

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA



CULTIVO *in vitro* DE CEPAS SILVESTRES GUATEMALTECAS  
DE *AURICULARIA* SP.

Informe de Tesis  
Presentado por  
Eliud Felidey García Cabrera  
Para optar al título de  
Químico Biólogo

Guatemala, noviembre de 1999.

**JUNTA DIRECTIVA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**DECANA:** LICDA. HADA MARIETA ALVARADO BETETA.

**SECRETARIO:** LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA.

**VOCAL I:** DR. OSCAR MANUEL COBAR PINTO.

**VOCAL II:** DR. RUBEN DARIEL VELASQUEZ MIRANDA.

**VOCAL III:** LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE.

**VOCAL IV:** BR. DAVID ESTUARDO DELGADO GONZALEZ.

**VOCAL V:** BR. ESTUARDO SOLORZANO LEMUS.

## DEDICATORIA

- A DIOS:** Por estar conmigo cada instante de mi vida.
- A MIS PADRES:** Felidey García Aristondo y Alicia Noemi Cabrera de García.  
Por su amor y por todos los sacrificios que hicieron para poder superarme.
- A MI ESPOSA:** Hanya Yaneth Meoño Villatoro.  
Por su amor, comprensión y apoyo incondicional.
- A MIS ABUELITOS:** Juan José García Prado y Maria Aristondo Balcarcel.  
Faustino Cabrera y María Cotom de Cabrera.  
Con cariño y admiración.
- A MIS HERMANAS:** Ruth y Dinora
- A MIS SOBRINOS :** Victor, Estuardo, Ruthy y Alejandro.  
Con cariño.
- A MIS TIOS :** Por sus oportunos consejos.
- A MIS CUÑADOS:** Victor, Otto, Raul y Carlos.
- A MIS SUEGROS:** Sr. Roberto Meoño Sandoval y Sra. Consuelo Villatoro de Meoño. Por su confianza y cariño.
- A MIS AMIGOS:** Jorge, Milton, Victor, Javier, Silas, Miguel Angel, Sonia, Lesbia, Mirtza, Ricardo, Katy y Gisela.  
Por su amistad incondicional.
- A MIS ASESORES:** Por su paciencia y sus consejos.

## **AGRADECIMIENTOS**

A los profesionales del Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Chiapas, México; especialmente al Dr. José Sánchez, Maestra en Ciencias Graciela Huertas, y Licda. Nieto.

A la Msc. Licda. Ruth de León, a Julio Cesar, Olgui, Cony, Sr. Guillermo Sánchez, Sr. Manfredo Miranda, Familia Meoño Villatoro, y Sra. Honestina Girón.

Gracias por su amistad y apoyo.

## INDICE

	Pag
Resumen .....	1
1 Introducción .....	3
2 Antecedentes .....	4
2.1 Generalidades .....	4
2.2 Características morfológicas .....	5
2.3 Composición Química de <i>Auricularia</i> sp.....	7
2.4 Cultivo de <i>Auricularia</i> sp .....	7
3 Justificación.....	14
4 Objetivos.....	15
5 Hipótesis .....	16
6 Materiales y Métodos.....	17
6.1 Universo de Trabajo.....	17
6.2 Diseño de la Investigación.....	17
6.3 Materiales.....	18
6.4 Procedimiento.....	20
7 Resultados .....	23
8 Discusion de resultados .....	33
9 Conclusiones .....	36
10 Recomendaciones .....	37
11 Bibliografía.....	38
12 Anexos .....	40

## RESUMEN

En la presente investigación se recolectaron y aislaron cepas silvestres de *Auricularia*, en fincas cafetaleras del municipio de San Rafael Pie de La Cuesta, San Marcos. Los especímenes son divididos en tres grupos (A-1, A-2, y A-3) dependiendo del lugar en el cual se recolectaron.

Las fincas se encontraban a una altura de 1,100 mts sobre el nivel del mar, con una temperatura de 28°C; los árboles que predominaban son los que tradicionalmente se utilizan para dar sombra al café en la zona: *Inga paterna* (cushín), *Quercus* spp. (encino), *Persea americana* (acate).

Los especímenes recolectados se encontraron creciendo sobre troncos de cushín (cepas A-1 y A-3) y sobre troncos de arbustos de café (cepa A-2).

Los especímenes tenían la forma de orejas, redondeados o elípticos, de color café oscuro a café vináceo.

Todos los especímenes recolectados se identificaron, mediante la observación de las estructuras internas de los cuerpos fructíferos, como afines a *Auricularia fuscosuccinea*.

Se evaluó el crecimiento micelial de estas cepas en tres medios sintéticos: agar extracto de papa (AEM), agar papa dextrosa (PDA), y agar Sabouraud (SAB). Dicha evaluación se realizó a temperatura ambiente (24°C) como a 30°C. Cada prueba se realizó por quintuplicado.

La mayor velocidad de crecimiento a 24°C se obtuvo en AEM y PDA con un promedio de 2.1mm/día respectivamente, mientras que en SAB el micelio creció a razón de 2.1mm/día.

La mayor velocidad de crecimiento a 30°C se presentó en AEM con 5.3mm/día, mientras que la velocidad más baja de crecimiento se obtuvo en SAB con un promedio de 1.9mm/día.

La textura de las colonias fue siempre algodonosa y de color blanco, aunque con el tiempo, aparecieron manchas de color café.

En este trabajo también se evaluó el mejor sustrato orgánico para el crecimiento de las cepas aisladas. Los sustratos empleados fueron: olote de maíz, aserrín de encino con salvado de arroz, y pulpa de café. Todas las pruebas se realizaron por quintuplicado a 24°C y a 30°C, encontrándose que el mejor de ellos fue la mezcla de aserrín con salvado de arroz, con el que se

vo un crecimiento de  $4.8 \text{ cm}^3/\text{día}$  a  $24^{\circ}\text{C}$  y  $6.2 \text{ cm}^3/\text{día}$  a  $30^{\circ}\text{C}$ . Para este sustrato se encontró eficiencia biológica del 75%.

El sustrato que presentó las velocidades de crecimiento más bajas fue la pulpa de café con  $3 \text{ cm}^3/\text{día}$  a  $24^{\circ}\text{C}$  y  $4 \text{ cm}^3/\text{día}$  a  $30^{\circ}\text{C}$ . Sólo una cepa (A-3), no presentó crecimiento en este sustrato.

De las tres cepas estudiadas la que presentó mayor tolerancia a cambios nutricionales y de temperatura fue la cepa A-1, misma que presentó las mejores velocidades de crecimiento tanto en medios de cultivo como en los sustratos orgánicos utilizados, además fue la única cepa que seificó.

Se evaluó también la humedad intrínseca de cada sustrato para conocer su efecto en el crecimiento del hongo. Se logró una mejor degradación del sustrato con una humedad del 78% en el aserrín y una humedad del 72.8% para el olote y la pulpa de café.

## 1. INTRODUCCION

Aunque los hongos han sido apreciados como alimento, desde hace mucho tiempo por su sabor y textura, el reconocimiento de su valor nutritivo y medicinal ha sido descubierto en los últimos años (1).

Guatemala es un país que por sus características geográficas y topográficas presenta aspectos climáticos, hídricos, y bióticos muy variados en una gran diversidad de ecosistemas (2).

Dentro de esta biodiversidad se encuentran muchos hongos, como *Auricularia* que no se ha aprovechado debidamente. *Auricularia* se utiliza en países asiáticos para el tratamiento de migdalitis, anemia, enfermedades estomacales y en China es considerado un elixir de la vida (1-4).

Además el cultivo de *Auricularia* y de otros hongos comestibles, utilizan desechos agroindustriales o forestales, lo cual es una alternativa para evitar la acumulación de éstos en el ambiente (3).

En el presente estudio se identificaron y aislaron 3 cepas nativas guatemaltecas de *uricularia* sp., recolectadas en tres fincas cafetaleras del municipio de San Rafael Pie de la Uesta, San Marcos. Se evaluó el crecimiento del micelio de las tres cepas aisladas en 3 medios de cultivo: PDA (Agar Papa Dextrosa), AEM (Agar Extracto de Malta) y SAB (Agar Sabouraud).

La producción de cuerpos fructíferos se realizó en los siguientes sustratos orgánicos: olote y maíz, pulpa de café y una mezcla de salvado de arroz con aserrín de encino. Tanto los medios de cultivo como los sustratos se incubaron a temperatura ambiente de laboratorio ( $24^{\circ}\text{C}$ ) y a  $30^{\circ}\text{C}$ .



## 2. ANTECEDENTES

### GENERALIDADES

Las especies de *Auricularia* pertenecen al grupo de hongos del orden de los Tremellales, se caracterizan por tener cuerpos fructíferos gelatinosos (4).

Las variedades de este hongo se encuentran en los bosques de madera dura del mundo; crecen sobre madera de coníferas y árboles de hoja ancha, especialmente en acacia, roble, sauce, arce y acacia falsa (5).

Aunque sus características difieren grandemente de los hongos comestibles comunes, *Auricularia* es un hongo muy cotizado por su sabor y textura en China, Japón, Filipinas y otros países asiáticos. Pueden consumirse en sopas o con otros alimentos sólidos como carnes, vegetales deshidratados; en China son usualmente incluidos en comidas ya sea fritos, guisados o al vapor (4-6).

*Auricularia* se utiliza también para usos medicinales. Una publicación de la Food and Agriculture Organization (FAO), indica los usos de *Auricularia* para el tratamiento de anemia y gota (4). Además *Auricularia* es empleada para el tratamiento de afecciones estomacales

Los polisacáridos de *Auricularia auricula* (Hook) Underw. tienen una acción estimuladora de la síntesis de ADN y ARN por linfocitos humanos *in vitro*, por lo que este hongo se utiliza como un tónico potenciador de la respuesta inmune. Los polisacáridos de *A. auricula* también tienen un efecto anti-ulceroso actuando sobre la secreción de ácido gástrico y en la actividad de la pepsinasa; *A. auricula* baja los niveles de colesterol total, triglicéridos, lípidos y posiblemente también sea un anti-diabético. Este hongo se utiliza también como anticoagulante sanguíneo, inmunomodulador, prebiótico y como anti-inflamatorio. Se ha reportado una acción anti-tumoral del 80 al 90% contra el sarcoma 180 y el carcinoma de Elrich (4,7).

Debido a la forma de sus cuerpos fructíferos a *Auricularia* se le conoce con varios nombres: en China se le llama "Mu-erh", "Oreja de Judas", "Oreja de árbol", "Oreja de Judío", "Yungngo ó fukkgo". En Japón se le conoce con el nombre de "Kikurage", "Aragekikurage", "Mokurage". Otros nombres que recibe *Auricularia* sp son: "Oreja de Madera", "Hongo Oreja", "Oreja de atón" (4-5,6,8).

Los primeros apuntes de *Auricularia* sp. datan de los años 200 a 300 A.C, cuando 5 niños de "Mu-erh" los recolectaron en Kein-wei, China, para utilizarlos como alimento, después de haberlos secado al sol (4,6).

Los datos del cultivo de *Auricularia* están registrados durante la dinastía Tang, hace 1,100 años; aunque recientemente se estima que *Auricularia* fue cultivada alrededor del año 600 .D.(*Annus domini*) (4).

## 2 CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE *AURICULARIA* SP

Las características morfológicas de éste grupo de hongos han sido un tema de discusión por mucho tiempo. Algunas características superficiales como color, tamaño y forma del cuerpo fructífero fueron los primeros factores utilizados para designar las especies de *Auricularia* (6).

Estas características son ahora consideradas inadecuadas ya que varían considerablemente con la edad de los especímenes, la exposición a la luz, disponibilidad de humedad y otros factores ambientales (6,9,10).

Las vellosidades en la superficie abhimenal son un rasgo importante del género *auricularia*, además son las únicas estructuras superficiales que pueden utilizarse para distinguir especies dentro de este género. Las vellosidades muestran variaciones considerables en todos los géneros, pero son relativamente constantes para cada especie; por sí solas, no son un criterio suficiente para clasificar una especie, pero son frecuentemente utilizadas (9,10).

Las estructuras internas del cuerpo fructífero son indudablemente el criterio más valioso para clasificar las especies de *Auricularia* (6). Estas consisten en diferentes capas o zonas, las cuales se pueden apreciar en cortes transversales de los cuerpos fructíferos, observados al microscopio (9) (diagrama 1. anexos).

*Auricularia* presenta las siguientes estructuras internas:

-Zona pilosa:

Esta es la zona más externa del cuerpo fructífero y está formada por vellosidades. Esta es presente en todas las especies y muestra considerables variaciones para el género (6,9).

-Zona compacta:

Es la zona en la cual surgen las vellosidades. Está constituida por una zona de hifas de 3-5  $\mu$ m de ancho (6,9).

-Zona sub-compacta superior:

Esta zona presenta un aspecto menos denso. Está formada por hifas de 3-7  $\mu$ m de ancho (6,9).

-Zona laxa superior:

Esta zona está localizada inmediatamente sobre la médula (en las especies que tienen capa medular). Está constituida por hifas dispuestas en una forma holgada, con arreglos reticulares formando numerosas anastomosis; las hifas miden de 3-8  $\mu$ m (6).

- Médula:

Esta zona no está presente en todas las especies. Se localiza centralmente con respecto a las superficies himeneal y abhimeal; tiene un trayecto paralelo con estas capas en todo el cuerpo fructífero. Las hifas tienen un ancho de 6-10  $\mu$ m (6).

-Zona laxa inferior:

En las especies que poseen médula, la zona laxa inferior tiene características iguales a la zona laxa superior (6).

-Zona sub-compacta inferior:

Esta tiene las mismas características que la zona sub-compacta superior (6).

-Himeno:

Esta es una capa gelatinosa colocada en la cara inferior del pileo. Los basidios son cilíndricos, formados por cuatro células y se encuentran densamente dispuestos en forma de empalizada. Los sterigmas son elongados y capaces de penetrar la superficie membranosa llevando las basidiosporas cilíndricas en sus puntas; las esporas miden de 4-6  $\mu$ m (6).

Basados en la estructura interna de los cuerpos fructíferos, se han identificado en Filipinas ocho especies de *Auricularia*: *A. polytricha* (Mont.) Sacc., *A. mesenterica* Pers., *A. fuscosuccinea* (Mont.) Farlow., *A. auricula* (Hook) Underw., *A. delicata* (Fr.), *A. cornea* (Ehr. ex Fr.) Ehr. ex

ll., *A. ornata* Pers., y *A. tenuis* (Lev.)Farlow (10). Mientras que en Guatemala se ha reportado *Auricularia* sp. en el biotopo universitario "Lic. Mario Dary Rivera". *A. delicata* y *A. polytricha* en la finca "San Luis", en el departamento de Escuintla (11,12).

En las regiones cafetaleras del municipio de Tapachula, Chiapas (México), se ha encontrado *A. delicata*, *A. auricula*, *A. cornea* y *A. fuscossuccinea* (13,14).

#### COMPOSICION QUIMICA DE *AURICULARIA* SP.

La composición química de *Auricularia* muestra que el contenido de proteínas, vitaminas y carbohidratos es superior al encontrado en vegetales y frutas; además la cantidad de calorías que posee es comparativamente baja (4,6).

*Auricularia* posee un 100% de porción comestible; 9.42% es proteína, 65.37% lo constituyen carbohidratos, 4.24% es fibra, grasa 1.18%, agua 14.36%, ceniza 5.43% y se calculan aproximadamente 317.00 calorías por 100 gramos del hongo. Datos del Food and Nutrition Research Institute (FNRI), Manila, Filipinas muestra que 100 grms del hongo seco contienen 36 mg de hierro, tiamina 0.8 mg, riboflavina 0.19 mg, niacina 4 mg, calcio 315 mg, y potasio 264 mg. (5,8).

Dentro de los minerales que contiene *Auricularia* se encuentra:  $K_2O$ ,  $Na_2O$ ,  $CaO$ ,  $Fe_2O_3$ ,  $Al_2O_3$ ,  $MgO$ ,  $MnO$ ,  $CuO$ ,  $ZnO$ ,  $P_2O_5$ ,  $SiO_2$ ,  $SO_3$ ,  $Cl$ ,  $CO_2$  (6). (tabla 1. anexos)

#### CULTIVO DE *AURICULARIA* SP.

##### OBTENCION DEL CULTIVO PRIMARIO

Para obtener un producto de calidad debe usarse un cultivo puro y viable del hongo. (8) El cultivo puro y de buena calidad. puede obtenerse en agar papa dextrosa (PDA), aunque puede utilizarse agar levadura malta (MYA), agar papa levadura malta (MYPa), DIFA(5,8)

En Chiapas, México, se han utilizado medios sintéticos como: agar extracto de malta (MEA), papa dextrosa (PDA), agar agua, agar levadura-dextrosa (ALP) y medios naturales como: Agar *Leucaena*, Agar *Gliricida*, para el crecimiento vegetativo de *A. fuscossuccinea*, observándose una velocidad de crecimiento mayor en los medios naturales, y en MEA (17).

El método que se utiliza para obtener el cultivo primario de *Auricularia* es el mismo utilizado para otros hongos (4).

Los basidiocarpos lavados con agua estéril se cortan en piezas de 1 cm. x 1 cm., luego se colocan en cloro al 10% por un minuto; posteriormente se lavan varias veces con agua estéril y se sembrán en el agar elegido. Para aislar las esporas, se colocan piezas del basidiocarpo en la cara interna de la tapadera de la caja de petri que contiene el medio de cultivo; la superficie lisa del fungo contiene el himenio donde las esporas son producidas; ésta es la superficie que debe estar en contacto con el medio de cultivo. Después de 1 a 2 días las esporas son depositadas en la superficie del agar (4).

#### 4.2 CULTIVO Y PRODUCCION DE *AURICULARIA*

Existen dos métodos para el cultivo de *Auricularia*: cultivo en troncos y cultivo en bolsas (4,8,15,16).

##### 4.2.1 CULTIVO EN TRONCOS

Este constituye el método antiguo del cultivo de *Auricularia* sp. y actualmente es considerado impráctico, no sólo por la utilización de los árboles en otras industrias, como por ejemplo la de construcción, si no también por el efecto ecológico que causa la tala de árboles (8).

Existe una gran cantidad de troncos que pueden utilizarse para el cultivo de *Auricularia*, pero el mayor número de especies usadas pertenecen al grupo de las *Fagales*, especialmente *Quercus variabilis* Bl., y *Q. aculissima* Curr. (4,16). Los troncos utilizados proceden de árboles de 6-10 años, con 3-6 cm. de diámetro; los troncos viejos y anchos generalmente producen hongos muy lentamente y con un bajo rendimiento. El tiempo de corte de los árboles tiene un papel importante; si el árbol se corta en mal tiempo, la corteza se desprende fácilmente y la contaminación por hongos oportunistas precede al establecimiento del micelio de *Auricularia* (16).

El período propicio para cortar los árboles es en otoño. Durante este período los troncos son ricos en nutrientes; en general el contenido de carbohidratos en el árbol se ve incrementada considerablemente en esta estación (4,6,16).

Después de 1 ó 2 meses de derribado el árbol, los troncos se cortan de 1 a 1.2 mts de longitud. Los cortes en la superficie del árbol son recubiertos con una solución de  $\text{CuSO}_4$  ó agua de cal para prevenir el ataque de otros hongos. Después, los troncos ya cortados, se disponen en varias capas cruzadas, una contra otras, para facilitar la ventilación y el secado de la madera (16).

### 2.1.1 INOCULACION DE LOS TRONCOS

Los troncos se inoculan usualmente durante el periodo en el cual la temperatura es menor de 20°C. Hay que tener una atención especial para mantener limpias y estériles las condiciones de inoculación para prevenir contaminaciones (16).

Los troncos se perforan con un barreno o con la mano; los agujeros deben tener un diámetro de 0.2-1.4 cm. En cada tronco se deben realizar de 2 a 3 filas de agujeros, la distancia entre cada fila es de 7-10 cm y la distancia entre los hoyos es de 10-14 cm. Posteriormente los agujeros se llenan con aserrín inoculado, cada agujero se cubre con corteza del árbol y se sella con cera parafinada (4,6,16).

Después de la inoculación los troncos se agrupan, verticalmente, en un patio adecuado para el desarrollo del micelio. Dependiendo de las condiciones ambientales, los troncos pueden ser cubiertos con ramas para mantener la humedad. Cuando la temperatura ambiental es muy baja puede ser necesario que los troncos sean cubiertos con plástico para mantenerlos calientes y acelerar el crecimiento del micelio (6,16).

La temperatura óptima de incubación es de 24-27°C cuando la concentración de agua es del 140%. El periodo de esta incubación dura de uno a dos meses (16).

### 2.1.2 CULTIVO Y COSECHA

Los troncos maduros llenos del micelio desarrollado se colocan en una nueva posición, son colocados en una forma más vertical, en filas paralelas una en contra de otra y sostenidas a una altura de 50 a 60 cm lo cual mantiene una elevada humedad durante este periodo. Ordinariamente los "troncos de árbol" necesitan para su formación una humedad del 85-90%. Cuando la humedad relativa disminuye (alrededor de un 65-68%), los cuerpos fructíferos se desarrollan despacio, secos y rígidos (6,16).

Los requerimientos de temperatura para la fructificación es de 15-27°C. Después que los troncos se mojan con una abundante pero fina brisa, los primordios aparecen y gradualmente se

esarrollan de manera normal. El período de tiempo que transcurre desde la fructificación hasta el recimiento total del mismo es de 6 a 7 días a 25°C, y de 15 a 30 días a 15°C. El grosor, tonalidad, y los mejores aspectos evaluados comercialmente se obtienen a bajas temperaturas. En condiciones naturales, el cálculo de la producción de *Auricularia* depende de la lluvia y del clima adecuado. Un rociado a mano y casas invernadero de plástico se utilizan en algunos lugares para obtener mayores producciones (6,16).

Los cuerpos fructíferos se deben cosechar a tiempo (cuando los basidiocarpos están maduros y son gelatinosos y cartilagosos, con su superficie lisa pero lobulada), de otro modo pueden ser atacados por *Pseudomona* spp., *Fusarium* spp., *Esclerotium* spp. Además los hongos son colonizados por larvas de insectos, como las moscas de la fruta (*Drosophila melanogaster*) y ácaros como *Tarsonemus myceliophagus*. Las larvas se alimentan del micelio de *Auricularia* dañando la base de los esporóforos, resultando en un retardo en el crecimiento del hongo o en el peor de los casos, en el cese completo del crecimiento (8,16).

#### 4.2.2 CULTIVO EN BOLSA PLASTICA

Este constituye el nuevo método de cultivo de *Auricularia*; fue desarrollado en Taiwan a principios de 1970 (4,8).

Este método utiliza troncos sintéticos hechos con aserrín empacado dentro de bolsas plásticas frascos resistentes al calor (4-6,8,18).

La fórmula básica del sustrato que se utiliza es el siguiente: 20% de salvado de arroz fino clase A<sup>n</sup>, 78% de aserrín, 1% azúcar blanca y 1% de carbonato de calcio para ajustar el pH (5,6,8,18).

El aserrín fresco debe secarse al sol por dos días antes de ser mezclado, esto reduce la humedad del aserrín en un 15-18%. Posteriormente el aserrín se mezcla con los demás ingredientes, se le agrega agua fresca con un rociador hasta que la mezcla final posea una humedad de 65-70%. El aserrín se coloca en forma de pirámide, se cubre con plástico y se deja fermentar por cinco días moviéndolo cada dos días (8).

Al quinto día de fermentación, el aserrín es ventilado para remover los gases producidos; después se le agrega suficiente agua al compost para ajustar la humedad al 65-70% (8).

En estudios realizados con *Auricularia polytricha* (Mont.)Sacc. y *Auricularia fuscusuccinea* (Mont.)Farlow. se han demostrado buenos resultados utilizando sustratos como olote de maíz, paja

e trigo, bagazo de caña y pulpa de café para la producción de los carpóforos de estos hongos (15,19).

#### 4.2.2.1 INOCULACION DE BOLSAS

Después de ajustado el nivel de agua del compost, el sustrato se coloca en bolsas plásticas o frascos resistentes al calor (10 cm. x 15 cm.). El material dentro del frasco no debe estar ni muy apretado ni muy flojo; posteriormente se hace un agujero al sustrato de cada frasco en el que se introducirá el inoculo, que consiste en un trozo de agar (1cm x 1cm) cubierto con micelio del hongo (4,6,8).

Los frascos (o bolsas) sin inocular, se tapan y se esterilizan en un autoclave a 15lbs/in<sup>2</sup> por 1 hora. Los frascos (bolsas) se enfrían a temperatura ambiente (4,6,8).

Las bolsas o botellas ya inoculadas se mantienen a una temperatura de 25-28°C en obscuridad hasta que todo el sustrato es cubierto por el micelio, lo cual ocurre generalmente de 3 a 4 semanas (4,6,8).

#### 4.2.2.2 FORMACION DE LOS CUERPOS FRUCTIFEROS

Después que el micelio cubre totalmente el sustrato los frascos de vidrio se quiebran para exponer el micelio. La masa de micelio se transfiere dentro del área destinada para el crecimiento de los cuerpos fructíferos. En esta etapa la humedad relativa debe mantenerse entre 75-90% y la temperatura entre 25-28°C (4,8).

#### 4.2.2.3 COSECHA

Alrededor de 12 a 14 días aparecen los esporocarpos de *Auricularia*, cuando son maduros los basidiocarpos son gelatinosos y cartilagosos; más tarde la superficie se torna lisa pero rugada, esto indica la etapa de cosecha (8). Cuando se utiliza aserrín composteado como sustrato, la producción tiene una eficiencia mayor del 75%. El ciclo de cosecha es cada tres o dos semanas durante tres o cinco períodos (5,8).

#### 4.2.3 PRODUCCION MUNDIAL DE *AURICULARIA* SPP.

Actualmente *Auricularia* conforma un grupo de hongos comestibles que ocupan el cuarto lugar de producción mundial después de *Agaricus* spp., *Pleurotus* spp., y *Lentinus* sp (20); teniendo



un costo aproximado en el mercado estadounidense de \$8.00 la libra del hongo deshidratado (21).

Las dos especies de *Auricularia* más cultivadas son *A. auricula* y *A. polytricha* (4). (tabla 2, anexos)

#### 4.3 CONSIDERACIONES FISIOLÓGICAS DE *AURICULARIA* SP.

##### 4.3.1 ESTUDIOS NUTRICIONALES PARA SU CULTIVO

Las mejores fuentes de carbono para este hongo son: glucosa, fructuosa y galactosa. La adición de miel (1-2%), azúcar blanca (1-2%) o sucrosa (0.1-2%) para un medio básico natural mejora considerablemente el crecimiento del micelio (22).

El nitrato de calcio al 0.1% se utiliza como fuente de nitrógeno para el crecimiento del micelio de *Auricularia*; urea, asparagina y alanina también pueden utilizarse como fuentes de nitrógeno (2,23).

Pueden utilizarse además vitaminas como biotina, tiamina y piridoxina para mejorar el crecimiento del micelio; la concentración debe ser mayor de 5 µg/ml. Estas vitaminas se han reportado como requerimientos para el crecimiento de otros hongos comestibles (22,23).

##### 4.3.2 FACTORES AMBIENTALES

-Temperatura: El mejor crecimiento de *Auricularia* se ha obtenido a 28°C, con una temperatura óptima de 20-30°C. Debajo de 12°C y arriba de 35°C el micelio no crece adecuadamente (8,22).

La temperatura es uno de los aspectos que influye tanto en el crecimiento vegetativo como en la etapa de fructificación (8,22).

-Luz: Se ha observado que las cajas de petri con micelio de *Auricularia* sp. que se exponen a luz producen un pigmento café en varias regiones de la caja. Estas manchas de color café en la superficie del medio son indicativo de la iniciación del cuerpo fructífero, lo que indica que la luz es necesaria para inducir la fructificación de *Auricularia* sp (22,23).

-Potencial de hidrógeno: El pH óptimo para el cultivo de este hongo se encuentra entre 4.5 a 5 (8,22,23).

-Humedad: Este es un factor indispensable para tener un buen crecimiento. Para el crecimiento del micelio de *Auricularia* se necesita una humedad del 65-70%, no obstante durante la formación e los cuerpos fructíferos debe mantenerse en 70-90% (8).

### 3. JUSTIFICACION

Guatemala posee una diversidad de especies fúngicas que no se aprovechan como alimento como fuente de medicamentos, debido a la carencia de estudios sobre ellas. Tal es el caso de *Auricularia*, hongo que se aprovecha y cultiva en gran cantidad en otros países por su sabor y propiedades medicinales que posee.

Las condiciones climáticas de algunas regiones del país, han permitido el desarrollo de varias especies de *Auricularia*. Lograr la adaptación de estas cepas nativas a condiciones de laboratorio importante, ya que se estará dando el primer paso para iniciar la producción de este hongo, con que se contribuirá a brindar una alternativa alimenticia a poblaciones campesinas de escasos recursos, y a la utilización de desechos agroforestales y o agroindustriales que contaminan el ambiente.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GENERAL:

Cultivar y adaptar cepas silvestres guatemaltecas de *Auricularia* en condiciones de laboratorio.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS:

4.2.1 Identificar las especies de *Auricularia* que existen en 3 fincas cafetaleras de San Rafael Pie de la Cuesta, San Marcos.

4.2.2 Aislar en cultivo puro (micelio) los especímenes recolectados.

4.2.3 Determinar la eficacia de diversos medios de cultivo (agar papa dextrosa, agar sabouraud, agar extracto de malta) para el crecimiento vegetativo de las cepas nativas recolectadas de *Auricularia*, a temperatura ambiente de laboratorio ( $24^{\circ}\text{C}$ ) y a  $30^{\circ}\text{C}$ .

4.2.4 Determinar cuál es el mejor sustrato orgánico (pulpa de café, olote de maíz, mezcla de aserrín con salvado de arroz) para la producción de cuerpos fructíferos de las cepas de *Auricularia* recolectadas.

4.2.5 Obtener los cuerpos fructíferos de las especies recolectadas a partir de: pulpa de café, olote de maíz y mezcla de aserrín con salvado de arroz.

## 5. HIPOTESIS

- 5.1 El mejor medio para el cultivo de las cepas nativas recolectadas de *Auricularia* sp., es agar extracto de malta (AEM) a una temperatura de 30<sup>0</sup>C.
- 5.2 El mejor sustrato para la producción de cuerpos fructíferos de las cepas recolectadas de *Auriucularia* sp. es la mezcla de aserrín con salvado de arroz.

## 6. MATERIALES Y METODOS

### 6.1 UNIVERSO DE TRABAJO

Especies de *Auricularia* que crecen en 3 fincas cafetaleras del municipio de San Rafael Pie de la Cuesta, del departamento de San Marcos.

#### 6.1.1 MUESTRA

Cuerpos fructíferos de *Auricularia* sp. recolectados en las regiones cafetaleras estudiadas.

### 6.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACION

#### 6.2.1 MUESTREO

Se muestrearon 3 fincas cafetaleras del municipio de San Rafael Pie de la Cuesta, San Marcos, en busca de cuerpos fructíferos de *Auricularia* spp.

#### 6.2.2 MANEJO DE VARIABLES

##### 6.2.2.1 VARIABLES INDEPENDIENTES:

- Temperatura: 25<sup>0</sup>C, 37<sup>0</sup>C.
- Medios de cultivo sintéticos: Agar Papa dextrosa, Agar Extracto de Malta, Agar Sabouraud.
- Sustratos orgánicos: pulpa de café, aserrín de encino con salvado de arroz, olote de maíz.

##### 6.2.2.2 VARIABLES DEPENDIENTES

- Sustratos orgánicos : crecimiento del micelio en días.
- Medios de cultivo sintéticos: crecimiento miceliar en milímetros/día

### 6.2.3 ANALISIS DE RESULTADOS.

En los sustratos orgánicos se medirá el tiempo, en días, que el micelio emplee para cubrir totalmente al sustrato.

Para los medios de cultivo sintéticos se medirá el crecimiento radial de la colonia en milímetros/día, hasta que el micelio cubra totalmente la caja de petri.

Todas las mediciones se realizarán por quintuplicado para cada uno de los medios sintéticos empleados así como para cada sustrato orgánico utilizado, tanto a 25<sup>0</sup>C como a 37<sup>0</sup>C.

### 3 MATERIALES

#### 3.1 EQUIPO

- Balanza semi-analítica (MP-300, Chicago Balan-Corp.)
- Incubadora (Precision Scientific Co, Mod 1480.70 4m-18)
- Microscopio (Zeiss, west Germany, Mod. 29513)
- Mechero tipo Bunsen
- Campana Bacteriológica.
- Autoclave (Integra Biosciences, Mod AGL-5 serie: 132.9504.02)
- Estereoscopio (Nikon, Mod 133398).
- Aparato dispensador de medios de cultivo (Integra Biosciences, Mod: Feder 112131 stacker: 102133.)

#### 3.2 REACTIVOS

- Agar Extracto de Malta
- Agar Papa Dextrosa
- Agar Sabouraud
- Azul de lactofenol
- Lugol
- Sacarosa (azúcar común)
- Carbonato de Calcio

#### 3.3 CRISTALERIA

- Frascos de vidrio de 8 cm. de diámetro y 13 cm. de profundidad.
- Beaker 30 ml

#### 3.4 SUSTRATOS

- Olote de maíz
- Pulpa de café
- Aserrín de *Quercus* spp.
- Salvado de arroz.

#### 3.5 OTROS

- Alcohol etílico 70%
- Fenol al 5%
- Agua estéril
- Cajas de Petri

- Algodón
- Papel pH
- Termómetros
- Cloro al 5%
- Espátula
- Asa en "L".
- Hojas de bisturí
- Marcador permanente
- Regla en centímetros
- Papel Parafilm
- Fósforos



## 4.4 PROCEDIMIENTO

### 4.4.1 OBTENCION DE ESPECIMENES.

Se muestrearon 3 fincas cafetaleras del municipio de San Rafael Pie de la Cuesta, San Marcos, en busca de cuerpos fructíferos de *Auricularia* spp.

### 4.4.2 IDENTIFICACION DE ESPECIMENES

Los cuerpos fructíferos colectados se describieron morfológicamente y se les realizaron observaciones microscópicas para determinar la especie. Estas observaciones se realizaron en el Colegio de la Frontera Sur, Chiapas, Mexico.

### 4.4.3 OBTENCION DEL MICELIO

Para el aislamiento primario del hongo se utilizó una pieza del cuerpo fructífero previamente lavado de 1 cm. X 1cm. El trozo del cuerpo fructífero se introdujo en cloro al 5.6% por un minuto, posteriormente se lavó varias veces con agua estéril para finalmente colocarlo sobre agar PDA para propagación de cepa. Las cajas de petri se incubaron a temperatura ambiente de laboratorio (24°C).

A continuación, con un fragmento de 1cm. X 1cm. del aislamiento primario se inoculó los medios de cultivo Papa Dextrosa, agar Extracto de Malta, y agar Sabouraud. La incubación se realizó en obscuridad a temperatura ambiente de laboratorio (24°C) y a 30°C Para las tres cepas de *auricularia* cultivadas, todas las pruebas se realizaron por quintuplicado para cada una de las temperaturas. El crecimiento se evaluó en mm día hasta que se cubrió totalmente la caja de petri, además se hizo una descripción morfológica de la colonia.

### 4.4.4 OBTENCION DEL INOCULO

La técnica que se utilizó para obtención del inóculo es el que tradicionalmente se utiliza en el cultivo de otros hongos comestibles (19).

Se inoculó porciones estériles de 150 gms. de sorgo con fragmentos de agar cubierto con el micelio, el sorgo se incubó a 28°C. hasta que el hongo cubrió totalmente dicho sustrato.

#### 5.4.5 INOCULACION DE SUSTRATOS

Los sustratos orgánicos antes de utilizarlos se sometieron a diferentes procesos. En el caso del aserrín con salvado de arroz, la fórmula que se utilizó fue: 20% de salvado de arroz, 79% de aserrín de *Quercus* sp., 1% azúcar blanca.

El aserrín fresco se secó al sol por dos días antes de ser mezclado, posteriormente el aserrín se mezcló con los demás ingredientes, se le agregó agua fresca con un rociador hasta que la mezcla final alcanzó una humedad de 65-70%.

El aserrín se colocó en forma de pirámide, se cubrió con plástico y se dejó fermentar por cinco días removiéndolo cada dos días. Al quinto día de fermentación, el aserrín se ventiló para remover los gases producidos; después se le agregó suficiente agua al compost para ajustar la humedad al 55-70%.

En el caso del olote, primero se fragmentó en pedazos de 1 a 1.5 cm. y posteriormente al igual que la pulpa de café, se remojaron en agua durante 24hrs, a continuación se procedió a quitarles el exceso de agua hasta alcanzar una humedad del 75% aproximadamente. Los sustratos se colocaron dentro de frascos de vidrio (5cm de diámetro y 11 cm. de profundidad) de manera que el contenido del frasco no quedara ni muy flojo ni muy apretado. Se realizó un agujero en el centro del contenido del frasco en el cual se introdujo el inóculo.

Los frascos con el sustrato se esterilizaron en una autoclave, a una presión de 15lbs in<sup>2</sup> por 45 minutos. Los frascos ya fríos, se les colocó una cantidad de sorgo cubierto con el micelio del tongo.

Los frascos ya inoculados se incubaron en obscuridad a temperatura ambiente de laboratorio (24°C) y a 30°C. Se midió el tiempo, en días, en el cual el micelio cubrió totalmente el sustrato.

Todas las pruebas se realizaron por quintuplicado en ambas temperaturas para cada sustrato utilizado.

#### 5.4.6 FRUCTIFICACION

Para la obtención de los cuerpos fructíferos, después que el micelio cubrió totalmente los sustratos, se quebraron los frascos y la masa miceliar se colocó para su fructificación en un área con luz natural, una humedad relativa del 90%, una temperatura de 30°C.

Para determinar el porcentaje de eficiencia biológica de los sustratos utilizados se empleó la siguiente fórmula (19) : Peso fresco de los cuerpos fructíferos X 100

Peso seco del sustrato utilizado

#### 4.7 HUMEDAD INTRINSECA DE LOS SUSTRATOS

También se evaluó la humedad intrínseca de cada sustrato. Para esto se pesaron 20 gramos de cada sustrato, se colocaron dentro de frascos de vidrio con peso conocido y se le agregaron 25, 50, y 5 ml de agua respectivamente. A continuación se esterilizaron y se inocularon con un fragmento de agar cubierto con micelio.

Los frascos se incubaron a 30<sup>0</sup>C en obscuridad por 30 días. Posteriormente se secaron los frascos a 120<sup>0</sup>C por dos días. Se pesó cada frasco y se determinó cuánto sustrato se había degradado.

Se realizaron 5 pruebas para cada sustrato, así como 5 testigos para cada uno de los sustratos utilizados.

A estos testigos se les realizó lo mismo que los frascos de prueba a excepción que no se inocularon, ya que sólo se utilizaron para determinar cuanta cantidad de sustrato realmente se había empleado.

Para determinar el porcentaje de sustrato degradado se utilizó la siguiente fórmula:

(Peso del testigo - Peso seco del sustrato utilizado) X 100

Peso del testigo

## RESULTADOS

### 1.1 RECOLECCION Y DESCRIPCION DE ESPECIMENES

Las especies de *Auricularia* se recolectaron en tres fincas cafetaleras ubicadas a una altitud de 1,100 mts. sobre el nivel del mar, con una temperatura promedio de 28°C.

La vegetación, compuesta por un bosque subtropical de latofoliadas, es similar en las tres fincas. Los árboles dominantes son los que tradicionalmente se utilizan para brindarle sombra al cultivo de café como: aguacate (*Persea*), encino (*Quercus*), cushín (*Inga paterna*) y banano.

Los especímenes se dividieron en tres grupos (A-1, A-2, A-3), en base al lugar en el que fueron recolectados.

Todos los especímenes presentaron una consistencia cartilaginosa y forma de oreja (figura 1, anexos).

El grupo A-1 se encontró creciendo sobre el tronco de un árbol denominado cushín (*Inga paterna*): presentaba un color café-vináceo (clave 7<sup>5/E-F</sup>, según tabla de colores de Methuen) y una forma elíptica irregular con un ancho que variaba desde 2.5 a 3.5 cm. y un largo de 3.3 a 5.3 cm., el grosor de los especímenes fue de 0.3 mm. La cara anterior del hongo era rugosa y glabra. Al observar con el estereoscopio la cara posterior, presentaba vellosidades blancas dándole una apariencia aterciopelada.

Las esporas del hongo son reniformes (arriñonadas) y no presentaron reacción con lugol.

El grupo A-2 se encontró creciendo en un tocón de una planta de café; presentaba color náceo oscuro (clave 13<sup>3/E-F</sup>, según tabla de colores de Methuen), de forma redondeada con un diámetro desde 1.6 cm. hasta 7.5 cm., y con un grosor promedio de 1 mm.

La cara anterior rugosa y glabra, y la cara posterior con vellosidades con una apariencia aterciopelada. Las esporas de este grupo también son reniformes y no reaccionaron con lugol.

El grupo A-3, al igual que el grupo A-1 también se encontró creciendo en árbol de cushín. Presentaba color café-vináceo (clave 7<sup>6/E-F</sup>) y una forma elíptica irregular, con un ancho entre 5 a 9.7 cm. y un largo de 7.0 cm hasta 7.7cm. con un grosor de 2mm. La cara anterior tenía un aspecto rugoso y glabro, mientras que la cara posterior presentaba vellosidades blancas que le conferían un aspecto aterciopelado. Las esporas también reniformes y sin reacción al lugol.

Para determinar la especie de los hongos recolectados, se contó con la ayuda del Colegio de Frontera Sur, Chiapas, México, en donde se hicieron observaciones microscópicas de las

estructuras internas, y se determinó que los especímenes recolectados eran afines a *Auricularia viscosuccinea* (diagrama 1, anexos).

## 2.2 CRECIMIENTO MICELIAR SOBRE MEDIOS DE CULTIVO

El micelio mostró, en las tres cepas, un crecimiento radial, por lo que se midió diariamente el crecimiento que mostraba el radio de la colonia hasta que cubrió totalmente la caja de petri.

De los cultivos en AEM, PDA y SAB se registraron los siguientes datos:

A 24<sup>0</sup>C la mayor velocidad de crecimiento para la cepa A-1 se observó en el AEM y en PDA con un promedio de 4.3mm/día. mientras que en Sabouraud se observó una velocidad promedio de 2.3 mm/día, siendo esta la velocidad mas baja para esta cepa.

Para la cepa A-2 la mejor velocidad de crecimiento se obtuvo en el medio AEM y PDA con una velocidad promedio de 2.6 mm/día, en el medio SAB al igual que el grupo A-1 se obtuvo la velocidad de crecimiento más baja con un promedio de 2.1mm/día.

Con la cepa A-3, la velocidad de crecimiento más alta se obtuvo en el medio AEM con 4.6mm/día., seguido por el medio SAB con 3.1 mm/día, en esta cepa la velocidad promedio más baja la obtuvo el medio PDA con 2.3 mm/día. (Tabla 3, Gráfica 1)

## Tabla 3

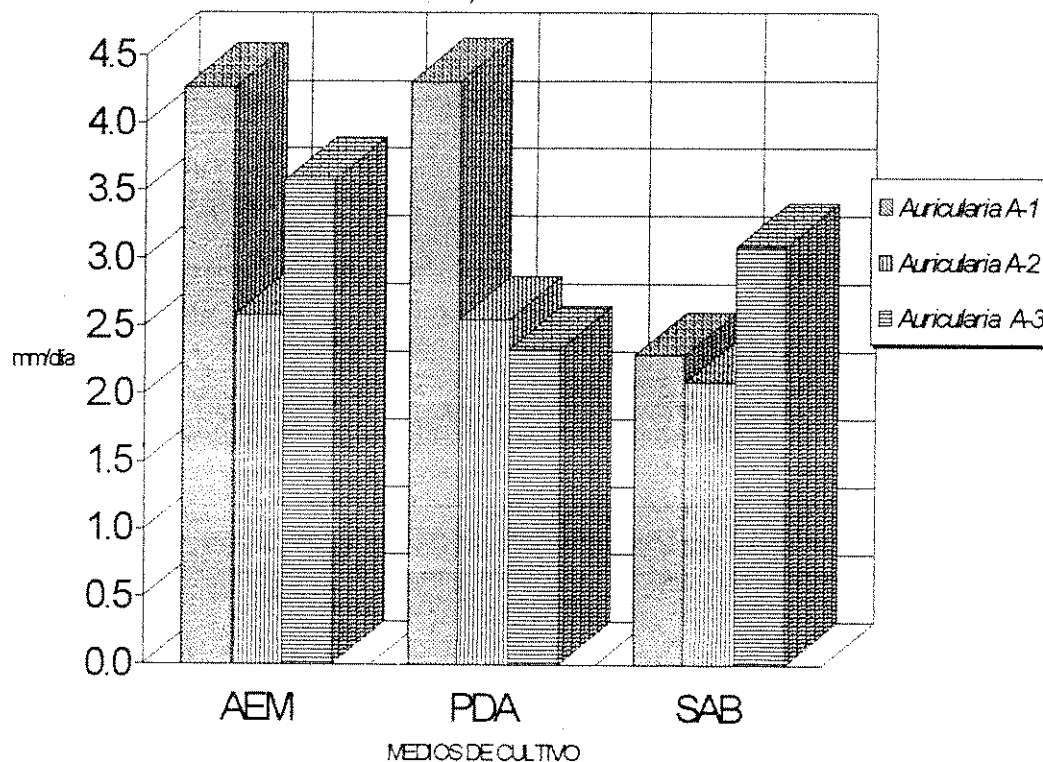
recimiento micelial en mm/día de *Auricularia fuscosuccinea*, a temperatura ambiente de laboratorio (24°C), en tres medios decultivo.

MEDICION	CEPA A-1			CEPA A-2			CEPA A-3		
	AEM*	PDA*	SAB*	AEM	PDA	SAB	AEM	PDA	SAB
1	4	4	2	2	3	2	2	1	2
2	4	4	2	2	2	3	2	1	2
3	4	4	1	3	4	4	2	3	2
4	4	4	2	3	3	4	1	1	2
5	4	4	2	3	3	4	4	1	4
6	6	6	2	2	3	4	4	3	3
7	5	5	1	2	2	3	5	4	3
8	6	6	3	2	2	2	4	1	3
9	7	7	2	2	2	3	4	3	3
10	4	5	2	2	2	2	4	2	4
11	4	5	2	2	2	2	3	2	4
12	5	4	2	3	3	2	3	2	4
13	4	4	3	3	4	2	4	3	3
14	5	6	2	3	3	3	4	2	3
15	4	6	1	2	2	3	5	2	3
16	3	5	1	2	3	3	5	2	3
17	5	4	2	3	3	2	4	1	3
18	5	4	2	3	3	2	4	2	2
19	6	4	3	3	3	2	4	2	3
20	4	3	4	3	2	2	3	3	3
21	5	5	4	2	3	1	3	2	4
22	4	5	3	2	2	1	3	2	2
23	4	6	2	2	3	1	3	2	2
24	4	5	2	3	2	2	3	3	3
25	3	4	3	3	2	2	4	4	3
26	4	4	1	2	3	2	3	2	4
27	4	4	3	2	3	3	4	2	4
28	3	5	2	3	3	1	2	3	4
29	3	6	2	2	3	2	3	2	2
30	3	4	2	2	2	2	3	2	3
31	4	5	2	3	3	2	2	2	3
32	4	3	4	3	2	2	4	2	3
33	5	4	2	3	2	2	3	3	3
34	4	4	2	2	2	1	3	3	3
35	4	4	2	3	3	2	4	2	2
36	6	3	3	3	3	2	3	3	3
37	4	4	3	4	2	2	4	2	4
38	6	4	2	3	2	2	5	4	4
39	4	4	2	3	2	2	4	3	5
40	8	5	2	3	3	2	4	1	3
41	3	1	3	3	3	2	5	3	4
42	2	3	3	3	4	3	4	3	3
43	3	2	2	3	2	2	4	2	3
44	3	3	3	4	2	2	6	3	4
45	2	3	3	2	2	3	4	4	2
<b>OMEDIO**</b>	<b>4.3</b>	<b>4.3</b>	<b>2.3</b>	<b>2.6</b>	<b>2.6</b>	<b>2.1</b>	<b>3.6</b>	<b>2.3</b>	<b>3.1</b>

M= Agar extracto de Malta, PDA= Agar Papa Dextrosa, SAB= Agar Sabouraud  
 \*omedio : en mm/día

## GRAFICA 1

CRECIMIENTO MICELIAR DE *Auricularia*  
*fuscosuccinea* A 24°C, EN TRES MEDIOS DE CULTIVO



A 30°C la velocidad de crecimiento más alta corresponde a la cepa A-1 con 5.6mm/día en AEM, 5.3mm/día en PDA y 3mm/día en SAB.

La cepa A-2 obtuvo 3.6mm/día, 3.4mm/día, y 2.8mm/día en AEM, PDA, SAB respectivamente; mientras que las velocidades más bajas corresponden a la cepa A-3, con un crecimiento de 2.6 mm/día en AEM, 3.2mm/día en PDA, y 1.9mm/día en SAB (Tabla 4, Gráfica 2).

Tabla 4

Crecimiento miceliar en mm/día de *Auricularia fuscosuccinea* a 30°C.  
en tres medios de cultivo

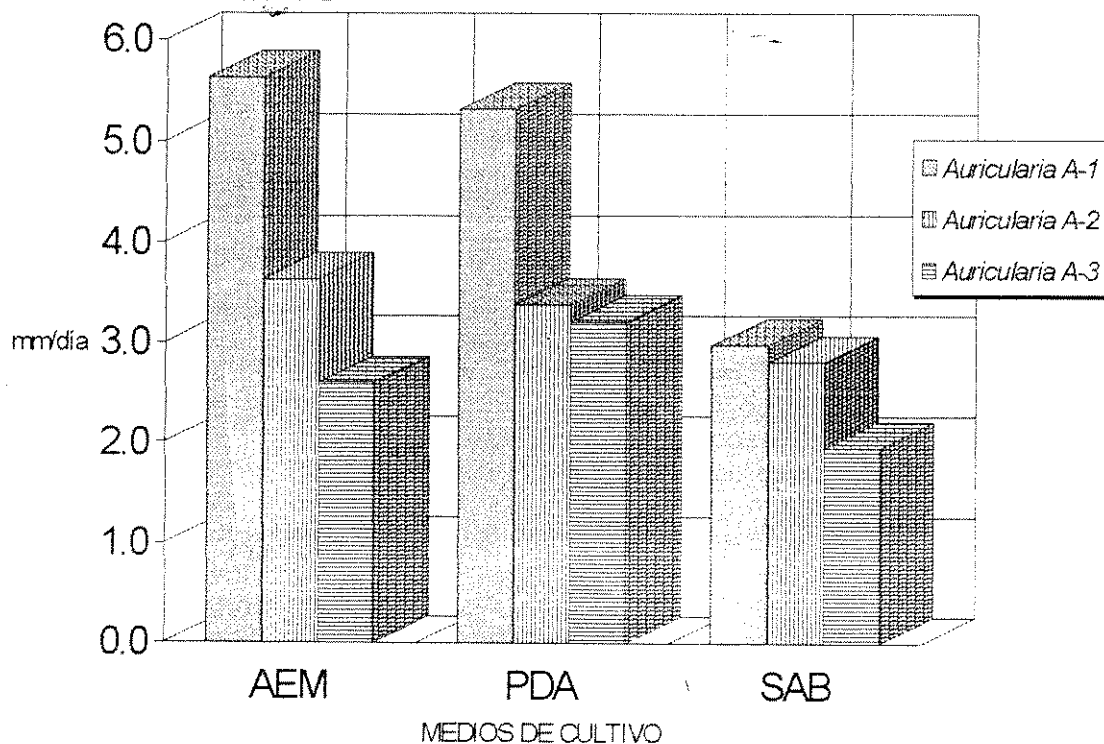
MEDICION	CEPA A-1			CEPA A-2			CEPA A-3		
	AEM*	PDA*	SAB*	AEM	PDA	SAB	AEM	PDA	SAB
1	5	6	3	3	3	1	1	1	1
2	5	5	2	3	2	1	1	1	1
3	5	5	3	4	2	1	1	1	1
4	5	5	3	4	2	2	1	1	1
5	6	6	3	3	3	2	1	1	1
6	6	6	2	4	4	4	2	4	2
7	6	5	2	4	4	4	2	4	2
8	6	6	1	4	4	2	2	4	2
9	6	6	3	1	4	1	2	4	2
10	6	5	1	1	4	2	2	4	2
11	5	5	3	5	4	3	1	2	3
12	5	5	3	4	4	4	1	2	3
13	5	5	4	4	4	4	2	2	3
14	6	6	3	5	4	3	2	2	2
15	6	5	4	5	4	4	3	2	2
16	6	6	3	4	3	3	3	3	2
17	6	6	3	5	2	2	4	4	1
18	5	6	3	5	3	4	3	4	1
19	6	5	4	4	3	4	4	4	2
20	6	5	3	3	4	4	3	4	3
21	6	5	2	3	3	3	3	3	2
22	5	5	3	3	3	2	3	3	1
23	5	6	3	3	4	3	3	3	2
24	6	6	3	4	4	3	2	3	3
25	6	5	2	4	3	3	2	3	3
26	5	5	4	3	3	4	6	5	2
27	5	5	4	3	3	4	5	6	2
28	5	5	4	3	2	4	6	5	2
29	6	5	4	5	3	2	3	5	2
30	6	6	4	3	3	2	3	4	2
31	6	5	3	4	3	3	3	5	2
32	6	5	3	3	4	2	2	5	1
33	6	5	3	3	4	3	2	3	2
34	6	5	3	4	5	2	3	3	2
35	6	5	3	4	4	3	4	2	3
<b>ROMEDIO**</b>	5.6	5.3	3.0	3.6	3.4	2.8	2.6	3.2	1.9

AEM: agar extracto de malta; PDA: agar papa dextrosa; SAB: agar Sabouraud  
 \*\*ROMEDIO: en mm/día



## GRAFICA 2

CRECIMIENTO MICELIAR DE *Auricularia fuscosuccinea* A 30°C. EN TRES MEDIOS DE CULTIVO



Con relación a la morfología miceliar, las cepas A-1, A-2, y A-3, presentaron colonias blancas con una textura algodonosa en AEM y PDA, mientras que en Sabouraud presentaron una textura aterciopelada.

En el caso de las cepas A-1 y A-3, con el tiempo se observaron manchas de color café en el micelio; no así en la cepa A-2 que presentó manchas de color negro en la parte posterior.

### 3 CRECIMIENTO MICELIAR SOBRE SUSTRATOS AGRICOLAS

Sobre el crecimiento de las cepas en los sustratos orgánicos se encuentran los siguientes resultados:

A 24°C la cepa A-1 presentó la mayor velocidad de crecimiento ( $4.8 \text{ cm}^3/\text{día}$ ) sobre la mezcla aserrín con salvado de arroz; mientras que en este mismo sustrato la cepa A-3 presentó la velocidad de crecimiento más baja con  $4.0 \text{ cm}^3/\text{día}$ .

En olote de maíz las cepas A-1 y A-2 presentaron una velocidad de crecimiento de  $4.0 \text{ cm}^3/\text{día}$ , mientras que la cepa A-3 mostró la velocidad más baja con  $3.8 \text{ cm}^3/\text{día}$ .

Las velocidades de crecimiento más bajas se obtuvieron en pulpa de café, con  $3.5\text{cm}^3/\text{día}$  para cepa A-1,  $3.0\text{cm}^3/\text{día}$  para la cepa A-2. La cepa A-3 no creció en este sustrato (Tabla 5, Grafica 3)

## BLA 5

crecimiento de *Auricularia fuscusuccinea* sobre sustratos agrícolas.

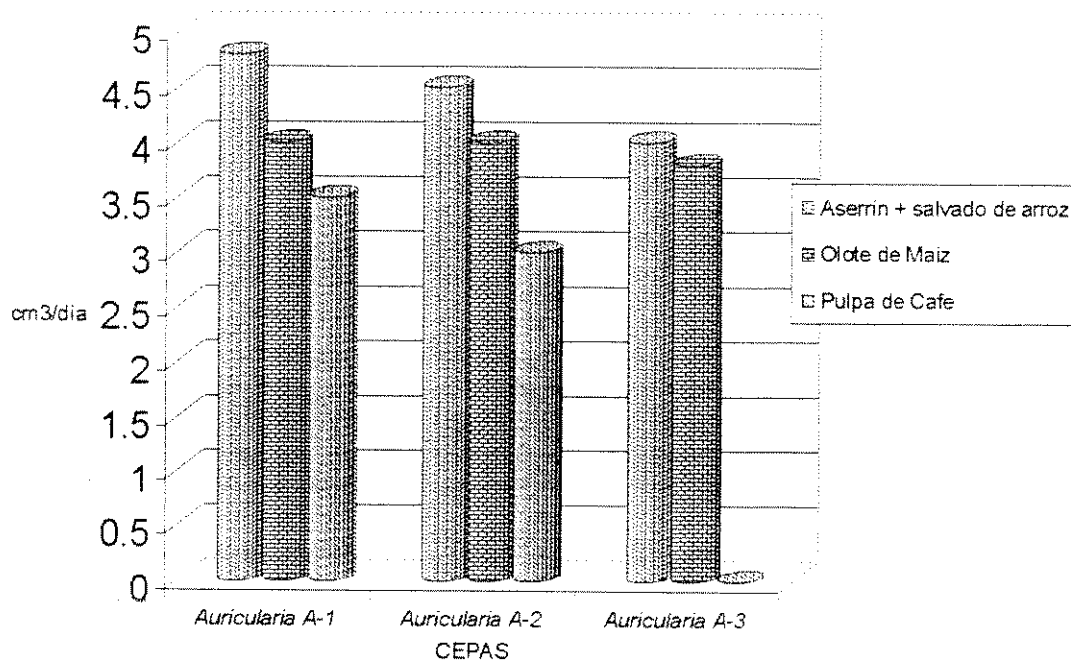
24°C						30°C						
SUSTRATOS						SUSTRATOS						
Sustrato	Aserrín + salvado de arroz	Días**	Olote de Maíz	Días**	Pulpa de café	Días**	Aserrín + salvado de arroz	Días**	Olote de Maíz	Días**	Pulpa de café	Días**
1	4.8*	28	4.0*	34	3.5*	39	6.2*	22	5.5*	25	4.5*	30
2	4.5	30	4.0	34	3.0	45	5.5	25	5.3	26	4.0	34
3	4.0	34	3.8	36	0	0	5.0	27	5.0	27	0	0

crecimiento en  $\text{cm}^3/\text{día}$

Días necesarios para cubrir totalmente el sustrato ( $137.44\text{ cm}^2$ )

## GRAFICA 3

### CRECIMIENTO DE *Auricularia fuscusuccinea* SOBRE SUSTRATOS AGRICOLAS A 24°C.



También se evaluó el mejor porcentaje de humedad intrínseca para cada sustrato utilizado. Para la mezcla de aserrín con salvado de arroz el porcentaje de mayor degradación (13.3%) se alcanzó al agregarle al sustrato 25 ml. de agua.

Para el olote de maíz y la pulpa de café se obtuvo una degradación de 10.8% y 11.0% al agregarle 50 ml de agua a cada sustrato (Tabla 7).

TABLA 7

Humedad intrínseca y porcentaje de degradación de los sustratos utilizados

PARAMETRO EVALUADO	25 ml			50 ml			75ml		
	Aserrín + salvado de arroz	Olote de Maiz	Pulpa de Café	Aserrín + salvado de arroz	Olote de Maiz	Pulpa de Café	Aserrín + salvado de arroz	Olote de Maiz	Pulpa de café
Peso inicial*	9.8**	18.5	17.8	9.8	18.5	17.8	9.8	18.5	17.8
Peso final	8.5	17.8	17.03	8.8	16.5	15.8	NR	17	16.1
de degradación***	13.3	3.7	4.3	10.2	10.8	11	NR	8.1	9.5

\* peso inicial en gramos

\*\* el peso en base húmeda fue de 20gms por lo que para determinar la cantidad total de agua hay que sumar 10.2ml.

\*\*\*  $(\text{peso inicial} - \text{peso final}) \times 100 / \text{peso inicial}$

NR = no realizado.

### 3. DISCUSION DE RESULTADOS.

Es importante observar que en la evaluación del crecimiento sobre medios sintéticos, las cepas A-1, y A-2 mostraron la mejor velocidad de crecimiento micelial sobre AEM y PDA a 24<sup>0</sup>C y 30<sup>0</sup>C respectivamente. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por el Colegio de la Frontera Sur, Chiapas, México, con *Auricularia fuscosuccinea* (17). Además en estudios realizados por Quimio TH. mencionan que el AEM y PDA son los medios de elección para el cultivo de *Auricularia* sp. (4).

La cepa A-3 a 24<sup>0</sup>C mostró un comportamiento diferente al que presentaron las cepas A-1 y A-2, presentando una velocidad de crecimiento mayor AEM y SAB.

La mayor velocidad de crecimiento a 24<sup>0</sup>C la obtuvo la cepa A-1 con 4.3mm/día sobre AEM, mientras que la velocidad de crecimiento más baja la mostró la cepa A-2 en SAB con 0.1mm/día; ésto nos indica que la cepa A-2 probablemente más exigente en cuanto a sus requerimientos nutritivos que A-1 y A-3, (basta recordar que SAB es un medio menos nutritivo que AEM y PDA).

Es interesante observar el comportamiento de la cepa A-3, que en PDA presentó mejor crecimiento a 24<sup>0</sup>C que a 30<sup>0</sup>C. Esto indica que la cepa A-3 no sólo posee requerimientos nutricionales diferentes a los otras cepas, sino que también es más sensible a cambios de temperatura. De esta cepa convendrá hacer posteriores estudios.

De las tres cepas estudiadas, la que presentó la mayor velocidad de crecimiento tanto a 24<sup>0</sup>C y 30<sup>0</sup>C fue la cepa A-1. lo que sugiere que posee una mayor capacidad de adaptabilidad que las otras cepas. Esta característica la haría más tolerante a cambios nutricionales y ambientales.

Las manchas de color café observadas con el tiempo en el micelio; se cree que son un indicativo del inicio de la formación del cuerpo fructífero (22).

A las manchas de color negro observadas en la cepa A-2. se les realizó una observación microscópica y no se observaron hongos contaminantes. Es posible que estas manchas sean copias de esta cepa, ya que ninguna de las otras dos mostró dichas manchas.

Los medios de cultivo que presentaron las mayores velocidades de crecimiento fueron AEM y PDA respectivamente, esto se debe a que estos medios son más nutritivos que el medio Hbouraud. Estos resultados concuerdan con la hipótesis ya que las mayores velocidades de crecimiento se obtuvieron en el medio AEM a 30<sup>0</sup>C.

En el crecimiento miceliar sobre sustratos agrícolas (tabla 3) se observa que tanto a 24 °C no a 30 °C, las velocidades de crecimiento más altas se presentaron en la mezcla de aserrín de ino con salvado de arroz, mientras que la velocidad más baja la presentó la pulpa de café.

Es muy interesante observar que la cepa A-3 no creció en pulpa de café. En estudios realizados por L.A. Calvo *et al.* (17), se observó que la pulpa de café en concentraciones superiores al 3% producen una inhibición del crecimiento miceliar de *Auricularia fuscosuccinea*, que posiblemente se deba al contenido de polifenoles y cafeína.

Respecto a la velocidades de crecimiento sobre sustratos orgánicos, las mayores se presentaron en aserrín; es de hacer notar que las cepas estudiadas se encontraron creciendo sobre micos, lo que hace suponer que están adaptadas a metabolizar directamente los componentes micos de la madera, para obtener sus requerimientos energéticos.

Se observó que la mayor velocidad de crecimiento para las tres se presentó a 30°C la cual es similar a la de los sitios de colecta de las cepas (28 °C ). La otra temperatura que se evaluó, C, se encuentra 4°C por debajo de la temperatura de los lugares de colecta. *Auricularia* es un go muy sensible a la temperatura (8,22), y la diferencia de 4 °C menos pudo afectar el imiento del hongo. Podría sugerirse que un aumento en la temperatura de cultivo favorece el imiento miceliar de *Auricularia*, siempre que no exceda los 35°C.

Al igual que el crecimiento miceliar en medios sintéticos, la cepa A-1 mostró las más altas oidades de crecimiento para los sustratos orgánicos, debido a su tolerancia frente a cambios ricionales y ambientales. Además, fue la única que fructificó en los sustratos agrícolas izados.

El color de los carpóforos producidos *in vitro* era de un color café oscuro aunque algunos sentaron un color café pálido. El color es una característica que depende de las condiciones ientales en las cuales se desarrolle el hongo (9,10,20).

En un estudio realizado por Cheng y Tu (6), comentaron que las cepas de *Auricularia osuccinea* presentan una coloración rosa-vinácea que les hace imposible de ser confundidas otras especies.

Sobre las eficiencias biológicas de los sustratos utilizados, el aserrín con salvado de arroz el que obtuvo la mayor eficiencia biológica con 75% esto era de esperarse ya que esta cepa se lectó sobre un tronco de madera. El hecho que se haya obtenido una eficiencia biológica más

a en olote de maíz se debe probablemente a que este sustrato no posee la relación carbono/óxígeno adecuada para la fructificación óptima de esta cepa.

Con estos resultados se comprueba la hipótesis, ya que el sustrato que mostró la mejor eficiencia biológica fue el aserrín con salvado de arroz.

En la medición del mejor nivel de humedad intrínseca para el crecimiento miceliar, se puede observar que la mayor degradación se obtuvo en aserrín con salvado de arroz con 13.3%.

Para el aserrín no se evaluó con 75 ml. de agua ya que con esta cantidad de agua el sustrato encontraba prácticamente sumergido.

En la tabla 7 también se observa que los porcentajes más bajos de degradación para los más sustratos se presentó cuando se agregó 25 ml de agua. Esto se debe a la naturaleza de los sustratos utilizados, que son poco porosos y su superficie es mas dura que el aserrín, por lo que se necesita mas agua para poder humedecerlos.

Es interesante observar que el micelio presentó una degradación del 11% sobre pulpa de maíz pero no es capaz de fructificar. lo que puede deberse posiblemente a una relación carbono/óxígeno poco adecuada de la para la fructificación.

## 9 CONCLUSIONES

Los especímenes recolectados se identificaron como afines a *Auricularia fuscosuccinea*.

Se aislaron tres cepas afines a *Auricularia fuscosuccinea* en cultivo puro.

Para el crecimiento miceliar de las cepas aisladas los mejores medios de cultivo son AEM y APD respectivamente.

La temperatura óptima para el crecimiento miceliar de las cepas estudiadas es 30°C.

De las tres cepas estudiadas la cepa A-1 es la que presenta mayor capacidad de adaptabilidad, tanto a cambios nutricionales como de temperatura.

De las tres cepas estudiadas posiblemente la cepa A-3 se trate de una cepa diferente a las cepas A-1 y A-2 ya que mostró diferencias tanto en su crecimiento miceliar sobre medios de cultivo sintéticos como a cambios de temperatura.

El sustrato orgánico más adecuado para el crecimiento vegetativo de las cepas estudiadas lo constituye la mezcla de aserrín de *Quercus* (encino) con salvado de arroz.

La pulpa de café no es el mejor sustrato orgánico para el crecimiento vegetativo de las cepas estudiadas.

Para el crecimiento del hongo en la mezcla de aserrín con salvado de arroz, la mejor humedad intrínseca corresponde a un 78%, lo que equivale a una relación de 3.5 partes de agua por una de sustrato.

Para el olote de maíz y la pulpa de café la mejor humedad intrínseca para el crecimiento del hongo corresponde a un 72.8%, lo que equivale a una relación de 2.75 partes de agua por una de sustrato.

## 10. RECOMENDACIONES

- Muestrear otras áreas geográficas en busca de especímenes de *Auricularia* sp.
- Utilizar agar Extracto de Malta para la obtención de micelio de cepas de *Auricularia* en Guatemala.
- Optimizar la mezcla de aserrín con salvado de arroz para el crecimiento de las cepas aisladas.
- Determinar la relación carbono / nitrógeno óptima para las cepas aisladas.
- Evaluar otros sustratos orgánicos para determinar cual es el idóneo para el crecimiento de *Auricularia*.
- Realizar un análisis químico de los cuerpos fructíferos de las cepas guatemaltecas de *Auricularia* sp. para determinar su concentración en aminoácidos, vitaminas y minerales.
- Realizar un análisis organoléptico de los cuerpos fructíferos obtenidos *in vitro*.
- Efectuar un estudio etnomicológico del uso de los cuerpos fructíferos de *Auricularia* , en diferentes regiones de Guatemala.
- Realizar investigaciones sobre las propiedades medicinales de las cepas nativas de *Auricularia*.
- Evaluar diferentes fuentes de nitrógeno para el crecimiento del hongo en cultivos.



## 11. BIBLIOGRAFIA

Chang ST. Mushroom Reseach and Development-Equality and Mutal Benefit. p 1-10. (in: Royse ed. Mushroom Biology and Mushroom Product. Pensylvania: Pensylvania State University, 1996. XVI +581p)

Fuentes G. Caracterización taxonómica de los macromicetos que crecen en el astillero municipal de San Pedro Sacatepequez, San Marcos. Guatemala: Universidad de San Carlos. (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1996. 58p.

Godoy C. Cultivo de una cepa Mexicana de *Pleurotus ostreatus* utilizando como sustrato aserrín de caoba y cedro, fibra de coco y olote de maíz. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1997. 59p.

Quimio TH. Cultivation of *Auricularia*: Past, Present and Future. Mush J Tropics, 1988: 8:99-103.

Stamets Paul. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Hong Kong: Ten Spees Press, 1993. 526p (p395-400).

Cheng S. Tu CC. *Auricularia* spp. p606-624 (in: Chang S.T. & Hayes W.A. eds. The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms. New York: Academic Press. 1978)

Hobbs Christopher. Medicinal Mushrooms. Santa Cruz California: Botanica Press, 1995. 256p (p72-75)

Vilela LC. Silverio CM. Cultivation of *Auricularia* on composted sawdust in the Philipines. P 427-435. (in: Chang S.T. & Quimio T.H. eds. Tropical Mushrooms, Biological Nature and Cultivation Methods. Hong Kong: The Chinese University Press, 1982. 493p).

Lowy B. A Morfological Basis for Classifyng the Species of *Auricularia*. Mycologia 1951; 43: 351-358.

Quimio TH., R de Guzman. Taxonomy and Basidiocarp Development of *Auricularia* Mushroom. p383-394. (in: Chang S.T., Quimio T.H. eds. Tropical Mushrooms, Biological Nature and Cultivation Methods. Hong Kong: The Chinese University Press, 1989. 493p).

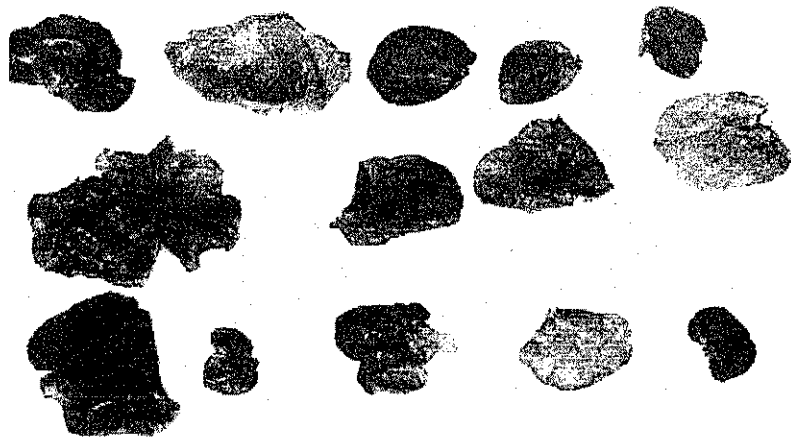
Sommerkamp YL. Estudio de los Macromicetos del Biotopo Universitario "Lic. Mario Dary Rivera" para la conservacion del Quetzal. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1984, 56p.

- 2) Aguilar MR. Estudio de los Macromicetos encontrados en la finca "San Luis" departamento de Escuintla . Guatemala: Universidad de San Carlos. (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1994, 39p.
- 3) Sánchez JE., Palacios G, Calvo LA. Potential of *Auricularia* sp. in the recycling of agroindustrial waste products in the tropic. Mush Science 1995; 14:877-883.
- 4) Andrade RH., Chacón S. Sánchez JE. Estudios sobre los hongos (macromicetos) de tres plantaciones de café en el municipio de Tapachula, Chiapas (México). Rev Mex Micol 1996; 12: 79-88.
- 5) Manji S, Mehta KB, Cultivation of *Auricularia polytricha* (Mont.)Sacc. (Jew's ear mushroom) on wheat straw. Mush Science 1989; 12(11): 387-393.
- 6) Lou LH. Cultivation of *Auricularia* on logs in China. p437- 441. (in: Chang ST, Quimio TH. eds. Tropical Mushrooms, Biological and Cultivation Methods. Hong Kong: The Chinese University Press, 1982. 493p)
- 7) Calvo-Bado LA, Sánchez Vázquez JE, Huertas palacios G. Evaluación de diversos sustratos para el crecimiento vegetativo de *Auricularia fuscosuccinea*. Micol Neotrop Apl 1995; 8:27-37.
- 8) Lo XC, Chen LG. Sexuality and Formation of Monocaryotic Fruit body in *Auricularia auricula* and *Auricularia polytricha*. Mush J Tropics 1989; 9:21-28 .
- 9) Calvo-Bado LA, Sánchez Vázquez JE, Huertas Palacios G. Cultivo de *Auricularia fuscosuccinea* (Mont.)Farlow. sobre sustratos agrícolas en el Soconusco, Chiapas, México. Micol Neotrop Apl 1996; 9: 95-106.
- 10) Castillejos-Puon V, Sánchez Vázquez JE, Huertas palacios G. Evaluación de cepas del hongo comestible *Auricularia fuscosuccinea* nativas del Soconusco, Chiapas. México. Rev Mex Micol 1996; 12:23-30.
- 1) Mushrooms, Mushroom products. <http://www.w.w.w.halcyon.com/mycomed/mushroom.html>
- 2) Quimio TH, Physiological Considerations of *Auricularia* spp. p397-407. (in: Chang ST, Quimio TH. eds. Tropical Mushrooms, Biological Nature and Cultivation Methods. Hong Kong: The Chinese University Press, 1982)
- 3) Khan SM, Mirza JH, Khan MA. Physiology and Cultivation of Wood's ear Mushroom. (*auricularia polytricha* (Mont.)Sacc.). Mush Science 1991; 13:573-578.

## 12. ANEXOS

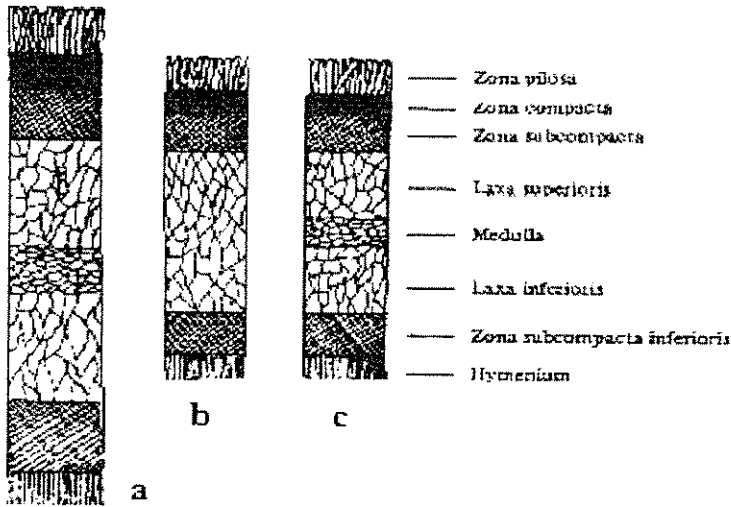
**FIGURA 1**

pecímenes de *Auricularia* sp recolectados en tres fincas cafetaleras de San Rafael Pie de La  
 esta San Marcos.



**FIGURA 1**

Comparación entre diferentes especies de *Auricularia*



a) *A. polytricha* b) *A. auricula* c) *A. fuscosuccinea*

Trabajo de Quimio T.H., R de Guzman. Taxonomy and Basidiocarp Development of *Auricularia* Mushroom. p383-  
 (in: Chang S.T., Quimio T.H. eds. Tropical Mushrooms, Biological Nature and Cultivation Methods. Hong  
 Kong: The Chinese University Press, 1989. 493p).

bla 1

**Contenido mineral de Auricularia spp.**

Minerales	Contenido (%)	Minerales	Contenido(%)
K <sub>2</sub> O	35.33	CuO	0.08
Na <sub>2</sub> O	5.99	ZnO	0.09
CaO	17.62	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	7.88
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	2.37	SiO	9.66
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	4.71	SO <sub>3</sub>	3.20
MgO	6.6	Cl	2.29
MnO	0.51	CO <sub>2</sub>	3.67

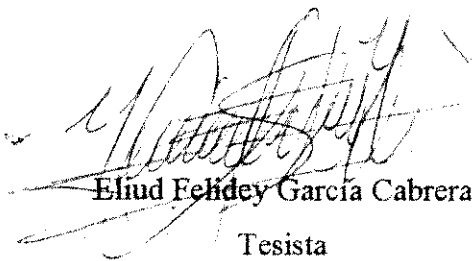
ado de: Cheng S. Tu CC. *Auricularia* spp. p006-624 (in: Chang S.T. & Hayes W.A. eds. The Biology and  
vation of Edible Mushrooms. New York: Academic Press, 1978)

Tabla 2

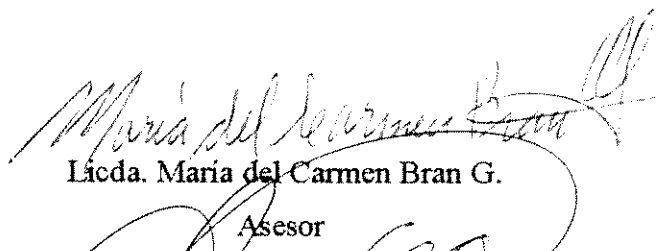
Produccion de Hongos comestibles en 1994 (unidades de peso fresco:M.T. x 1000)

GENERO	China	Indonesia	Japon	S. Corea	Taiwan	Tailandia	U.S.A.	Otros	Sub-total
<i>Agaricus</i>	359.0	28.0		9.8	7.2	1.3	370.0	1070.7	1846.0
<i>Lentinula</i>	632.0		141.3	20.1	28.1	0.3	2.5	1.9	826.2
<i>Pleurotus</i>	654.0	1.0	20.8	57.9	4.6	15.0	0.9	43.2	797.4
<i>Auricularia</i>	385.0	0.2	0.1		8.8	6.0		20.0	420.1
<i>Volvarellia</i>	115.0	89.0			4.5	65.0		25.3	298.8
<i>Flammulina</i>	109.0		101.8	1.7	16.8			0.5	229.8
<i>Tremella</i>	156.0							0.2	156.2
<i>Hypsizygus</i>			54.4		0.3			0.1	54.8
<i>Pholiota</i>	4.3		22.6					0.1	27.0
<i>Grifola</i>			14.0					0.2	14.2
Otros	226.6	0.6	5.1	2.5	1.5	2.0	0.5		238.8
<b>Sub-total</b>	<b>2640.9</b>	<b>118.8</b>	<b>360.1</b>	<b>92.0</b>	<b>71.8</b>	<b>89.6</b>	<b>373.9</b>	<b>1162.2</b>	
<b>Gran total</b>									<b>4909.3</b>

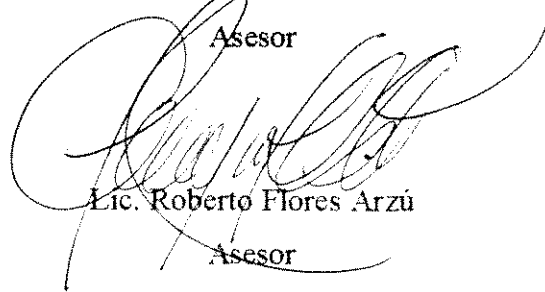
adado de: Quimio TH. Cultivation of *Auricularia*: Past, Present and Future. Mush J Tropics, 1988; 8:99-103.



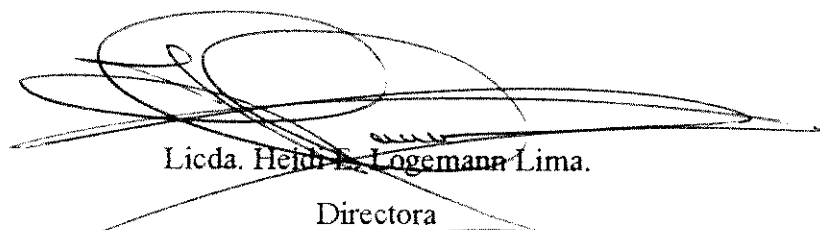
Eliud Felidey García Cabrera  
Tesisista



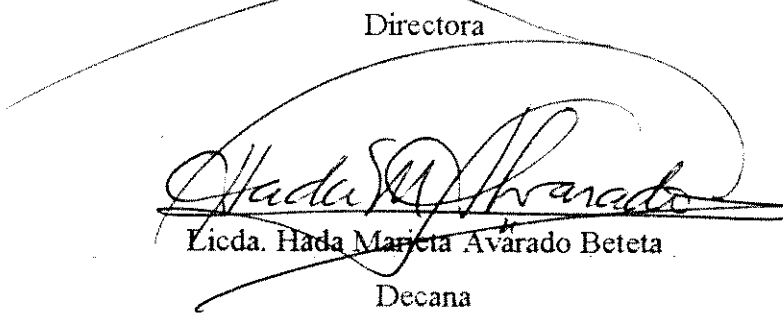
Licda. Maria del Carmen Bran G.  
Asesor



Lic. Roberto Flores Arzú  
Asesor



Licda. Heidi E. Logemana Lima.  
Directora



Licda. Hada Marieta Avarado Beteta  
Decana