

Guatemala, 31 de Octubre del 2017

M Sc. Gerardo L. Arroyo C.  
Director General de Investigación  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Maestro Arroyo:

Adjunto a la presente el informe final **“Evaluación del cultivo de *Volvariella bombycina* (Schaeff) bajo condiciones controladas utilizando cepas nativas en distintos sustratos considerados como desechos agroindustriales”** (partida presupuestal 4.8.63.6.02), coordinado por el ingeniero **Julio Ernesto Peralta Rivera** y avalado por el Instituto de Investigaciones Agronómicas y Ambientales de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Este informe final fue elaborado de acuerdo a la guía de presentación de la Dirección General de Investigación y revisado su contenido en función de los objetivos planteados y productos esperados, por lo que esta unidad de investigación da la aprobación y aval correspondiente. Así mismo me comprometo a dar seguimiento a la gestión del aval y la publicación del artículo científico.

Sin otro particular, suscribo atentamente.

“Id y enseñad a todos”

Ing. Agr. Mario Godínez  
Decano  
Facultad de Agronomía

Anexo: lo indicado.

Firma y Sello,  
Director, Unidad Avaladora.

Universidad de San Carlos de Guatemala  
Dirección General de Investigación  
Programa Universitario de Investigación en Desarrollo Industrial

## **INFORME FINAL**

**Evaluación del cultivo de *Volvariella bombycina* (Schaeff) bajo condiciones controladas utilizando cepas nativas en diferentes sustratos considerados como desechos agroindustriales**

Equipo de investigación

**Nombre del coordinador / investigador**  
**Ing. Agr. Julio Ernesto Peralta Rivera**

**Nombre del investigador asociado (a)**  
**Dr. Edín Francisco Orozco Miranda**

**Guatemala 31 de octubre de 2017**

**Instituto de Investigaciones Agronómicas y Ambientales**

M.Sc. Gerardo Arroyo Catalán  
Director General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar  
Coordinador General de Programas

Inga. Liuba Cabrera  
Coordinador del Programa de Investigación

Ing. Agr. Julio Ernesto Peralta Rivera  
Coordinador del proyecto.

Partida Presupuestaria  
4.8.63.6.02

Año de ejecución: 2017



## Índice general

1.	Resumen .....	6
2.	Abstract .....	7
3.	Introducción .....	8
4.	Marco teórico y estado del arte .....	10
4.1.	Hongos Volvariella .....	10
4.2.	Volvariella bombycina .....	10
4.3.	Descripción de la especie .....	10
4.4.	Taxonomía de <i>V. bombycina</i> .....	11
4.5.	Hábitat .....	11
4.6.	Propiedades nutritivas y medicinales de <i>V. bombycina</i> .....	12
4.7.	Algunos estudios importantes realizados sobre el cultivo de <i>Volvariella bombycina</i> .....	12
4.8.	Cultivo de hongos comestibles en Guatemala .....	13
4.9.	Principales especies de hongos comestibles cultivados en Guatemala .....	14
5.	Materiales y métodos .....	14
5.1.	Colecta de especímenes de <i>V. bombycina</i> .....	14
5.2.	Fase de laboratorio .....	15
5.3.	Aislamiento de cepas .....	15
5.4.	Revitalización de las cepas .....	15
5.5.	Cálculo de la tasa de extensión radial (RER) .....	15
5.6.	Elaboración del inóculo, semilla o spawn .....	16
5.7.	Selección de sustratos para la producción de cuerpos fructíferos .....	17
5.8.	Producción de cuerpos fructíferos de <i>V. bombycina</i> .....	18
5.9.	Calculo de la eficiencia biológica .....	20
5.10.	Análisis de los datos .....	20
6.	Resultados .....	22
6.1.	Aislamiento de cepas y caracterización macro y microscópica .....	22
6.2.	Tasa de extensión radial para producción del inóculo .....	24
6.3.	Matriz de Resultados .....	29
6.4.	Impacto esperado .....	30
7.	Análisis y discusión de resultados .....	30
8.	Conclusiones .....	32

9.	Recomendaciones .....	33
10.	Referencias.....	34
11.	Apéndice .....	37
12.	Actividades de gestión, vinculación y divulgación .....	37
13.	Orden de pago.....	38

### Índice de Figuras

Figura. 1.	Aspecto del micelio de las cepas VNPNU-01 y AADM-01. Cepa AADM-01 formando primordios luego de colonizar el medio de cultivo.....	22
Figura. 2.	Aspecto y tipo de colonización de la cepa VNPNU-02. Formación.....	23
Figura. 3.	Micelio de la cepa VNPNU-01. Clamidosporas presentes en el micelio cultivado a 30°C. ....	23
Figura. 4.	Micelio con clamidosporas de la cepa AADM-01 cultivada a 30°C.....	23
Figura. 5.	Micelio de la cepa VNPNU-02. Estructuras de levadura presente en el micelio de <i>V. bombycina</i> . ....	24
Figura. 6.	Producción de inóculo de <i>V. bombycina</i> . Colonización de.....	24
Figura. 7.	Producción de inóculo de <i>V. bombycina</i> . Colonización.....	25
Figura. 8.	Producción de inóculo de <i>V. bombycina</i> . Colonización.....	25
Figura. 9.	Cuerpos fructíferos obtenidos con la cepa VNPNU-02.....	28
Figura. 10.	Cuerpos fructíferos obtenidos en tronco triturado de tonché con la cepa VNPNU-01 .....	28
Figura. 11.	Cuerpos fructíferos de <i>V. bombycina</i> obtenidos en olote de maíz con la cepa AADM-01 .....	29

### Índice de gráficas

Gráfica. 1.	Efecto de las cepas sobre RER en diferentes sustratos. Las barras de error indican la media $\pm$ la desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).....	26
Gráfica. 2.	Efecto de los granos con respecto a RER sin importar las cepas evaluadas. Las barras de error indican la media $\pm$ la desviación estándar. ....	26
Gráfica. 3.	Comportamiento de las cepas sin importar los granos utilizados. Las barras de error indican la media $\pm$ la desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).....	27

### Índice de Tablas

Tabla 1.	Tasa de extensión radial para producción de inóculo .....	25
----------	---	----

## **Evaluación del cultivo de *Volvariella bombycina* (Schaeff) bajo condiciones controladas utilizando cepas nativas en diferentes sustratos considerados como desechos agroindustriales**

### **1. Resumen**

*Volvariella bombycina* es una especie de hongo saprófito comestible que crece en troncos de árboles muertos. Este hongo está ampliamente distribuido en Europa, Asia y América y se cultiva artesanalmente en países como la India, debido a su delicado sabor, su alto contenido de nutrientes y propiedades medicinales. En Guatemala esta especie es consumida por agricultores y otras personas conocedoras en las zonas de donde es originario, sin embargo, aún no se cuenta con información sobre su cultivo. Por tal razón se realizó la presente investigación con la finalidad de conocer su comportamiento bajo condiciones controladas y encontrar cepas productivas para ensayar su cultivo con desechos agroindustriales locales. Las cepas evaluadas fueron VNPNU-01, VNPNU-02 y AADM-01, provenientes de Villa Nueva y Amatitlán. El aislamiento se realizó en medio PDA y se incubaron a una temperatura de 30°C. Para la producción del inóculo se evaluaron granos de sorgo y trigo con lo cual se calculó la tasa de extensión radial (RER). Para la obtención de cuerpos fructíferos se evaluó pasto jaraguá, caña y olote de maíz, rastrojo de frijol, paja de trigo, paja de arroz y tronco de tonché como sustratos. El análisis estadístico mostró que no existen diferencias significativas entre las cepas VNPNU-01 y AADM-01 en cuanto a la tasa de extensión radial y el tipo de grano utilizado, pero si comparado con la cepa, VNPNU-02. Se obtuvieron cuerpos fructíferos en tronco triturado de tonché para la cepa VNPNU-01, en paja de trigo para la cepa VNPNU-02 y en olote de maíz para la cepa AADM-01.

*Palabras clave:* *Ipomoeamurucoides*, hongo, cultivo, antitumoral

## 2. Abstract

*Volvariella bombycina* is a species of edible saprotrophic mushroom that grows on trunks of dead trees. This species is widely distributed in Europe, Asia and America and is cultivated in countries such as India, due to its delicate flavor, high content of nutrients and medicinal properties. In Guatemala it is consumed by farmers and other people in the areas where it originates, however, there is still no information about its cultivation. For this reason, this research aimed to study strains under controlled conditions and find the most productive to evaluate their cultivation with local agroindustrial wastes. The strains evaluated were VNPNU-01, VNPNU-02 and AADM-01, from Villa Nueva and Amatitlán. The isolation was carried out in PDA medium and incubated at a temperature of 30°C. The inoculum production was evaluated in sorghum and wheat grains and the radial extension rate (RER) was calculated. For the production of fruiting bodies, we evaluated jaraguá grass, corn tassel, bean tassel, wheat straw, rice straw and tonché trunk as substrates. The statistical analysis showed that there are no significant differences between strains VNPNU-01 and AADM-01 in terms of the rate of radial extension and the type of grain used, but if there was when compared with the strain, VNPNU-02. Fruiting bodies were obtained in triturated tonché trunk for strain VNPNU-01, in wheat straw for strain VNPNU-02 and in corn cob for strain AADM-01.

**Keywords:** *Ipomoea murucoides*, mushroom, culture, antitumor

### 3. Introducción

Una de las alternativas que existe para reducir el hambre y la desnutrición en el mundo es la utilización de hongos, por su facilidad de cultivo, propiedades nutritivas y medicinales y uso de desechos agroindustriales que están al alcance de muchas personas de escasos recursos (Mushworld, 2005; Stamets, 2005). Uno de los hongos más cultivados en el mundo es el género *Volvariella*, el cual es llamado hongo de la paja (Ahlawat & Tewari, 2007). En México se han realizado diversos estudios sobre el cultivo de este género utilizando pajas de cereales y desechos agroindustriales (Guzmán, Mata, Salmones, Soto-Velazco, & Guzmán-Dávalos, 1993; Julián & Salmones, 2006; Rendón, 2015; Salmones, Martínez-Carrera & Guzmán, 1988; Salmones, Waliszewski, Krzysztof, & Guzmán, 1996;). En Guatemala, De León (1985), cultivó la especie *V. bakeri in vitro* utilizando distintos desechos agroindustriales a nivel de laboratorio, entre ellos paja de trigo, obteniendo resultados positivos.

Existen varias especies que pertenecen a este género entre las que se encuentra *Volvariella bombycina*, la cual está ampliamente distribuida en el mundo (Seok, et al., 2002). *V. bombycina* es una especie saprófita comestible que crece sobre troncos de árboles muertos, los cuales le sirven de alimento. Es una especie apreciada por su delicado sabor y su alto contenido de nutrientes; además posee propiedades medicinales especialmente anticancerígenas y antitumorales (Badalyan, 2003). También se le han encontrado propiedades antibacterianas (Jegadeesh, et al., 2010)

Se han realizado distintos estudios sobre el cultivo de este hongo utilizando principalmente desechos agroindustriales obteniendo buenos resultados con pajas de cereales (Julián y Salmones, 2006; MuthusamyKarnan, Tamilkani, Senthilkumar, Vijayalakshmi, & Panneerselvam, 2016; Rendón, 2015). El hábitat natural de este hongo se ha ido reduciendo debido a la deforestación y el cambio de uso de la tierra, provocando su escasez y poniéndola en peligro de extinción. En algunos países de Europa, esta especie se encuentra protegida debido a su importancia nutricional y medicinal, existiendo leyes para su protección (Szczepkowski, Kujawa, & Halama, 2013). En Guatemala este hongo es consumido en el área rural especialmente por



agricultores quienes lo conocen como “hongo del tonché”, por crecer en troncos muertos de *Ipomoea murucoides*, conocido popularmente como tonché (Standley & Steyermark, 1946). No existe hasta el momento información sobre el cultivo de *V. bombycina* en Guatemala por lo cual se hace necesario conocer su comportamiento al ser cultivada bajo condiciones controladas. Por tal razón se estudió el cultivo de cepas nativas en distintos sustratos con la finalidad de encontrar cepas productivas para proponer una nueva tecnología de producción de alimentos nutritivos. Las cepas evaluadas fueron VNPNU-01, VNPNU-02 y AADM-01, provenientes de Villa Nueva y Amatitlán. El aislamiento se realizó en medio PDA (Ahlawat & Tewari, 2007; Bran, Cáceres, Gurriarán, Morales, & Flores, 2015; Gaitán-Hernández, Salmones, Pérez-Merlo, & Mata, 2006; Mushworld, 2005) y se incubaron a una temperatura de 30°C (Salmones, et al., 1988). Para la producción del inóculo se evaluaron granos de sorgo y trigo (Ahlawat&Tewari, 2007; López, 2007; Mushworld, 2005; MuthusamyKarnan, et al., 2016) con lo cual se calculó la tasa de extensión radial (RER). Para la obtención de cuerpos fructíferos se evaluó pasto jaraguá, caña y olote de maíz, rastrojo de frijol, paja de trigo, paja de arroz y tronco de tonché como sustratos (Guzmán, et al., 1993). El análisis estadístico mostró que no existen diferencias significativas entre las cepas VNPNU-01 y AADM-01 en cuanto a la tasa de extensión radial y el tipo de grano utilizado, pero si comparado con la cepa, VNPNU-02. Se obtuvieron cuerpos fructíferos en tronco triturado de tonché para la cepa VNPNU-01, en paja de trigo para la cepa VNPNU-02 y en olote de maíz para la cepa AADM-01. Con los resultados obtenidos en la presente investigación se demuestra que las cepas locales de *V. bombycina* pueden llegar a ser cultivadas agroindustriales de forma artesanal y comercial y adaptarse a las áreas rurales del país.

#### **4. Marco teórico y estado del arte**

##### **4.1. Hongos *Volvariella***

Según Seok y colaboradores (2002), la mayoría de las especies de *Volvariella* se caracterizan por poseer un estípite que tiene una volva en la base y sin anillo, láminas libres del estípite, cuerpos fructíferos en forma de huevo al inicio y luego en forma de sombrillas al madurar, impresión de esporas de color rosa parduzco, frescas, de pared delgada y crecen en suelos de humus o de madera de árboles muertos.

##### **4.2. *Volvariella bombycina***

*V. bombycina* es un hongo comestible comúnmente llamado hongo de la paja sedoso, de plata o volvariella sedosa (Mallavadhani, et al., 2006) Es apreciado por su agradable sabor, sus características nutricionales, químicas y medicinales (Rendón, 2015).

Durante mucho tiempo ha sido valorada como alimento delicioso y nutritivo en muchos países. Este hongo se considera potencial para el cultivo ya que provee dos principales beneficios para las personas: son una fuente de alimentos e ingresos. Pero además poseen un gran potencial medicinal por lo que podrían incluirse en sistemas agrícolas integrados (MuthusamyKarnan, et al., 2016).

##### **4.3. Descripción de la especie**

*V. bombycina* tiene basidiomas característicos. En un principio están cubiertos con un velo universal que se rompe durante el desarrollo pero se mantiene como una taza visible (volva) en la base. Inicialmente en forma de huevo, pero más tarde forma un casquillo de color crema o amarillo alcanzando normalmente 5-20 cm de diámetro. Esta especie se caracteriza por tener la superficie del píleo cubierto de pelos sedosos blancos que se vuelven más oscuros con el tiempo, excediendo las láminas. El tallo es cilíndrico, liso o estriado, de color blanquecino, a veces ligeramente engrosado en la base, y

profundamente insertado en el sustrato. Tiene un olor es suave, típico de setas pero al ir madurando es algo parecido a rábano (Szczepkowski, et al., 2013).

#### **4.4. Taxonomía de *V. bombycina***

El nombre de *Volvariella bombycina* (Schaeff: Fr.) fue descrito en 1949 y 1951. Anteriormente a *V. bombycina* se le conocía con los siguientes nombres: *Agaricus bombycina* (Schaeff) 1774; *Agaricus bombycinus* Schaeff 1821; *Volvaria bombycina* (Schaeff: Fr.) 1871; *Volvariopsis bombycina* (Schaeff: Fr) 1911 (Seok, et al., 2002).

Actualmente la taxonomía de *V. bombycina* utilizando la clasificación moderna basada en el diccionario TheFungi décima edición (Kirk, Kannon, Minter, &Stalpers, 2008), es la siguiente:

Reino: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Subphylum: Agaricomycotina

Clase: Agaricomycetes

Orden: Agaricales

Familia: Pluteaceae

Género: *Volvariella*

Especie: *Volvariella bombycina* (Schaeff.: Fr.) Singer

#### **4.5. Hábitat**

*Volvariella bombycina* ha sido reportada en Europa, África, Asia, América del Sur, y Australia. Generalmente crece en grupos pequeños en las grietas de la corteza, troncos viejos y huecos, y ramas de especies de árboles de hoja caduca (Szczepkowski, et al., 2013).

En Europa, la especie ha sido registrada en árboles principalmente de hoja caduca. Curiosamente, *V. bombycina* se ha encontrado en Finlandia en pilas de compost, en parte del basidioma descompuesto de *Ganoderma australe*, nido de avispas, papel de

desecho, piedras cubiertas de arcilla, madera húmeda en edificios o muros de hormigón en una bodega (Szczepkowski, et al., 2013).

A veces esta especie puede contaminar cultivos de otros hongos disminuyendo la producción de hongos ostra al difundirse en las camas de las casas de cultivo (Seok, et al., 2002). En México se puede encontrar en especies de árboles como alcornoque, aliso, fresno, sauce y olmo (Rendón, 2015). *Volvariella bombycina* está considerada como especie amenazada en algunos países europeos (Szczepkowski, et al., 2013).

En Guatemala esta especie de hongo habita en zonas cálidas especialmente en la boca costa del país, apareciendo en época de lluvias en troncos muertos de árboles, principalmente de la especie *Ipomea murucoides* llamado localmente Tonché o Siete camisas (Standley & Steyermark, 1946), en donde crece junto con otros hongos del género *Pleurotus* (datos de observación personales).

#### **4.6. Propiedades nutritivas y medicinales de *V. bombycina***

Se han realizado estudios para determinar las propiedades nutritivas y medicinales de *V. bombycina* (Jegadeesh, et al., 2010; MuthusamyKarnan, et al., 2016). Se considera que es una especie con propiedades medicinales y es usada en la medicina tradicional del Lejano Oriente (Jegadeesh et al., 2010). Al hongo *V. bombycina* se le han descubierto propiedades antioxidantes, anti tumorales e hipercolesterolémicos (Badalyan, 2003). MuthusamyKarnan y colaboradores (2016), realizaron un estudio de *V. bombycina* en donde detectaron la presencia de alcaloides, terpenoides, azúcar, saponinas, flavonoides, proteínas y esteroides, además de propiedades nutritivas. Los compuestos químicos los utilizaron para detectar nuevos compuestos contra el cáncer de células.

#### **4.7. Algunos estudios importantes realizados sobre el cultivo de *Volvariella bombycina***

Salmones y colaboradores (1988) realizaron un estudio sobre el cultivo de *Volvariella bakeri* y *V. bombycina* en donde utilizaron desechos agro-industriales. La temperatura

óptima fue 30°C para *V. bombycina* y creció bien en un medio basado en paja de avena, paja de cebada y bagazo de caña de azúcar.

Rendón (2015) realizó un estudio sobre la caracterización y cultivo de diferentes recursos genéticos de hongos y su importancia en el desarrollo regional de la zona central de México en donde describe el uso de paja tratada con ácido acetil salicílico (aspirina) en la producción de basidiocarpos de *V. bombycina*.

Sierra, López y García (2002) en el documento “Lo que debe saber de las Setas Cultivadas” en España menciona que *V. bombycinase* cultiva sobre madera de chopo o sustratos similares a los de *Pleurotus ostreatus* requiere altas temperaturas para fructificar.

Chiu, Moore y Chang, (1989) encontraron polimorfismo de *V. bombycina* utilizando como sustratos compost de residuos de algodón, mezcla de paja y estiércol. Durante el proceso de producción describen que los cultivos se iluminan 12 h de luz a 28 ° C y 12 h de oscuridad durante el ciclo. También indican que obtuvieron cuerpos fructíferos maduros en un tiempo de 2 a 3 semanas.

MuthusamyKarnany colaboradores (2016), investigaron el cultivo de *V. bombycina* para estudiar la composición fitoquímica y el análisis químico del hongo, utilizando granos de sorgo para producir semilla y paja de arroz como medio de cultivo para obtener cuerpos fructíferos.

#### **4.8. Cultivo de hongos comestibles en Guatemala**

De León (1985), describe que el cultivo de hongos en Guatemala inició en el año 1975 y la primera especie cultivada fue *Agaricus bisporus* conocido comúnmente como champiñón. Además estudió la adaptación de una cepa nativa de *Volvariella* a nivel de laboratorio, en donde utilizaron desechos agroindustriales como sustrato para obtener cuerpos fructíferos. Posteriormente se han realizado investigaciones en donde se a identificado hongos nativos con potencial de cultivo y además se han aislado las cepas (Bran *et. al.*, 2000; Bran *et. al.*, 2003; Morales *et. al.*, 2010).

A través de los años se ha incrementado el cultivo de hongos comestibles, especialmente *Pleurotus ostreatus*, comúnmente conocido como hongos ostra. Instituciones gubernamentales y no gubernamentales (ONG's) han proporcionado tecnologías de producción de esta especie de hongo con el fin de mitigar el hambre, la pobreza y la desnutrición mediante el consumo y la venta del producto. Existen también cooperativas, asociaciones, empresas y otras organizaciones que se dedican a la comercialización de esta especie de hongo, pero pocas son las que producen diversidad de especies comestibles, en muchas ocasiones por el desconocimiento de las técnicas de cultivo. En la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, se han hecho aislamiento de cepas de hongos nativos y se ha ensayado su cultivo durante varios años (Bran, Morales, Flores y Cáceres, 2008; Bran, Cáceres, Gurriarán, Morales & Flores, 2015).

#### **4.9.Principales especies de hongos comestibles cultivados en Guatemala**

Entre las principales especies de hongos que se cultivan en Guatemala se encuentran el champiñón (*Agaricus bisporus*), hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*) y shitake (*Lentula edodes*), (Ardón, 2007). La especie más cultivada es *P. ostreatus*, de modo particular en las áreas rurales del país en donde intervienen diversas instituciones de apoyo social.

### **5. Materiales y métodos**

#### **5.1.Colecta de especímenes de *V. bombycina***

Las cepas de *V. bombycina* fueron recolectadas en los municipios de Amatitlán y Villanueva, del departamento de Guatemala, en los meses de lluvia durante los años 2016 y 2017. En total se estudiaron tres cepas, dos provenientes del Parque Naciones Unidas, Villa Nueva las cuales se codificaron como VNPNU- 01 y VNPNU-02. Asimismo una cepa proveniente de la aldea Agua de la Mina, Amatitlán la cual se codificó como AADM-01.

## **5.2.Fase de laboratorio**

La fase de laboratorio se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Esta fase inició el 15 de febrero del 2017 hasta la presente fecha.

### **5.2.1. Aislamiento de cepas**

Para el aislamiento de las cepas se siguió la metodología descrita por Mushworld (2005) utilizando medio papa-dextrosa-agar (PDA) en el cual se introdujeron trozos de aproximadamente 0.5 cm de largo del cuerpo fructífero de *V. Bombycina*, utilizando placas de Petri de 9 cm de diámetro. Las cepas fueron incubadas a 30°C según lo recomendado por (Salmones, et al, 1988), durante 8 – 19 días. Luego se purificaron y multiplicaron para aumentar la biomasa según los requerimientos de la investigación.

### **5.2.2. Revitalización de las cepas**

Las cepas aisladas en 2016 fueron revitalizadas en medio PDA utilizando cajas de Petri plásticas desechables de 9 cm de diámetro para mantenerlas en buen estado previo a su utilización.

### **5.2.3. Cálculo de la tasa de extensión radial (RER)**

Para realizar este proceso se adaptó la metodología recomendada por Coello-Castillo, Sánchez y Royse (2009).

- ✓ Los granos de trigo y sorgo fueron hidratados por un tiempo de 18 horas, hasta que alcanzaran un porcentaje de humedad aproximada del 80%. Luego fueron colocados en cajas de Petri de vidrio de 9 cm de diámetro con 30 gramos en peso húmedo mezclados con CaCO<sub>3</sub> al 1 % p/p (10g/Kg).

- ✓ Luego fueron esterilizados durante 30 minutos a 121°C y 15 psi, luego se pusieron a enfriar en una campana de flujo laminar durante 4 horas.
- ✓ Las cajas con grano fueron inoculadas con un fragmento de PDA con micelio de 5 mm de diámetro del micelio producido previamente de cada una de las cepas, realizando 7 repeticiones por sustrato y cepa.
- ✓ Cada caja se identificó con el nombre de la cepa, fecha de inoculación, tratamiento y número de repetición. Luego se pusieron a incubar a una temperatura de 30°C.
- ✓ El crecimiento miceliar fue monitoreado cada 3 días, midiendo los diámetros hasta que se observó la colonización completa de los sustratos.
- ✓ Con los datos obtenidos se calculó la Tasa de Extensión Radial (RER) utilizando la fórmula:  $RER = \frac{X2 - X1}{T2 - T1}$  (mm/día), donde **X1** es el diámetro inicial de la colonia y en mm, **X2** el diámetro final, **T1** el tiempo inicial y **T2** el tiempo final de incubación.
- ✓ Los datos obtenidos se introdujeron al programa EXCEL® colocando los siguientes parámetros: Cepa, sustrato (trigo y sorgo) y RER (tiempo de colonización de cada repetición). Luego los datos fueron introducidos al programa estadístico SPSS 16.0®, para ser analizados y crear gráficos de interacción del crecimiento de las cepas.

#### **5.2.4. Elaboración del inóculo, semilla o spawn**

Para este procedimiento se adaptó la metodología implementada por Mutusammykarnan, et al., (2015), realizando algunas modificaciones según los requerimientos de las cepas locales.

- ✓ Los granos de sorgo fueron remojados en agua durante 12 horas, luego fueron hervidos durante 15 minutos y posteriormente se secó a temperatura ambiente



extendiéndolo en una mesa sobre papel periódico para absorber la humedad, realizando rastrillado durante media hora hasta que el grano alcanzara una humedad aproximada de 12%.

- ✓ Luego se agregó carbonato de calcio  $\text{CaCO}_3$  al 0.5% p/p (5 g / Kg) para obtener un pH entre 6.6 y 6.8 para las cepas AADM-01 y VNPNU-01 y al 1% p/p (10 g / Kg) para llevar el pH a 7 para la cepa VNPNU-02.
- ✓ Luego se evaluaron tres tipos de recipientes para colocar los granos para su posterior inoculación, estos fueron frascos de 6 cm de diámetro por 7 cm de altura, bolsas de polipapel de 27cm de largo y 18 cm de ancho y bolsas plásticas transparentes conocidas en el mercado como bolsas cristal con las mismas dimensiones.
- ✓ Los recipientes con grano fueron esterilizados en autoclave a  $121^\circ\text{C}$  o 15 psi durante 30 minutos, posteriormente se pusieron a enfriar en una campana de flujo laminar en un tiempo aproximado de 4 horas.
- ✓ Luego los recipientes con grano fueron inoculados colocando de 2 a 3 trozos de  $1\text{ cm}^2$  de medio PDA con micelio de *V. bombycina*. Luego fueron incubados a  $30^\circ\text{C}$  para las cepas AADM-01 y VNPNU-01 y a temperatura ambiente ( $21\text{-}23^\circ$ ) para la cepa VNPNU-02, hasta que los granos cubrieran totalmente los sustratos.

#### **5.2.5. Selección de sustratos para la producción de cuerpos fructíferos**

Se eligieron sustratos lignocelulósicos, los cuales en su mayoría han sido reportados por varios autores para la producción de *V. volvaceae* y *V. bombycina* (Guzmán, et al., MutusammyKarnan, et al., 2015, Rendón, 2015, Nannapaneni & Subbiah, 2016).

Los sustratos elegidos para la producción de cuerpos fructíferos de *V. bombycina* fueron caña de maíz, olote de maíz, rastrojo de frijol, paja de trigo, pasto jaragua, paja de arroz y tronco triturado de tonché. La mayoría de estos sustratos se encuentran disponibles en nuestro país y son abundantes en las áreas rurales, lo cual presenta una ventaja para

contribuir a la seguridad alimentaria y nutricional de los pobladores de esas zonas y de la población en general.

#### **5.2.6. Producción de cuerpos fructíferos de *V. bombycina***

##### **Corroboración de los micelios de *V. bombycina***

Las características de la cepa VNPNU-02 eran distintas a las cepas VNPNU-01 y AADM-01 que eran ambas similares, por lo que se decidió asegurarse de que los micelios correspondían a *V. bombycina*, para lo cual se inocularon frascos con paja hidratada de trigo sin compostear y tronco triturado de tonché esterilizados en autoclave a 121°C durante 30 minutos a 15 psi. Luego se inocularon con los micelios correspondientes y se incubaron entre 23 y 30°C. Luego se brindaron las condiciones necesarias para fructificación (23°C y 75-90% de humedad relativa) en una cámara húmeda en donde se obtuvieron cuerpos fructíferos de *V. bombycina* para las dos cepas, en tronco triturado de tonché para la cepa VNPNU-01 y en paja de trigo para la cepa VNPNU-02).

Luego de asegurarse de que las cepas correspondían a *V. bombycina*, se cultivaron en los distintos sustratos.

Para la producción de cuerpos fructíferos de *V. bombycina* en los distintos sustratos, se evaluaron las cepas AADM-01 y VNPNU-02, para hacer una comparación entre una cepa proveniente de Amatitlán y otra de Villa Nueva. Las cepas VNPNU-01 y AADM-01 presentan características similares por lo que se decidió utilizar la cepa AADM-01 para comparar su comportamiento con la cepa VNPNU-02 con características distintas. Se colocaron los sustratos triturados en frascos de vidrio a 80% de su capacidad.

##### **Siembra de las cepas en distintos sustratos**

Los frascos con sustratos fueron inoculados con trozos de PDA con micelio para el caso de la cepa AADM-01 y con spawn previamente preparado para la cepa VNPNU-02 y fueron incubados a 30°C para la cepa AADM-01 y a temperatura ambiente (21-23°C),

dentro de una caja de cartón con compartimientos para la cepa VNPNU-02. Los frascos fueron incubados en un tiempo de 25 días para ambas cepas.

## **Inducción de la fructificación**

Para la inducción a la formación de cuerpos fructíferos, se utilizó una bandeja plástica a la cual se le aplicó una lámina de agua de aproximadamente 1 pulgada, luego los frascos colonizados fueron introducidos y posteriormente se les colocó una película de nylon transparente encima para mantener la humedad relativa e inducir el apareamiento de primordios (Guzmán, et al., 1993).

## **5.2. Fase de campo**

La fase de campo se llevó a cabo en el Centro Experimental Docente de la Facultad de Agronomía donde se construyó un invernadero de 5m de ancho por 8m de largo (40 m<sup>2</sup>), el cual fue cubierto con plástico negro para el cuarto de incubación y fructificación y con plástico blanco para el cuarto de siembra. También contaba con ventanas cubiertas con maya antiáfidos. Para regular la temperatura se colocó un sarán encima del plástico con 70% de sombra y en el piso se aplicó arena blanca o piedra pómez, con lo cual se reunieron las características para el cultivo de *V. bombycina* (30°C y 75-90% de humedad relativa).

### **5.2.1. Preparación de sustratos**

Los la mayoría de sustratos fueron picados a excepción del rastrojo de frijol, con la ayuda de una máquina picadora, cortándolos en partículas entre 1-5 pulgadas según las características de cada sustrato. Luego fueron pre-compostados durante un tiempo aproximado de 15 días realizando un total de 3 volteos, uno cada 5 días.

Los sustratos pre-compostados fueron introducidos en costales tipo red y fueron introducidos en toneles plásticos con capacidad de 200 L en agua alcalina al 0.5% a razón de ½ libra de CaCO<sub>3</sub> por tonel, los cuales fueron retirados 2 días después, esto

con la finalidad de regular el pH de los sustratos y evitar la presencia de plagas y enfermedades.

Luego los sustratos fueron escurridos durante 24 horas dentro del invernadero. Posteriormente se llenaron bolsas con cada uno de los sustratos (10 repeticiones por sustrato) con un peso fresco de 1 kg y se esterilizaron con vapor durante una hora en un tonel metálico con tapadera simulando una autoclave.

### **5.2.2. Inoculación o siembra**

Las bolsas esterilizadas fueron inoculadas con semilla o spawn elaborado con grano de sorgo, colocando dos capas de semilla por bolsa. Luego las bolsas se pusieron a incubar en oscuridad a 30°C en el invernadero por un tiempo máximo de 30 días.

La colonización de los sustratos se monitoreó cada 3 días, hasta que estos colonizaran totalmente los sustratos.

### **5.2.3. Inducción de la fructificación**

Luego de que los micelios colonizaran los sustratos se abrieron ventanas para proporcionar luz, ventilación y bajar la temperatura para promover la producción de primordios, también se aplicó riego cada 2 días para mantener la humedad óptima.

### **5.3. Calculo de la eficiencia biológica**

La eficiencia biológica se calculará obteniendo el peso fresco de los hongos y el peso seco del sustrato utilizando la fórmula:  $\%EB = (Pf - Pss / Pss) \times 100$ , donde Pf = peso fresco de los hongos, Pss = peso seco del sustrato.

### **5.4. Análisis de los datos**

Se elaborará una base de datos en el programa EXCEL® en donde se colocaran los siguientes parámetros: Cepa (3), sustrato (7), eficiencia biológica (%).

Luego los datos se importarán hacia el programa estadístico SPSS 16.0®, para su análisis y elaboración de gráficos de interacción, para la productividad expresada en porcentaje de eficiencia biológica de cada una de las cepas.

Nota: En esta investigación durante el tiempo de ejecución del proyecto se logró la producción de cuerpos fructíferos a nivel de frascos en el laboratorio, pero en el ensayo que se encuentra en ejecución, los hongos aún están en etapa de primordios y huevo, los cuales aún continúan apareciendo en los distintos sustratos, por lo que la EB no se podrá cuantificar hasta la madurez de los cuerpos fructíferos, por lo que seguirá el monitoreo. A nivel de invernadero no se logró la producción de cuerpos fructíferos, únicamente se observó intentos de fructificación, debido a problemas de contaminación por hongos patógenos que no permitieron el desarrollo adecuado del micelio de *V. bombycina* (ver discusión de resultados).

#### **5.4.1. Diseño experimental**

El diseño general de la investigación se planteó de acuerdo con los objetivos presentados:

Objetivo 1: Diseño factorial: 3 x 2 (3 cepas, 2 sustratos). Repeticiones: 7.

Objetivo 2: Diseño factorial: 3 x 7 (3 cepas, 7 sustratos). Repeticiones: 10.

#### **5.4.2. Análisis de la información**

Objetivo 1:

Se realizó un análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ), para evidenciar las diferencias significativas en función del tiempo de colonización de las cepas en los sustratos en a 30°C de temperatura de incubación. También se elaboraron gráficas de interacción entre cepas y granos.

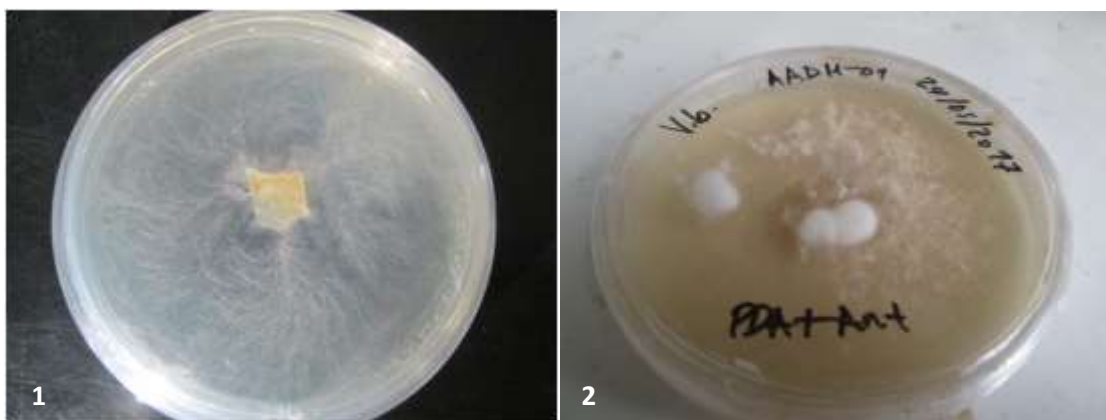
Objetivo 2:

Se realizará un análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ), para evidenciar las diferencias significativas de la eficiencia biológica obtenida para las cepas en los diferentes sustratos. Además se realizarán gráficas de interacción entre cepas y sustratos.

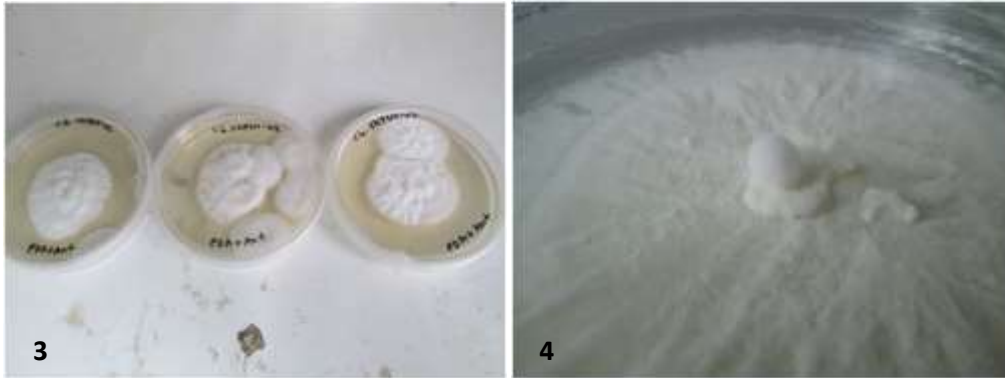
## 6. Resultados

### 6.1. Aislamiento de cepas y caracterización macro y microscópica

Las cepas aisladas crecieron muy bien a una temperatura de 30°C durante un tiempo de 7 a 8 días en medio PDA. El aspecto del micelio de las cepas VNPNU-01 y AADM-01 fue hialino el cual luego de colonizar el medio de cultivo, inició la formación de primordios, que es típico de la especie (fig. 1). La cepa VNPNU-02 presentó un micelio color blanco el cual se distribuyó en el medio de forma irregular formando colonias aisladas y otras de forma normal. Esta cepa presenta la característica de formar una capa de estructuras con aspecto de polvo blanco sobre el micelio, las cuales parecen pertenecer a una levadura con la que se encuentra parasitada o asociada. La cepa también formó primordios luego de colonizar el medio (Fig. 2).



**Figura. 1. (1) Aspecto del micelio de las cepas VNPNU-01 y AADM-01. (2) Cepa AADM-01 formando primordios luego de colonizar el medio de cultivo**



**Figura. 2. (3) Aspecto y tipo de colonización de la cepa VNPNU-02. (4) Formación deprimordio luego de colonizar el medio de cultivo**

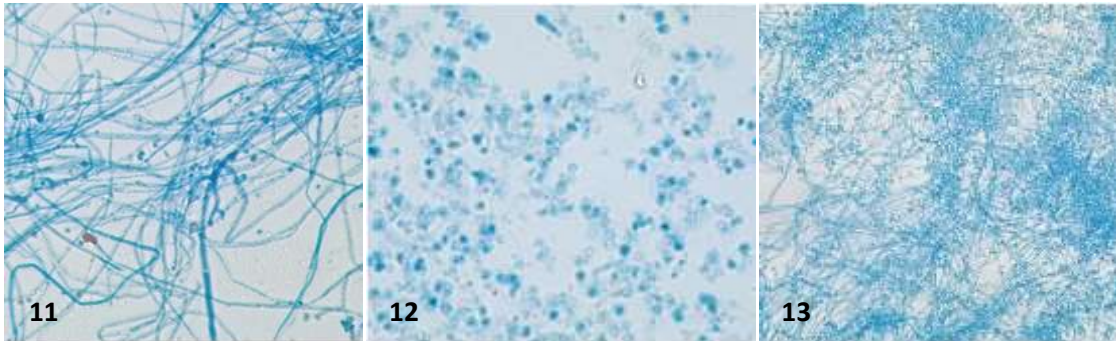
Para la observación de características microscópicas de las cepas, se realizaron montajes en rojo congo y azul de lactofenol sobre porta objetos, los cuales se observaron con la ayuda de un microscopio. En las cepas VNPNU-01 y AADM-01 se observó la presencia de clamidosporas abundantes (Fig. 3 y 4), lo cual es una de las características de este género. En cepa VNPNU-02 no se observó la presencia de clamidosporas, sino que se observaron estructuras que pertenecen a una levadura (Fig. 3). Los micelios de las tres cepas no mostraron presencia de fíbulas (Fig. 3, 4 y 5).



**Figura. 3. (5) Micelio de la cepa VNPNU-01. (6-7) Clamidosporas presentes en el micelio cultivado a 30°C en medio PDA.**



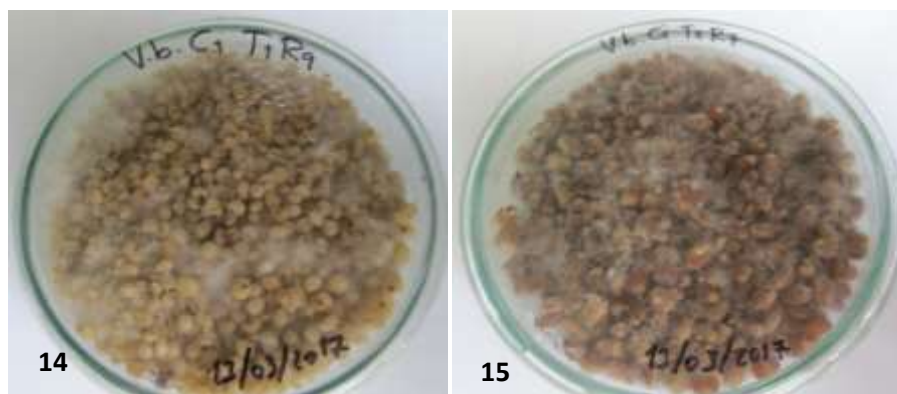
**Figura. 4. (8- 9- 10) Micelio con clamidosporas de la cepa AADM-01 cultivada a 30°C en medio PDA.**



**Figura. 5. (11) Micelio de la cepa VNPNU-02. (12-13) Estructuras de levadura presente en el micelio de *V. bombycina* cultivada en medio PDA.**

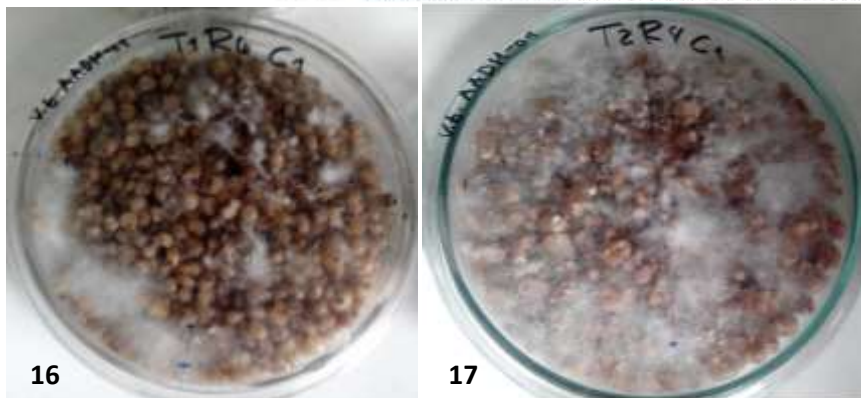
### **6.2. Cálculo de la tasa de extensión radial para producción del inóculo**

Se determinó que la cepa AADM-01 colonizó más rápidamente los granos de trigo a razón de 10.21 mm/día, seguido por la cepa VNPNU-01 con 8.50 mm/día (Fig. 6 y 7, tabla 1). La cepa VNPNU-02 presentó un crecimiento menos vigoroso ya que tuvo un crecimiento de 3.69 mm/día en el mismo sustrato. El tiempo de colonización en sorgo para las cepas VNPNU-01 y AADM-01 fueron similares 9.87 mm/día y 9.21 mm/día, respectivamente, mientras que la cepa VNPNU-02 presentó el valor más bajo 3.13 mm/día (Fig. 8 y tabla 1).

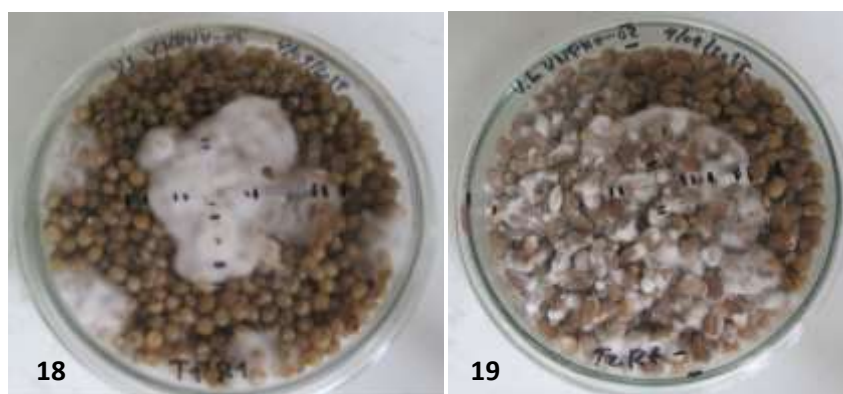


**Figura. 6. (14-15) Colonización de granos de sorgo y de trigo por la cepa VNPNU-01**





**Figura. 7.(16-17) Colonización de granos de sorgo y de trigo por la cepa AADM-01**



**Figura. 8.(18-19) Colonización de granos de sorgo y de trigo por la cepa VNPNU-02**

**Tabla 1. Tasa de extensión radial para producción de inóculo**

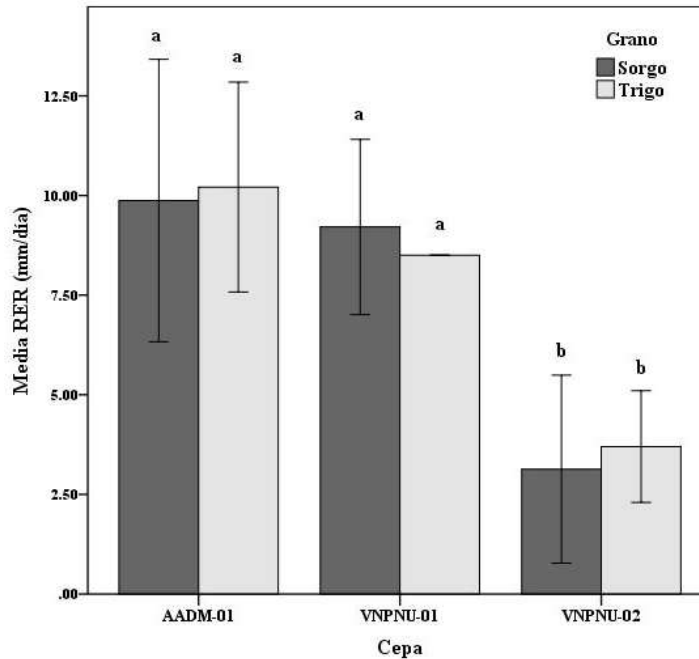
Cepa	Grano	RER(mm/día)	
VNPNU-01	Sorgo	9.21 ± 1.09	a
	Trigo	8.50 ± 0.00	a
AADM-01	Sorgo	9.87 ± 1.77	a
	Trigo	10.21 ± 1.32	a
VNPNU-02	Sorgo	3.13 ± 1.17	b
	Trigo	3.69 ± 0.70	b

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

En el análisis estadístico se observó que no existió diferencia significativa entre las cepas VNPNU-01 y AADM-01 ( $p=$ ) pero sí con relación a la cepa VNPNU-02 ( $p<0.05$ ), (Gráfica 1).

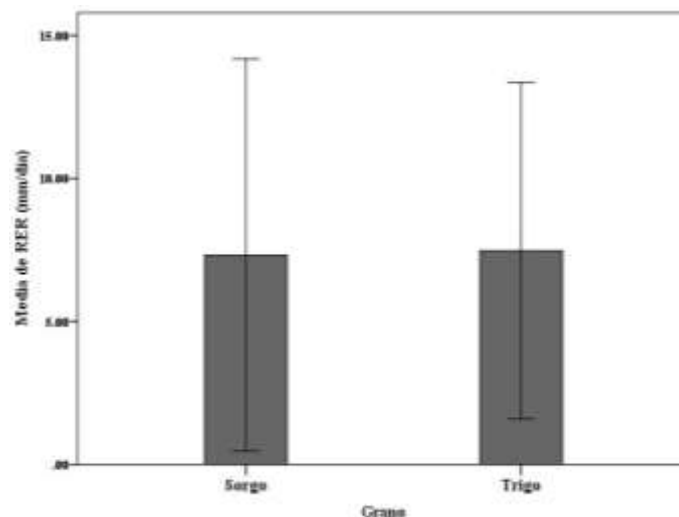


**Gráfica. 1. Efecto de las cepas sobre RER en diferentes sustratos. Las barras de error indican la media  $\pm$  la desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).**



Sin ser tomadas en cuenta las cepas evaluadas, se observó que no existió diferencia significativa entre el trigo y el sorgo ( $p > 0.05$ ), ya que los dos granos fueron colonizados a velocidades similares por cada una de las cepas (Gráfica 2).

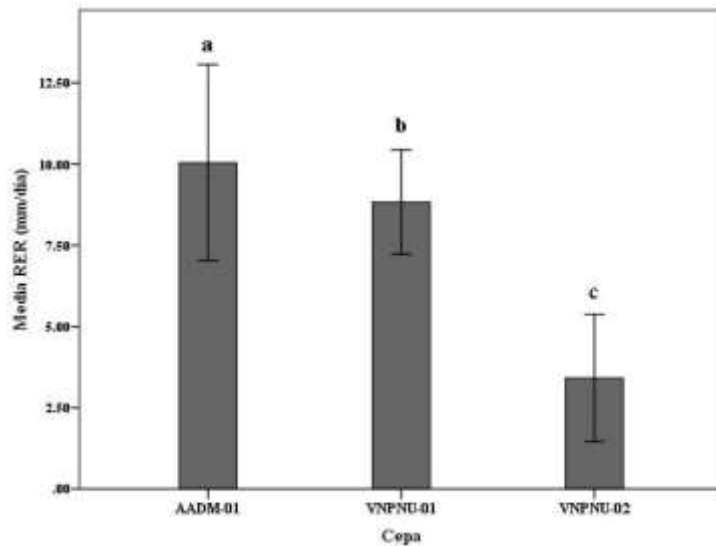
**Gráfica. 2. Efecto de los granos con respecto a RER sin importar las cepas evaluadas. Las barras de error indican la media  $\pm$  la desviación estándar.**



En cuanto al comportamiento de las cepas sin importar los granos utilizados, se encontraron diferencias significativas entre ellas ( $p < 0.05$ ), observándose que la cepa

AADM-01 colonizó más rápidamente, seguido por la cepa VNPNU-01 y la que obtuvo el menor velocidad de colonización fue la cepa VNPNU-2 (Gráfica 3).

**Gráfica. 3. Comportamiento de las cepas sin importar los granos utilizados. Las barras de error indican la media  $\pm$  la desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).**



Para la obtención de cuerpos fructíferos de *V. bombycina*, se observó que la cepa VNPNU-01 produjo cuerpos fructíferos en tronco triturado de tonché (*Ipomoea sp.*) pero no produjo cuerpos fructíferos en paja de trigo sin compostar, ya que inició la colonización pero murió al poco tiempo, mientras que la cepa VNPNU-02, no colonizó por completo la paja de trigo, pero produjo 2 cuerpos fructíferos en un intervalo de 15 días (Fig. 9 y 10).

Luego se realizó un ensayo con las cepas AADM-01 y la cepa VNPNU-02 con los siete sustratos propuestos en la investigación, todos pre-compostados y se observó que la cepa VNPNU-02, no colonizó la mayoría de los sustratos en su totalidad a excepción del olote de maíz. La cepa AADM-01 colonizó todos los sustratos en su totalidad, sin embargo no fueron todas las repeticiones. Se obtuvo cuerpos fructíferos con la cepa AADM-01 en olote de maíz produciendo 2 primordios que luego se convirtieron en huevos característicos de la especie (Fig. 11).

La cepa VNPNU-02 sufrió contaminación por diversos hongos patógenos, especialmente *Chaetomium sp.*, el cual invadió todos los frascos de la cepa, no así para

la cepa AADM-01 la cual no presentó problemas de contaminación y produjo cuerpos fructíferos en olote de maíz.

Nota: Actualmente se mantienen en observación los sustratos colonizados por la cepa AADM-01, ya que están apareciendo agregados miceliales que dan lugar a primordios que se vuelven cuerpos fructíferos maduros.

En cuanto a la fase de campo, se observó la colonización de los sustratos por las cepas de *V. bombycina*, sin embargo aparecieron hongos patógenos que no permitieron el desarrollo del hongo, lo cual provocó que este muriera. Cabe mencionar que algunos hongos patógenos producen micelios hialinos parecidos a los de *V. bombycina* lo cual causó confusión a la hora de observar el crecimiento micelial y estos fructificaron al momento de aplicar el riego.



**Figura. 9. (20-21-22) Cuerpos fructíferos obtenidos en paja de trigo con la cepa VNPNU-02**



**Figura. 10. (23-24-25) Cuerpos fructíferos obtenidos en tronco triturado de tonché con la cepa VNPNU-01**



**Figura. 11. (26-27-28) Cuerpos fructíferos de *V. bombycina* obtenidos en olote de maíz con la cepa AADM-01**

### 6.3. Matriz de Resultados

Objetivo Específico	Resultado Esperado	Resultado Obtenido
Evaluar el desarrollo micelial de las cepas nativas de <i>V. bombycina</i> en distintos granos (trigo y sorgo) para la elaboración de inóculo mediante el cálculo de la tasa de extensión radial (RER).	Determinar el mejor grano para la elaboración del inóculo o semilla del hongo.	Según el análisis estadístico no hubo diferencias entre los dos granos evaluados en cuanto al crecimiento de la cepa, por lo que cualquiera de los granos puede ser utilizado.
Determinar la productividad de las cepas nativas de <i>V. bombycina</i> sobre distintos sustratos (olote y caña de maíz, rastrojo de frijol, pasto jaragua y paja de arroz) a través de la cuantificación de la eficiencia biológica (EB).	Obtención de cuerpos fructíferos de <i>V. bombycina</i> .  Determinar en qué sustrato se desarrolla mejor el hongo.  Determinar cuál de las cepas evaluadas es más productiva en cuanto a eficiencia biológica.	Se obtuvieron cuerpos fructíferos con las tres cepas evaluadas los cuales e desarrollaron en sustratos distintos por cepa.  El sustrato en el que mejor se observó un mejor desarrollo y producción de cuerpos fructíferos fue el olote de maíz.  Hasta el momento no se pudo calcular la eficiencia biológica ya que las cepas no colonizaron en todas las repeticiones y hubo problemas de contaminación de los sustratos, por lo cual se seguirá un monitoreo.

#### **6.4. Impacto esperado**

Con los resultados obtenidos en la presente investigación se espera proporcionar una nueva alternativa para producir alimento saludable y nutritivo para las comunidades rurales y personas interesadas en el cultivo de *V. bombycina*. También se contribuirá al combate de la desnutrición y a generar ingresos en las familias rurales y a productores de hongos. Además se espera contribuir a la medicina natural mediante el consumo del hongo para prevenir enfermedades y en la industria farmacéutica para realizar extractos para la elaboración de medicinas contra enfermedades como el cáncer y otras.

#### **7. Análisis y discusión de resultados**

Las cepas aisladas de *V. bombycina* crecieron muy bien en medio PDA a una temperatura de 30°C y formaron clamidosporas en el caso de las cepas VNPNU-01 y AADM-01, en un tiempo entre 7 y 8 días. Estos resultados son similares a los obtenidos por Salmenes (1988), quien evaluó varias temperaturas, siendo 30°C la temperatura ideal para el crecimiento y formación de estas estructuras. Chang y Yau (1971) mencionan que una posible cepa de alto rendimiento de *Volvariella* de alto rendimiento es aparente, basada en los caracteres morfológicos exquisitos como la tasa de crecimiento micelial, el tipo de micelio, la formación de hifas aéreas y la producción de clamidosporas. Estas características fueron observadas en las cepas evaluadas en la presente investigación, lo cual demuestra que las cepas de *V. bombycina* presentes en Guatemala pueden ser muy productivas al adaptarse a su cultivo extensivo. En cuanto a la cepa VNPNU-02 los resultados fueron distintos, ya que esta no se desarrolló muy bien a esa temperatura, lo cual se observó en formas irregulares de crecimiento. Al analizar esta cepa se observó que prefiere temperaturas más bajas entre 21 y 23°C. Sin embargo al ser observada en microscopio se observó que se encuentra parasitada o asociada con una levadura, la cual podría estar influyendo en el comportamiento de la cepa. Jonathan & Awotona (2011), utilizaron extracto de levadura al 0.5% la cual aplicaron al medio de cultivo PDA como aporte de nitrógeno con lo que mejoraron el crecimiento micelial de *V. bombycina*. Esto podría ser una explicación sobre el desarrollo micelial de la cepa CNPNU-02, ya que a temperaturas bajas se desarrolla más rápida y vigorosamente que las otras cepas en granos de trigo y sorgo a nivel de frasco, y también en olote de maíz.

Para la producción del inóculo se observó que las cepas VNPNU-01 y AADM-01, colonizaron rápidamente los granos de sorgo y trigo entre 8 y 12 días, mientras que la cepa VNPNU-02 creció más lentamente en un tiempo máximo de 19 días y luego detuvo su crecimiento sin cubrir totalmente los granos, contrario a lo que sucede a temperatura ambiente (21-23°C) a la que crece con mayor rapidez. Estos datos son parecidos a los obtenidos por Nannapaneni y Subbiah (2016), quienes obtuvieron el crecimiento de *V. volvaveae* y *V. bombycina* en paja de arroz y aserrines a temperaturas entre 28 y 30°C entre 6 y 16 días. Jonathan & Awotona (2011), evaluaron distintas temperaturas para el crecimiento de micelio de *V. bombycina* y reportan que esta creció a temperaturas entre 14 y 38°C, siendo las mejores entre 26 y 28°C. También obtuvieron crecimientos muy buenos a temperaturas de 24, 26 y 30°C, lo cual es similar a los rangos de temperatura evaluados en la presente investigación. Cabe mencionar que la cepa VNPNU-02 fue aislada de un cuerpo fructífero con el píleo de color blanco, mientras que las otras dos cepas se obtuvieron de especímenes de píleo con coloración amarillo, lo cual podría influir en las características de las cepas ya que se mencionan dos variedades de *V. bombycina*, variedad *flaviceps* que es de píleo amarillo y variedad *bombycina* que es de píleo blanco (Guzmán, et al., 1993; Justo & Castro, 2010).

Al evaluar la tasa de extensión radial (RER), se observó que el tipo de grano no tiene influencia en el crecimiento miceliar en ninguna de las tres cepas, lo cual es una ventaja para la producción de inóculo. Los datos obtenidos son similares a lo obtenido por Bran, et al. (2007), para *Neolentinus lepideus* en donde no se obtuvo diferencias significativas entre estos dos granos. Para la producción de semilla o spawn se utilizó granos de sorgo ya que es más barato y hay mejor disponibilidad que el trigo, lo cual podría reducir los costos si se cultiva *V. bombycina* de forma comercial. Además este grano ha sido el más utilizado a nivel mundial para la producción de spawn para la mayoría de hongos comestibles incluyendo *V. bombycina*. (Mushworld, 2005; MutusammyKarnan, et al., 2015; Stamets, 2005).

La fructificación de las tres cepas de *V. bombycina* ocurrieron a temperaturas entre 15 y 23°C lo cual es similar a los resultados obtenidos por Rendón (2015), quien obtuvo fructificaciones de *V. bombycina* a temperaturas entre 14 y 23°C y 65% de humedad relativa. Sin embargo la humedad relativa para la presente investigación se mantuvo

entre 75 y 90%. Nannapaneni & Subbiah (2016), mencionan que las bajas temperaturas y los sustratos lignicolosos son adecuados para la producción extensiva de esta especie. Estas condiciones brindadas para el cultivo de *V. bombycina* son similares a las que se observan en la naturaleza en tiempos de lluvias, ya que la temperatura baja considerablemente cuando el cielo se nubla y cae el agua, lo cual provoca el apareamiento de los cuerpos fructíferos de esta especie en troncos muertos de tonché (*Ipomoea murucoides*).

Las tres cepas fructificaron en sustratos diferentes, la cepa VNPNU-01 fructificó en tronco triturado de tonché, mientras que la cepa VNPNU-02 lo hizo en paja de trigo sin compostear y la cepa AADM-01 fructificó en olote de maíz. Los tres sustratos en donde se obtuvo fructificaciones de *V. bombycina* fueron reportados por Guzmán, et al. (1993), como materiales utilizados en el cultivo de hongos del género *Volvariella*, lo cual concuerda también con lo descrito por Sierra-Fernández, et al., 2002, quien menciona que *V. bombycina* se puede cultivar en los mismos sustratos que para *Pleurotus ostreatus*. Rendón (2015), obtuvo cuerpos fructíferos de *V. bombycina* y en paja de trigo humedecida y Jonathan & Awotona (2011), mencionan que también los obtuvieron en mazorca de maíz. Esto se convierte en una ventaja para la producción de esta especie en Guatemala, ya que la mayoría de los sustratos evaluados, se encuentran disponibles y accesibles en las áreas rurales, especialmente el olote de maíz.

## 8. Conclusiones

- ✓ *Volvariella bombycina* puede ser cultivada bajo condiciones controladas, lo cual se demostró a nivel de laboratorio.
- ✓ No existió diferencia significativa en cuanto al tipo de grano para la producción del inóculo para las tres cepas evaluadas, por lo que se puede utilizar cualquiera de los granos (sorgo y trigo) para este fin.
- ✓ Las cepas aisladas de *V. bombycina* son capaces de crecer en diferentes desechos agroindustriales incubados a 30°C para las cepas VNPNU-01 y AADM-01 y a 23°C para la cepa VNPNU-02.



- ✓ Para producir cuerpos fructíferos la temperatura ideal fue de entre 15 y 23°C y una humedad relativa entre 75 y 90%.

## 9. Recomendaciones

- ✓ Debido a que conoció la biología de tres cepas nativas de *V. bombycina* y se logró obtener cuerpos fructíferos a nivel de laboratorio, se recomienda implementar otra fase de la investigación en donde se evalúe la producción de cuerpos fructíferos esta especie a nivel artesanal y comercial.
- ✓ Evaluar el estado óptimo de los sustratos para cultivar *V. bombycina* por tipo de cepa, ya que la cepa VNPNU-02 colonizó y fructificó en paja de trigo sin compostear y la cepa VNPNU-01 murió y no fructificó, pero si lo hizo en un material parcialmente descompuesto.
- ✓ Para el aislamiento de cepas de *V. bombycina* se recomienda utilizar medio PDA (Papa-Dextrosa-Agar) e incubar a una temperatura de 30°C.
- ✓ Para producir cuerpos fructíferos de *V. bombycina* se recomienda una temperatura máxima de 23°C.
- ✓ Evaluar el tipo de recipiente a utilizar para cultivo de *V. bombycina* a nivel de invernadero, así como el tipo de desinfección adecuada de los sustratos para evitar la presencia de patógenos que interfieran en el cultivo.

## 10. Referencias

- Ahlawat, O. P., & Tewari, R. P. (2007). *Cultivation technology of paddy straw mushroom (Volvariella volvacea)*. Chambaghat: National Research Centre for Mushroom, Indian Council of Agricultural Research.
- Ardón, C. (2007). *La reproducción de los hongos comestibles* (Tesis de maestría). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Humanidades, Guatemala.
- Badalyan, S. M. (2003). Edible and medicinal higher basidiomycetes mushrooms as a source of natural antioxidants. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 5(2), 153-162.
- Bran, M. C., Morales, O., Flores, R., Salazar, J., Cáceres, R., ... Arriola, H. (2003). Hongos comestibles de Guatemala: *Diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula. (Fase III)* (inf-2003-30). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Bran, M., Cáceres, R., Gurriarán, N., Morales, O., & Flores, R. (2015). *Caracterización in vitro y producción de inóculo de cepas guatemaltecas de Lepista nuda* (Bull.: Fr) Cooke. *Ciencia Tecnología y Salud*, 2(2), 95-104.
- Bran, M.C., Morales, O., Flores, R., & Cáceres, R. (2008). *Caracterización y producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas del hongo comestible Asam (Schizophyllum commune Fr.)* (Inf-2008-084). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Bran, M.C., Morales, O., Flores, R., Cáceres, R., & Blanco, R. (2007). *Caracterización in vitro y producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas de Neolentinus ponderosus y N. lepideus* (Inf-2007-019). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Chiu, S., Moore, D., & Chang, S. (1989). Basidiome polymorphism in *Volvariella bombycina*. *Mycological Research*, 92(1), 69-77.
- Coello-Castillo, M., Sanches, J., & Royse, D. (2009). Production of *Agaricus bisporus* on substrates pre-colonized by *Scytalidium thermophilum* and supplemented at casing with protein-rich supplements. *Bioresource Technology*, 100(19), 4488-4492.
- De León, R. (1985). *Adaptación de una cepa silvestre guatemalteca de Volvariella Bakeri (Murr) Shaffer, a cultivos de laboratorio* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.

- Gaitán-Hernández, R., Salmones, D., Pérez-Merlo, R., & Mata, G. (2006). *Manual práctico del cultivo de setas: Aislamiento, siembra y producción*. Xalapa, México: Instituto de Ecología.
- Guzmán, G., Mata, G., Salmones, D., Soto-Velazco, C. y Guzmán-Dávalos, L. (1993). *El cultivo de los hongos comestibles con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales*. Xalapa: Instituto Politécnico Nacional.
- Jegadeesh, R., Raaman, N., Periyasamy, K., Hariprasath, L. Thangaraj, R., Srikumar, R., & Ayyappan, S. (2010). Proximate analysis and antibacterial activity of an edible mushroom *Volvariella bombycina*. *Internacional Journal of Microbiological Research*, 1(3), 110-113.
- Jonathan, S. & Awotona, S. (2011). Effect of different physico-chemical factors and agricultural wastes on mycelia growth and fruit bodies production of *Volvariella bombycina* (Schaeff: Ex.Fr) Singer. *Biotechnology An Indian Journal*, 5(5) 302-306.
- Julián, C. A., & Salmones, D. (2006). Cultivo de *Volvariella volvacea* en residuos de la cosecha de plátano y paja de cebada. *Revista Mexicana de Micología*. 23, 87-92.
- Justo, A., & Castro, M. (2010). The genus *Volvariella* in Spain: *V. dunensis* comb. & stat. nov. and observations on *V. earlei*. *Mycotaxon*. (112) 261-270.
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W., & Stalpers, J. A. (2008). *Dictionary of the Fungi* (10th ed.). Wallingford: CABI.
- López, A. (2007). *Manual de Producción de Micelio de Hongos Comestibles*. Xalapa, Veracruz, México: Universidad Veracruzana.
- Mallavadhani, U., Sudhakar, A., Satyanarayana, K., Mahapatra, A., Li, W., & VanBreeman R., (2006). Chemical and analytical screening of some edible mushrooms. *Food chemistry*, 95, 58-64.
- Mushworld. (2005). *Mushrooms Growers Handbook 1: Oyster Mushroom Cultivation*. Seoul: Autor.
- MuthusamyKarnan, Tamilkani, P., Senthilkumar, G., Vijayalakshmi, S., & Panneerselvam, A., (2016). *Volvariella bombycina* of Tamil Nadu. *International Journal of Information Research and Review*, 3(4), 2175-2178.
- Nannapaneni, K., & Subbiah, K. (2016). Influence of spawn base on chlamydospores production of *Volvariella volvaceae* (Bull. Ex Fr.) Singer and *Volvariella bombycina* (Schaeff.) Singer. *Progressive Research – An International Journal*, (11) 1802-1803.
- Rendón, G. A. (2015). *Caracterización y cultivo de diferentes recursos genéticos de hongos y su importancia en el desarrollo regional de la zona central de México*

(Tesis de maestría). Colegio de Postgraduados, Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, México.

- Salmones, D., Martínez-Carrera, D., & Guzmán, G. (1988). Estudio comparativo sobre el cultivo de *Volvariella bakeri* y *Volvariella bombycina* en diferentes desechos agro-industriales. *Biotica* (México), 13(1-2), 7-16.
- Salmones, D., Waliszewski, Krzysztof, N., & Guzmán, G. (1996). Use of some agro-industrial lignocellulose by-products for edible mushroom *Volvariella volvacea* cultivation. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 12 (2), 69-74.
- Seok, S. J., Kim, Y. S., Weon H. Y., Lee, K. H., Park, K. M., Min, K. H., & Yoo, K. H. (2002). Taxonomic Study on *Volvariella* in Korea. *Mycobiology*, 30(4), 183-192.
- Sierra-Fernández, J., López-Díaz, T., & García-Garabal, J. (2002). *Lo que debe saber de las setas cultivadas*. España: Caja.
- Stamets, P. (2005). *Mycelium running: How mushrooms can help save the world*. Berkeley: Ten Speed Press.
- Standley, P. C., & Steyermark, J. A. (1970). *Flora of Guatemala* (Vol. 24, part. 9, No. 1 y 2, pp. 31-43). Chicago: Fieldiana.
- Szczepkowski, A., Kujawa, A., & Halama, M. (2013). *Volvariella bombycina* (Schaeff.) Singer in Poland: Notes on its ecology, distribution and conservation status. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22(1), 41-51.

## 11. Apéndices

**Apéndice 1. Peso húmedo, porcentaje de humedad y peso seco de sustratos utilizados para la producción de cuerpos fructíferos de *Volvariella bombycina*.**

Sustrato	Peso húmedo (g)	% de humedad	% de base seca	Peso seco (g)
Caña de maíz	63	33.48	66.52	41.91
Olote de maíz	69.6	47.28	52.72	36.69
Rastrojo de frijol	44.2	45.76	54.24	23.97
Paja de trigo	46.2	31.45	68.55	31.67
Pasto jaragua	45.4	32.96	67.04	30.44
Paja de arroz	85.2	26.48	73.52	62.64
Tronco de tonché	74.8	22.76	77.24	57.78

## 12. Actividades de gestión, vinculación y divulgación

### Gestiones

Se gestionaron 90 cajas de Petri y 39 g de medio PDA, y papel parafilm para el aislamiento de las cepas de *V. bombycina*, de las cuales 40 fueron donadas por la Facultad de Farmacia y 50 fueron prestadas por la Facultad de Agronomía sí también una campana de flujo laminar y una cámara de incubación.

### Vinculación

El presente proyecto estuvo vinculado con la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia en donde se contó con el apoyo de los expertos en el tema para una mejor orientación y ejecución del proyecto.

Se obtuvieron consejos de expertas en el cultivo de *Volvariella*, de México la Dra. Dulce Salmones y de Guatemala la Lcda. Rut de León, quienes aportaron de sus conocimientos para una mejor orientación del cultivo de esta especie.

### Estrategia de difusión, publicación

Realización de exposiciones en cursos, talleres, congresos, etc. relacionados con los resultados de la investigación. Publicar artículo en revistas científicas de la Dirección General de Investigación. Elaborar manual del cultivo de *V. bombycina*. Capacitaciones a extensionistas del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA) y de Organizaciones No Gubernamentales (ONG's)

### 13. Orden de pago

#### Listado de todos los integrantes del equipo de investigación

Contratados por contraparte y colaboradores	
<b>Dr. Edín Orozco Miranda</b>	Contratado FAUSAC
<b>Dr. Roberto Flores Arzú</b>	Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
<b>Lcda. María del Carmen Bran</b>	Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
<b>Lic. Osbert Morales</b>	Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
<b>Carlos Peralta</b>	Conocedor del hongo y árbol de tonché
<b>Jorge Luis Peralta</b>	Estudiante Facultad de Derecho
<b>Luis Pedro Pinzón</b>	Estudiante FAUSAC
<b>Ingrid Noemí Pacal</b>	Estudiante FAUSAC
<b>Fernanda López</b>	Estudiante FAUSAC

#### Contratados por la Dirección General de Investigación

Nombre	Categoría	Registro de personal	Pago	
			SI	NO
<b>Julio Ernesto Peralta Rivera</b>	<b>Coordinador</b>	<b>20170575</b>	<b>X</b>	

Nombre	Firma
<b>Julio Ernesto Peralta Rivera</b>	

**Ing. Agr. Julio Ernesto Peralta Rivera**  
Coordinador(a) proyecto de investigación

**Inga. Liuba Cabrera**  
Coordinador(a) Programa Universitario de Investigación

**Vo. Bo. Ing. Agr. MARN. Julio Rufino Salazar**  
Coordinador General de Programas.