582-8.
- Manzi, P., Marconi, S., Aguzzi, A. & Pizzoferrato, L. (2004). Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. *Food Chem.* 84:201-206
- Mata, M. Mueller, G, Halling, R. (2003). *Macrohongos de Costa Rica*. Costa Rica: Editorial INBio. Vols. 2, Vol 2, 240p.
- 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.

- Mueller, G., Bills, G. & Foster M. (2004). Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods. Elsevier Academic Press. USA. 777p.
- Omarini, A., Lechner, B. & Albertó, E. (2009). *Polyporus teniculus*: a new naturally occurring mushroom that can be industrially cultivated on agricultural waste. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 36:635-642
- Poucheret, P., Fons, F., Rapior, S. (2006). Biological and pharmacological activity of higher fungi: 20-year retrospective análisis. Cryp. Mycol. 27 (4): 311-333.
- Quimio T., Chang S. (1990). Technical guidelines for mushroom growing in the tropics. Italia: FAO, 102p.
- Sánchez, J. (2001), Crecimiento y fructificación. En Sanchez, J & Royse, D. (2001). La biología y el cultivo de *Pleurotus* sp. México: ECOSUR-UTHEA, pág 59.
- Sobal, M., Martinez-Carrera, D. Morales, P. & Roussos, S (2007). Classical characterization of mushrooms genetic resources from temperate and tropical regions of Mexico. Micol. Apl. Int. 19 (1): 15-23.
- Stamets, P. (1993). Growing gourmet & medicinal mushrooms. Ten Speed Press & Mycomedia. Olympia, WA, USA. 554p. p220-223.
- Sun, H.,Guang, C., Tong, X & Peng, Yi. (2003). A lectin with mycelia differentiation and antiphytovirus activities from the edible mushroom *Agrocybe aegerita*. J. Biochem. Mol. Biol. 36 (2): 214-222.
- Tsai, S., Tsai, H & Mau, J. 2008, Non-volatile taste components of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea* and *Boletus edulis*. Food Chemistry, 107: 977-983)
- Uhart, M. Albertó, E. (2007). Morphologic characterization of *Agrocybe cylindracea* (Basidiomycetes, Agaricales) from America, Europe and Asia. Rev. Mex. Mic. 24: 9-18.
- Uhart, M., Piscera, J. & Albertó, E. (2008). Utilization of new occurring strains and supplementation to improve the biological efficiency of the edible mushroom *Agrocybe cylindracea*. J Ind Microbiol Biotechnol, 35: 595-602
- Uhart, M. Albertó, E., (2009). Mating test in *Agrocybe cylindracea* sensu lato, recognition of *Agrocybe wrightii* as a novel species. Mycol Progress, 8:337-349.
- 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.

- Watling, R., (1992). Observations on the *Bolbitiaceae* – 30. Some Brazilian taxa. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 28(1-4): 77-103.
- 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.
- Zhao, C., Sun, H., Tong, X. & Qi, Y. (2003). An antitumour lectin from the edible mushroom *Agrocybe aegerita*. *Biochem. J.* 374: 321-327.

## 12. Anexos

### Anexo 12.1. Acuerdos de Paz

#### **Acuerdo sobre Identidad y Derechos de los Pueblos Indígenas, apartado III:**

Derechos Culturales, sección F: Ciencia y Tecnología, el cual dice lo siguiente:

1) Se reconoce la existencia y el valor de los conocimientos científicos y tecnológicos mayas, así como también los conocimientos de los demás pueblos indígenas: este legado debe ser recuperado, desarrollado y divulgado.

2) El Gobierno se compromete a promover su estudio y difusión, y a facilitar la puesta en práctica de estos conocimientos. También se insta a las universidades, centros académicos, medios de comunicación, organismos no gubernamentales y de la cooperación internacional a reconocer y divulgar los aportes científicos y técnicos de los pueblos indígenas.

3) Por otra parte, el Gobierno posibilitará el acceso a los conocimientos contemporáneos a los pueblos indígenas e impulsará los intercambios científicos y técnicos.