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-

Caracterización y producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas del hongo comestible Asam (*Schizophyllum commune* Fr.)

COORDINADORA
Licda. María del Carmen Bran González

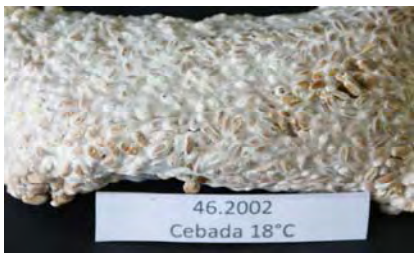
INVESTIGADORES
Lic. Osberth Isaac Morales Esquivel
Dr. Roberto Enrique Flores Arzú

AUXILIAR DE INVESTIGACIÓN

Br. Roberto Agustín Cáceres Staackmann

Inicio de la Investigación: Enero de 2008
Conclusión de la investigación: Diciembre de 2008

Guatemala, 08 de enero de 2009



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-

Caracterización y producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas del hongo comestible Asam (*Schizophyllum commune* Fr.)

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

Inicio de la Investigación: Enero de 2008
Conclusión de la investigación: Diciembre de 2008

Guatemala, 08 de enero de 2009

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. *Schizophyllum commune* Fr.	7
	1. Características macro y microscópicas del basidioma	7
	2. Características miceliares	8
	3. Tipo de incompatibilidad sexual	8
	4. Ciclo de vida	8
	5. Hábitat	9
	6. Distribución	9
	7. Etnomicología	9
	8. Propiedades medicinales	10
	9. Estudios bioquímicos	10
	10. Cultivo de *S. commune*	10
IV.	JUSTIFICACIÓN	13
V.	OBJETIVOS	14
VI.	HIPÓTESIS	15
VII.	METODOLOGÍA	16
VIII.	RESULTADOS	21
IX.	DISCUSIÓN	40
X.	CONCLUSIONES	48
XII.	RECOMENDACIONES	50
XIII.	BIBLIOGRAFÍA	51
XIV.	ANEXOS	56

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

TABLAS

		Página
Tabla 1.	Crecimiento miceliar de las cepas de *S. commune* incubadas a 26ºC durante 8 días	22
Tabla 2.	Características macroscópicas de las cepas de *Shizophyllum commune* incubadas a 26ºC, al final del período de incubación.	22
Tabla 3.	Características microscópicas de las cepas de *Shizophyllum commune* incubadas a 26ºC, al final del período de incubación.	23
Tabla 4.	Crecimiento miceliar de las cepas de *S. commune* durante 8 días de incubación a 18ºC	25
Tabla 5.	Características macroscópicas de las cepas de *Shizophyllum commune* incubadas a 18ºC, al final del período de incubación.	26
Tabla 6.	Características microscópicas de las cepas de *Shizophyllum commune* incubadas a 26ºC, al final del período de incubación.	27
Tabla 7.	Producción de inóculo de la cepa *S. commune* 108.2001, sobre diferentes sustratos y temperaturas.	30
Tabla 8.	Tiempo de colonización de los sustratos para la producción de inóculo en la cepa 53.2003 de *S. commune* a 26ºC y 18ºC.	30
Tabla 9.	Tiempo de colonización de los sustratos para la producción de inóculo en la cepa 296.2002 de *S. commune* a 26°C y 18°C.	31
Tabla 10.	Tiempo de colonización de los sustratos para la producción de inóculo en la cepa 30.2007 de *S. commune* a 26°C y 18°C.	32
Tabla 11.	Tiempo de colonización de los sustratos para la producción de inóculo en la cepa 46.2002 de *S. commune* a 26°C y 18°C.	32
Tabla 12.	Productividad de las cepas de *Schizophyllum commune*	36
Tabla 13.	Contaminantes en los sustratos S1 y S4, en las pruebas fructificación de las cepas de *Schizphyllum commune.*	39

FIGURAS

		Página
Figura 1.	Características macroscópicas de las colonias de las cepas de *S. commune* a 26ºC y 8 días de incubación en los diferentes medios de cultivo.	24
Figura 2.	Características microscópicas de las colonias de las cepas de *S. commune* a 26ºC y 8 días de incubación en los diferentes medios de cultivo.	24
Figura 3.	Características macroscópicas de las colonias de las cepas de *S. commune* a 18ºC y al final del período de incubación en los diferentes medios de cultivo.	27
Figura 4.	Características microscópicas de las colonias de las cepas de *S. commune* a 18ºC en los diferentes medios de cultivo.	28
Figura 5.	Inóculo de las cepas de *Schizophyllum commune* producido a 26ºC.	34
Figura 6.	Inóculo de las cepas de *Schizophyllum commune* producido a 18ºC.	34
Figura 7.	Fructificación de las cepas de *Schizophyllum commune* en el sustrato S1.	38
Figura 8.	Fructificación de las cepas de *Schizophyllum commune* en el sustrato S4.	38

GRÁFICAS

		Página
Gráfica 1.	Crecimiento miceliar de las cepas de *S. commune* durante 8 días. de incubación a dos temperaturas.	28
Gráfica 2.	Crecimiento miceliar de todas las cepas de *S. commune* durante 8 días de incubación a dos temperaturas, comparando los tres medios de cultivo.	29
Gráfica 3.	Producción de inóculo de cepas de *Schizophyllum commune* utilizando cuatro vehículos y dos temperaturas.	33
Gráfica 4.	Eficiencia Biológica de las cepas de *Schizophyllum commune* en el sustrato S1.	36
Gráfica 5.	Eficiencia Biológica de las cepas de *Schizophyllum commune* en el sustrato S4.	37
Gráfica 6.	Eficiencia biológica de las cepas de *Schizophyllum commune* sobre los sustratos S1 y S4.	37

I. RESUMEN

Guatemala es un país con una gran biodiversidad, donde se desarrollan diversos hongos comestibles. Dentro de estos hongos se encuentran más de 100 especies que se consumen tradicionalmente y que son utilizadas principalmente por las diferentes comunidades etnolingüísticas que habitan el territorio nacional.

Una de las especies que es apreciada, conocida y de gran popularidad en el país es *Schizophyllum commune*, ya que se consume y vende en grandes cantidades en los mercados de los municipios de Cobán y Tactic en Alta Verapaz, en el departamento de Petén; en Jacaltenango y San Mateo Ixtatán en Huehuetenango; así como en Tecpán, Chimaltenango. Su comestibilidad también es reconocida en México.

Debido a que *S. commune* es factible de ser cultivado, utilizando para ello, la gran cantidad de residuos de madera que genera la industria maderera en el país, se hizo necesario estudiar su cultivo, para que a partir del conocimiento generado, se puedan crear alternativas que provean fuentes alimenticias y económicas que contribuyan al desarrollo de las comunidades campesinas, mediante el cultivo de hongos comestibles sobre desechos agrícolas y forestales.

Actualmente en Guatemala, gracias al financiamiento otorgado por la Universidad de San Carlos de Guatemala, se conoce ya su importancia como hongo comestible de uso tradicional y además, se han aislado diferentes cepas. Si bien, dichos estudios preliminares han proporcionado importante información básica, aún es necesario conocer las cepas aisladas caracterizándolas *in vitro,* así como estudiar su cultivo para fines de producción de cuerpos fructíferos.

Por tal razón, en este estudio se evaluó el crecimiento miceliar de cinco cepas nativas de *Schizophyllum commune* en diferentes medios de cultivo y temperaturas, se produjo el inóculo sobre diferentes vehículos y se determinó la fructificación sobre varios desechos agrícolas y forestales.

Como producto de esta investigación se establecieron las condiciones de cultivo de cada una de las cepas evaluadas, determinándose que para las cepas *S. commune* 52.03 y 108.01, el crecimiento miceliar debe realizarse en el medio PDA a 26ºC, la producción de inóculo en granos de trigo a 26ºC y la fructificación debe efectuarse en el sustrato S4.

Para la cepa *S. commune* 296.02, el crecimiento miceliar debe efectuarse en el medio PDA a 26ºC, el inóculo debe producirse en cebada a 26ºC y la fructificación debe realizarse en el sustrato S1.

Para las cepas *S. commune* 30.07 y 46.02, el crecimiento miceliar debe hacerse en el medio EMA a 26ºC, la producción de inóculo debe realizarse en cebada para la cepa *S. commune* 30.07 y en arroz para la cepa *S. commune* 46.02 y la fructificación en ambas cepas debe efectuarse en el sustrato S4.

II. INTRODUCCIÓN

Guatemala posee una gran diversidad de hongos que se conocen desde tiempos inmemoriales, lo cual se refleja en la tradición que las diferentes etnias poseen con respecto a recolectar y consumir hongos comestibles silvestres. Uno de ellos es *Schizophyllum commune*, el cual se utiliza principalmente en Alta Verapaz (Cobán y Tactic); Petén; Huehuetenango (Jacaltenango y San Mateo Ixtatán); así como en Chimaltenango (Tecpán), donde se conoce con distintos nombres en las comunidades etnolingüísticas Q'eqchi', Poqomchi', Chuj, Popti', Itza' y Kaqchikel (asam, isem,'asn, esem, xikin che' y xikin kuk, respectivamente). La gran popularidad de esta especie, ha sido comprobada por las grandes cantidades de basidiocarpos que se observan en venta en Guatemala y México, así como por los platillos especiales que se preparan a partir de esta especie (Sommerkamp, 1990; Bran, *et al*, 2003a; 2003b; Ruan-Soto, 2006).

Esta especie es factible de ser cultivada, utilizando para ello, la gran cantidad de residuos que genera la industria maderera en el país y además se hace necesario crear alternativas que provean fuentes alimenticias y económicas que contribuyan al desarrollo de las comunidades campesinas, buscando con ello, un adecuado manejo del recurso fúngico mediante el cultivo de hongos comestibles sobre desechos agroindustriales, con miras al uso de la diversidad fúngica nativa, como estrategia sostenible de los recursos naturales y como parte integral de los sistemas culturales (Bran, *et al*, 2004).

En Guatemala, gracias al financiamiento otorgado por la Universidad de San Carlos de Guatemala, se conoce ya el uso tradicional y gran aprecio que se tiene hacia *Schizophyllum commune* en cinco etnias que habitan cuatro departamentos del país. Asimismo, se han aislado a nivel de laboratorio varias cepas nativas. Sin embargo, su cultivo no ha sido todavía estudiado, pese a la demanda que posee para autoconsumo y comercialización en las diversas comunidades.

Por tal motivo, en este trabajo de investigación se estudiaron cinco cepas nativas de *S. commune*, evaluando su su crecimiento *in vitro,* así como su cultivo a nivel de sustrato para fines de producción de cuerpos fructíferos en comunidades campesinas, como una alternativa alimenticia, comercial y potencialmente 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 y animales (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_2 (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 basidiocarpo (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_2. 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, Agrocybe 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 1984, 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. *fuscosuccinea* proveniente de una finca del municipio de San Rafael Pie de la Cuesta, San Marcos. De igual forma, se han efectuado estudios sobre la fisiología del crecimiento miceliar de cepas guatemaltecas y extranjeras de *Agrocybe aegerita* (Lau, 2001; Vallejo, 2002; Andrade, 2007).

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 cruzas mejoradas en cuanto a su crecimiento miceliar 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 de arroz al 5%. Los resultados generados mostraron que es posible su cultivo a nivel artesanal en comunidades campesinas (Bran, *et al*, 2007).

D. *Schizophyllum commune* Fr.

El género *Schizophyllum* tradicionalmente se ha incluido en el orden de los Agaricales, debido a que la ontogénesis de sus láminas tiene una peculiar homología con las láminas de este orden. Sin embargo, se ha señalado también que posee afinidades con los Aphyllophorales (Singer, 1975).

Actualmente se clasifica en el Phylum Basidiomycota, Clase Basidiomycetes, Subclase Agaricomycetidae, Orden Agaricales, Familia *Schizophyllaceae* (Hawksworth, *et al*, 1995):

1. Características macro y microscópicas del basidioma

Píleo de 0.4 a 2.5 cm de largo y 0.7 a 3.0 cm de ancho; con forma de concha, espatulado a semicircular; superficie cubierta por pelos finos y suaves de color blanco a gris-rosáceo. Contexto de 0.1 a 0.3 cm de ancho, gris rosáceo. Olor y sabor no distintivos. Himenio formado por lamelas grises, algunas veces con tonos rosáceos, próximas, dispuestas radialmente, con pelos suaves y finos en el dorso, de 0.1 a 0.2 cm de ancho; con lamélulas. Cuerpos fructíferos adheridos lateralmente al sustrato, aunque algunos pueden presentar un estípite pequeño de 0.3 a 0.8 cm de longitud y 0.3

a 0.5 cm de ancho, con las mismas características de textura de la superficie del píleo. Esporada blanca (Mata, *et al*, 1999).

Las esporas miden de 3.0 a 5.0 por 1.0 a 2.0 µm, cilíndricas a ovaladas, hilinas y lisas. Los basidios miden de 15.0 a 22.0 por 4.0 a 5.0 µm, hialinos, cilíndricos, con la base angosta (Guzmán, 2003).

2. Características miceliares

a. Características coloniales: Crecimiento moderadamente rápido, cubre completamente las cajas de petri en 3 semanas (2.0 cm/semana), cuando se incuba a 25°C en oscuridad; el micelio crece en los bordes de la caja después de 4 semanas. En la zona de avance, el micelio es hialino y compacto, cerca del inóculo se observa micelio aéreo, color blanco mate. La colonia es de textura algodonosa que se torna flocosa y tomentosa, con pequeños conglomerados de micelio compacto, después de cuatro semanas el reverso de la colonia se torna amarillento. Olor levemente afrutado. Se forman cuerpos fructíferos cerca de los bordes de la placa después de 6 semanas (Carranza, *et al*, 2001).

b. Características hifales: Zona de avance con hifas hialinas, septadas-nodosas, de pared delgada, ramificadas, de 2.0 a 4.0 µm de diámetro. Micelio superficial y sumergido con hifas hialinas, septadas-nodosas, de pared delgada, ramificadas, de 1.5 a 9.0 µm de diámetro (Carranza, *et al*, 2001).

3. Tipo de incompatibilidad sexual

Heterotálica y tetrapolar, es decir que la fecundación solo puede tener lugar entre dos micelios homocarióticos de genotipos diferentes para dos genes: los genes de incompatibilidad sexual o de tipo acoplamiento. Los hongos heterotálicos se prestan bien a la mejora genética debido a que es fácil obtener micelios homocarióticos y, por lo tanto, es fácil dominar y controlar los cruzamientos que se deseen hacer con ellos (Labarère & Bois, 2002; Chang & Miles, 2004).

Los estudios con *Schizophyllum commune* proveen el marco de referencia para la investigación con hongos comestibles heterotálicos, ya que generalmente estas especies muestran un cercano paralelismo en cuanto a las consideraciones de los moduladores tipo Loci y la morfogénesis sexual. Esta especie se cuenta entre los hongos filamentosos de importancia especial para la investigación básica en basidiomycetes (Chang & Miles, 2004).

4. Ciclo de vida

En *S. commune*, una basidiospora (meiospora) germina para producir micelio monocariótico haploide. Dos complejos sexuales de compatibilidad opuesta controlan la compatibilidad sexual en los monocariones y regulan el mantenimiento del estado

dicariótico. La fusión del micelio haploide monocariótico sexualmente compatible, resulta en la formación del micelio dicariótico. Las hifas de los dicariones, desarrollan fíbulas en cada septo, mientras que las hifas monocarióticas no lo hacen. El dicarión es la estructura vegetativa predominante en *S. commune* y en la mayoría de los basidiomycetes. Bajo condiciones apropiadas el dicarión produce los cuerpos fructíferos, en los cuales ocurre la meiosis. El micelio monocariótico y dicariótico es capaz de crecer indefinidamente, permitiendo el mantenimiento y duplicación del genotipo (Clark, *et al*, 2004).

5. Hábitat

Crece únicamente sobre madera, ya sea en ramas o troncos en descomposición. Es capaz de sobrevivir en época seca, en madera expuesta al sol (Mata, *et al*, 1999).

6. Distribución

Amplia, en todo el mundo (Mata, *et al*, 1999). En Guatemala ha sido encontrado en las regiones de Flores y Parque Nacional Tikal (Petén) (Sommerkamp, 1990; Rizzo, 1999). Se ha reportado también en Cobán, San Pedro Carchá, San Juan Chamelco y Tactic (Alta Verapaz) (Sommerkamp, 1990; Sommerkamp, *et al*, 1990; Bran, *et al,* 2003b; 2004). Biotopo del Quetzal (Baja Verapaz); Playa Dorada Lago de Izabal, La Esmeralda Río Dulce y Biotopo Chocón Machacas Livingston (Izabal), Chichicastenango (El Quiché) (Sommerkamp, 1985, 1990a); Chipotón, Sumpango y Antigua Guatemala, (Sacatepéquez) (Herrera, 1991). Jacaltenango y San Mateo Ixtatán (Huehuetenango) (Bran, *et al,* 2003b); Tecpán (Chimaltenango) (Morales, 2001) y en San Juan Sacatepéquez (Guatemala) (Sharp, 1948; Argueta, 1985).

La amplia distribución de este hongo, según observaciones iniciales, sugiere que se debe a la capacidad de dispersión de esporas a largas distancias, frecuentemente entre poblaciones intercontinentales. Muestreos de aire realizados en el Caribe, reportaron que las esporas de *S. commune* son muy abundantes, con un radio de sedimentación estimado de 18 esporas/m^2/h (James, *et al*, 2001).

7. Etnomicología

En Guatemala se vende en grandes cantidades en el mercado de Cobán y municipios cercanos, donde se le conoce como asam en el idioma Q'eqchi'. Al igual que en Cobán, este hongo se vende en los mercados de Petén. Los pobladores de esta región refieren que es llevado a los mercados por los nativos de las aldeas cercanas, quienes lo colectan del llamado palo de jiote, palo de chacaj o indio desnudo, donde crece en conjuntos. Además, preparan un platillo tradicional, muy popular, llamado igual que el hongo en idioma maya: "xikin che'" (Sommerkamp, 1990).

Su consumo se ha reportado también en Tactic (Alta Verapaz), donde se conoce como Isem en idioma Poqomchi'. Se utiliza en Jacaltenango y San Mateo Ixtatán (Huehuetenango), donde es llamado Esem y 'Asn en los idiomas Popti' y Chuj,

respectivamente. Se conoce también en Tecpán (Chimaltenango) con el nombre de xikin kuk en idioma Kaqchikel (Sommerkamp, 1990; Morales, 2001; Bran, *et al*, 2003).

También se emplea en poblaciones de Oaxaca, Veracruz y Quintana Roo, México, en donde se vende en los mercados populares (Guzmán, 2003). *S. commune*, tiene también un alto valor cultural en los mercados de la región tropical de México (Oaxaca, Veracruz y Tabasco), dada su abundancia de venta, la preferencia de los consumidores y la elaboración de la comida tradicional denominada "mone" (Ruán-Soto, *et al*, 2006).

8. Propiedades medicinales

En la medicina tradicional china, *Schizophyllum commune* se utiliza en forma de infusiones contra la leucorrea. Este hongo produce el polisacárido inmunoestimulante schizophylano o sonifilano ((1→ 3)-β-D-glucano con ramificaciones (1→6)-β-D-glucosil), el cual se utiliza ampliamente para el tratamiento de cáncer cervical (May, 1997; Chang & Miles, 2004; Takeda, *et al*, 2004; Lindequist, 2005).

9. Estudios bioquímicos

Se ha evaluado la inducción de síntesis de xilanasa y celulasa (endoglucanasas) en *S. commune*, utilizando varios mono, oligo y polisacáridos. La formación de ambas enzimas se indujo por medio de la utilización de celulosa o sustratos ricos en celulosa, de los cuales la celulosa bacteriana fue el mejor inductor, así también el disacárido celobiosa. Otros compuestos estructuralmente relacionados, incluyendo soforosa, lactosa, y 4-*O*-β-galactopiranosil-D-manopiranosa, provocaron la síntesis significativa de ambas enzimas. El xilano aislado de madera de abedul, xilosa, y β-metil-D-xilósido, un análogo estructural de la xilobiosa, no indujo la formación de xilanasa. Los resultados obtenidos indicaron que la síntesis de xilanasa y celulasa parece estar bajo control de un regulador común en *S. commune* (Haltrich, *et al,* 1995).

10. Cultivo de *S. commune*

S. commune no se ha cultivado a nivel mundial para la producción de cuerpos fructíferos con fines comestibles, únicamente se ha cultivado para estudios genéticos y bioquímicos (Chang & Miles, 2004).

a. Crecimiento en medios de cultivo

Este hongo se desarrolla en medios de cultivo para hongos, como agar papa dextrosa, agar extracto de malta al 2% y en el medio extracto de levadura a una temperatura de 27ºC y una humedad relativa del 70% (Nobles, 1965; Croan, *et al,* 1999).

b. Factores ambientales y fructificación

Se ha demostrado el efecto inhibitorio del dióxido de carbono sobre la fructificación de *S. commune*, cuando se colocaron placas inoculadas con micelio dicariótico en desecadores que contenían KOH para absorber CO_2. El KOH mantuvo una atmósfera con concentraciones bajas de CO_2 (menor del 5%), observándose la fructificación del micelio dicariótico, mientras que a una concentración del 5% se inhibió completamente la formación de primordios (Chang & Miles, 2004).

La fructificación de este hongo se ve estimulada por la remoción o disminución de nutrientes. Tanto en cepas poco fructíferas como las que tienen buenas capacidades genéticas de fructificación, ésta puede inducirse frecuentemente cortando con un bisturí el micelio vegetativo. Los cuerpos fructíferos aparecen en el borde del corte. Comúnmente se forman cuerpos fructíferos en el borde de las cajas de petri (Chang & Miles, 2004).

También se indujo la formación de primordios por medio de la suplementación con tiamina, un requerimiento conocido para la fructificación. Se encontró que se requiere una fuente de carbono para el crecimiento de los primordios, pero en la formación de píleos no se requiere nutrientes. De hecho, si se añade glucosa, el desarrollo de los píleos se inhibe. En experimentos simultáneos donde se estudió la fructificación en cultivos en desarrollo, se encontró que la fructificación no se inhibió con suplementos continuos de glucosa (Chang & Miles, 2004).

c. Factores multigénicos para la fructificación

Raper y Krongelb en 1,958, realizaron un extenso estudio de la fructificación de *S. commune* utilizando una muestra mundial que contenía 80 cepas monacarióticas, las cuales se hibridaron en todas las combinaciones posibles. Teóricamente debían obtenerse 3160 dicariones, excepto que hubo 60 casos en los cuales los monocariones fueron incompatibles entre sí, entonces solamente se obtuvo 3100 dicariones. Se estudió la habilidad de fructificar de estos dicariones bajo condiciones estándar de ambiente y nutrición. El análisis de los cuerpos fructíferos se realizó a intervalos de tiempo por 6 semanas (Chang & Miles, 2004).

A partir de las observaciones de esta muestra, se hicieron las siguientes generalizaciones (Chang & Miles, 2004):

- La mayoría de los dicariones fructificaron durante el período de 6 semanas.
- Los dicariones mostraron variabilidad en el tiempo de fructificación y en la morfología de los cuerpos fructíferos.
- La rápida y abundante fructificación fue característica de dicariones compuestos por ciertas cepas.
- La lenta y poca fructificación fue característica de dicariones compuestos por cepas distintas a las señaladas en el inciso anterior.

- Cuando los dicariones estaban compuestos por una cepa que fructificaba rápida y abundantemente; y por otra cepa, que tenía una pobre y lenta fructificación, frecuentemente fructificaban de buena forma.

Se observó que la forma de fructificación se hereda genéticamente, y que la buena fructificación domina sobre la pobre. También se encontró que la competencia en la fructificación era definitivamente heredada, pero esto no pudo ser explicado sobre las bases de un solo gen para la fructificación, con alelos alternados dominantes y recesivos para una buena o pobre fructificación, respectivamente (Chang & Miles, 2004).

Finalmente se concluyó que el control genético de la fructificación de este hongo es poligénica, con los genes de la cepa que fructifica adecuadamente enmascarando a los de la cepa poco fructífera. Raper y Krongelb catalogaron las cepas homocigotas utilizadas en su estudio como fructíferas, intermedias y pobres. Cualquier combinación que incluyera una cepa fructífera, tendría una fructificación rápida y adecuada (Chang & Miles, 2004).

IV. JUSTIFICACIÓN

Los recursos genéticos de los hongos tienen un alto interés para la alimentación humana y animal. La recolecta de hongos comestibles, involucra la bioprospección, el estudio, la conservación, y el uso de cepas de este género con diferentes finalidades y objetivos, en aspectos de investigación ambiental, agrícola, farmacéutica y taxonómica (Bull, *et al,* 2000). En este sentido, los procesos de bioprospección, tienen características que involucran la interacción entre el conocimiento tradicional, que poseen las comunidades locales e indígenas y las actividades comerciales propias de industrias relacionadas con productos derivados de la biodiversidad. En esta interacción, emergen otra serie de actores como las Universidades y otras entidades de investigación (Duarte, *et al,* 2006).

Schizophyllum commune es un hongo comestible que se emplea en varias regiones de Guatemala, donde se vende en los mercados populares (Sommerkamp, 1990). En este país, donde gran parte de la población trabaja en la agricultura y tiene una nutrición inadecuada, el cultivo de especies nativas sobre desechos agrícolas y forestales es una buena alternativa para producir alimentos, pues los hongos comestibles convierten estos desechos en una fuente de proteína barata y saludable (Bran, *et al,* 2005).

Gracias a los estudios financiados por Universidad de San Carlos de Guatemala, se han aislado cepas nativas de esta especie, a partir de especimenes 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 con que cuenta el país. A través de su estudio, estas cepas pueden ser utilizadas 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.

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 diferentes vehículos y determinar su fructificación sobre varios desechos agrícolas y forestales, con el fin de generar una tecnología que posteriormente podría utilizarse para el cultivo en regiones rurales del país.

V. OBJETIVOS

A. General

Establecer el comportamiento de cepas nativas de *Schizophyllum commune* en diferentes medios de cultivo *in vitro* y sustratos utilizados como vehículo, a diferentes temperaturas, así como evaluar la productividad a nivel de planta piloto.

B. Específicos

1. Determinar el medio de cultivo y la temperatura de incubación donde las cepas presenten un mejor crecimiento, a través de la evaluación de la velocidad de crecimiento miceliar.

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 temperaturas, a través de la determinación del tiempo de colonización miceliar.

4. Cuantificar la eficiencia biológica y la tasa de producción, para evaluar la productividad de las cepas sobre diferentes sustratos.

VI. HIPÓTESIS

1. Las cepas de *Schizphyllum commune* 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 *Schizophyllum commune* 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 *Schizophyllum commune*, presentan valores mayores al 50%, al ser cultivadas sobre viruta.

VII. METODOLOGÍA

FASE DE LABORATORIO

A. Revitalización de las cepas de *Schizophyllum commune*:

- Las cepas 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 son las siguientes:

Tabla 1. Procedencia y registros de las cepas

Procedencia	Registro en el cepario
Jacaltenango, Huehuetenango	52.03
Tactic, Alta Verapaz	46.02
Tecpán, Chimaltenango	296.02
Carchá, Alta Verapaz	108.01
Poptún, Petén	30.07

- Las cepas se revitalizaron, sembrándolas en agar EMA y PDA e incubándolas a 26°C, por 20 días.

B. Determinación de la velocidad de crecimiento miceliar de cada una de las cepas, a diferentes temperaturas y medios de cultivo:

El procedimiento se realizó de acuerdo con lo recomendado por Mier, *et al,* (2002).

- Los medios de cultivo se prepararon con agar extracto de malta (EMA), agar papa dextrosa (PDA) y agar Czapek-Dox (ACD),
- Los medios se esterilizaron por 15 minutos a 121ºC y 15 lbs/pulgada^2 de presión.
- Se tomó el pH de los medios preparados.
- Los medios de cultivo se inocularon (20 cajas de cada uno) con cada una de las cepas revitalizadas, con un segmento de 0.5 mm del cultivo.
- Las cajas se identificaron, con referencia, nombre de la cepa, fecha de inoculación, medio, temperatura de incubación y número de repetición.
- Se sellaron con papel parafilm, para evitar su deshidratación.
- Las cajas se incubaron a las temperaturas de 18 y 26°C.
- 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, para obtener el diámetro promedio (mm) (Anexo 1).
- Se elaboró una base de datos en el programa EXCEL®, ordenando los datos en forma vertical e incluyendo los siguientes parámetros en cada columna: Cepa (c/u de las 5 cepas), temperatura de incubación (18 y 26ºC), medio de

cultivo (EMA, PDA, CZD), día de medición y diámetro de la colonia de cada una de las repeticiones (mm).

- La base de datos se importó al programa estadístico SPSS 16.0®, para su análisis.
- Se elaboraron gráficos de interacción, para observar el crecimiento de las cepas.
- Se estimó la media del diámetro de las colonias (mm) en el programa SPSS 16.0®.

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

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

- Las colonias se caracterizaron macroscópicamente con ayuda de un estereóscopo. Se observó el color, apariencia, consistencia, pigmento en el medio, forma y crecimiento del micelio.
- Se observaron micromorfológicamente preparando tinciones en fresco con azul de lactofenol o floxina-rojo congo a las colonias obtenidas en diferentes medios de cultivo e incubadas a diferentes temperaturas y se observaron al microscopio a 400 aumentos.

D. Producción de inóculo

El procedimiento se realizará de acuerdo con lo recomendado por Mata, G., *et al,* (2001).

- Los vehículos (granos de trigo, sorgo, cebada y arroz) se hidrataron por 24 horas, alcanzando aproximadamente el 80% de humedad.
- Se colocaron individualmente en bolsas de polipapel con 200 gramos en peso húmedo.
- Se esterilizaron por 1 hora a 121ºC y 15 lbs/pulgada^2 de presión y se dejaron enfriar.
- Se tomó el micelio de cada una de las cepas (crecido en medios de cultivo) y se cortaron porciones de aproximadamente 1.0 cm^2
- Los sustratos se inocularon con 5 fragmentos de agar con micelio, de cada una de las cepas (20 repeticiones por sustrato y cepa).
- Los sustratos se identificaron con referencia, nombre de la cepa, fecha de inoculación, sustrato, temperatura de incubación y número de repetición.
- Se incubaron a temperaturas de 18 y 26°C.
- El crecimiento del micelio sobre los sustratos se observó cada 5 días, hasta que se logró la colonización completa de los sustratos.
- La colonización completa se evidenció mediante el crecimiento del micelio en el interior y exterior del sustrato.
- El tiempo de colonización miceliar (días), se calculó a partir de la media de los días en que c/u de las cepas produjo el inóculo (Anexo 2).
- Se elaboró una base de datos en el programa EXCEL®, 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 26ºC), sustrato (trigo, sorgo, cebada y arroz), tiempo de colonización de cada una de las repeticiones (días).

- La base de datos se importó al programa estadístico SPSS 16.0®, para su análisis.
- Se elaboraron gráficos de interacción.

E. Preparación e inoculación de los sustratos

- Se utilizaron cuatro de los métodos tradicionales para el cultivo de hongos comestibles:

- **Sustrato 1:** Viruta de pino (Pinus spp) (85%), harina de trigo (10%), harina de avena (4%) y $CaCO_3$ (1%) (Lechner, B., *et al*, 2002).
  - Los materiales se colocaron en bolsas de polipapel y se esterilizaron por 60 minutos a 121ºC y 15 lbs/pulgada^2 de presión.

- **Sustrato 2:** Olote de maíz picado en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%), pulpa de café seca (50%), $Ca(OH)_2$ al 2% (para humedecer los sustratos hasta alcanzar el 70% de humedad) (Villa-Cruz, V., *et al*. 1999).
  - Los materiales se compostearon por 7 a 9 días en pilas de 1 metro de largo, ancho y altura, tapados con nylon negro y con homogeneizaciones diarias.
  - El material composteado se pasteurizó, mediante inmersión en agua a 85-90ºC, durante 60 minutos.

- **Sustrato 3:** 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%) (Contreras, E., *et al*., 2004).
  - Los sustratos se sumergieron en una suspensión de $Ca(OH)_2$ al 2%, por 48 horas.
  - Posteriormente los sustratos se sacaron de la suspensión y se dejaron escurrir por 12 horas.

- **Sustrato 4:** 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 colocaron en bolsas de polipapel y se esterilizaron por 60 minutos a 121ºC y 15 lbs/pulgada^2 de presión.

- Se preparó 1.0 Kg de cada uno de los sustratos (10 repeticiones por sustrato y por cepa).
- Los sustratos se colocaron en bolsas de nylon y se sembraron con 20.0 g del inóculo preparado (5%) (10 repeticiones por cada sustrato y cepa).
- Una vez inoculados, se les colocó un respiradero de gasa previamente esterilizado para favorecer la aireación.
- Los sustratos se incubaron a temperatura ambiente, hasta que el micelio cubrió todo el material.

F. Determinación del porcentaje de humedad y peso seco de los sustratos:

- Aleatoriamente se tomaron cinco muestras de 10 g de cada uno de los sustratos (S1 a S4).
- A las muestras se les determinó el porcentaje de humedad y peso seco utilizando una balanza medidora de humedad.
- Los datos obtenidos en cada una de las muestras se anotó y se calculó el promedio del peso seco en gramos, para cada uno de los sustratos (Anexo 3).

FASE DE CAMPO

G. Evaluación de la producción de cuerpos fructíferos a nivel de planta piloto

- Los sustratos se trasladaron a los módulos de producción cerrados y exclusivos para el cultivo de hongos comestibles, facilitados por las Asociaciones AFDISAL (Tecpán, Chimaltenango) y COINPU (Zaragoza, Chimaltenango).
- Se realizaron salidas semanales, para efectuar la supervisión de los cultivos en fase de fructificación.

El procedimiento se realizó de acuerdo con lo recomendado por Gaitán-Hernández, *et al,* (2000).

- 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 el tiempo de producción fueron temperatura y humedad.
- Los cuerpos fructíferos cosechados se pesaron, expresando la cantidad en gramos (Anexo 4).
- Los cuerpos fructíferos se contaron en número y se midieron en tamaño (cm), clasificándolos 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.
- La productividad se evaluó en términos de eficiencia biológica (EB), la cual se determinó calculando en porcentaje la relación entre peso fresco de las fructificaciones de los hongos producidos y el peso seco del sustrato (%EB=(Peso fresco de los cuerpos fructíferos/peso seco de los sustratos) x100).
- La tasa de producción (TP), se determinó mediante la relación de la eficiencia biológica entre el número total de días transcurridos desde la inoculación hasta la aparición de los primordios.
- Se elaboró una base de datos en el programa EXCEL®, ordenando los datos en forma vertical, incluyendo los siguientes parámetros en cada columna: Cepa (c/u de las 5 cepas), sustratos (1 a 4), eficiencia biológica (%).
- La base se datos se importó al programa estadístico SPSS 16.0®, para su análisis estadístico.
- Se elaboraron gráficos de interacción, para la productividad expresada en porcentaje de eficiencia biológica de cada una de las cepas.

H. Diseño

El diseño general de la investigación se presenta de acuerdo con los objetivos enumerados:

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

Objetivo 2: Descriptivo.

Objetivo 3: Diseño factorial: 5 x 4 x 2 (5 cepas, 4 vehículos, 2 temperaturas). Réplicas: 20.

Objetivo 4: Diseño factorial: 5 x 3 (5 cepas, 3 sustratos). Réplicas: 10.

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: Se describieron 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 a 26ºC de temperatura de incubación. Además se elaboraron gráficos de interacción.

Objetivo 4: Se efectuaron 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. Además se elaboraron gráficas de interacción.

VIII. RESULTADOS

a. Crecimiento miceliar y características macro y microscópicas de las colonias

El estudio del crecimiento miceliar a 26°C de las cepas de *S. commune* en los medios de cultivo, reveló que la cepa *S. commune* 52.03 fue la que desarrolló el mayor crecimiento miceliar, alcanzando colonias con diámetro de 48.71 mm en PDA, así como en EMA, donde presentó colonias de 40.03 mm de diámetro. Las cuatro cepas restantes obtuvieron colonias con diámetros inferiores a la cepa antes descrita. La cepa *S. commune* 52.03 fue la primera en llenar la caja de petri de 84 mm en un lapso de 8 días en PDA y 10 días en EMA, no así en CZD, donde tardó 19 días (Tabla 1).

Las cepas *S. commune* 108.01 y 296.02 mostraron colonias con mayor crecimiento en PDA, mostrando diámetros de 45.16 y 43.98 mm respectivamente, superando en diámetro a las colonias observadas en EMA. En contraste, las cepas *S. commune* 30.07 y 46.02 presentaron colonias con mejor crecimiento en EMA, exhibiendo diámetros de 29.24 y 25.48 mm respectivamente. Las cepas *S. commune* 108.01, 296.02 llenaron la caja de petri en PDA y EMA en 10 días y la cepa *S. commune* 30.07 en 12 días. La cepa *S. commune* 46.02 tardó entre 15 y 17 días en llenar la caja de petri en ambos medios (Tabla 1). No se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre el crecimiento miceliar de cada cepa en PDA y EMA, pero si existió diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los dos medios anteriores y el CZD (Tabla 1).

Característicamente, todas las cepas presentaron colonias de menor diámetro en CZD, así como mayor período de crecimiento. Las cepas *S. commune* 52.03 y 108.01 llenaron en 19 días, las cepas *S. commune* 296.02 y 46.02 en 33 días y la cepa *S. commune* 30.07 tardó más de 43 días (Tabla 1).

Al final del período de incubación, las cinco cepas de *S. commune* presentaron color blanco en el anverso en todos los medios de cultivo y en el reverso, la mayoría de las cepas no mostraron coloración, con excepción de la cepa 30.07 que presentó color amarillo en EMA. La textura de todas las colonias fue algodonosa con abundante micelio aéreo en PDA y EMA, siendo laxa y con escaso micelio aéreo en CZD (Tabla 2). Asimismo, la forma de las colonias fue circular con crecimiento radial en PDA y EMA, mientras que en CZD no tuvieron forma definida (colonias con “micelio caótico”), al final del período de incubación (Fig. 1 y 2).

En todas las cepas se evidenció exudado que varió de grisáceo, verdoso, amarillo, ámbar y traslúcido en EMA y PDA, sin observarse esta característica en CZD (Tabla 2).

Se percibió olor desagradable en las colonias de la cepa *S. commune* 52.03 en EMA y PDA, así como en las colonias de las cepas *S. commune* 108.01 y 296.02 en EMA. Olor afrutado se presentó en la cepa *S. commune* 46.02 en PDA; mientras que olor mohoso lo presentaron las colonias de las cepas *S. commune* 46.02 en EMA y la cepa *S. commune* 30.07 en PDA. Todas las colonias donde no fue posible apreciar olor

fueron aquellas cultivadas en CZD, así como en la cepa *S. commune* 30.07 en EMA y la cepa *S. commune* 108.01 en PDA (Tabla 2).

Tabla 1. Crecimiento miceliar de la cepa *S. commune* incubadas a 26°C durante 8 días.

Cepas	Medios[1]	Crecimiento miceliar (mm)	Período de crecimiento (días)[3]
52.03	PDA	48. 71 ± 27.11 a[2]	8
	EMA	40.93 ± 22.02 a	10
	CZD	19.51 ± 7.89 b	19
108.01	PDA	45. 16 ± 26.19 a	10
	EMA	40. 52 ± 23.12 a	10
	CZD	19.42 ± 9.58 b	19
296.02	PDA	43. 98 ± 25.10 a	10
	EMA	40.00 ± 22.05 a	10
	CZD	15.85 ± 6.52 b	33
30.07	PDA	24.93 ± 17.40 a	12
	EMA	29.24 ± 20.29 a	12
	CZD	10.70 ± 5.20 b	> 43
46.02	PDA	23. 40 ± 15.35 a	15
	EMA	25.48 ± 13.35 a	17
	CZD	13.13 ± 5.70 b	33

1. PDA: Agar papa dextrosa; EMA: Agar con extracto de malta; CZD: Agar Czapeck-Dox.
2. Diferentes letras en la misma cepa y columna, indican diferencias estadísticamente significativas con la prueba de comparaciones múltiples de Duncan (α= 0.05).
3. Días necesarios para llenar completamente la caja de petri de 84 mm de diámetro.

Tabla 2. Características macroscópicas de las cepas de *Schizophyllum commune* incubadas a 26°C, al final del período de incubación.

Cepa	Medio	Color		Textura	Micelio aéreo	Exudado	Olor
		Anverso	Reverso				
52.03	PDA	Blanco	SC[1]	Algodonosa	Abundante	Traslúcido/ amarillento	Desagradable
	EMA	Blanco	SC	Algodonosa	Abundante	Grisáceo/ ámbar	Desagradable
	CDZ	Blanco	SC	Laxa	Escaso	Ausente	Sin olor
46.02	PDA	Blanco	SC	Algodonosa	Abundante	Café Claro	Afrutado
	EMA	Blanco	SC	Algodonosa	Abundante	Ambar	Mohoso
	CDZ	Blanco	SC	Laxa	Escaso	Ausente	Sin olor
108.01	PDA	Blanco	SC	Algodonosa	Abundante	Amarillo/ambar	Sin olor
	EMA	Blanco	SC	Algodonosa	Abundante	Verdoso/ambar	Desagradable
	CDZ	Blanco	SC	Laxa	Escaso	Ausente	Sin olor
296.02	PDA	Blanco	SC	Algodonosa	Abundante	Amarillento	Afrutado
	EMA	Blanco	SC	Algodonosa	Abundante	Amarillento	Desagradable
	CDZ	Blanco	SC	Laxa	Escaso	Ausente	Sin olor
30.07	PDA	Blanco	SC	Algodonosa	Regular	Ausente	Mohoso
	EMA	Blanco	Amarillo	Algodonosa	Abundante	Amarillento	Sin olor
	CDZ	Blanco	SC	Laxa	Escaso	Ausente	Sin olor

1. Sin cambio de color

En los tres medios de cultivo, las cepas *S. commune* 296.02 y *S. commune* 108.01 presentaron hifas de 2.0 a 7.0 µm. La cepa 52.03 presentó hifas con diámetros entre 1.0 a 6.0 µm, la cepa *S. commune* 30.07 presentó hifas con diámetros de 2.0 a 6.0 µm y la cepa 46.02 hifas con diámetros de 2.0 a 5.0 µm (Tabla 3).

En los tres medios de cultivo, la mayoría de las cepas de estudio evidenciaron la presencia de fíbulas en regular cantidad, a excepción de la cepa *S. commune* 296.02 la cual presentó abundantes cantidad en PDA y EMA, así como la cepa *S. commune* 108.01 en CZD (Tabla 3). Todas las cepas exhibieron espículas en escasa, regular y abundante cantidad. La presencia de clamidiosporas solo se presentó en la cepa *S. commune* 30.07 en los tres medios evaluados, así como en las cepas *S. commune* 52.03 y 296.02 en CZD (Tabla 3).

Tabla 3. Características microscópicas de las cepas de *Schizophylluym commune* incubadas a 26°C, al final del período de incubación.

Cepa	Medio	Diámetro de las hifas (µm)	Fíbulas	Espículas	Clamidiosporas
52.03	PDA	2.0 - 6.0	Regular	Escasas	Ausentes
	EMA	1.0 - 5.0	Regular	Regular	Ausentes
	CDZ	1.0 - 5.0	Regular	Escasas	Presentes
46.02	PDA	2.0 - 5.0	Regular	Regular	Ausentes
	EMA	2.0 - 5.0	Regular	Abundantes	Ausentes
	CDZ	2.0 - 4.0	Regular	Regular	Ausentes
108.01	PDA	2.0 - 6.0	Regular	Abundantes	Ausentes
	EMA	2.0 - 7.0	Regular	Regular	Ausentes
	CDZ	2.0 - 4.0	Escasas	Escasas	Ausentes
296.02	PDA	2.0 - 7.0	Abundante	Regular	Ausentes
	EMA	2.0 - 6.0	Abundante	Escasas	Ausentes
	CDZ	2.0 - 4.0	Escasas	Escasas	Presentes
30.07	PDA	2.0 - 5.0	Regular	Regular	Presentes
	EMA	2.0 - 6.0	Regular	Regular	Presentes
	CDZ	2.0 - 5.0	Regular	Escasas	Presentes

El análisis comparativo del crecimiento miceliar de las cepas de *S. commune* a 18°C en los medios de cultivo, mostró que la cepa 52.03 fue la que desarrolló el mayor crecimiento miceliar, alcanzando colonias con diámetro de 27.24 mm en PDA. En EMA presentó colonias de 25.60 mm de diámetro. Esta misma cepa llenó la caja de petri en un lapso de 15 días en PDA y EMA, no así en CZD (Tabla 4).

Las otras cepas estudiadas presentaron diámetros inferiores a la cepa anteriormente descrita, con la particularidad de que todas ellas exhibieron mayores crecimientos miceliares en EMA (no en PDA), mostrando colonias con diámetros de 21.32, 15.64, 12.86 y 11.79 mm, para las cepas *S. commune* 108.01, 296.02, 46.02 y 30.07, respectivamente (Tabla 4).

Las cepas *S. commune* 108.01 y 296.02 tardaron 17 y 19 días en llenar la caja de petri en PDA y EMA, respectivamente, en tanto que la cepa *S. commune* 46.02

utilizó más de 43 días para colonizar ambos medios, al igual que la cepa *S. commune* 30.07, la cual tardó el mismo tiempo en llenar la caja de petri en PDA. Esta misma cepa utilizó solamente 24 días en llenar la caja de petri en EMA (Tabla 4).

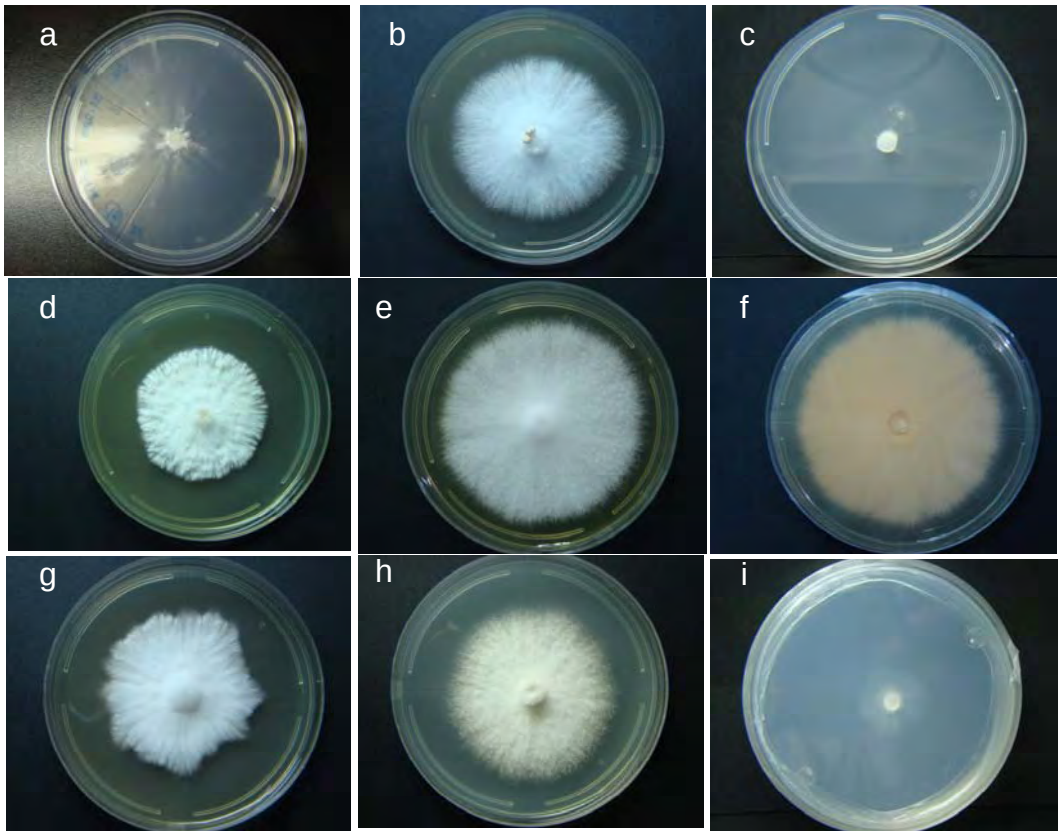


Figura 1. Características macroscópicas de las colonias de las cepas de *S. commune* a 26°C y 8 días de incubación en los diferentes medios de cultivo. a. Colonia de la cepa 52.03 en CZD. b-c. Colonias de la cepa 296.02. a. PDA. b. EMA. c. CZD. d. Colonia de la cepa 46.02 en EMA. e-f. Colonia de la cepa 108.01 en EMA. e. anverso. f. reverso. g-i. Colonias de la cepa 30.07. g. EMA. h. PDA. i. Reverso de la colonia en CZD.

Figura 2. Características microscópicas de las colonias de cepas de *S. commune* a 26°C en los diferentes medios de cultivo. a-b. Cepa 52.03. a. Fíbulas en EMA (x1000). b. Clamidosporas en CZD (x400). c. Proyecciones sobre las paredes hifales (espículas) en la cepa 296.02 en PDA (x400).

Tabla 4. Crecimiento miceliar de las cepas de *S. commune* durante 8 días de incubación a 18°C.

Cepa	Medio[1]	Crecimiento miceliar (mm)		Período de crecimiento (días)[3]
52.03	PDA	27.24 ± 15.34	a[2]	15
	EMA	25.60 ± 13.53	a	15
	CZD	9.65 ± 3.42	b	> 43
108.01	PDA	19. 41 ± 11.46	a	17
	EMA	21.32 ± 11.59	a	17
	CZD	9.8 ± 3.23	b	> 43
296.02	PDA	14.65 ± 7.86	a	19
	EMA	15.64 ± 7.96	a	19
	CZD	8.05 ± 2.06	b	> 43
46.02	PDA	10.00 ± 2.78	a	> 43
	EMA	12.86 ± 4.59	a	> 43
	CZD	5.99 ± 0.55	b	> 43
30.07	PDA	10.55 ± 4.81	a	> 43
	EMA	11.79 ± 7.24	a	24
	CZD	7.54 ± 2.11	b	> 43

1. PDA: Agar papa dextrosa; EMA: Agar con extracto de malta; CZD: Agar Czapeck-Dox.
2. Diferentes letras en la misma cepa y columna, indican diferencias estadísticamente significativas con la prueba de comparaciones múltiples de Duncan ($\alpha = 0.05$).
3. Días necesarios para llenar completamente la caja de petri de 84 mm de diámetro.

En todos los casos, el menor diámetro de las colonias se presentó en CZD y consecuentemente, el período de crecimiento utilizado para llenar la caja de petri fue mayor de 43 días (Tabla 4).

Al comparar estadísticamente el crecimiento miceliar obtenido de cada cepa en los tres medios de cultivo, se encontró que no hay diferencia significativa ($p > 0.05$) entre PDA y EMA. Sin embargo, si existió diferencia ($p < 0.05$) entre los dos medios anteriores y CZD.

Al final del período de incubación, las colonias de las distintas cepas de *S. commune* presentaron color blanco en el anverso en todos los medios de cultivo, mientras que el reverso, la mayoría de las cepas no presentaron cambio de color, con excepción de la cepas *S. commune* 46.02 y 30.07 en PDA y EMA, donde la coloración fue amarillenta. La textura de las colonias de todas las cepas fue algodonosa con regular o abundante cantidad de micelio aéreo en PDA y EMA, mientras que la textura en CZD fue laxa con escaso micelio aéreo (Tabla 5). Asimismo, la forma de las colonias fue circular con crecimiento radial en PDA y EMA, mientras que no tuvieron forma definida (colonias con micelio caótico) en CZD, al final del período de incubación (Figs. 3, 4).

La presencia de exudado de colores grisáceo a amarillento, solamente se evidenció en las colonias en las cepas *S. commune* 52.03 y 296.02 en PDA, en el resto de colonias no hubo producción de exudado (Tabla 5).

Olor afrutado se percibió en los cultivos de las cepas *S. commune* 46.02, 296.02 y 30.07 en PDA, así como en la cepa *S. commune* 30.07 en EMA. La cepa *S. commune* 108.01 fue la única que presentó olor a fermentado en PDA. El olor fue desagradable para la cepa *S. commune* 52.03 en PDA, así como en las cepas *S. commune* 46.02 y 108.01 en EMA. Todas las colonias en CZD no presentaron olor (Tabla 5).

Tabla 5. Características macroscópicas de las cepas de *S. commune* a 18°C de temperatura de incubación, al final del período de incubación.

Cepa	Medio	Color		Textura	Micelio aéreo	Exudado	Olor
		Anverso	Reverso				
52.03	PDA	Blanco	SC[1]	Algodonosa	Abundante	Grisáceo/ ámbar	Desagradable
	EMA	Blanco	SC	Algodonosa	Abundante	Ausente	Afrutado
	CDZ	Blanco	SC	Laxa	Escaso	Ausente	Sin olor
46.02	PDA	Blanco	Amarillento	Algodonosa	Regular	Ausente	afrutado
	EMA	Blanco	Amarillento	Algodonosa	Regular	Ausente	Desagradable
	CDZ	Blanco	SC	Laxa	Escaso	Ausente	Sin olor
108.01	PDA	Blanco	SC	Algodonosa	Abundante	Ausente	Fermentado
	EMA	Blanco	SC	Algodonosa	Abundante	Ausente	Desagradable
	CDZ	Blanco	SC	Laxa	Escaso	Ausente	Sin olor
296.02	PDA	Blanco	SC	Algodonosa	Abundante	Amarillento	Afrutado
	EMA	Blanco	SC	Algodonosa	Abundante	Amarillo	Afrutado
	CDZ	Blanco	SC	Laxa	Escaso	Ausente	Sin olor
30.07	PDA	Blanco	Amarillento	Algodonosa	Regular	Ausente	Afrutado
	EMA	Blanco	Amarillento	Algodonosa	Regular	Ausente	Sin olor
	CDZ	Blanco	SC	Laxa	Escaso	Ausente	Sin olor

1. Sin cambio de color

En todos los medios de cultivo, las cepas *S. commune* 52.03 y 296.02 presentaron hifas de 1.0 a 6.0 µm. La cepa *S. commune* 30.07 presentó hifas con diámetros entre 1.0 a 5.0 µm, la cepa 108.01 presentó hifas con diámetros de 2.0 a 6.0 µm y la cepa *S. commune* 46.02 hifas con diámetros de 2.0 a 5.0 µm (Tabla 6).

Todas las cepas evidenciaron la presencia de fíbulas en regular cantidad a abundantes en los tres medios evaluados (Tabla 6).

Todas las cepas exhibieron espículas. La presencia de clamidosporas se observó en la cepa *S. commune* 30.07 en PDA y CZD, en la cepa *S. commune* 180.01 en PDA y en las cepas *S. commune* 52.03 y 296.02 en CZD (Tabla 6).

Tabla 6. Características microscópicas de las cepas de *S. commune* a 18°C de temperatura de incubación, al final del período de incubación.

Cepa	Medio	Diámetro de las hifas (µm)	Fíbulas	Espículas	Clamidiosporas
52.03	PDA	2.0 - 5.0	Abundantes	Regular	Ausentes
	EMA	2.0 - 6.0	Regular	Escasas	Ausentes
	CDZ	1.0 - 5.0	Regular	Escasas	Presentes
46.02	PDA	2.0 - 5.0	Regular	Regular	Ausentes
	EMA	2.0 - 5.0	Regular	Abundantes	Ausentes
	CDZ	2.0 - 4.0	Regular	Regular	Ausentes
108.01	PDA	2.0 - 6.0	Regular	Regular	Presentes
	EMA	2.0 - 6.0	Escasas	Escasas	Ausentes
	CDZ	2.0 - 5.0	Regular	Escasas	Ausentes
296.02	PDA	1.5 - 5.0	Abundante	Abundantes	Ausentes
	EMA	2.0 - 6.0	Abundante	Abundantes	Ausentes
	CDZ	1.0 - 4.0	Regular	Escasas	Presentes
30.07	PDA	2.0 - 5.0	Escasas	Regular	Presentes
	EMA	1.0 - 5.0	Escasas	Escasas	Ausente
	CDZ	1.0 - 4.0	Escasas	Escasas	Presentes

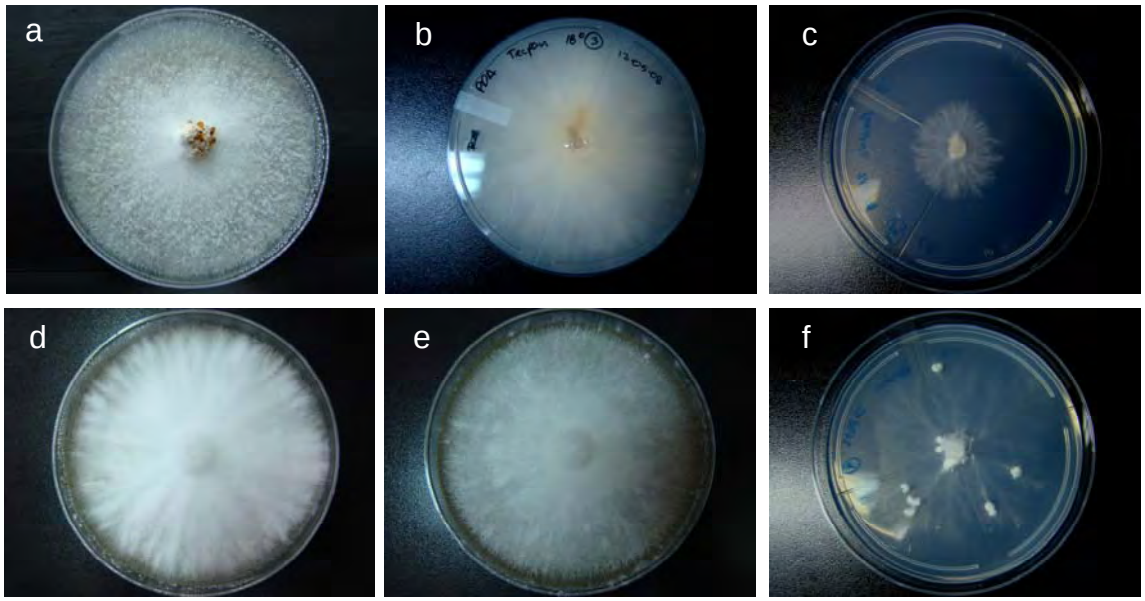


Figura 3. Características macroscópicas de las colonias de las cepas de *S. commune* a 18°C al final del período de incubación en los medios de cultivo. a. Colonia de la cepa 52.03 en PDA. b. colonia de la cepa 296.02 en PDA, con reverso amarillento. c-d. Colonias de la cepa 46.02 c. CZD, con micelio caótico. d. PDA. e. Colonia de la cepa 108.01 en EMA f. Colonias de la cepa 30.07 en CZD, con el característico micelio caótico.

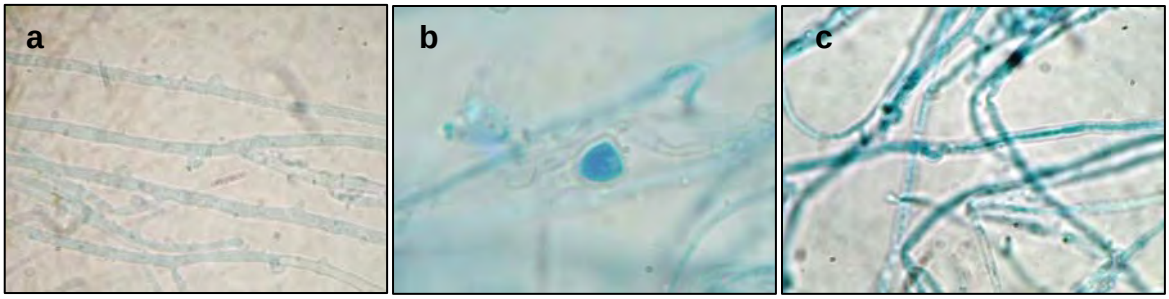
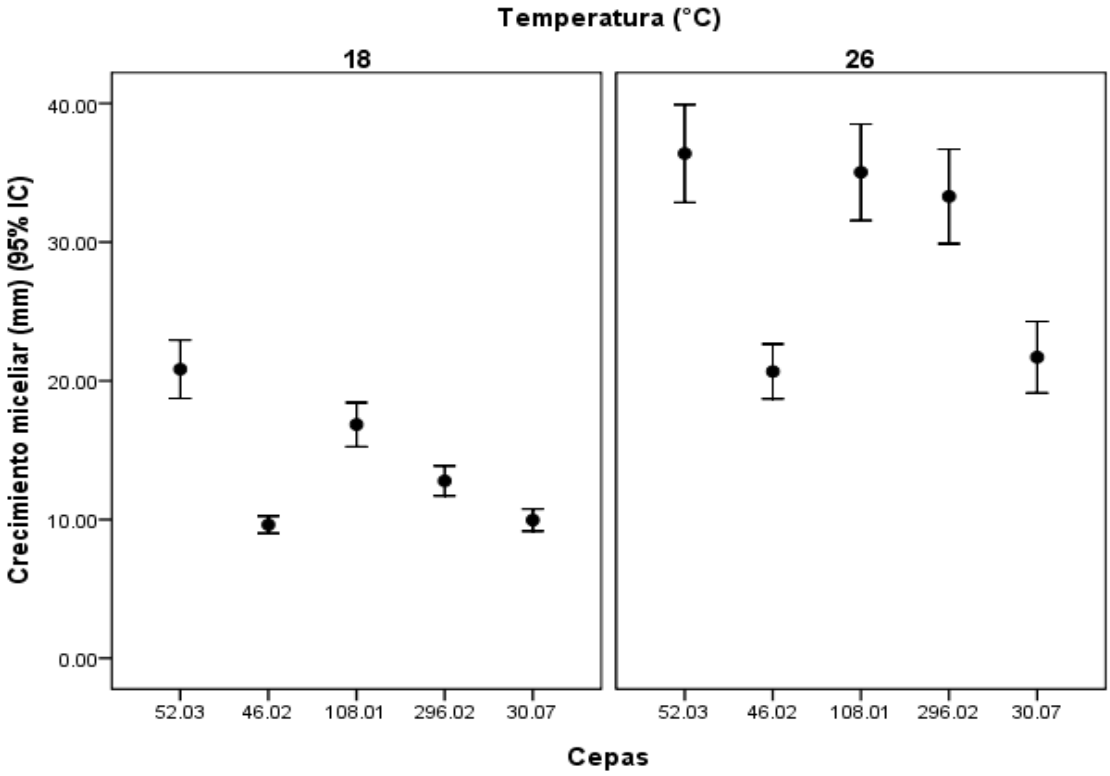


Figura 4. Características microscópicas de las colonias de cepas de *S. commune* a 18°C en los diferentes medios de cultivo. a. Proyecciones sobre las paredes hifales (espículas), en la cepa 52.03 en PDA (x1000). b. Clamidosporas de la cepa 180.01 CZD (x1000). c. Fíbula de la cepa 296.02 en EMA (x400).

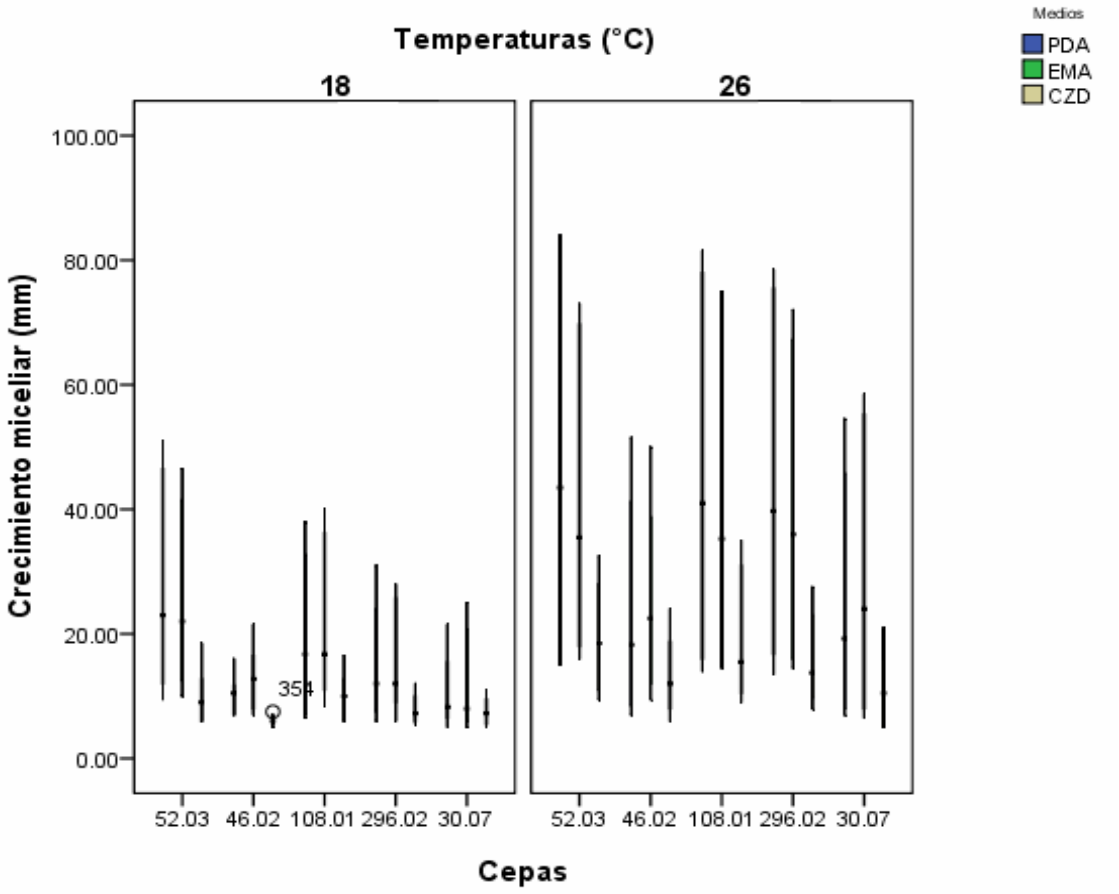
La comparación de todas las cepas de *S. commune* durante 8 días de incubación, reveló que el crecimiento miceliar de todas las cepas fue favorecido a 26°C, contrario a lo observado a 18°C. El mejor crecimiento miceliar se observó en la cepa la 52.03, seguido de la cepa 108.01, no importando el medio de cultivo estudiado. La cepa con el menor crecimiento fue la 46.02 (Grafica 1)

Grafica 1. Crecimiento miceliar de las cepas *S. commune* durante 8 días de incubación a dos temperaturas.



Al comparar las cepas de *S. commune* con los tres medios de cultivo se observó que el mejor medio para el crecimiento miceliar es PDA a 26°C, con respecto a las cepas 52.03, 108.01 y 296.02. Sin embargo, para las cepas 46.02 y 30.07 fue en EMA. El CZD es el menos adecuado para el crecimiento miceliar de todas las cepas tanto a 18°C como a 26°C (Grafica 2).

Grafica 2. Crecimiento miceliar de la todas las cepa *S. commune* durante 8 días de incubación a dos temperaturas, comparando los tres medios de cultivo.



b. Producción de Inóculo

Respecto a la producción de inóculo, el menor tiempo colonización miceliar en la cepa *S. commune* 108.2001 a 26ºC, se obtuvo en el trigo (10.40 días), seguido del arroz (11.62 días), sorgo y cebada (12.0 días). Estadísticamente, solo se observó diferencia significativa del trigo con respecto a los otros granos ($p<0.05$), mientras que entre el arroz, sorgo y cebada no se presentó diferencia significativa ($p>0.05$) (Tabla 7).

Para esta misma cepa, a 18ºC de temperatura de incubación, el menor tiempo de colonización se observó en el trigo (14.0 días), seguido por el arroz (15.25 días), presentando diferencia significativa entre ambos ($p<0.05$). El micelio colonizó los granos de sorgo y cebada en 17.10 y 17.35 días, respectivamente, no existiendo diferencia

significativa entre ambos (p>0.05). Entre estos dos últimos granos y el trigo y arroz, existió diferencia significativa (p<0.05) (Tabla 7).

Tabla 7. Producción de inoculo de la cepa *S. commune* 108.2001, sobre diferentes sustratos y temperaturas.

Temperaturas	Sustratos	Tiempo de colonización (días)*
26ºC	Trigo	10.40 ± 0.82 a
	Arroz	11.62 ± 0.84 b
	Sorgo	12.00 ± 0.00 b
	Cebada	12.00 ± 0.00 b
18ºC	Trigo	14.00 ± 1.77 a
	Arroz	15.25 ± 2.53 b
	Sorgo	17.10 ± 0.44 c
	Cebada	17.35 ± 1.72 c

*Diferentes letras en la misma columna y temperatura, indican diferencias estadísticamente significativas con la prueba de comparaciones múltiples de Duncan (α= 0.05).

Referente a la cepa de S. commune 52.2003 a 26ºC, el menor tiempo de colonización miceliar para producción de inóculo se obtuvo en trigo y cebada (10.30 y 10.60 días, respectivamente), no existiendo diferencia significativa entre ambos (p>0.05). En sorgo, el inóculo se produjo en 11.40 días existiendo diferencia significativa entre este y los anteriores (p<0.05). En arroz el tiempo fue de 12.30 días, mostrando diferencia significativa respecto a los demás granos (p<0.05) (Tabla 8).

Para la misma cepa a 18ºC, el inóculo fue producido en menor tiempo de colonización en trigo (13.10 días), en tanto que en los granos de sorgo fue 16.65 días. En arroz el tiempo observado fue de 19.65 días y en cebada 21.00 días, existiendo diferencia significativa entre los tiempos de colonización para cada uno de ellos (p<0.05) (Tabla 8).

Tabla 8. Tiempo de colonización de los sustratos para la producción de inóculo en la cepa 52.2003 de *S. commune* a 26°C y 18°C.

Temperatura	Sustrato	Tiempo de colonización (días)*
26ºC	Trigo	10.30 ± 0.73 a
	Cebada	10.60 ± 0.94 a
	Sorgo	11.40 ± 1.42 b
	Arroz	12.30 ± 0.73 c
18ºC	Trigo	13.10 ± 1.02 a
	Sorgo	16.65 ± 1.22 b
	Arroz	19.65 ± 2.71 c
	Cebada	21.00 ± 2.53 d

*Diferentes letras en la misma columna y temperatura, indican diferencias estadísticamente significativas con la prueba de comparaciones múltiples de Duncan (α= 0.05).

Respecto a la cepa de *S. commune* 296.2002 a 26ºC, el menor tiempo de colonzación se obtuvo en cebada y trigo (11.40 y 11.90 días respectivamente) y no se evidenció diferencia estadísticamente significativa entre ambos ($p>0.05$). En sorgo y arroz el inóculo se produjo en 12.50 y 12.55 días respectivamente sin encontrar diferencia significativa entre ambos también ($p>0.05$). Solamente se detectó diferencia significativa entre la cebada con respecto a los otros granos evaluados ($p<0.05$) (Tabla 9).

Para esta cepa a 18ºC, el menor tiempo de colonización se presentó en trigo a los 16.55 días, mostrando diferencia significativa con lo observado en la cebada y sorgo ($p<0.05$), en los cuales el inóculo se produjo en 19.15 y 19.80 días respectivamente y entre los que no se observó diferencia significativa. En el arroz la colonización se produjo en 23.10 días, mostrando diferencia significativa con los demás sustratos ($p<0.05$) (Tabla 9).

Tabla 9. Tiempo de colonización de los sustratos para la producción de inóculo en la cepa 296.2002 de *S. commune* a 26°C y 18°C.

Temperatura	Sustrato	Tiempo de colonización (días)*
26ºC	Cebada	11.40 ± 0.94 a
	Trigo	11.90 ± 1.21 a, b
	Sorgo	12.50 ± 0.89 b
	Arroz	12.55 ± 1.70 b
18ºC	Trigo	16.55 ± 1.82 a
	Cebada	19.15 ± 3.73 b
	Sorgo	19.80 ± 1.50 b
	Arroz	23.10 ± 3.30 c

*Diferentes letras en la misma columna y temperatura, indican diferencias estadísticamente significativas con la prueba de comparaciones múltiples de Duncan ($\alpha= 0.05$).

Para la cepa de *S. commune* 30.2007, el menor tiempo de colonización se observó tanto en cebada, como en arroz y sorgo (12.20, 12.60 y 12.85 días respectivamente), no existiendo diferencia significativa entre ellos ($p>0.05$). En trigo, el tiempo de colonización fue de 13.75 días, mostrando diferencia significativa con los demás granos ($p<0.05$) (Tabla 10).

Esta misma cepa a 18ºC, presentó menor tiempo de colonización en trigo (20.50 días), a diferencia del inóculo preparado en arroz y sorgo, los cuales se produjeron en 24.00 y 24.30 días cada uno, presentando ambos diferencia significativa con los granos de trigo ($p<0.05$), pero no entre sí ($p>0.05$). En cebada el inóculo se produjo en 27.95 días, presentando diferencia significativa con los demás granos ($p<0.05$) (Tabla 10).

Tabla 10. Tiempo de colonización de los sustratos para la producción de inóculo en la cepa 30.2007 de *S. commune* a 26°C y 18°C.

Temperatura	Sustrato	Tiempo de colonización (días)*
26ºC	Cebada	12.20 ± 1.28 a
	Arroz	12.60 ± 0.94 a
	Sorgo	12.85 ± 1.35 a
	Trigo	13.75 ± 1.68 b
18ºC	Trigo	20.50 ± 0.88 a
	Arroz	24.00 ± 2.77 b
	Sorgo	24.30 ± 0.73 b
	Cebada	27.95 ± 1.57 c

*Diferentes letras en la misma columna y temperatura, indican diferencias estadísticamente significativas con l a prueba de comparaciones múltiples de Duncan (α= 0.05).

Para la cepa de *S. commune* 46.2002 incubada a 26ºC, el menor tiempo de colonización del inóculo se presentó en arroz (12.40 días), en tanto que en sorgo se produjo en 13.10 días, en trigo en 13.50 días y en cebada en 14.70 días. El tiempo de producción de inóculo en arroz y sorgo no fue estadísticamente diferente ($p>0.05$), así como tampoco lo fueron el sorgo y el trigo ($p>0.05$). Los resultados anteriores mostraron diferencia significativa con la cebada ($p<0.05$) (Tabla 11).

Esta misma cepa a 18ºC, produjo el inóculo en menor tiempo en granos de trigo (19.90 días), mientras que en arroz se obtuvo en 23.25 días, en sorgo en 24.00 días y en cebada en 27.70 días. Se encontró diferencia significativa entre los granos de trigo, con los granos de arroz y sorgo ($p<0.05$), así como también en la cebada con todos los demás sustratos como vehículos ($p<0.05$). No se encontró diferencia significativa entre el arroz y sorgo ($p>0.05$) (Tabla 11).

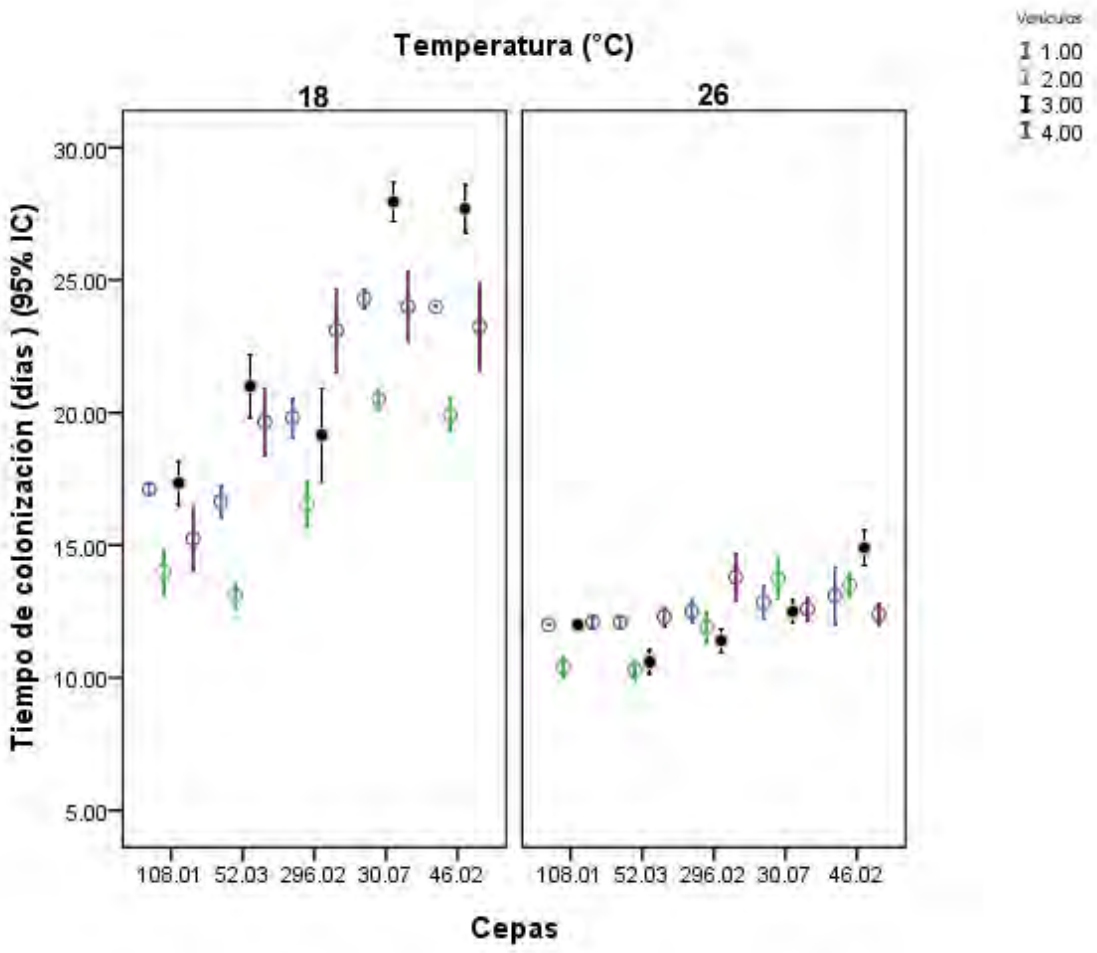
Tabla 11. Tiempo de colonización de los sustratos para la producción de inóculo en la cepa 46.2002 de *S. commune* a 26°C y 18°C.

Temperatura	Sustrato	Tiempo de colonización (días)*
26ºC	Arroz	12.40 ± 0.82 a
	Sorgo	13.10 ± 2.29 a, b
	Trigo	13.50 ± 0.89 b
	Cebada	14.70 ± 1.13 c
18ºC	Trigo	19.90 ± 1.37 a
	Arroz	23.25 ± 3.46 b
	Sorgo	24.00 ± 0.00 b
	Cebada	27.70 ± 1.92 c

*Diferentes letras en la misma columna y temperatura, indican diferencias estadísticamente significativas con la prueba de comparaciones múltiples de Duncan (α= 0.05).

Comparando el tiempo de colonización de las cepas en cada uno de los sustratos como vehículos, se observó que los menores tiempos de producción del inóculo (sin importar la temperatura) se obtuvieron en los granos de trigo, seguido por el sorgo, el arroz y la cebada, encontrando diferencia significativa entre cada uno de ellos ($p<0.05$) (Gráfica 3).

Gráfica 3. Producción de inóculo de cepas de *Schizophyllum commune* utilizando cuatro vehículos y dos temperaturas.*



* Vehículos: 1. Sorgo. 2. Trigo. 3. Cebada. 4. Arroz.

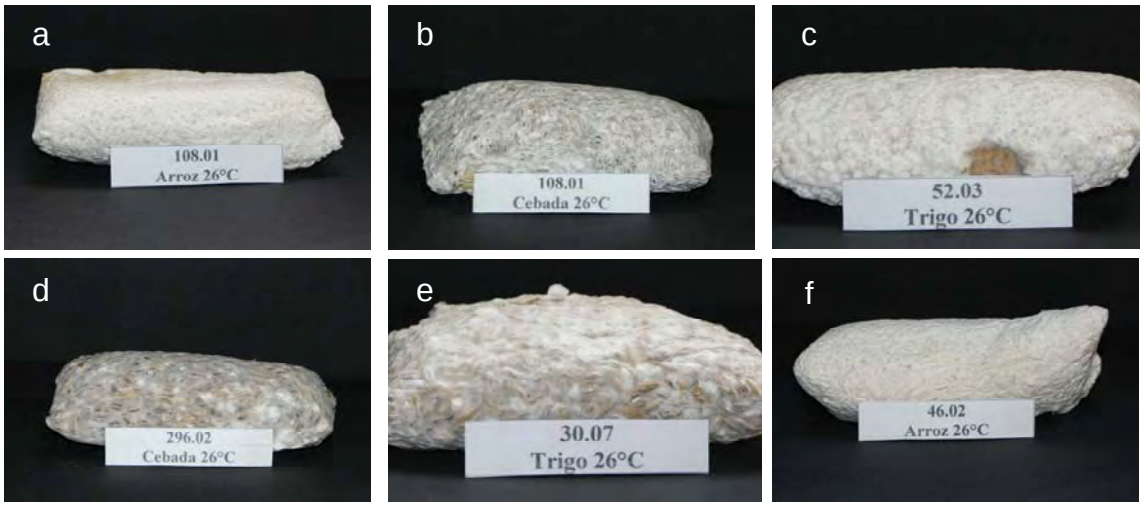


Figura 5. Inóculo de las cepas de *Schizophyllum commune* producido a 26ºC. a-b. Mejor colonización de la cepa 108.01 en arroz comparado con la cebada. c. La colonización del trigo por parte de la cepa 52.03 fue mejor en trigo. d. En la cepa 296.02, la mejor colonización se observó en cebada. e. La cepa 30.07 colonizó más eficientemente el trigo. f. La cepa 46.02 obtuvo un mejor crecimiento en el arroz.

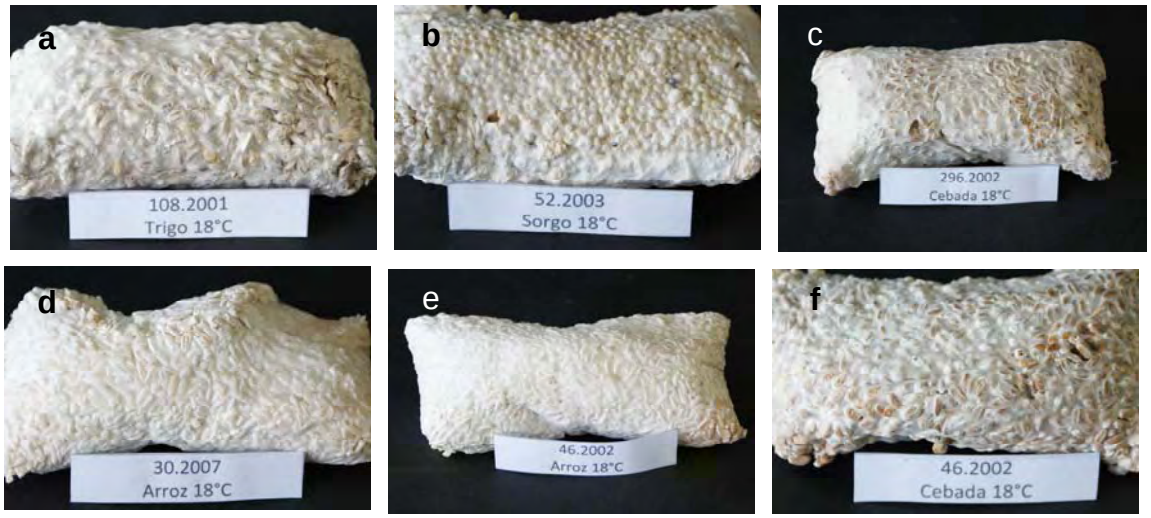


Figura 6. Inóculo de las cepas de *Schizophyllum commune* producido a 18ºC. a. Los granos de trigo fueron colonizados por la cepa 108.01, en menor tiempo, comparado con los otros vehículos. b. Granos de sorgo colonizados por la cepa 52.03, observándose la colonización del micelio. c. Los granos de cebada fueron colonizados por la cepa 296.02. d. En los granos de arroz también fue posible obtener inóculo de la cepa 30.07. e-f. Colonización de granos por la cepa 46.02, nótese la mejor colonización en el arroz, con respecto a la cebada.

c. Productividad

Para evaluar la productividad se utilizaron cuatro tipos de sustratos desinfectados o esterilizados por varios métodos. Sin embargo, en los sustratos 2 y 3 (S2 y S3) luego de transcurrido un período de incubación de alrededor de 60 días, no se obtuvo crecimiento del micelio de ninguna de las cepas. Para corroborar este comportamiento, los experimentos se repitieron, obteniéndose nuevamente el mismo resultado.

Los tiempos de colonización del micelio de las cepas hasta la cosecha de los basidiomas en los sustratos 3 y 4 (S1 y S4), fue de 48 y 28 días, respectivamente. Los parámetros de temperatura y humedad en los módulos de fructificación fueron: 19 – 24ºC y 30 – 60%, respectivamente.

Con respecto a la cepa 296.01, la EB obtenida en el sustrato S1 fue la mayor observada en todas las cepas en este mismo sustrato (4.98 %), mientras que en el sustrato S4 solamente obtuvo 1.95 %. La tasa de producción fue alta para el sustrato S1. No se observaron basidiomas del grupo G3, sino únicamente de los grupos G1 y G2, con el porcentaje más alto el grupo G1 en ambos sustratos (Tabla 6, Gráficas 4-6).

La cepa 52.03 en el sustrato S1 obtuvo una eficiencia biológica (EB) de 3.32 % y en el sustrato S4 presentó la mayor EB de todas las cepas en este mismo sustrato (5.50 %). Las tasas de producción fue alta para el sustrato S4. Además, esta cepa fue la única que presentó basidiomas de los tres grupos de tamaños de píleos, sin embargo el mayor porcentaje de ellos se observó en el grupo G1 (Tabla 12, Gráficas 4-6).

En la cepa 108.01 la EB en el sustrato S1 fue de 1.04 % y en el sustrato S4 fue de 4.54 %. La tasa de producción fue alta solamente en para el sustrato S4. No se obtuvieron píleos del grupo G3, sino solo de los grupos G1 y G2. El mayor porcentaje de los píleos se observó en el grupo G1 (Tabla 12, Gráficas 4-6).

Para la cepa 46.02, la EB en el sustrato S1 fue baja, ya que alcanzó 0.99 %. En el sustrato S4 obtuvo la EB más baja observada en este sustrato (1.83 %). La tasa de producción fue baja para ambos sustratos y solamente se observaron basidiomas de los grupos G1 y G2, obteniéndose el mayor porcentaje en el grupo G1 para ambos sustratos (Tabla 12, Gráficas 4-6).

En el caso de la cepa 30.07, la EB en el sustrato S1 fue la más baja obtenida en este sustrato (0.11 %), mientras que en el sustrato S4 fue de 3.30 %. La tasa de producción fue alta en sustrato S4 y el mayor porcentaje de píleos se ubicó en el grupo G1 en ambos sustratos y el menor porcentaje en el grupo G2, no obteniéndose píleos del grupo G3 (Tabla 12, Gráficas 4-6).

Estadísticamente no se observó diferencia significativa al comparar la EB de cada uno de los sustratos, con relación a una misma cepa. Sin embargo si existió diferencia significativa entre cepas y la EB observada en los sustratos individuales. Para el sustrato S1 se observaron dos agrupaciones de cepas, entre cuyos integrantes no existió diferencia significativa en cuanto al valor de EB obtenido. El primero, se integró

por las cepas 296.02 y 52.03 y el segundo por las cepas 108.01, 46.02 y 30.07 (p>0.05). Entre ambos grupos se observó diferencia significativa (p<0.05) (Tabla 12).

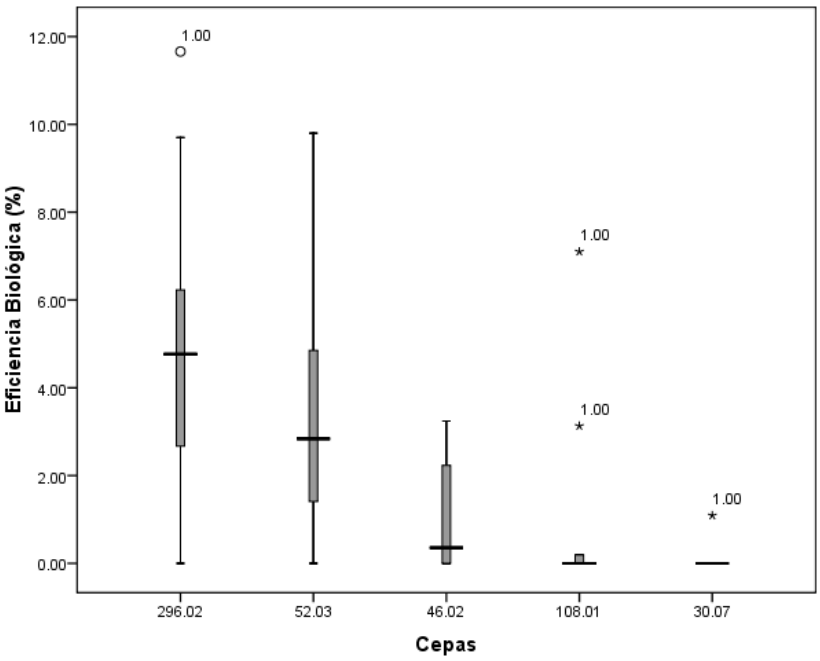
En el caso del sustrato S4, el análisis estadístico mostró que existen tres grupos de cepas, entre las cuales no existió diferencia significativa con relación a la EB. El primer grupo se integró por las cepas 52.03 y 108.01, el segundo por la cepa 108.01 y las cepas 296.02 y 46.02 (p>0.05). Entre las tres agrupaciones si existió diferencia significativa (p<0.05) (Tabla 12).

Tabla 12. Productividad de las cepas de *Schizophyllum commune*

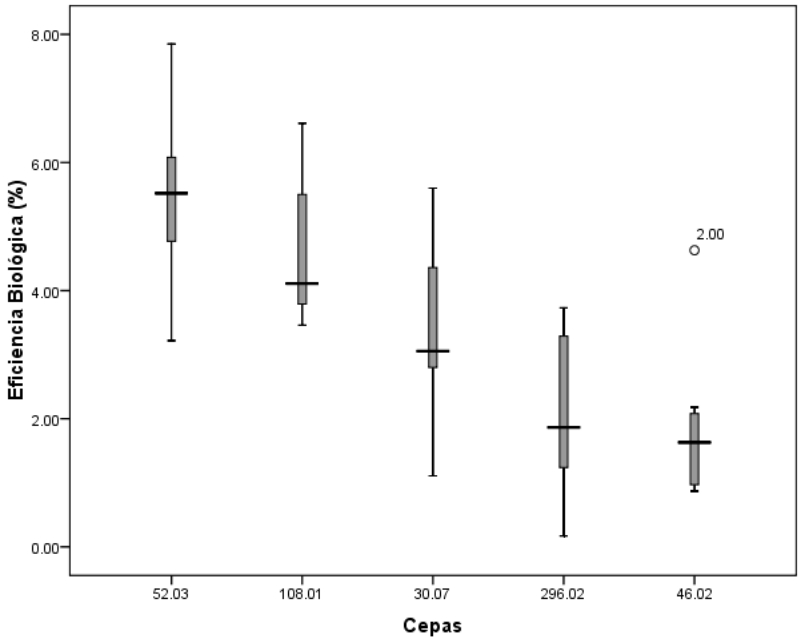
Sustrato	Cepa	%EB ± DS[1,2]	T (días)[3]	TP[4]	Peso (g)[5]	Producción de basidiomas con respecto a tamaño de píleos [6]		
						G1 (<2.0 cm)	G2 (2.0-4.0 cm)	G3 (>4.0 cm)
S1	296.02	**4.98 ± 3.01 a**	47	0.10	155.2	70.9 %	29.1 %	----
	52.03	3.32 ± 3.01 a	47	0.07	103.5	66.8 %	27.2 %	6.0 %
	108.01	1.04 ± 2.34 b	47	0.02	34.0	59.4 %	40.6 %	----
	46.02	0.99 ± 1.23 b	47	0.02	31.1	78.1 %	21.9 %	----
	30.07	0.11 ± 0.34 b	47	0.02	3.4	52.9 %	47.1 %	----
S4	52.03	**5.50 ± 1.47 a**	28	0.19	163.9	84.6 %	13.4 %	2.0 %
	108.01	4.54 ± 1.09 a	28	0.16	135.2	92.4 %	7.6 %	----
	30.07	3.30 ± 1.29 b	28	0.12	58.0	89.3 %	10.7 %	----
	296.02	1.95 ± 1.19 c	28	0.06	58.0	89.3 %	10.7 %	----
	46.02	1.83 ± 1.09 c	28	0.06	54.5	84.8 %	15.2 %	----

1. Porcentaje de eficiencia biológica ± la desviación estándar. 2. Diferentes letras en la misma columna y sustrato, indican diferencia estadísticamente significativa con la prueba de comparaciones multiples de DUNCAN (σ = 0.05). 3. Tiempo transcurrido desde la siembra hasta la cosecha de los basidiomas. 4. Tasa de producción. 5. Peso total de las fructificaciones. 6. Porcentaje calculado a partir del peso total de las fructificaciones.

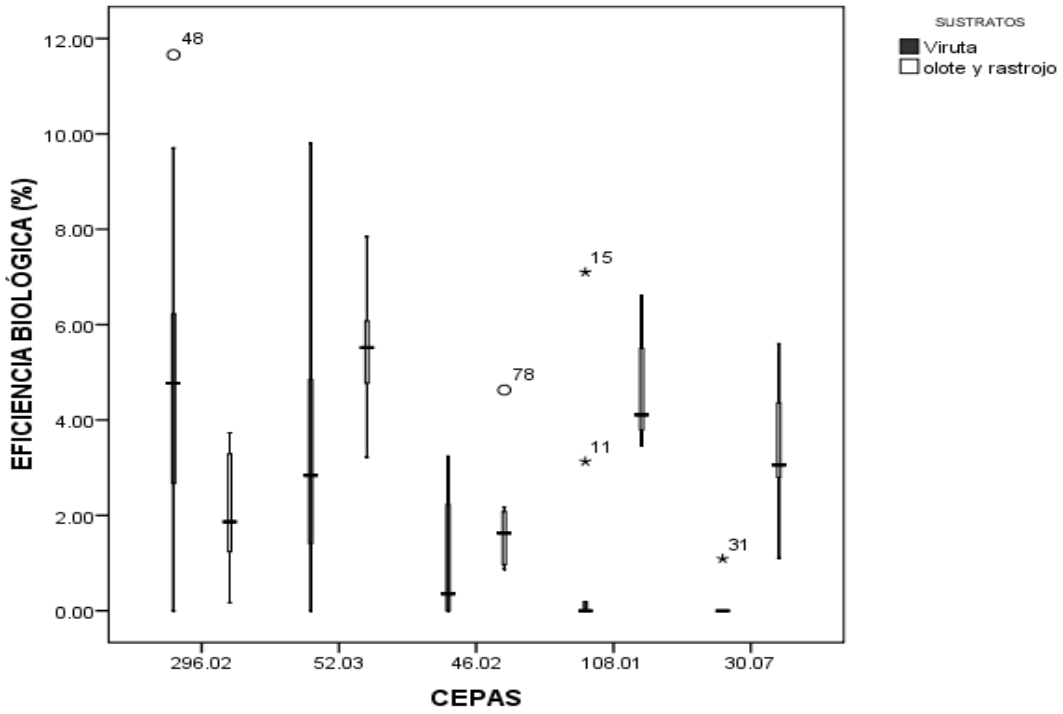
Gráfica 4. Eficiencia Biológica de las cepas de *Schizophyllum commune* en el sustrato S1



Gráfica 5. Eficiencia Biológica de las cepas de *Schizophyllum commune* en el sustrato S4



Gráfica 6. Eficiencia biológica de las cepas de *Schizophyllum commune* sobre los sustratos S1 y S4.



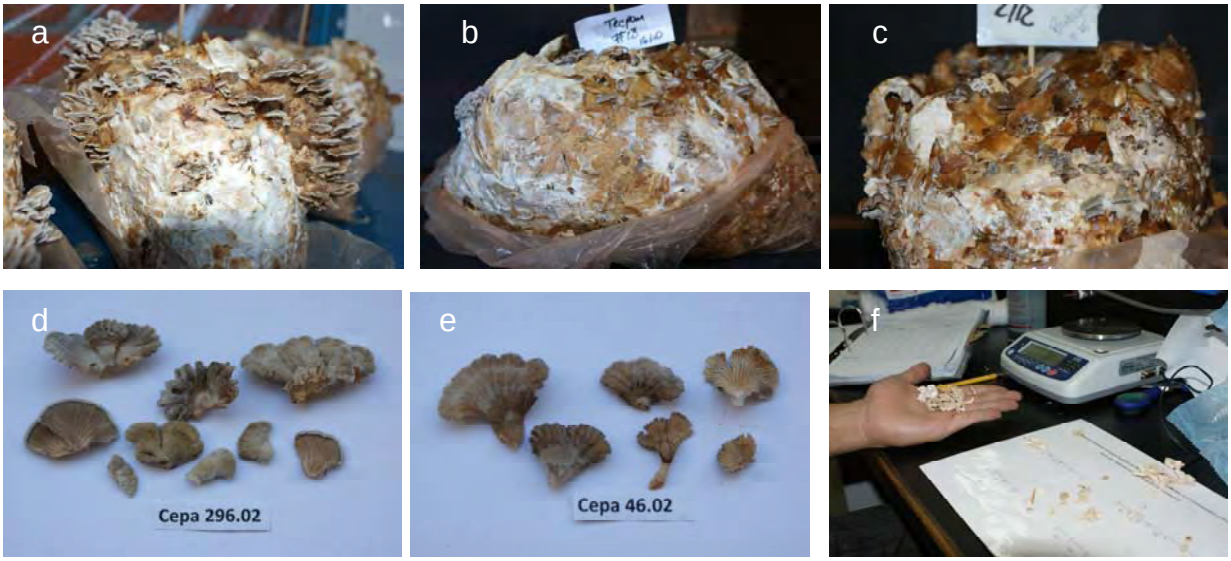


Figura 7. Fructificación de las cepas de *Schizophyllum commune* en el sustrato S1. a. Abundante fructificación de la cepa 52.03. b. Primordios de los cuerpos fructíferos en la cepa 296.02. c. Primordios de los cuerpos fructíferos de la cepa 46.02. d. Basidiomas de la cepa 296.02, con píleos de los grupos G1 y G2. e. Basidiomas de la cepa 46.02, con píleos de los grupos G1 y G2. f. Peso y medición de los basidiomas a nivel de campo.

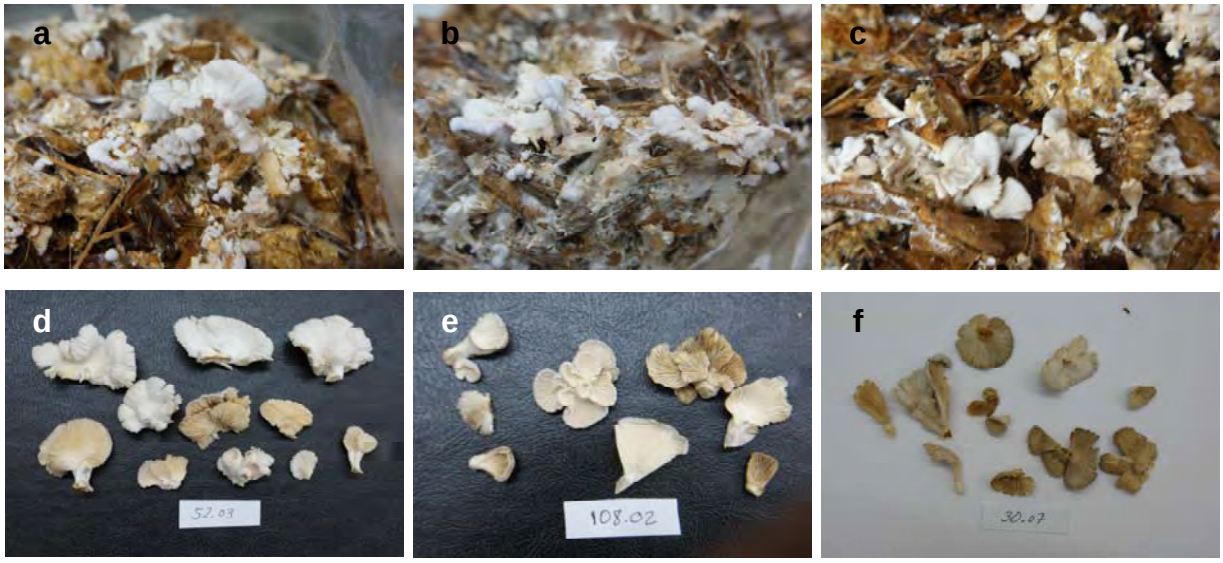


Figura 8. Fructificación de las cepas de *Schizophyllum commune* en el sustrato S4. a. Fructificación de la cepa 52.03. b. Fructificación de la cepa 108.01. c. Fructificación de la cepa 30.07. d. Basidiomas de la cepa 52.03 con píleos de los grupos G1 a G3. e. Basidiomas de la cepa 108.01 con píleos de los grupos G1 y G2. f, Basidiomas de la cepa 30.07 con píleos de los grupos G1 y G2.

Por otra parte, se observaron algunos problemas de contaminación. En el sustrato S1 se produjo contaminación por mohos y bacterias en las cepas 46.02 y 30.07, no así en las cepas 296.02, 52.03 y 108.01. En el sustrato S4 solamente se observó contaminación por mohos en las cepas 296.02 y 46.02, no así en las restantes. Los contaminantes más frecuentes fueron *Trichoderma* sp, seguido de *Penicillium* sp y *Serratia* sp (Tabla 13).

Por otra parte, se realizó un análisis de varianza para establecer si la presencia o ausencia de contaminación influyó en la eficiencia biológica. Al respecto, se comprobó que la presencia de contaminación no influyó en la eficiencia biológica (p=0.954) (ANOVA 95% intervalo de confianza, σ = 0.05).

Tabla 13. Contaminantes en los sustratos S1 y S4, en las pruebas fructificación de las cepas de *Schizphyllum commune*

Sustratos	Cepas	Contaminación*	Contaminantes	
			Hongos	**Bacterias**
S1	46.02	30 %	*Aspergillus* sp, *Penicillium* sp, *Trichoderma* sp	*Serratia* sp
	30.07	20 %	*Trichoderma* sp	*Serratia* sp
S4	296.02	40 %	*Rhizopus* sp *Cladosporium* sp *Penicillium* sp *Trichoderma* sp *Fusarium* sp Hialohifomycete con micelio estéril Dematiáceo con micelio estéril	
	46.02	10 %	*Nigrospora* sp Hialohifomycete con micelio estéril	

* Porcentaje calculado a partir de 10 repeticiones.

IX. DISCUSIÓN

Es importante considerar que para el caso de cultivo de hongos, es de suma utilidad el estudio de la velocidad de crecimiento miceliar, a través del incremento lineal de la colonia (Sánchez, 2001). Además el mantener una rápida velocidad de crecimiento miceliar en el medio de cultivo, favorece la reducción de los ciclos de cultivo, cuando una cepa se estudia para producción de cuerpos fructíferos (Salmones, *et al*, 1997).

En esta línea, el crecimiento miceliar de las cepas con respecto a las temperaturas de incubación, se observó mayor vigorosidad del crecimiento de las colonias a 26°C, comparado con el crecimiento a 18°C. Este comportamiento observado se puede atribuir a que la mayoría de ellas proceden de regiones donde predomina un clima templado a cálido (con excepción de la cepa 296.02 que procede de clima frío). Al respecto, se ha reportado que aislamientos de *S. commune* precedentes de Costa Rica y Canadá, crecen adecuadamente tanto a temperatura ambiente como a 25°C, lo cual coincide con observado en el presente estudio (Nobles, 1965; Carranza, *et al,* 2001).

La reducción del crecimiento miceliar con respecto al descenso de la temperatura se debe a que ésta reduce el metabolismo del hongo (Chang & Miles, 2004) e influye en la fluidez de los lípidos de la membrana celular. Por otra parte, la sensibilidad a la temperatura no solo varía entre cepas, sino también para una misma cepa, según su etapa de desarrollo. Así, es posible y aún frecuente que un hongo tenga una temperatura óptima de germinación y que ésta sea diferente de su temperatura óptima de crecimiento miceliar o de su temperatura óptima de fructificación (Sánchez, 2001).

Particularmente, a 26°C se observó que las cepas *S. commune* 52.03, 108.01 y 296.02, mostraron el mayor diámetro de crecimiento en PDA, así como también los valores más altos de diámetro de las colonias, mientras que las cepas *S. commune* 30.07 y 46.02 mostraron el mejor crecimiento en EMA, pero, los diámetros de las colonias fueron los más bajos de las cinco cepas evaluadas. Es importante señalar que el crecimiento de aislamientos de *S. commune*, no ha sido reportado en PDA, sino solamente en EMA, donde se indica que aislamientos precedentes de Costa Rica, crecen moderadamente rápido a 25°C (Carranza, *et al*, 2001).

A 18°C de temperatura de incubación, se observó que la mayoría de las cepas (108.01, 296.02, 46.02 y 30.07) presentaron su mayor crecimiento en EMA, a excepción de la cepa 52.03, que lo presentó en PDA. Esta conducta observada puede mostrar que el descenso de la temperatura, induce al micelio a necesitar más nutrientes, y, en 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; Manual Merck, 2000). Los requerimientos de las cepas pueden variar según los nutrientes presentes en el medio y el tipo o la concentración óptima de un sustrato utilizable varía si otros nutrientes o factores (temperatura, pH) se encuentran en condiciones subóptimas (Sánchez, 2001).

Por otra parte, se indica que el menor diámetro del crecimiento de todas las cepas a ambas temperaturas, se observó en CZD. Este medio químicamente definido, contiene nitrato de sodio como única fuente de nitrógeno y es uno de los medios sólidos más utilizados para la producción de clamidosporas, esporulación y no para fructificación (Manual Oxoid, 1995; Manual Merck, 2000). Esta podría ser la principal razón por la cual *S. commune* no respondió adecuadamente en cuanto al crecimiento miceliar en CZD, comparado con los otros medios (PDA y EMA).

El diámetro de crecimiento miceliar obtenido en los medios de cultivo a 18°C y 26°C, en las cinco cepas evaluadas, no presentó diferencia significativa entre el crecimiento en PDA y EMA, sin embargo, el crecimiento en ambos medios fue significativamente diferente al observado en CZD.

En conclusión, se señala que las condiciones apropiadas para el cultivo en medio sólido de las cepas evaluadas en esta investigación, son las siguientes: La cepa *S. commune* 52.03 se puede cultivar en PDA, tanto a 18°C como a 26°C. Las cepas *S. commune* 108.01 y 296.02, se pueden cultivar en EMA a 18°C y a 26°C en PDA. Finalmente, las cepas *S. commune* 30.07 y 46.02 se pueden inocular para su cultivo en EMA, a ambas temperaturas de incubación.

Debido que todas las cepas estudiadas presentaron su mayor crecimiento miceliar en PDA o EMA a 26°C, se acepta la hipótesis planteada.

Con respecto a los períodos de crecimiento (tiempo utilizado para llenar la caja de petri), éstos fueron menores a 26° que a 18°C y en el caso de EMA, coinciden con lo reportado en la literatura, ya que aislamientos de *S. commune* de Costa Rica y Canadá, llenan la caja de Petri en 3 semanas en EMA, tanto a 26°C, como a temperatura ambiente (Nobles, 1965; Carranza, *et al*, 2001).

Con respecto a las características macroscópicas de las colonias de las cinco cepas estudiadas, tanto a 18°C como a 26°C en EMA y PDA, presentaron anverso de color blanco y textura algodonosa con regular o abundante micelio aéreo. Además, las colonias mostraron bordes definidos y un crecimiento miceliar radial, circular o casi circular, lo que coincide con el crecimiento reportado para esta especie en aislamientos de Norteamérica (Nobles, 1965). Además, concuerdan con lo reportado para cepas de *S. commune* aisladas en Costa Rica (Carranza, *et al*, 2001).

Una variación en las características macroscópicas anteriormente descritas fueron las observadas en CZD, tanto a 18°C como a 26°C. En este medio se desarrollaron colonias ramificadas, de forma no bien definida y con escaso micelio aéreo de color blanco. Dichas colonias han sido denominadas en la literatura como “micelio caótico” (micelio laxo y con bordes no definidos) y fueron descritas en cultivos de *S. commune.* Se ha informado que la formación de este tipo de colonias está influenciada por la luz, dado que estas colonias se reportaron solamente cuando los cultivos se incubaron en presencia de luz y no cuando se incubaron en oscuridad (Kein, *et al*, 1997).

Puesto que en el presente estudio los cultivos fueron incubados en completa oscuridad, puede suponerse que la poca concentración de nutrientes contenidos en CZD (conformado por sacarosa, hidrato de sodio, sulfato magnésico, cloruro de potasio, sulfato de hierro e hidrógeno fosfato dipotásico), puede también influir en la aparición de colonias con micelio caótico en *S. commune*.

En cuanto al reverso de las colonias, en general la mayoría de cepas en los medios de cultivo y temperaturas de incubación, no evidenciaron cambio de coloración. Sin embargo, fue posible observar algunas excepciones, tales como las mostradas por las cepas *S. commune* 46.02 y 30.07 a 18°C, en EMA y PDA, las cuales presentaron reversos de color amarillento. Asimismo, la cepa *S. commune* 30.07 fue la única que presentó reverso de color amarillo a 26°C, presentándolo en EMA. El aparecimiento de coloración en el reverso en colonias de otras especies de hongos, como las de *Lentinula edodes* y *Pleurotus* spp, pueden indicar la producción de abundantes metabolitos secundarios (no necesarios para el crecimiento miceliar y producción de basidiomas) o alguna anormalidad en el crecimiento (Stamets, 1993), de manera que puede ser una característica no deseable en los cultivos de *S. commune.*

Otro aspecto importante es la presencia de exudado en varios de los cultivos de las cepas, en EMA y PDA, a ambas temperaturas de incubación, aspecto que no se encontró reportado en la literatura consultada (Nobles, 1965; Sutton, *et al*, 1998; Carranza, *et al*, 2001).

Asimismo, los olores reportados para las colonias de *S. commune* son ligeramente afrutado (Carranza, *et al*, 2001) o desagradable (Sutton, *et al,*1998), los cuales fueron percibidos en las cepas evaluadas. Se ha reportado también que *S. commune* produce compuestos del tipo estructural RSR o RSH del grupo de los mercaptanos, los cuales podrían ser responsables de dichos olores (Alexander, 1980). Por otra parte, el olor fermentado presente en algunas colonias, no ha sido documentado y constituye un aporte de la presente investigación.

Dentro de las características microscópicas es importante mencionar que todas las cepas presentaron minúsculas proyecciones sobre las paredes hifales (espículas), las cuales son características de algunas especies como *S. commune* y *Armillaria mellea* (Nobles, 1965). Asimismo, el rango de las hifas encontradas en este estudio, coinciden con lo reportado para la especie (1.0 a 9.0 µm), sobre las cuales se desarrollan las espículas (Nobles, 1965; Sutton, *et al*, 1998; Carranza, *et al*, 2001).

La presencia de fíbulas ya sean escasas, regular cantidad o abundantes en todas las cepas, indican el estado dicariótico del micelio y garantizan el mantenimiento de este estado en las puntas de las hifas, como un paso previo a la fructificación en todos los basidiomicetes (Chang & Miles, 2004). Por tal razón, la presencia de fíbulas es indicativo de que las cepas cultivadas, formarán los basidiomas cuando se estudien con fines de producción.

La formación de clamidosporas fue observada principalmente en la cepa *S. commune* 30.07, la cual presentó estas estructuras en PDA y CZD a 18 y 26°C, así

como en EMA a 26°C. Las cepas *S. commune* 52.03 y 296.02 también las formaron en CZD, tanto a 18°C, como a 26°C y la cepa 108.01 las presentó en PDA a 18°C. Solamente la cepa *S. commune* 46.02 no mostró la formación de estas estructuras. Es importante señalar que las clamidosporas son estructuras de resistencia, que se forman cuando las condiciones ambientales son adversas (Chang & Miles, 2004), por lo que su presencia en los cultivos indican condiciones desfavorables para el desarrollo del micelio y por lo tanto no se considera una característica deseable.

Sintetizando todas las características de crecimiento miceliar, macro y microscópicas de las colonias de las cepas estudiadas, se pude inferir que la cepa 52.03, alcanzó el mayor diámetro de crecimiento miceliar en los medios PDA y EMA, no presentó cambios de color en el reverso de las colonias y tampoco formó clamidosporas, por lo que se considera promisoria para ser cultivada con fines de productividad.

Por el contrario, la cepa *S. commune* 30.07 presentó los menores diámetros de crecimiento miceliar, coloración en el reverso de las colonias y producción de clamidosporas, características que no son prometedoras para su cultivo en condiciones de laboratorio. Sin embargo, es necesario estudiarla en cuanto a la producción de metabolitos secundarios tales como inmunomoduladores y otros, los cuales se pueden utilizar con fines medicinales (Lindequist, *et al*, 2005).

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

En este sentido, la *S. commune* cepa 108.01 lo produjo en menor tiempo en trigo, siendo el lapso más corto a 26ºC, con respecto a lo observado 18ºC. Por lo tanto, se recomienda la elaboración del inóculo en trigo a 26ºC puesto que con relación a los otros granos, existe diferencia estadísticamente significativa ($p<0.05$).

La producción de inóculo de las cepas *S. commune* 108.01 y 52.03 fue similar, ya que en ambas, el menor tiempo fue observado en los granos de trigo tanto a 26ºC como a 18ºC. No obstante, para la cepa *S. commune* 52.03 a 26ºC puede ser utilizado alternativamente el grano de cebada, debido a que no mostró diferencia significativa con el trigo ($p>0.05$). La elaboración de inóculo en granos trigo, ha sido exitosa para otras especies, 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).

En la cepa *S. commune* 296.02, a 26ºC, el inóculo obtenido en menor tiempo fue en cebada y en trigo ya que no presentan diferencia significativa entre ambos ($p>0.05$). Sin embargo, se recomienda el uso de cebada, ya que el trigo no presenta diferencia con los otros granos ($p>0.05$). A 18ºC, el comportamiento de la cepa fue distinto, siendo el menor tiempo de producción de inóculo en trigo, encontrando diferencia significativa ($p<0.05$) al compararlo con los otros sustratos.

La cepa *S. commune* 30.07 a 26ºC, el inóculo se produjo en menor tiempo en tres de los granos utilizados, cebada, arroz y sorgo, entre los cuales no existe diferencia significativa ($p>0.05$). Por el contrario, a 18ºC, esta cepa colonizó en menor tiempo el grano de trigo, el cual presenta diferencia ($p<0.05$) con los demás.

En las cepas *S. commune* 296.02 y 30.07, el inoculo fue obtenido en menor tiempo en cebada a 26 ºC. Sin embargo, en el caso de la cepa 296.02 alternativamente puede ser utilizado también el trigo ya que este grano no tuvo diferencia significativa ($p>0.05$) con la cebada. En cuanto a la cepa *S. commune* 30.07, se puede utilizar también el arroz, ya que en este caso tampoco se presentó diferencia significativa entre ambos granos ($p>0.05$).

Acerca de la producción del inóculo de hongos comestibles en granos de cebada, no se ha encontrado ninguna referencia que indique la utilización de este sustrato para tal fin, por lo que no se puede establecer comparación alguna. 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 de algunas cepas guatemaltecas de *S. commune.*

Con respecto a la cepa *S. commune* 46.02, el inóculo se produjo en menor tiempo a 26ºC en arroz, no mostrando diferencia significativa con el sorgo, por lo cual ambos granos podrían ser utilizados para la elaboración del inoculo. Referente al uso de los granos de arroz para la producción de inóculo, solamente se encontró un reporte publicado donde se utiliza este grano, indicando que la cepa híbrida de *Pleurotus ostreatus* x *P. ostreatus var*. *florida* (ICIDCA-184), necesitó tres semanas para desarrollar el inóculo (Cruz, *et al*, 2008).

En el comportamiento general de las cepas a 18ºC se puede observar que todas (*S. commune* 108.01, 52.03, 296.02, 30.07 y 46.02), tuvieron un menor tiempo de colonización en los granos de trigo, siendo este el sustrato más recomendado ya que en todos los casos presenta diferencia significativa con los otros granos ($p<0.05$). Es importante notar que las cepas de *S. commune* 108.01, 30.07 y 46.02 a 18ºC, presentan un mismo patrón de colonización de sustratos, siendo el mejor sustrato para estas cepas el trigo, seguido por el arroz, sorgo y cebada. Las dos restantes, obtuvieron diferentes preferencias en cuanto a los granos.

El comportamiento general de las cepas a 26ºC en cuanto a la preferencia de colonización de los granos fue diferente en todas las cepas, ya que, las cepas *S. commune* 180.01 y *S. commune* 52.03 mostraron el menor tiempo de producción de inóculo en trigo, en tanto que las cepas 296.02 y 30.07, lo presentaron en cebada y por último, la cepa *S. commune* 46.02 lo obtuvo en arroz.

Comparativamente, el tiempo de producción del inóculo utilizando trigo, fue similar a los reportados para granos de sorgo en otros estudios, ya que se ha encontrado que cepas de *Pleurotus ostreatus, P. djamor y P. pulmonarius* (Fr.), logran la producción de inóculo en periodos de una a tres semanas en condiciones de

oscuridad (Cetz, *et al*, 2000; López, *et al*, 2005; Rodríguez, *et al,* 2006; Cayetano & Bernabé, 2008).

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

Con respecto a la evaluación de la productividad, es importante mencionar que las cepas de los hongos varían en su capacidad de convertir los sustratos en cuerpos fructíferos y es de suma relevancia cuantificar dicho comportamiento (Stamets, 1993).

A este respecto, inicialmente se comenta que todas las cepas evaluadas en este estudio no presentaron crecimiento en los sustratos S2 y S3. En el caso del sustrato S2, es pertinente señalar que éste estaba constituido por los mismos materiales que el sustrato S4 (en el cual si se logró el crecimiento de las cepas), sin embargo, el primero no fue decontaminado mediante esterilización, sino que se desinfectó por el método de inmersión en agua alcalina al 2% (pH 12 ± 1), método que es eficaz en el cultivo de *Pleurotus ostreatus* bajo condiciones artesanales (León-Monzón, *et al*, 2004). (Contreras, *et al*, 2004). La falta de crecimiento bajo dichas condiciones es indicativo que *S. commune* no tolera valores de pH alcalinos, sino más bien prefiere valores de pH entre 5 -7, como se ha indicado (Niederpruem & Wessels, 1969).

En el caso del sustrato S3, los componentes (básicamente pulpa de café y rastrojo de maíz) fueron sometidos a un proceso de composteo y pasteurización, para facilitar luego el desarrollo del micelio de *S. commune*. Sin embargo, el micelio no fue capaz de desarrollarse en dichos materiales, lo cual puede sugerir que *S. commune* prefiere los sustratos lignocelulócicos no muy degradados, antes que celulosas y hemicelulosas parcialmente degradadas presentes en la pulpa de café sometida a un proceso secado y composteo previo (Sánchez, 2001).

Por otra parte, el tiempo que tardaron las cepas en colonizar los sustratos y producir los cuerpos fructíferos, fue mayor en el sustrato S1, comparado con el sustrato S4. Esta diferencia de tiempo, puede ser explicada en el hecho que la viruta de pino es un material con un contenido alto de lignina y por lo tanto difícil de degradar, en contraste con el olote y rastrojo de maíz, cuyo contenido de lignina es mínimo. Además, el proceso de la degradación de la lignina es un proceso invariablemente lento (Alexander, 1980), por lo que era de esperarse que las cepas de *S. commune* tardaran más en desarrollarse en el sustrato S1.

Con relación a la productividad de cada una de las cepas, se puede mencionar que todas ellas tuvieron un comportamiento diferente en cuanto a la EB lograda en los sustratos S1 y S4 y dada la diferente composición lignocelulócica de los mismos, las diferencias pueden indicar habilidades degradativas de las cepas. Así, la cepa *S. commune* 296.02 obtuvo la EB más alta en el sustrato S1, no así en el sustrato S4, donde obtuvo un valor bajo, lo cual es sugestivo de una buena capacidad lignolítica. La cepa *S. commune* 108.01 logró una EB alta en el sustrato S4, no así en el sustrato S1. La cepa *S. commune* 30.07 mostró una EB con valor moderado en el sustrato S4, pero

un valor muy bajo en el sustrato S1. La cepa *S. commune* 46.02 fue la única que obtuvo valores bajos de EB en ambos sustratos. Las cepas que obtuvieron mayor EB en el sustrato S4 podrían ser buenas degradadotas de celulosas.

Una excepción la constituyó la cepa *S. commune* 52.03, ya que alcanzó valores de EB altos en ambos sustratos. Lamentablemente, no se cuentan con referencias sobre el cultivo de *S. commune* para la producción de cuerpos fructíferos, por lo que no es posible establecer comparación alguna con estudios previos.

Concerniente a la Tasa de producción (TP), se pudo observar que ésta fue mayor cuando la EB se vio incrementada y cuando el tiempo transcurrido entre la siembra y la cosecha de los cuerpos fructíferos era corto. Por tal razón, se puede indicar que la cepa *S. commune* 296.02 en el sustrato S1 y las cepas *S. commune* 52.03 y *S. commune* 108.01 en el sustrato S4, producen una mayor cantidad de cuerpos fructíferos en un período determinado, por lo que su productividad se ve incrementada y son promisorias para su cultivo a gran escala.

Por otra parte, todas las cepas produjeron la mayor cantidad de cuerpos fructíferos con píleos menores a 2.0 cm de diámetro (grupo G1) y una menor cantidad con píleos entre 2.0 y 4.0 cm (grupo G2) y solamente la cepa *S. commune* 52.03 desarrolló hongos con píleos mayores a 4.0 cm (grupo G3), cuando se cultivaron en los sustratos S1 y S4. El diámetro de los píleos producidos en este estudio, se encuentra dentro del rango reportado en la naturaleza, el cual va de 0.7 a 3.0 cm (Mata, *et al*, 1999; Guzmán, 2003).

Adicionalmente, debido a que la mayoría de las cepas presentaron mayores valores de EB en el sustrato S4 (con excepción de la cepa *S. commune* 296.02) y estando conformado éste por dos materiales relativamente abundantes y de bajo costo, se considera efectivo para el cultivo de las cepas de *S. commune* estudiadas y además hace aún más factible el cultivo de este hongo en condiciones artesanales.

Debido a que ninguna de las cepas evaluadas en la presente investigación, alcanzó el 50% de eficiencia biológica en el sustrato a base de viruta de madera, se rechaza la hipótesis referente a la productividad.

Por otra parte, los problemas de contaminación observados durante la fructificación de las cepas de *S. commune*, son comunes también en el cultivo de otras especies tales como *Pleurotus* spp. En el cultivo de *Pleurotus* se ha observado que hongos como *Trichoderma* y *Penicillium* atacan los sustratos. *Trichoderma*, es especialmente dañino ya que invade rápidamente el sustrato y obstaculiza el micelio del hongo comestible, mediante la producción de toxinas y antifúngicos. Además, la presencia de *Serratia* sp. no se ha observado en otros cultivos de hongos comestibles, sino que la principal bacteria patógena en este tipo de cultivo es *Pseudomonas* spp (Gea, 2001). Afortunadamente, la presencia de contaminación no afectó la productividad de las cepas de *S. commune* evaluadas.

En este estudio, para la cepa *S. commune* 52.03, el crecimiento miceliar se relacionó con la productividad, ya que no solamente mostró el mayor diámetro de las colonias en el medio PDA y sino que también presentó el valor más alto de EB en el sustrato S4, comparado con las demás cepas evaluadas. Por tal razón, se concluye que esta cepa posee un gran potencial para ser utilizada en el cultivo artesanal de *S. commune* en comunidades rurales.

En síntesis, las condiciones de cultivo para cada una de las cepas y que fueron documentadas en esta investigación, son las siguientes:

Para las cepas *S. commune* 52.03 y 108.01, el crecimiento miceliar debe realizarse en el medio PDA a 26ºC, la producción de inóculo en granos de trigo a 26ºC y la fructificación debe efectuarse en el sustrato S4.

Para la cepa *S. commune* 296.02, el crecimiento miceliar debe efectuarse en el medio PDA a 26ºC, el inóculo debe producirse en cebada a 26ºC y la fructificación debe realizarse en el sustrato S1.

Para las cepas *S. commune* 30.07 y 46.02, el crecimiento miceliar debe hacerse en el medio EMA a 26ºC, la producción de inóculo debe realizarse en cebada para la cepa *S. commune* 30.07 y en arroz para la cepa *S. commune* 46.02 y la fructificación en ambas cepas debe efectuarse en el sustrato S4.

X. CONCLUSIONES

1. La temperatura adecuada de incubación de las cepas evaluadas de *S. commune,* para obtener el mejor crecimiento miceliar es 26°C.

2. La cepa 52.03 fue la que tuvo el mayor crecimiento miceliar de todas las cepas estudiadas.

3. El medio PDA, tanto a 18°C como a 26°C, es el más apropiado para el cultivo de la cepa 52.03.

4. Las cepas 108.01 y 296.02, deben cultivarse en EMA a 18°C y en PDA a 26°C.

5. Las cepas 30.07 y 46.02 deben cultivarse en EMA, a ambas temperaturas de incubación.

6. No se observó diferencia estadísticamente significativa entre los medios de PDA y EMA para el crecimiento miceliar de *S. commune.*

7. Las cepas presentaron colonias con anverso de color blanco y textura algodonosa con regular o abundante micelio aéreo, bordes definidos y un crecimiento miceliar radial, presentaron circular o casi circular, en los medios EMA y PDA,a 18°C y 26°C.

8. Las cepas desarrollaron colonias con “micelio caótico”, en el medio CZD, tanto a 18°C como a 26°C.

9. El reverso de las colonias de las cepas 46.02 y 30.07 a 18°C, en los medios EMA y PDA, fue de color amarillento y la cepa 30.07 presentó reverso de color amarillo a 26°C, en el medio EMA. El resto de cepas y colonias no presentaron cambio de coloración en el reverso.

10. Se observó presencia de exudado en todos los cultivos de las cepas, en los medios EMA y PDA, a 26°C de incubación.

11. Los olores percibidos en las colonias de las cepas evaluadas fueron afrutado, fermentado y desagradable.

12. Todas las cepas presentaron minúsculas proyecciones sobre las paredes hifales (espículas), fíbulas e hifas entre 1.0 a 9.0 µm.

13. La cepa 46.02 no mostró la formación de clamidosporas, no así las otras cepas.

14. El inóculo de la cepa de *S. commune* 108.2001 se produjo en menor tiempo en granos de trigo, tanto a 26ºC como a 18ºC (10.40 y 14.00 días, respectivamente).

15. En la cepa de *S. commune* 52.2003, el inóculo se produjo en menor tiempo en granos de trigo tanto a 26 como a 18ºC (10.30 y 13.10 días, respectivamente).

16. En la cepa de *S. commune* 296.2002, el inóculo se produjo en menor tiempo en granos de cebada (11.40 días) a 26ºC y en granos de trigo (16.55 días) a 18ºC.

17. El inóculo de la cepa de *S. commune* 30.2007, se produjo en menor tiempo en granos de cebada (12.20 días) a 26ºC y en granos de trigo (20.50 días) a 18ºC.

18. En la cepa de *S. commune* 46.2002, el inóculo se produjo en menor tiempo en granos de arroz (12.40 días) a 26ºC y en granos de trigo (19.90 días) a 18ºC.

19. Las cepas de *S. commune* 108.2001, 30.2007 y 46.2002, presentaron el mismo comportamiento en cuanto a la producción del inóculo a 18ºC de incubación.

20. No se obtuvo crecimiento del micelio de ninguna de las cepas en los sustratos 2 y 3 (S2 y S3).

21. Los tiempos de colonización del micelio de las cepas hasta la cosecha de los basidiomas en los sustratos 3 y 4 (S1 y S4), fue de 48 y 28 días, respectivamente.

22. Todas las cepas evaluadas el mayor porcentaje de cuerpos fructíferos con píleos menores a 2.0 cm de diámetro.

23. La cepa 296.01 obtuvo su mayor EB en el sustrato S1 (4.98 %), con una tasa de producción de 0.10 y cuerpos fructíferos no mayores de 4.0 cm de diámetro.

24. La cepa 52.03 obtuvo su mayor EB en el sustrato S4 (5.50 %), con una tasa de producción de 0.19 y con cuerpos fructíferos de menos de 2.0 cm, hasta más de 4.0 cm de diámetro.

25. La cepa 108.01 presentó su mayor EB en el sustrato S4 (4.54 %), con una tasa de producción de 0.16 y con cuerpos fructíferos no mayores de 4.0 cm de diámetro.

26. La cepa 46.02 mostró su mayor EB en el sustrato S4 (1.83 %), con una tasa de producción de 0.06 y con cuerpos fructíferos no mayores de 4.0 cm de diámetro.

27. La cepa 30.07, evidenció su mayor EB en el sustrato S4 (3.30 %), con una tasa de producción de 0.12 y con cuerpos fructíferos no mayores de 4.0 cm de diámetro.

28. Los contaminantes más frecuentes fueron *Trichoderma* sp, seguido de *Penicillium* sp y *Serratia* sp, en los sustratos S1 y S4.

XI. RECOMENDACIONES

1. Es importante evaluar las cinco cepas de *S. commune*, en otros medios de cultivo y temperaturas para documentar una mayor cantidad de características fisiológicas de las mismas.

2. Es necesario realizar pruebas a nivel molecular para determinar la variación genotípica de las cepas de *S. commune* y compararlas con las de otras regiones del mundo.

3. Investigar las aplicaciones medicinales de las cepas de *S. commune*.

4. Recolectar más cepas nativas de *Schizophyllum* para ampliar los estudios de este género.

5. Realizar más estudios sobre la producción de inóculo en diferentes sustratos, tales como aserrines y otros granos, para documentar el comportamiento de las cepas nativas sobre ellos.

6. Evaluar la pulpa de café seca sin compostear y también la pulpa fresca composteada, para la producción de cuerpos fructíferos de *S. commune.*

7. Estudiar el comportamiento de las cepas de *S. commune* bajo diferentes condiciones de pH, tanto *in vitro*, como a nivel de sustrato para la producción de cuerpos fructíferos.

8. Evaluar la capacidad bioquímica de las cepas de *S. commune* para la utilización de las mismas en la producción de metabolitos secundarios de importancia industrial y de biorremediación.

XII. BIBLIOGRAFÍA

1. Alexander, M. 1980. Introducción a la microbiología del suelo. AGT, Editor S.A. México. 491p. p389.
2. Alexopoulos C. 1996. Introductory Mycology. 4ª. ed. USA: John Wiley & Sons Inc. 896p.
3. 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.
4. Argueta J. 1983. Estudio de los macromicetos de la Ciudad de Guatemala, Mixco y San Juan Sacatepéquez. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 86p.
5. Bran M. *et al*. 2,004. 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.
6. 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.
7. 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 técnico final 2003. Guatemala, 58p.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Bull, A. *et al.* 2000. Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 64 (3): 573–606.
12. Carranza J., Ruiz-Boyer A. 2001. Cultural studies on some genera of basidiomycetes (Basidiomycota) from Costa Rica. Harvard Papers in Botany 6 (1): 57-81.
13. Cayetano, M., Bernabé, T. 2008. Cultivo de *Pleurotus* sobre residuos de las cosechas de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y plátano (*Musa paradisiaca*). Rev. Mex. Mic. 26: 57-60.
14. Cetz, G., Ancona, L., Belmar, R. 2000. Cultivo de *Pleurotus djamor* en rastrojo de calabaza. Rev. Mex. Mic. 16: 41-43.
15. Chang S., Miles P. 2004. Mushrooms cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. 2a. ed. USA: CRC Press. 451p.

16. Clark T., Anderson J. 2004. Dikaryons of the basidiomycete fungus *Schizophyllum commune*: Evolution in long-term culture. Genetics 167:1663-1675.
17. 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.
18. Croan S., Kim Y. 1999. Carporogenesis and basidiosporogenesis by *Flammulina velutipes*, *Schizophyllum commune* and *Trametes versicolor in vitro*. U.S.A.: U.S. Department of Agriculture. 16p.
19. Cruz, L., *et.al.* 2008. Inoculación de *Pleurotus ostreatus* (8 % p/p) y su influencia sobre algunos indicadores químicos en una mezcla de residuos fibrosos de la industria azucarera. Instituto de Investigaciones Agropecuarias Jorge Dimitrov, Bayamo, Granma, Cuba. Disponible en: http://www.reduc.edu.cu/147/04/2/14704212.pdf. Fecha de consulta. 04 de Julio de 2008.
20. De León R. 2003. Cultivation of edible and medicinal mushrooms in Guatemala, Central America. Micol. Apl. Int. 15 (1): 31-35.
21. De León, R., Guzmán, G., Martínez-Carrera, D. 1988. Planta productora de hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus*) en Guatemala. Rev. Mex. Mic. 4: 297-301.
22. 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.
23. 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.
24. Galagan, J., Henn, M., Cuomo, C., Birren, B. 2005. Genomics of the fungal kingdom: Insights into eukaryotic biology. Genome Res. 15: 1620-163.
25. Gea, F. 2001. Plagas y enfermedades del género *Pleurotus* spp. *En*: La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. Ed. LIMUSA, S. A. México. 294p. p213-217.
26. Guarro J., Gené J., Stchigel A. 1999. Developments in fungal taxonomy. Clin. Microbiol. Rev. 12 (3): 454-500.
27. Guzmán G. 2003. Los hongos del Edén, Quintana Roo; Introducción a la micobiota tropical de México. México: Instituto de Ecología, 316p.
28. Haltrich D., Sebesta B. 1995. Steiner W. Induction of xilanase and cellulase in *Schizophyllum commune*. En: Enzymatic Degradation of Insoluble Carbohydrates. Saddler J., Pender M. eds. Washintong, USA: American Chemical Society, 374p.
29. Hawksworth, D. 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. Mycol. Res. 95 (6): 641-655.
30. Hawksworth, D. 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. Mycol. Res. 105 (12): 1422-1432.
31. Hawksworth, D. 2006. Pandora's mycological box: molecular sequences vs. morphology in understanding fungal relationships and biodiversity. Rev. Iberoam. Micol. 23: 127-133.
32. Hawksworth, D., *et al.* 1995. Ainsworth & Bisby's, dictionary of the fungi. 8th ed. CAB International. United Kingdom. 616p.

33. Herrera K. 1991. Estudio etnomicológico en la región de Chipotón Sacatepéquez. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 92p.
34. 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.
35. James T., Vilgalys R. 2001. Abundance and diversity of *Schizophyllum commune* spore clouds in the Caribbean detected by selective sampling. Mol. Ecol. 10: 471-479.
36. Kein, K. *et al.* 1997. Kinetics of asymmetric mycelia growth and control by dikaryosis and light in *Schizophyllum commune*. Mycologia 89(6): 916-923.
37. Labarère J., Bois F. 2002. La conservación y el uso de los recursos genéticos de *Pleurotus* spp. En: La Biología y el Cultivo de *Pleurotus* spp. Sánchez J., Royse D. eds. México, Editorial Limusa. 294p.
38. Lau Bonilla D. 2001. Factores que afectan el crecimiento miceliar y la degradación del sustrato por *Agrocybe aegerita*. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de Graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 56p.
39. Lechner, B., *et al*. 2002 Presence of *Pleurotus ostreatus* in Patagonia, Argentina. Rev. Iberoam. Micol. 19: 111-114.
40. León-Monzón, J., *et al.* 2004. El cultivo de *Pleurotus ostreatus* en los Altos de Chiapas, México. Rev. Mex. Mic. 18:31-38.
41. Lindequist, U., *et al.* 2005. The pharmacological potential of mushrooms. Eviden. Compl. Altern. Med. 2(3): 285–299.
42. López, E., Ancona, L., Medina, S. 2005. Cultivo de *Pleurotus djamor* en condiciones de laboratorio y en una casa rural tropical. Rev. Mex. Mic. 21:93-97.
43. Manual Oxoid. UNIPATH España S.A. 1995. 394p.
44. 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
45. Martínez-Carrera, D., Soto, C., Guzmán, G. 1985. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* en pulpa de café con paja como substrato. Rev. Mex. Mic. 1: 101-108.
46. Mata M. 1999. Macrohongos de Costa Rica. Costa Rica: Editorial INBio. Vols.2, Vol 1. 253p.
47. Mata M. *et al*. 2003. Macrohongos de Costa Rica. Costa Rica: Editorial INBio. Vols. 2, Vol 2, 240p.
48. May G., Adams T. 1997. The importance of fungi to man. Genome Res. 7:1041-1044.
49. Microbiology Manual. Merck KGaA 2000. 407p.
50. Mier T., Toriello C., Ulloa M. 2002. Hongos microscópicos saprobios y parásitos: Métodos de Laboratorio. 1ª. Ed. Universidad Nacional Autónoma de México, México, 34p.
51. 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.
52. Mueller G. *et al.* 2004. Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods. Elsevier Academic Press. USA. 777p.

53. Niederpruem, D., Wessels, J. 1969. Cytodifferentiation and morphogenesis in *Schizophyllum commune*. Bact. Rev. 33 (4): 505-535.
54. Nobles, M. 1965. Identification of cultures of wood-inhabiting Hymenomycetes. Can. J. Bot. 43: 1097-1139.
55. 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.
56. 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.
57. Quimio T., Chang S. 1990. Technical guidelines for mushroom growing in the tropics. Italia: FAO, 102p.
58. Rizzo E. 1999. Estudio taxonómico de la mycobiota del Parque Arqueológico Tikal. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 75p.
59. Rodríguez, R., *et.al.* 2006. Perspectivas de producción de hongos comestibles (*Pleurotus* spp.) en la región noroeste del estado de Nuevo León, México. Scientia-*CUCBA* 8(2):163-169.
60. Ruán-Soto, F., *et al.* 2006. Process and dynamics of traditional selling wild edible mushrooms in tropical Mexico. J. Ethnobiol. Ethnomed. 2 (3): 46-59.
61. Salmones, D. *et al*. 1997. Estudios sobre el género *Pleurotus*. VIII. Interacción entre el crecimiento miceliar y productividad. Rev. Iberoam. Micol. 14: 173-176.
62. Sánchez, J. 2001. Crecimiento y fructificación. *En*: La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. Ed. LIMUSA, S. A. México. 294p. p59.
63. Sharp, A. 1948. Some fungi common to the highlands of México and Guatemala and eastern United States. Mycologia 40: 499-502.
64. Singer R. 1975.The Agaricals in modern taxonomy. 3ª. ed. Alemania: J. Cramer GmbH, 912p.
65. Sommerkamp Y. 1985. Estudio de los macromicetos del Biotopo Universitario “Lic. Mario Dary Rivera” para la conservación del quetzal. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 92p.
66. Sommerkamp Y. 1990. Hongos comestibles en los mercados de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación. Guatemala, 77p.
67. Sommerkamp, Y., G. Guzmán. 1990. Hongos de Guatemala, II. Especies depositadas en el Herbario de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Rev. Mex. Mic. 6: 179-197.
68. Stamets, P. 1993. Growing and medical mushrooms. Ten Speed Press & Mycomedia. Olympia, WA, USA. 554p. p90, 113.
69. Sutton, D. *et al.* 1998. Guide to clinically significant fungi. Ed. Williams & Wilkins, U.S.A. 471p. p360.
70. Takeda K., Okumura K. 2004. CAM and NK Cells. Eviden. Compl. Altern. Med. 1 (1): 17-27.

71. 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.
72. Villa-Cruz, V., *et al.* 1999. Fermentation of a mixture of corncobs and coffee pulp for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. Micol. Neotrop. Appl. 12: 67-74.

XIII. ANEXOS

Anexo 1. Hoja de toma de datos del crecimiento miceliar de las cepas de *S. commune*

HOJA DE TOMA DE DATOS DE CRECIMIENTO MICELIAR

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 2. Hoja de toma de datos del inóculo de las cepas de *S. commune*

HOJA DE TOMA DE DATOS DE LA COLONIZACIÓN MICELIAR

Cepa:_____Vehículo:_____Temperatura_____Fecha de inicio_____

Fecha								
Rep.	Avance	Avance	Avance	Avance	Avance	Avance	Avance	Tiempo final
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								

Observaciones:_____
_____

Anexo 3. Porcentaje de humedad y peso seco de los sustratos para la producción de cuerpos fructíferos de *S. commune*

Sustrato	Porcentaje de humedad	Peso del sustrato húmedo	Peso seco del sustrato
S1	68.88 %	1000 g	311.2 g
S2	75.65 %	1000 g	243.5 g
S3	72.35 %	1000 g	276.5 g
S4	70.21 %	1000 g	297.9 g

Anexo 4. Hoja de toma de datos de la fructificación de las cepas de *S. commune*

HOJA DE CONTROL DE FRUCTIFICACIÓN

CEPA:_____SUSTRATO:_____NO. REPETICIÓN_____

Fecha de siembra:_____Fecha (salida a fructificación):_____

No. Cose-cha	Fecha	Peso Total (g)	Diámetro G1 (<2 cm)		Diámetro G2 (2-4 cm)		Diámetro G3 (>4 cm)	
			Número de basidiomas	Peso (g)	Número de basidiomas	Peso (g)	Número de basidiomas	Peso (g)
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								

Observaciones:_____
_____
_____