

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**Descripción de las características del cultivo *in vitro* y producción de inóculo de cuatro
cepas nativas de *Neolentinus* spp.**

Julia Elena Mahler Pérez

QUÍMICA BIÓLOGA

Guatemala, noviembre de 2006

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

Descripción de las características del cultivo *in vitro* y producción de inóculo de cuatro cepas nativas de *Neolentinus* spp.

Informe de tesis

Presentado por

Julia Elena Mahler Pérez

Para optar al título de

QUÍMICA BIÓLOGA

Guatemala, noviembre de 2006

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cobar Pinto, Ph. D.	Decano
Licda. Jannette Sandoval Madrid de Cardona, M. A.	Secretaria
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez	Vocal III
Br. Ángel Damián Reyes Valenzuela	Vocal IV
Br. Ángel Jacobo Conde Pereira	Vocal V

ACTO QUE DEDICO

- A DIOS** Mi Divino Redentor y Consolador, por el don de la vida, por iluminar mi camino, por llenarme de fortaleza en los momentos más difíciles y brindar sentido a mi existencia. A ti Padre, el honor, la honra y la gloria.
- A LA VIRGEN MARÍA** Madre Celestial, por tu santa y poderosa intercesión, por fortalecer mi camino, sobre todo cuando la luz que ilumina parece desaparecer.
- A MIS PADRES** Oscar Mahler Tovar † y Josefina P. de Mahler, por ser ángeles de Dios, porque han sido bendición en mi vida, por ser ese pilar que me ha brindado fortaleza para alcanzar esta meta, con todo mi amor, mi respeto y mi admiración.
- A MIS HIJOS** Elena Guadalupe Rivas Mahler y Oscar Ricardo Antonio Rivas Mahler, por ser grandes bendiciones en mi vida, con gran amor, por ser mis estrellas que brillan en las noches de oscuridad y me impulsan a seguir adelante.
- A MIS ABUELITOS** Fernando Mahler †, Julia Tovar de Mahler †, Alejandro Pérez † y María Victoria Rodas de Pérez †, con amor y agradecimiento.
- A MIS HERMANOS** Ana Alicia y Alex, con mucho cariño.
- A MIS SOBRINOS** Walter Fernando, Helen María, Oscar Rodolfo, Karin, Sergio Alex, Oscar José, Alex Fernando y Annelisse.
- A MI COMUNIDAD CATÓLICA** “Centro Misionero Católico”, por ser un espacio de edificación espiritual continua.
- A MIS AMIGOS Y AMIGAS** Especialmente a los esposos Figueroa Escobar.
- A MIS CATEDRÁTICOS** En especial a la Licenciada Alba Marina Valdés de García.

AGRADECIMIENTOS

Al Licenciado Osberth Morales Esquivel y Licenciada María del Carmen Bran, por su asesoría y apoyo brindado durante la realización de esta tesis.

A MSc. Karin Herrera y Dr. Roberto Flores, mi agradecimiento especial por revisar esta tesis.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, a la Escuela de Química Biológica.

Al Departamento de Microbiología y a la Unidad de Biodiversidad, Aprovechamiento y Tecnología de Hongos.

Al Laboratorio Microbiológico de Referencia –LAMIR-, Escuela de Química Biológica.

A Roberto Cáceres Staackmann, por la ayuda y asistencia técnica brindada.

A la Familia Andrade Barrios.

ÍNDICE

Contenido	Página
I. Resumen	1
II. Introducción	3
III. Antecedentes	4
A. Aspectos generales	4
B. Hongos comestibles	5
C. Cultivo de hongos comestibles	5
D. El género <i>Neolentinus</i>	7
1. Características morfológicas	8
a. Características macro y microscópicas	8
2. Hábitat y distribución	9
a. Mundial	9
b. Guatemala	10
3. Etnomicología	10
4. Características de cultivo <i>in vitro</i>	11
a. <i>Neolentinus suffrutescens</i> (<i>N. lepideus</i>)	11
b. <i>Neolentinus schaefferi</i>	11
5. Estudios sobre el cultivo de <i>Neolentinus</i>	12
a. México	12
b. Guatemala	12
IV. Justificación	14
V. Objetivos	15
VI. Hipótesis	16
VII. Materiales y métodos	17
VIII. Resultados	24
IX. Discusión	32
X. Conclusiones	35
XI. Recomendaciones	36
XII. Referencias	37
XIII. Anexos	40

Julia Elena Mahler Pérez
Tesisista

Licda. María del Carmen Bran González
Asesora

Lic. Osberth Morales Esquivel
Asesor

Dr. Roberto Flores Arzú
Revisor

MSc. Karin Herrera
Revisora

MSc. Vivian Matta Ríos de García
Directora de Escuela

Oscar Cobar Pinto, Ph. D.
Decano

I. RESUMEN

En este estudio se describen las características miceliales de cultivo *in vitro* de cuatro cepas nativas de *Neolentinus* spp, así como el medio y la temperatura más adecuadas para su desarrollo. Se evaluó la producción de inóculo utilizando diferentes sustratos y temperaturas, encontrándose el mejor vehículo y temperatura donde las cepas evidenciaron un mejor crecimiento. También se describen las características taxonómicas de los cuerpos fructíferos herborizados, para la confirmación de las especies.

El trabajo se inició revitalizando las cepas de *N. lepideus* y *N. ponderosus* en agar PDA e incubándolas a 26°C, durante 7 días. Seguidamente se determinó la tasa radial de crecimiento y producción de biomasa de las cepas, en los medios de cultivo PDA, ASD y AEM a tres temperaturas: 18, 24 y 26°C. Además se describieron las características macro y microscópicas de las colonias.

Para la producción de inóculo se prepararon 200 gramos de granos de trigo, sorgo y aserrín de pino en bolsas de polipapel. Posteriormente se inocularon con el micelio previamente propagado de cada una de las cepas en agar PDA. Los sustratos fueron incubados a las temperaturas de 18, 24 y 26°C.

Finalmente, se estudiaron las características microscópicas de los hongos herborizados y se compararon las descripciones con la bibliografía para confirmar e identificar las especies.

Las colonias de las cepas de *N. ponderosus* y *N. lepideus*, presentaron color blanco, superficie algodonosa a levemente granular y a los 15 días de incubación se formaron gotas de exudado translúcido, en los medios PDA, EMA y ASD (18, 24 y 26°C). Todas las cepas en agar ASD presentaron abundantes clamidosporas terminales e intercalares, ovoides, de paredes gruesas.

Los crecimientos más vigorosos y rápidos fueron observados en el medio EMA a 18°C para las cepas *Neolentinus lepideus* 90.2002 y *N. ponderosus* 02.2002 y a 26°C para la cepa *N. ponderosus* 145.2002; así como en el medio ASD a 26°C para la cepa *N. ponderosus* 02.2003.

La producción de biomasa en los cultivos de *N. ponderosus*, evidenció que la cepa 02.2002, produjo mayor cantidad de biomasa en el medio PDA a 26°C; la cepa 02.2003 en el medio EMA a 26°C; la cepa 145.2002 en el medio EMA a 18°C y la cepa de *N. lepideus* 90.2002 en el medio PDA a 26°C.

El menor tiempo de colonización del micelio en el inóculo se observó en aserrín de pino a 26°C para las cepas *N. ponderosus* 145.2002, 02.2003, las cuales llenaron el sustrato en 30 días, mientras que la cepa *N. ponderosus* 02.2002, lo hizo en 37 días.

La cepa *N. lepideus* 90.2002 evidenció su mejor crecimiento en aserrín de pino a 26°C, colonizando el sustrato en 30 días, observándose además la aparición de primordios.

Los ejemplares herborizados que fueron revisados, coincidieron con los taxones previamente identificados en la Micoteca de Macrohongos de Guatemala “Lic. Rubén Mayorga Peralta” de la Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

I. INTRODUCCIÓN

En Guatemala existe una gran variedad de hongos comestibles que crecen en diferentes ecosistemas, observándose un mayor desarrollo de las fructificaciones durante la época lluviosa. Actualmente se han identificado más de 70 especies que se consumen en 21 localidades del país, incluyendo dos del género *Neolentinus*, siendo ellas: *N. ponderosus* y *N. lepideus*.

Esta diversidad fúngica puede ser aprovechada para el desarrollo económico y alimenticio de comunidades rurales, por lo que se hace necesario ensayar el cultivo *in vitro* de cepas nativas y evaluar la producción de inóculo a efecto de desarrollar un procedimiento de cultivo apropiado.

Esta tecnología podrá permitir, en el futuro, que las comunidades campesinas sean capaces de generar, en pequeñas unidades de producción artesanal, una fuente alterna de alimento, al ser conocedoras y consumidoras de distintas especies de hongos silvestres, aunque desconocen las técnicas de su domesticación.

Por tal motivo, se procedió a describir las características miceliales de cultivo *in vitro* de cuatro cepas nativas de *Neolentinus*, para determinar el medio y la temperatura donde las cepas presentaran un mejor desarrollo, así como evaluar la producción de inóculo utilizando diferentes sustratos y temperaturas. También, describir las características microscópicas de los cuerpos fructíferos herborizados, pertenecientes a recolectas de *Neolentinus* en Guatemala para la confirmación de las especies.

II. ANTECEDENTES

A. Aspectos generales

Los hongos forman un grupo taxonómico diferente a plantas y animales, al cual se le denomina Reino Fungi. Se diferencian del resto de los organismos vivos, en su estructura microscópica a base de hifas, en su carácter perenne y en sus procesos de reproducción a través de esporas sexuales y asexuales (1, 2).

La clasificación actual de este reino, se basa en las relaciones evolutivas de los grupos de organismos correspondientes a linajes monofiléticos y se incluyen en cuatro *Phyla*: *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota* y *Basidiomycota* (1, 3).

Los hongos se cuentan entre los organismos más importantes del mundo, no solamente por su papel vital en el funcionamiento de los ecosistemas, sino también por su influencia en el hombre y en actividades relacionadas con él. Los hongos también son esenciales en la descomposición, reciclamiento y transporte de nutrientes y son indispensables para el desarrollo sostenible del ambiente. Algunas especies son patógenas de plantas y animales y otras forman simbiosis con diversas especies de plantas, algas, cianobacterias y animales (4).

Se ha estimado que podrían existir 1.5 millones de especies en este reino y de ellas, aproximadamente 140,000 producen cuerpos fructíferos de tamaño y estructura suficiente para ser considerados macrohongos, muchas de las cuales se cultivan o se recolectan para alimento (4, 5).

B. Hongos comestibles

La comestibilidad de los hongos se ha conocido por los humanos desde tiempos inmemoriales. Se estima que cerca de 7,000 especies poseen varios grados de comestibilidad, y más de 3,000 especies de 31 géneros se consideran como las principales comestibles (5).

Hasta el año 2003, en Guatemala se han reportado 70 especies de hongos comestibles. Entre ellas se cuentan dos especies del género *Neolentinus*: *N. ponderosus* y *N. lepideus*, cuyo valor culinario y comercial es aprovechado por los habitantes de San Mateo Ixtatán, Huehuetenango y aldeas de Totonicapán. Estos hongos pueden ser utilizados como una alternativa alimenticia, a pequeña, mediana y gran escala, aplicando una tecnología sustentable (6-8).

C. Cultivo de hongos comestibles

Actualmente se han estudiado para fines de cultivo, alrededor de 200 especies de hongos comestibles, de las cuales aproximadamente 60 se cultivan comercialmente y cerca de 10 se cultivan a escala industrial. Las 10 especies cultivadas más populares a nivel mundial son *Agaricus bisporus/bitorquis*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus* spp., *Auricularia* spp, *Volvariella volvacea*, *Flammulina velutipes*, *Tremella fuciformis*, *Hypsizyguis marmoreus*, *Pholiota nameko* y *Grifola frondosa*. En años recientes, se cultivan también otras especies, entre ellas, *Hericium erinaceus*, *Dictyophora indusiata*, *Stropharia rugoso-anulata*, *Lepista nuda*, *Agrocybe aegerita*, *A. cylindraceae*, *Pleurotus citrinopileatus* y *Cantharellus cibarius* (5).

El cultivo de hongos se ha popularizado en todo el mundo. En 1999, la producción mundial de hongos cultivados fue estimada en más de 7 millones de toneladas. La producción mundial de hongos se

ha incrementado durante las últimas dos décadas, de 1.2 millones de toneladas en 1981 a 6.2 en 1997, siendo China el más grande productor, consumidor y exportador de hongos (5) (Anexo 1).

Argentina fue el primer país que en la década de los 50 producía hongos comestibles en Iberoamérica, habiendo mantenido su producción anual entre 1000 a 1200 toneladas en los últimos 3 años. La producción aumentó notablemente en el quinquenio 1985-1990, pasando de 700 a 1200 toneladas. Algunos estudios muy recientes del mercado argentino indican que es posible elevar esta producción, a prácticamente el doble de la actual, con un consumo asegurado (9).

En México y particularmente en Chiapas, el cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. se visualiza como una alternativa para la solución, al menos parcial, de problemas de falta de alimento y contaminación ambiental por desechos orgánicos de origen agroindustrial (10).

El cultivo de hongos con fines comerciales ha sido poco explotado en Guatemala. En 1977 se produjo *Agaricus bisporus* (Champiñón) en pequeña escala. En la década de los setentas esta actividad se estableció en escala comercial. La producción de *Agaricus* en Guatemala, oscila alrededor de las 68,504 kg/año. El 70% de esta producción se consume en el país y el 30% se exporta a El Salvador y Honduras (11).

En 1984 se estableció en el país el cultivo de *Lentinula edodes* (Shiitake), usando aserrín de encino (*Quercus*) como sustrato. Se calcula que se producen 34,020 kg/año, de los cuales se exporta el 80% y solamente el 20% se comercializa en Guatemala (11).

La producción comercial de *Pleurotus* dio inicio en 1986, calculándose la producción en 29,580 kg/año. La mayor parte de la producción es consumida en Guatemala (90%) y una pequeña proporción

(10%) se exporta a El Salvador y Honduras (11). Es importante mencionar que las cepas cultivadas son de origen extranjero y no cepas guatemaltecas.

Sobre el cultivo de cepas nativas de hongos, se han realizado estudios sobre la producción en cultivo *in vitro* de cuerpos fructíferos de una cepa guatemalteca de *Auricularia* aff. *fuscosuccinea* proveniente de una finca del municipio de San Rafael Pie de la Cuesta, San Marcos (12). De igual forma, se han efectuado estudios sobre la fisiología del crecimiento micelial de cepas guatemaltecas y extranjeras de *Agrocybe aegerita* (13, 14).

A través de las fases desarrolladas del proyecto “Hongos Comestibles de Guatemala: diversidad cultivo y nomenclatura vernácula” (años 2001 a 2004), se han aislado más de 40 cepas de hongos comestibles nativos, entre las que se cuentan varias especies de los géneros *Pleurotus*, *Neolentinus*, *Agrocybe*, *Lepista*, *Auricularia*, *Suillus*, *Lactarius*, *Polyporus*, *Schizophyllum*, entre otras. Se ha logrado producir cuerpos fructíferos de 12 cepas, entre *Neolentinus* y *Pleurotus*, determinándose que varias cepas de *Pleurotus* poseen eficiencias biológicas (EB) significativas cuando se cultivan sobre diferentes sustratos (8).

D. El género *Neolentinus*

Anteriormente, las especies que conforman el género *Neolentinus* estuvieron incluidas dentro del género *Lentinus* (15). Sin embargo, Redhead & Ginns (16), indicaron que si bien, las especies de *Neolentinus* no tienen diferencias microscópicas significativas con las de *Lentinus*, el primero causa pudrición café en la madera y el segundo causa pudrición blanca. Esta característica permitió separar ambos géneros (16).

Estudios filogenéticos indicaron además, que los hongos pleurotoides-lentinoides pueden separarse en cuatro clados, correspondientes a *Pleurotus*, *Lentinus*, *Panus* y *Neolentinus* (17).

Neolentinus se clasifica taxonómicamente de la manera siguiente (18):

Reino: FUNGI

Phylum: Basidiomycota

Clase: Basidiomycetes

Subclase: Agaricomycetidae

Orden: Polyporales

Familia: *Polyporaceae*

Género: *Neolentinus* Redhead & Ginns, 1985

1. Características morfológicas

a. Características macroscópicas y microscópicas

La morfología del género es extremadamente variable, en la mayoría de los casos, el basidiocarpo tiene un estípite bien desarrollado, en posición central, el cual se continúa con el píleo. El basidiocarpo puede ser grande y robusto en especies tales como *N. lepideus* y *N. ponderosus* (15).

La superficie del píleo está esencialmente formada por un epicutis; en muchos casos el píleo es fibriloso radialmente, escamoso o densamente piloso. El pileipellis usualmente está formado por hifas generativas, con fíbulas, aunque es frecuente encontrar hifas esclerificadas especialmente hacia el centro del píleo (16).

El himenio es lamelar, decurrente al estípite. Las láminas son triangulares en sección. Muchas especies desarrollan anastomosis e intervenaciones, resultando en una

condición subporoide que posiblemente indique un ancestro poliporal. Trama lamelar regular (16).

El sistema hifal generalmente es dimítico, aunque algunas especies pueden presentar un sistema trimítico. El tipo de hifas secundarias, está constituido por hifas generativas y esqueléticas o ligadoras-esqueléticas (16).

Las basidiosporas generalmente son cilíndricas, hialinas, inamiloides, no dextrinoides, de pared delgada y lisa (16).

2. Hábitat y distribución

a. Mundial

Algunas especies de *Neolentinus*, son de amplia distribución. *N. lepideus* se encuentra en Europa, Asia y América del Norte, creciendo usualmente sobre troncos y raíces muertas de coníferas, especialmente sobre *Pinus*, *Abies*, *Picea*, *Larix* y *Sequoia*, aunque existen reportes que indican que se le ha encontrado creciendo ocasionalmente sobre *Quercus* y *Ulmus* (15).

N. ponderosus, es una especie que se encuentra en la región Pacífico-Noroeste de América del Norte, también se ha reportado en México (15, 19). Se encuentra creciendo sobre troncos podridos de coníferas, especialmente sobre *Pinus ponderosa* Dougl. (15). En México se ha recolectado sobre tocones de pino (*Pinus* spp) o encino (*Quercus* spp) en tiempos secos (mayo y junio), con un poco de humedad en el suelo (19).

En Argentina, recientemente se reportó *N. schaefferi*, creciendo sobre troncos de *Fraxinus* (17).

b. Guatemala

En el país se han reportado dos especies: *Neolentinus lepideus* (Fr.: Fr.) Redhead & Ginns, que fue recolectado en Chuipachec, Totonicapán, sobre troncos podridos de *Pinus ayacahuite*; y *Neolentinus ponderosus* (Miller) Redhead & Ginns, que se recolectó en el municipio de San Mateo Ixtatán, Huehuetenango, creciendo sobre troncos de *Pinus* spp. (8).

3. Etnomicología

En Guatemala, las especies del género *Neolentinus* se conocen hasta ahora, con los nombres vernáculos de xikin chaj (idioma K'iche') u oreja de pino (*Neolentinus lepideus*) en Totonicapán y kulich (idioma Chuj) u hongo de verano (*N. ponderosus*) en el municipio de San Mateo Ixtatán, Huehuetenango. Ambas especies se recolectan durante el final de la época seca (marzo a abril) (7).

Los indígenas en la región de Bacusinare, municipio de Guazapares, Chihuahua, México, conocen el hongo comestible Kuté-mo'kó-a (dialeto tarahumara) u “hongo del troncón”. Se ha determinado que por sus características morfológicas corresponden a la especie de *Neolentinus ponderosus*. Este hongo se recolecta antes de las lluvias y se consume solamente el píleo (19).

4. Características del cultivo *in vitro*

Se tiene poca información sobre las características miceliales de cultivo *in vitro* de las especies de *Neolentinus*. Algunas de las que se pueden mencionar son las siguientes:

a. *Neolentinus suffrutescens* (*N. lepideus*)

La colonia en agar ADP-IM (agar papa dextrosa con infusión de madera de *Pinus montezumae*), presenta densidad baja a muy alta, textura sedosa y flocosa. Puede presentar agregaciones hifales. En algunas cepas se puede detectar la formación de primordios, un olor parecido al bálsamo del Perú y cambio a un color café oscuro en el agar (20).

b. *Neolentinus schaefferi*

Colonias con micelio que cubre las cajas de petri de 90 mm en 4 a 5 semanas, creciendo uniformemente, color blanquecino, lisas a aterciopeladas. Después de 4 semanas, las colonias tienden a formar conglomerados en la parte media y margen. El margen es regular, compacto al principio y poco definido después de 2 a 3 semanas. Reverso sin pigmento. Olor a derivados de la urea. No produce basidiocarpos durante ese período. Hifas hialinas, con fíbulas, de 2 a 5 μm de diámetro. Clamidosporas terminales o intercalares de 11.5-19.5 x 8.0-8.5 μm (17).

5. Estudios sobre el cultivo de *Neolentinus*

a. México

Se evaluó la potencialidad de cultivo de dos cepas silvestres de *Neolentinus lepideus* y *Neolentinus ponderosus* utilizando como medios de cultivo agar extracto de malta y agar papa dextrosa, donde se obtuvo un crecimiento adecuado de las dos cepas. En pruebas llevadas a cabo con semillas y otros sustratos, se observó un desarrollo micelial adecuado en granos de trigo, pero crecimiento lento en paja de trigo (21).

También se caracterizaron y seleccionaron cepas más productivas de *N. suffrutescens*, por medio de entrecruzamiento y producción de cuerpos fructíferos a nivel de planta piloto. Se obtuvieron como resultado 15 cepas intraespecimen del entrecruzamiento de 12 aislamientos monospóricos, observándose crecimiento micelial a los 12 días de incubación. La eficiencia biológica varió de 4.85 a 14.60% y la tasa de producción fue de 0.07 a 0.19% sobre madera de *Pinus* spp; sobre viruta de *P. montezumae* Lambert se obtuvo una eficiencia biológica de 4.41 a 14.92% y una tasa de producción de 0.06 a 0.23%. Los resultados obtenidos son de importancia debido a que este hongo ha sido poco estudiado y posee una alta factibilidad de cultivo (20).

b. Guatemala

Se determinó que varias cepas de *Neolentinus* tienen tiempos de producción de inóculo en sorgo, en un rango de 80 días (*N. lepideus*) y 241 días (*N. ponderosus*). La eficiencia biológica varió entre el 18% (*N. lepideus*) y 32 % (*N. ponderosus*) sobre aserrín

de pino, observando que es necesaria la suplementación de este sustrato con salvado de arroz al 5%, para lograr la producción de cuerpos fructíferos en *N. ponderosus* (8).

III. JUSTIFICACIÓN

El cultivo de hongos comestibles adquiere cada vez mayor importancia en el mundo. Para Guatemala representa una alternativa que generaría ventajas bien definidas tanto en el campo ecológico como en el socio-económico, porque además de constituir una opción alimenticia para la población, representa un sistema de producción limpio en el cual se contribuye no sólo a utilizar los desechos agroforestales que pueden contaminar el medio ambiente, sino que además se reutilizan los residuos que quedan después del cultivo.

Por otra parte, en el país existe una gran variedad de hongos comestibles que crecen en diferentes ecosistemas. Dentro de éstos hongos comestibles, se incluyen dos especies del género *Neolentinus*, *N. ponderosus* y *N. lepideus*.

Estas especies nativas, pueden ser aprovechadas para el desarrollo económico y alimenticio de comunidades rurales, para que en el futuro, los integrantes de las mismas sean capaces de generar en pequeñas unidades de producción artesanal, una fuente alterna de alimento, ya que son conocedoras y consumidoras de distintas especies de hongos silvestres, pero desconocen las técnicas de su domesticación.

Por tal motivo, se consideró oportuno describir las características de cultivo *in vitro* y producción de inóculo de las cuatro cepas nativas de *Neolentinus* que existen en el cepario de la Micoteca de Macrohongos de Guatemala, para determinar los medios y vehículos de cultivo, así como la temperatura donde éstas presentarían un mejor desarrollo. Además, como una contribución, se analizaron microscópicamente las muestras herborizadas de la Micoteca de Macrohongos de Guatemala “Lic. Rubén Mayorga Peralta” de la Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, para su confirmación taxonómica.

IV. OBJETIVOS

1. Generales

1. Documentar el comportamiento de cepas nativas de *Neolentinus* spp. en diferentes medios de cultivo *in vitro* y sustratos utilizados como vehículo, para la producción de inóculo, a diferentes temperaturas.
2. Describir taxonómicamente los cuerpos fructíferos de los ejemplares herborizados de *Neolentinus* spp.

2. Específicos

1. Describir las características miceliales de cultivo *in vitro*, macro y microscópicamente, de 4 cepas nativas de *Neolentinus* spp., en diferentes medios de cultivo (PDA, AEM, ASD), para documentar las características morfológicas de las colonias y los tipos de hifas que exhiben cada una de las cepas.
2. Evaluar la tasa radial de crecimiento y formación de biomasa para determinar el medio de cultivo (PDA, AEM y ASD) y la temperatura (18, 24 y 26°C), donde las cepas presenten un mejor crecimiento.
3. Evaluar la producción de inóculo de las cepas de *Neolentinus* spp. utilizando diferentes sustratos como vehículos (aserrín de pino, granos de sorgo y granos de trigo) a diferentes temperaturas (18, 24 y 26°C), donde las cepas presenten el mejor crecimiento.
4. Comparar las características taxonómicas de los cuerpos fructíferos herborizados para la confirmación de las especies.

V. HIPÓTESIS

1. Las cepas de *Neolentinus* spp evidencian una mayor tasa radial de crecimiento en al menos uno de los medios de cultivo y a una de las temperaturas.
2. Es posible producir inóculo de las cepas de *Neolentinus* spp recolectadas en Guatemala, sobre granos de sorgo.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo

Cuerpos fructíferos herborizados y cepas silvestres de *Neolentinus* spp de origen guatemalteco.

B. Muestra

Cuerpos fructíferos herborizados y cepas de *Neolentinus* spp (*N. lepideus* 90.2002, *N. ponderosus* 02.2002, 145.2002 y 02.2003) que fueron recolectados en el periodo 2002- 2003 en Huehuetenango y Totonicapán y preservados en la Micoteca de Macrohongos de Guatemala “Lic. Rubén Mayorga Peralta” y el Cepario de Hongos Saprófitos y Micorrícicos, ambos del Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

C. Recursos

1. Institucionales

- a. Micoteca de Macrohongos de Guatemala “Lic. Rubén Mayorga Peralta”, Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- b. Cepario de Hongos Saprófitos y Micorrícicos, Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- c. Laboratorios de Microbiología, Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- d. Laboratorio Microbiológico de Referencia –LAMIR-, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

2. Humanos

- Estudiante Julia Elena Mahler Pérez
- Licda. María del Carmen Bran (Asesora)
- Lic. Osberth Morales Esquivel (Asesor)

D. Materiales

1. Medios de cultivo

- Agar Sabouraud (ASD)
- Agar Papa Dextrosa (PDA)
- Agar Extracto de Malta (AEM)

2. Reactivos

- Hidróxido de potasio al 3%
- Hidróxido de sodio al 5%
- Hidróxido de amonio al 5%
- Sulfato ferroso al 10%
- Ácido sulfúrico 1:3
- Fenol al 5%
- Tintura de Guayacol
- Tintura de yodo
- Azul de lactofenol al 3%
- Reactivo de Melzer

3. Otros

- Agua desmineralizada estéril

4. Sustratos

- Granos de trigo
- Granos de sorgo
- Aserrín de pino

5. Equipo

- Balanza semianalítica
- Balanza analítica
- Cabina bacteriológica de seguridad tipo II
- Mechero
- Autoclave
- Incubadoras a 18°C, 24°C y 26°C.
- Estufa
- Horno a 85°C.
- Asas de nicromo
- Horadores de 5 mm de diámetro
- Estereoscopio
- Regla
- Bisturí con mango

6. Cristalería

- Probetas graduadas de 150, 250 y 1000 mL
- Erlenmeyer de 500 y 1000 mL
- Cajas plásticas de Petri de 20 cc
- Pipetas graduadas de 0.1 a 10 mL
- Tubos de ensayo
- Portaobjetos y cubreobjetos

7. Otros

- Papel filtro
- Papel parafilm

E. Métodos

1. Revitalización de las cepas

- Revitalización de las cepas (*N. lepideus* 90.2002, *N. ponderosus* 02.2002, 145.2002 y 02.2003), sembrándolas en agar PDA e incubándolas a 26°C, por 7 días.

2. Determinación de la tasa radial de crecimiento

El procedimiento se realizó de acuerdo con lo recomendado por Mier (2002) (22):

- Pesar y disolver los medios de cultivo PDA, ASD y AEM.
- Esterilizar los medios por 15 minutos a 121°C.
- Inocular 15 cajas de cada uno de los medios PDA, ASD y AEM, con cada una de las cepas revitalizadas, con un segmento de 0.5 mm del cultivo.
- Incubar 5 cajas de cada medio inoculadas con las cepas a las temperaturas de 18, 24 y 26°C.
- Identificar las cajas de Petri conteniendo los medios de cultivo, con referencia, nombre de la cepa, fecha de inoculación, medio, temperatura de incubación y número de caja.
- Sellar las cajas inoculadas con papel parafilm para evitar su deshidratación.
- Anotar la velocidad de crecimiento radial determinando el diámetro de la colonia en dos planos perpendiculares cada 3 días, obtenido en cada uno de los medios y a diferentes temperaturas, durante 30 días.
- Determinar gráficamente la tasa radial de crecimiento de las cepas, mediante la medición de los diámetros que se traspasen perpendicularmente, sumar y dividir entre dos para calcular el

diámetro medio. Este diámetro se calcula cada tercer día para estimar la velocidad de crecimiento medio (mm/día) de la colonia con respecto al tiempo (Anexo 2).

3. Determinación de las características macro y microscópicas:

- A las colonias que crecieron en los diferentes medios de cultivo e incubadas a diferentes temperaturas se les observó las características de macro y micromorfología preparando tinciones en fresco con azul de lactofenol o floxina-rojo congo.
- Para llevar a cabo la caracterización macroscópica de las cepas de *Neolentinus* spp. se utilizó un estereóscopo para observar el color, apariencia, consistencia, pigmento en el medio, forma y crecimiento del micelio.
- Para la descripción microscópica del micelio, se realizaron preparaciones con azul de lactofenol, para observar las características hifales.

4. Producción de biomasa

- A las colonias que crecieron en los medios de cultivo a diferentes temperaturas se les realizó la medición del peso seco para determinar el desarrollo de la biomasa fúngica en medio sólido, de conformidad con la técnica siguiente:
- Finalizada la incubación, se retiró la colonia con un asa micológica o una pequeña espátula flameada, tratando de no arrastrar restos de agar y se depositó en círculos de papel de aluminio previamente tarados.
- Los fragmentos de papel de aluminio que con las colonias se empacaron bien y se sumergieron en un baño de agua hirviendo de 5 a 10 minutos, con la finalidad de fundir el agar que haya quedado adherido para su descarte por decantación.
- Se colocaron en un horno a 85°C y conservaron allí hasta alcanzar un peso constante.

- El peso seco de la biomasa fúngica obtenida se determinó por la diferencia entre el peso de la tara y el final.

5. Producción de inóculo:

- El sustrato (granos de trigo, sorgo y aserrín de pino) se remojó por 24 horas.
- Los sustratos se escurrieron.
- Se pesaron 15 bolsas de polipapel con 200 gramos de cada uno los sustratos y esterilizaron por 45 minutos a 121°C.
- Se cortaron cuadros de 1.0 cm² del micelio que ha crecido en el medio de cultivo correspondiente de cada una de las cepas.
- Se inocularon 5 bolsas de cada uno de los sustratos con cada una de las cepas con 5 segmentos del micelio, teniendo el cuidado de no apelmazar el sustrato y ubicar los segmentos donde permanezcan en contacto con el aire.
- Las bolsas se identificaron con referencia, nombre de la cepa, fecha de inoculación, sustrato, temperatura de incubación y número de bolsa.
- Los sustratos se incubaron a temperaturas de 18, 24 y 26°C.
- El crecimiento del micelio se observó sobre el sustrato cada 5 días, hasta la colonización completa de los sustratos.

6. Descripción taxonómica de los ejemplares herborizados:

- Se describieron las características microscópicas de los hongos herborizados.
- Las descripciones de la Micoteca de Macrohongos de Guatemala “Lic. Rubén Mayorga Peralta” se compararon con la bibliografía (15-17, 19, 27), para confirmar y/o identificar las especies.

F. Diseño experimental

1. Tipo de estudio

Prospectivo, transversal, descriptivo

2. Tipo de muestreo

Se utilizaron cuatro cepas para determinar la velocidad de crecimiento y la producción de inóculo, así como las muestras herborizadas de la colección para describir y corroborar las características macro y microscópicas de los cuerpos fructíferos.

3. Análisis estadístico

- Variable dependiente
 - Crecimiento miceliar

- Variables independientes:
 - Temperaturas: 18°C, 24°C y 26°C.
 - Medios de cultivo (agar Extracto de Malta –AEM-, agar Papa Dextrosa –PDA- y agar Sabouraud –ASD-)
 - sustratos (granos de trigo, granos de sorgo y aserrín de pino)

4. Análisis de datos

- Para la parte experimental, se aplicó un diseño factorial 3 X 3 con un análisis de varianza.
- Para la parte descriptiva se elaboraron tablas para presentar las características.

VIII. RESULTADOS

A. Crecimiento miceliar

Todas las cepas de *Neolentinus* estudiadas presentaron características coloniales similares en los medios y temperaturas evaluadas. Las colonias fueron de color blanco, superficie algodonosa y reverso sin ninguna coloración, observándose la formación de gotas de exudado translúcido a los 15 días de incubación. En las cepas de *N. ponderosus* la textura cambió a levemente granular al final de la incubación y en *N. lepideus* se observó la formación de primordios sobre el medio PDA.

Microscópicamente presentaron hifas hialinas de paredes delgadas, ramificadas, con fibulas. En agar ASD se observaron abundantes clamidosporas terminales e intercalares, ovoides, de paredes gruesas (Figura 1).

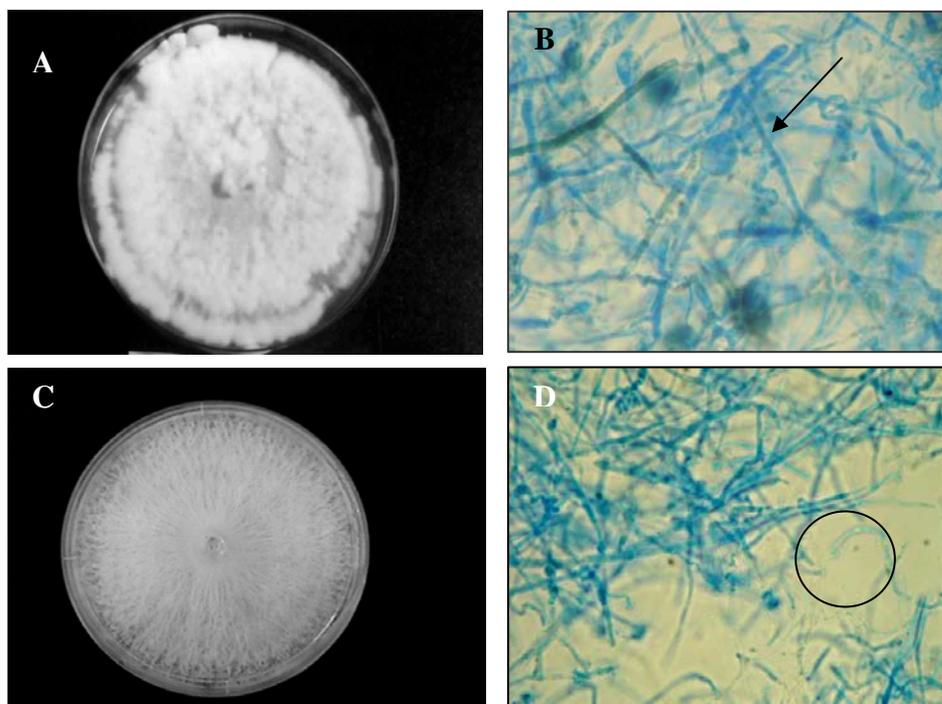


Figura 1. Características macro y microscópicas. A y B. *N. lepideus*, cepa 90.2002. A. Crecimiento en agar EMA a 26°C. B. Clamidosporas en agar ASD a 24°C (señalada con la flecha). C y D. *N. ponderosus* cepa 02.2002. C. Crecimiento en agar EMA a 18°C, D. Fíbulas (señalada con el círculo).

El mejor crecimiento de las cepas de *N. ponderosus* se observó en la cepa 02.2002, la cual presentó una tasa radial de crecimiento de 5.11 mm/día, en el medio EMA a 18°C. Para la cepa 145.2002, el valor más alto se obtuvo en el medio EMA a 26°C (4.96 mm/día), mientras que para la cepa 02.2003, la mayor tasa de crecimiento se evidenció en el medio ASD a 26°C (4.88 mm/día). Las tres cepas estudiadas fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) cuando se compararon las temperaturas y los medios de cultivo evaluados (Tabla 1, Gráfica 1).

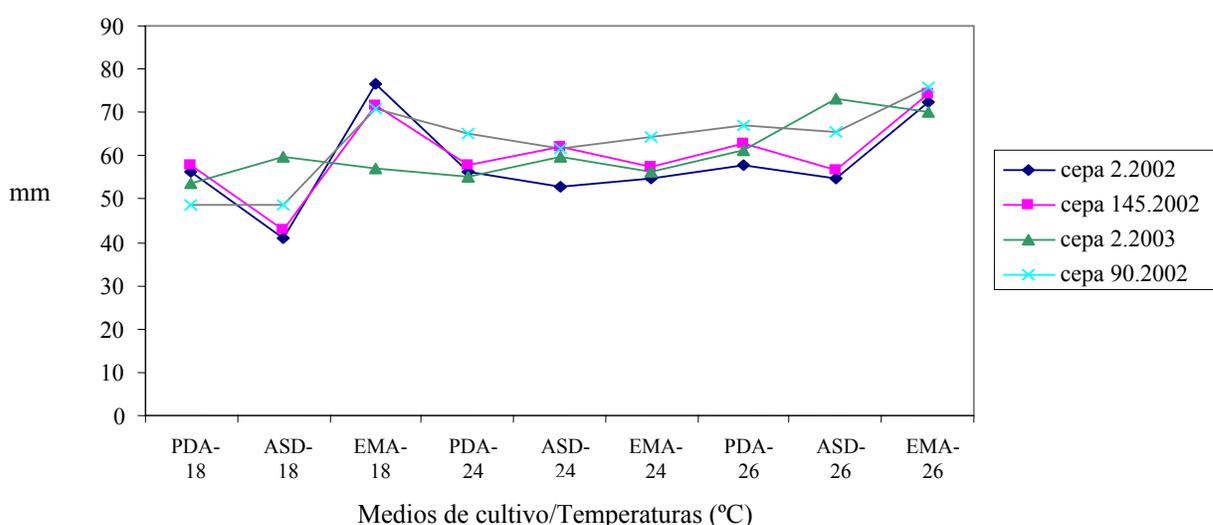
La cepa *Neolentinus lepideus* 90.2002, presentó el mejor crecimiento en el medio EMA a 26°C, alcanzando los 5.00 mm/día. Sin embargo, a pesar de que el mayor valor se obtuvo bajo las condiciones mencionadas, no existió diferencia significativa ($p > 0.05$) entre las tasas radiales de crecimiento, al comparar las temperaturas y los medios de cultivo (Tabla 1, Gráfica 1).

Tabla 1. Tasa de crecimiento radial de las cepas de *Neolentinus* spp a los 15 días de incubación

Cepas	Temperaturas Medios	mm / día									Valor P*
		18°C			24°C			26°C			
		PDA	ASD	EMA	PDA	ASD	EMA	PDA	ASD	EMA	
<i>N. ponderosus</i>											
	02.2002	3.75	2.73	5.11¹	3.74	3.52	3.64	3.87	3.65	4.83	<0.05
	145.2002	3.87	2.87	4.79	3.87	4.15	3.84	4.19	3.77	4.96	<0.05
	02.2003	3.59	3.97	3.81	3.68	3.97	3.75	4.09	4.88	4.67	<0.05
<i>N. lepideus</i>											
	90.2002	3.25	3.25	4.72	4.35	4.11	4.28	4.48	4.37	5.00	>0.05

1. Los valores en negritas indican la mayor tasa radial de crecimiento alcanzada. *. Valor de la probabilidad $\alpha = 0.05$.

Gráfica 1. Diámetro final de las cepas de *Neolentinus* spp a los 15 días de incubación



B. Producción de biomasa

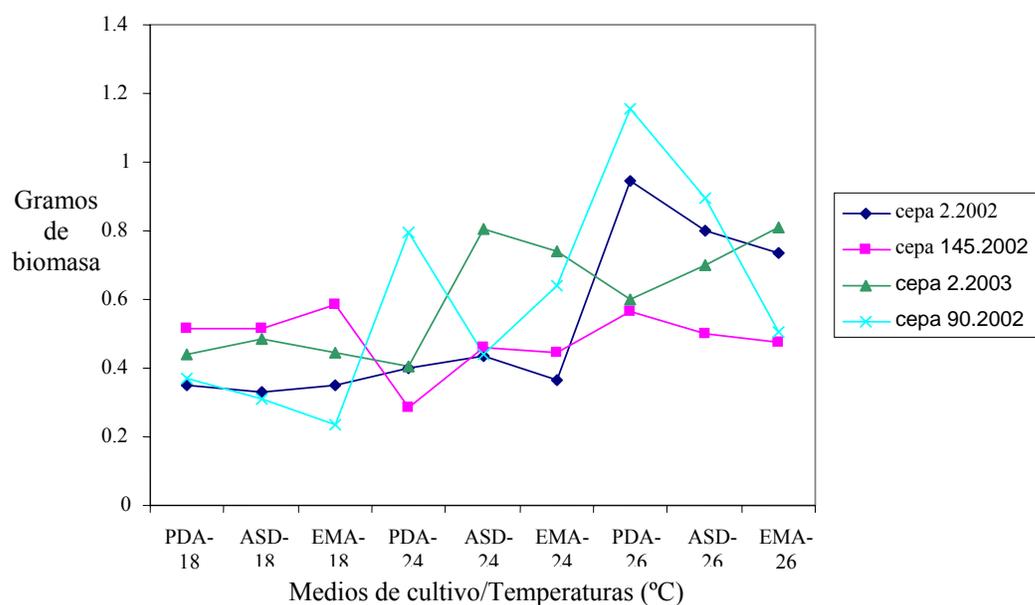
La producción de biomasa evaluada en los cultivos de *N. ponderosus*, evidenció que la cepa 02.2002, produjo mayor cantidad de biomasa en el medio PDA a 26°C (0.8452 g). La cepa 02.2003 alcanzó el valor más alto en el medio EMA a 26°C (0.8124 g) y la cepa 145.2002, produjo el mayor peso en el medio EMA a 18°C (0.5856 g). La cepa de *N. lepideus* 90.2002, produjo mayor biomasa en el medio PDA a 26°C (1.1550 g), obteniendo la mayor biomasa de todas las cepas de *Neolentinus* estudiadas. En todos los casos existió diferencia significativa ($p < 0.05$) (Tabla 2, Gráfica 2).

Tabla 2. Biomasa producida por las cepas de *Neolentinus* spp a los 15 días de incubación

Cepas	Temperaturas Medios de cultivo	Peso (gramos)									Valor P*
		18°C			24°C			26°C			
<i>N. ponderosus</i>											
	02.2002	0.3520	0.3300	0.3476	0.4012	0.4350	0.3666	0.8452¹	0.7988	0.7350	<0.05
	142.2002	0.5174	0.5156	0.5856	0.2832	0.4620	0.4474	0.5674	0.5016	0.4766	<0.05
	02.2003	0.4420	0.4840	0.4464	0.4044	0.8032	0.7410	0.6006	0.7016	0.8124	<0.05
<i>N. lepideus</i>											
	90.2002	0.3696	0.3106	0.2344	0.7960	0.4388	0.6406	1.1550	0.8848	0.5064	<0.05

1. Los valores en negritas indican la mayor biomasa producida. *. Valor de la probabilidad $\alpha = 0.05$.

Gráfica 2. Producción de biomasa de cepas de *Neolentinus* spp a los 15 días de incubación



C. Producción de inóculo

El mejor crecimiento se observó en aserrín de pino a 26°C en las cepas *N. ponderosus* 145.2002, 02.2003, las cuales colonizaron el sustrato en 30 días. La cepa *N. ponderosus* 02.2002, obtuvo el mejor crecimiento también sobre aserrín de pino a 26°C, con la diferencia que colonizó el sustrato en 37 días. La cepa *N. lepideus* 90.2002 evidenció el mejor crecimiento en aserrín de pino a 26°C, colonizando el sustrato en 30 días, observándose además la aparición de primordios a cualquiera de las temperaturas estudiadas (Figura 2, Tabla 3).

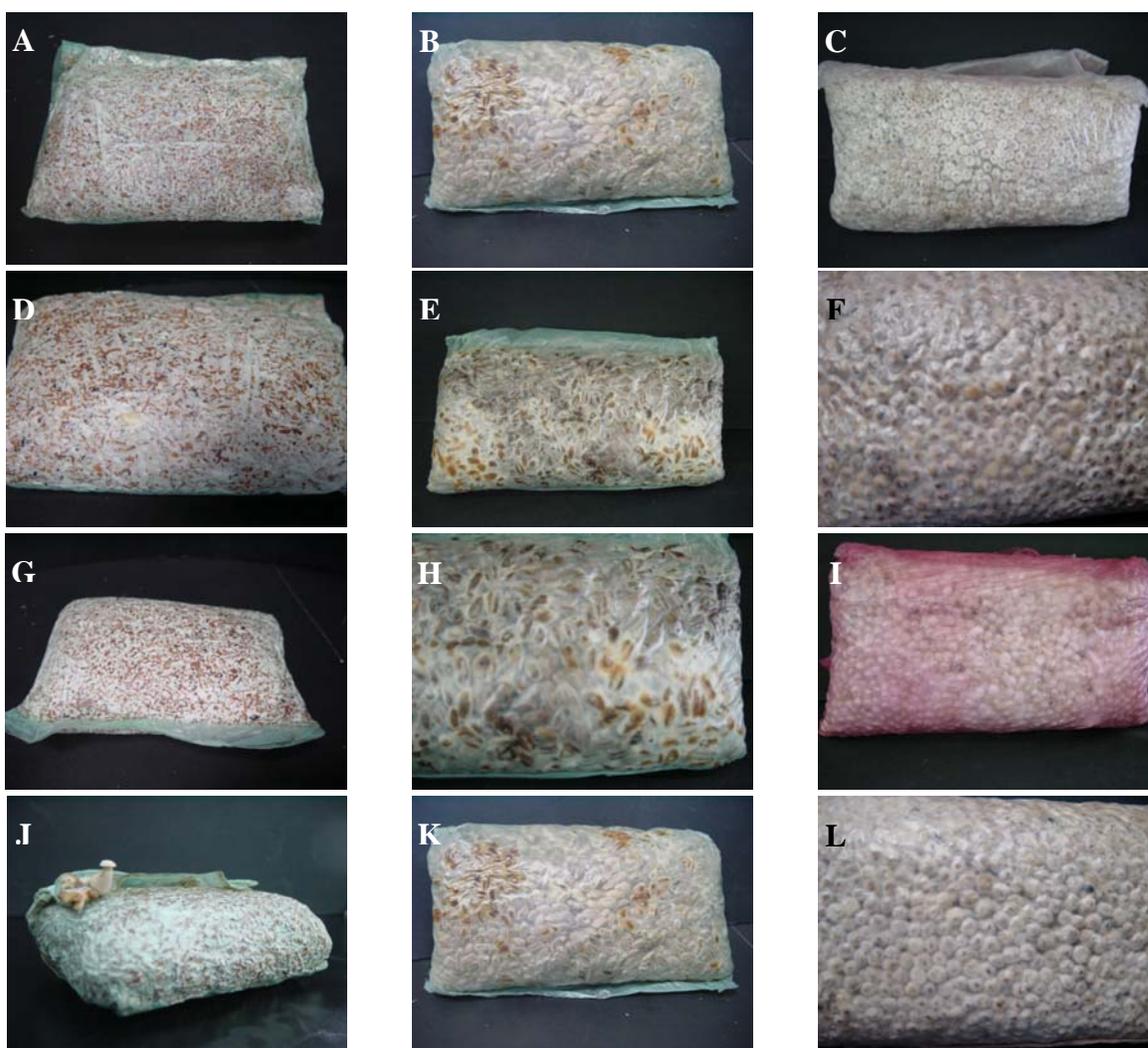


Figura 2. *Neolentinus ponderosus*. A-C. Inóculos de la cepa 02.2002. A. Aserrín de pino a 18°C. B. Trigo. C. Sorgo a 26°C. D-F. Inóculos de la cepa 145.2002. D. Aserrín de pino a 18°C. E. Trigo a 24°C. F. Sorgo a 26°C. G-I. Inóculos de la cepa 02.2003. G. Aserrín de pino a 18°C. H. Trigo a 24°C. I. Sorgo a 26°C. *Neolentinus lepideus*. J-L. J. Aserrín de pino a 18°C (obsérvese la aparición de primordios). K. Trigo a 24°C. L. Sorgo a 26°C.

Tabla 3. Producción de inóculo de cepas de *Neolentinus* spp

Cepas	Sustratos Temperatura (°C)	Aserrín de pino			Trigo			Sorgo		
		18	24	26	18	24	26	18	24	26
<i>N. ponderosus</i>	02.2002	37 ¹	37	37	60	60	51	62	62	62
	145.2002	37	37	30	60	60	60	77	62	62
	02.2003	37	37	30	60	51	51	77	62	62
<i>N. lepideus</i>	90.2002	51 ²	37 ²	30 ²	60	51	51	77	62	62

1. Días requeridos para colonizar totalmente el sustrato. 2. Sobre aserrín de pino a las tres temperaturas, se observó la aparición de primordios.

D. Descripción taxonómica

Los ejemplares herborizados (colectados previamente) y que fueron revisados en el presente trabajo de investigación, coincidieron con los taxones previamente identificados en la Micoteca de Macrohongos de Guatemala “Lic. Rubén Mayorga Peralta”. A continuación se presenta la descripción detallada de los especímenes.

1. *Neolentinus ponderosus* (Miller) Redhead & Ginns, Trans. Mycol. Soc. Japan 26 (3): 357. 1985.

Sinónimos:

Lentinus ponderosus Miller, Mycologia 57: 941-943. 1965.

Píleo de 31 a 205 mm de diámetro, plano convexo, a veces con el centro deprimido, margen ondulado a recto, superficie seca a subhúmeda, ornamentación escamosa, escamas de color café a café rojizo con algunos tonos rosáceos, grandes hacia el centro, más pequeñas y delgadas hacia el margen. Contexto del píleo de 5 a 31 mm de espesor, consistencia carnosa firme, color blanco, sin cambio de coloración, olor fúngico, afrutado, sabor dulce, agradable. Himenio con láminas decurrentes a subdecurrentes, aserruladas, gruesas, anchas, juntas, color blanquecino, lamélulas subtruncadas. Estípite de 20 a 110 mm de longitud, central, ligeramente atenuado en la base, ornamentación finamente escamosa hacia el ápice, color café rojizo en la parte media, hacia la base con escamas más gruesas de color café oscuro, sin anillo. Contexto del estípite color blanco,

consistencia carnosa fibrosa. Esporada de color crema. Sistema hifal monomítico, con hifas generativas con septos simples y con abundantes fibulas, pileipellis ixotricodérmico. Trama lamelar paralela, basidios bispóricos a tetraspóricos, elongados a clavados, con pleurocistidios. Esporas de 8.0-11.0 x 3.0-4.0 μm , cilíndricas, de paredes delgadas, hialinas, inamiloides (Figura 3).

Hábitat: Lignícola, sobre troncos de *Pinus rudis* y *Pinus* spp.

Hábito: Solitario a gregario.

Estacionalidad: Marzo a abril.

Material estudiado: Referencia 02.2002, Mercado de San Mateo Ixtatán, Huehuetenango, 26 de abril de 2002. Referencia 145.2002, San Mateo Ixtatán, Huehuetenango, camino hacia Nentón, 28 de agosto de 2002. Referencia 02.2003, aldea Bulej, San Mateo Ixtatán, Huehuetenango, 04 de abril de 2003. Referencia 04.2003, San Mateo Ixtatán, Huehuetenango, 08 de mayo de 2003.



Figura 3. *Neolentinus ponderosus*. Basidiomas creciendo sobre troncos podridos de *Pinus* spp., en San Mateo Ixtatán, Huehuetenango (Fotografía del Proyecto de Hongos Comestibles de Guatemala, cofinanciado por la Dirección General de Investigación –DIGI– y el Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas –IIQB–, Universidad de San Carlos de Guatemala (7)). B. Trama lamelar paralela (x400). C. Esporas (x250).

2. *Neolentinus lepideus* (Fr.) Redhead & Ginns. Trans. Mycol. Soc. Japan 26 (3): 357. 1985.

Sinónimos:

Agaricus lepideus Fr., Observ. Mycol. (Kjóbenhavn) 1: 21, 1815.

Agaricus tubaeformis Schaeff., Icones; tab, 248, 249, 1770

Clitocybe lepidea (Fr.) P. Kumm., Führer Pilzk.: 123, 1971.

Lentinus contiguus Fr., Hymenomyces europaei: 482, 1874.

Lentinus lepideus (Fr.: Fr.) Fr., Epicrisis systematis mycologici (Uppsala): 390, 1838.

Lentinus lepideus var. *contiguus* (Fr.) Rea, Brit. Basidiom.: 538, 1922.

Lentinus lepideus var. *hibernicus* McArdle, J. Bot. London, London 47: 444, 1909.

Panus lepideus (Fr.) Corner, Beihefte zur Nova Hedwigia 69: 64, 1981.

Pocillaria contigua (Fr.) Kuntze, Revis. gen. pl. (Leipzig) 2: 866, 1891.

Pocillaria lepidea (Fr.) Kuntze, Revis. gen pl. (Leipzig) 2: 866, 1891.

Pileo de 30 a 90 mm de diámetro, plano convexo, margen recto a ondulado, a veces apendiculado, superficie subhúmeda, ornamentación escamosa, escamas gruesas de color café naranja, más grandes hacia el centro, a veces imbricadas. Contexto del píleo de 8 mm de espesor, consistencia carnosa fibrosa, color blanco; se mancha de amarillo pálido hacia la cutícula, olor afrutado, sabor dulce, agradable. Himenio con láminas decurrentes a subdecurrentes, aserruladas, anchas, juntas, color blanquecino que se manchan de café con el maltrato, lamélulas subtruncadas. Estípite de 20 a 80 mm de longitud, ligeramente atenuado en la base, color blanquecino hacia el ápice, ornamentación escamosa hacia la parte media y la base, escamas pequeñas de color café oscuro, velo parcial ausente, anillo poco distinguible, de color café rojizo. Contexto del estípite de color blanco, consistencia carnosa, con el maltrato se mancha de café rojizo. Sistema hifal monomítico, con hifas generativas con septos simples y con abundantes fibulas, pileipellis tricodérmico. Trama lamelar paralela, basidios bispóricos a tetraspóricos, elongados a clavados, con pleurocistidios. Esporas de 8.0-10.0 x 3.0-4.0 μm , cilíndricas, de paredes delgadas, hialinas, inamiloides (Figura 4).

Hábitat: Lignícola, sobre troncos de *Pinus ayacahuite*.

Hábito: Gregario a cespitoso.

Estacionalidad: Marzo a junio.

Material estudiado: Referencia 90.2002, aldea Chuipachec, Totonicapán, 27 de junio de 2002.

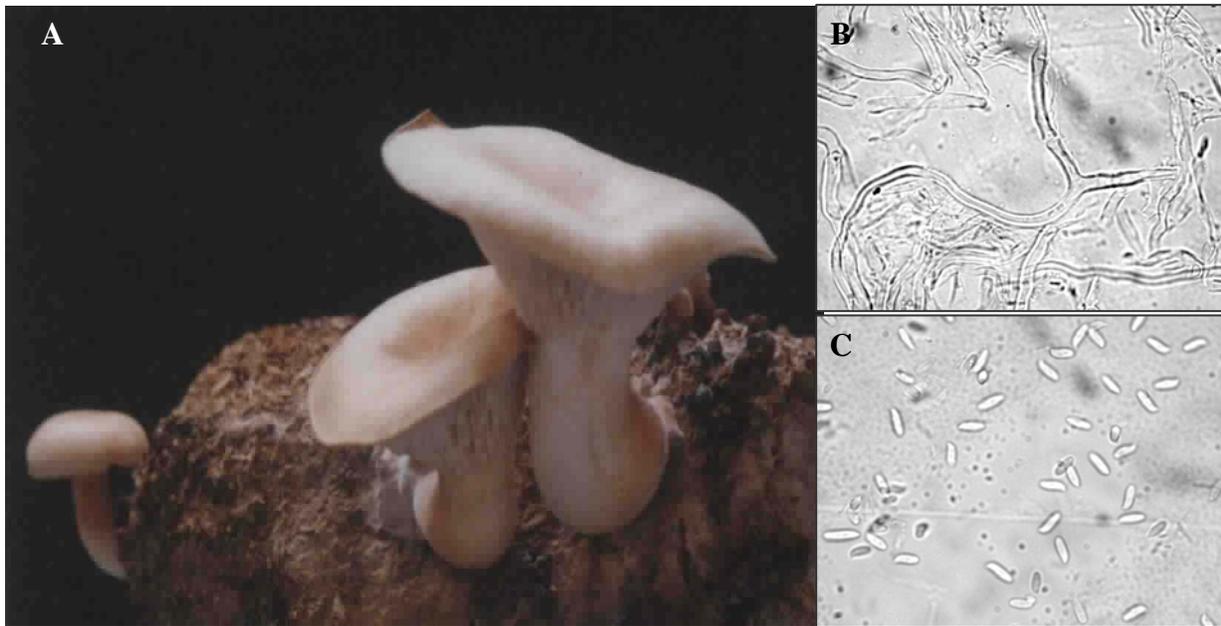


Figura 4. *Neolentinus lepideus*. Basidiomas creciendo sobre aserrín de pino, obtenidos a partir de la cepa 90.2002 (Fotografía del Proyecto de Hongos Comestibles de Guatemala, cofinanciado por la Dirección General de Investigación –DIGI–y el Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas –IIQB–, Universidad de San Carlos de Guatemala (7)). B. Hifas esqueléticas del sistema hifal dimítico (x400). C. Esporas (x400).

IX. DISCUSIÓN

Todas las cepas produjeron clamidosporas en agar ASD, por lo que se debe evitar cultivarlas en este medio. La formación de estas estructuras de resistencia es una característica poco favorable para fines de productividad, ya que en su lugar se deberían de formar fibulas, para garantizar el estado dicariótico (23). La formación de clamidosporas en los cultivos también fue reportado Nobles en 1965 (24).

En esta investigación se observó la aparición de primordios en la cepa *N. lepideus* 90.2002 en el medio PDA en todas las temperaturas. Esta característica fue reportada también por Gaitán-Hernández, *et al* en 1995 (25), para una cepa de *N. lepideus* (IE-133), en agar PDA, en un rango de temperaturas de 20 a 27.5°C. En las cepas de *Neolentinus ponderosus* no se observó esta característica.

Respecto a las tasas radiales de crecimiento, los mayores valores de las cepas *N. ponderosus* 02.2002, 145.2002 y *N. lepideus* 90.2002 se obtuvieron en el medio EMA a 18 y 26°C, por lo que estas condiciones pueden ser utilizadas para realizar futuros cultivos de las cepas estudiadas. La rápida velocidad de crecimiento favorece la reducción de los ciclos de cultivo cuando una cepa se utiliza con fines de productividad (26).

Comparativamente, se indica que en *N. lepideus*, los crecimientos más rápidos se observaron en el medio EMA a 26 °C; sin embargo, no existió diferencia significativa entre los valores obtenidos en las otras temperaturas y medios de cultivo. Lo anterior también coincide con la cepa mexicana de *L. lepideus* IE-133, la cual tuvo uno de sus máximos crecimientos en agar EMA a 25°C y además no se presentó diferencia significativa entre medios de cultivo y temperaturas evaluadas (25).

Dado que todas las cepas de *Neolentinus* spp mostraron una mayor tasa radial de crecimiento en al menos un medio de cultivo y una temperatura, se acepta la hipótesis referente al crecimiento miceliar.

Con respecto a la producción de biomasa, en las cepas de *N. ponderosus* 02.2002, 145.2002, 02.2003 y *N. lepideus* 90.2002, los valores altos de biomasa se obtuvieron en diferentes medios y temperaturas, lo cual indica que cada una de ellas presenta características metabólicas diferentes, en cuanto a la utilización de los nutrientes de los medios de cultivo. En el análisis estadístico existió diferencia significativa entre los medios de cultivo, temperaturas y cepas evaluadas. Por otra parte, no hubo correlación entre la producción de biomasa y la tasa radial de crecimiento miceliar.

En la producción de inóculo, todas las cepas de *Neolentinus* colonizaron en menor tiempo el aserrín de pino, con una diferencia de casi un mes entre el tiempo de producción en trigo y sorgo. Esto contrasta con lo reportado por Palacios (2000) (21), quien indicó que ambas especies presentan un desarrollo adecuado en granos de trigo, aunque no especificó el tiempo de producción. También Bran *et al* (2003) (7), informaron que el tiempo de producción de inóculo en sorgo fue de 80 días en *N. lepideus* y 241 días en *N. ponderosus*. Lo anterior significó una diferencia importante con lo encontrado en el presente estudio, si se considera que en ambos se utilizaron las mismas cepas.

Los resultados permitieron observar que el cultivo en sorgo no es conveniente por la lentitud del crecimiento del micelio, por lo que en su lugar conviene utilizar aserrín de pino. Por tal razón, la segunda hipótesis se acepta, pero en cuanto a economía de producción, el cultivo en sorgo no es recomendable.

Las características macro y microscópicas de los especímenes herborizados coincidieron con las especies de *N. ponderosus* y *N. lepideus*.

Ambas especies son muy parecidas, sin embargo, *N. ponderosus* difiere de *N. lepideus* porque carece de velo parcial y anillo en el estípite de los basidiomas jóvenes, así como porque generalmente es más grande y con estípite más robusto y las escamas del píleo son delgadas, finas y no necesariamente

imbricadas. En general, las descripciones coincidieron bien con lo indicado por Pegler (1983) (15) y Miller (1965) (27).

Cabe señalar que la distribución de *N. ponderosus* parece estar confinada a la región occidental de los Estados Unidos y la región noroeste de México, conociéndose solamente en el estado de Chihuahua. Sin embargo, ahora que se ha reportado en Guatemala en la región noroccidental, se amplía su distribución (6,19).

Es importante mencionar también que esta especie es muy apreciada y conocida por etnias nativas del continente americano, como lo son los Rarámuri de la sierra Tarahumara, Chihuahua, México y los Chuj, de la Sierra de los Cuchumatanes en Huehuetenango, Guatemala (6, 19).

X. CONCLUSIONES

1. Las colonias de las cepas de *N. ponderosus* y *N. lepideus* presentaron color blanco, superficie algodonosa a levemente granular, a los 15 días de incubación se forman gotas de exudado translúcido, en los medios PDA, EMA y SDA (18, 24 y 26°C).
2. Las cepas de *N. ponderosus* y *N. lepideus* en agar ASD presentaron abundantes clamidosporas terminales e intercalares, ovoides, de paredes gruesas.
3. La cepa *N. ponderosus* 02.2002 presentó una tasa radial de crecimiento de 5.11 mm/día en el medio EMA a 18°C.
4. La cepa *N. ponderosus* 145.2002, obtuvo un crecimiento más vigoroso en el medio EMA a 26°C.
5. La cepa *N. ponderosus* 02.2003, obtuvo la mayor tasa de crecimiento en el medio ASD a 26°C.
6. En la cepa 90.2002 de *Neolentinus lepideus*, la mayor tasa radial de crecimiento miceliar se obtuvo en el medio EMA a 18°C, aunque no existió diferencia significativa en los otros medios y temperaturas.
7. En los cultivos de *N. ponderosus*, la cepa 02.2002 produjo mayor cantidad de biomasa en el medio PDA a 26°C. La cepa 02.2003 alcanzó el valor más alto en el medio EMA a 26°C; la cepa 145.2002 produjo el mayor peso en el medio EMA a 18°C y la cepa de *N. lepideus* 90.2002, produjo mayor biomasa en el medio PDA.
8. La producción de inóculo en las cepas *N. ponderosus* 145.2002, 02.2003, se produjo en 30 días a 26°C, sobre aserrín de pino, mientras que en la cepa *N. ponderosus* 02.2002, se obtuvo en 37 en las mismas condiciones.
9. La cepa *N. lepideus* 90.2002 evidenció el mejor crecimiento en aserrín de pino a 26°C, colonizando el sustrato en 30 días, observándose además la aparición de primordios a cualquiera de las temperaturas estudiadas.
10. Los ejemplares herborizados que fueron revisados, coincidieron bien con los taxones previamente identificados en la Micoteca de Macrohongos de Guatemala “Lic. Rubén Mayorga Peralta”.

XI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda utilizar el medio EMA a 18 y 26°C, cuando se realicen cultivos de las cepas de *Neolentinus ponderosus*, debido a que la rápida velocidad de crecimiento favorece la reducción de los ciclos de cultivo cuando se utilizan con fines de productividad.
2. El inóculo de todas las cepas de *Neolentinus* se debe producir en aserrín de pino ya que existe una diferencia de casi un mes entre el tiempo de producción en trigo y sorgo.
3. Continuar recolectando especímenes de especies de *Neolentinus*, para crear un banco de cepas.
4. Como continuación de este estudio, evaluar la producción de los cuerpos fructíferos de *N. ponderosus* y *N. lepideus*, sobre diferentes sustratos a nivel de laboratorio.
5. Con las cepas estudiadas en el presente trabajo de investigación, se debe iniciar un estudio de entrecruzamiento de cepas de *Neolentinus*, con el fin de obtener cepas mejoradas, a partir de las cepas parentales.

XII. REFERENCIAS

1. Alexopoulos C. *et al.* Introductory Mycology. 4ª. Ed. John Wiley & Sons, Inc. Estados Unidos de América; 1996. 880p.
2. Guzmán G. Los hongos de El Edén, Quintana Roo. Introducción a la microbiota tropical de México. INECOL y CONABIO, Xalapa, Veracruz, México; 2003. p7.
3. Guarro J., Gené J., Stchigel A. Developments in fungal taxonomy. Clin Microbiol Rev 1999; 12 (3): 454-500.
4. Mueller G. *et al.* Biodiversity of Fungi. Inventory and monitoring methods. Elsevier Academic Press. USA. 2004. 777p. p1.
5. Chang S., & Miles P. Mushrooms, cultivation, nutritional value, medicinal effect and enviromental impact. 2a. Ed. CRC Press. USA, 2004.
6. Bran M.C., *et al.* Hongos comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula. (Fase II). Informe Técnico Final, Dirección General de Investigación. 2002.
7. Bran M.C., *et al.* Hongos Comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula. (Fase III). Informe Técnico Final. Dirección General de Investigación. 2003.
8. Bran M.C., *et al.* Contribución al conocimiento de los hongos comestibles en Guatemala. Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. Edición Especial, Revista Científica. 2003 Vol 1 (1): 1-24.
9. Deschamps J. Producción y comercialización de hongos comestibles. 1ª. Ed. Orientación Gráfica Editora S.R.L. Buenos Aires, Argentina; 2003. 210p.
10. Guillén-Navarro G., Márquez-Rocha F., Sánchez-Vásquez J. Producción de biomasa y enzimas ligninolíticas por *Pleurotus ostreatus* en cultivo sumergido. Rev Iberoam Micol 1998; 15: 302-306.
11. De León R. Cultivation of edible and medicinal mushrooms in Guatemala, Central America. Micol Apl Int 2003; 15(1): 31-35.

12. García E. Cultivo de *in vitro* de cepas silvestres guatemaltecas de *Auricularia* sp. Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1,999. 43p.
13. Vallejo R. Análisis Químico de la paja de cebada sin y con suplemento para el cultivo de *Agrocybe aegerita*. (Tesis de Graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2002. 48p.
14. Lau Bonilla D. Factores que afectan el crecimiento micelial y la degradación del sustrato por *Agrocybe aegerita*. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de Graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2001. 48 p.
15. Pegler D. The genus *Lentinus*: A world monograph. 1^a. ed. Kew Bulletin Additional Series X. London, 1983. 1738p.
16. Redhead S. & Ginns J. A reappraisal of agaric genera associated with brown rots of woods. Trans Mycol Soc Japan 1985; 26: 349-381.
17. Lechner B, Wright J. First record of *Neolentinus schaefferi* in the Americas. Mycotaxon 2002; 82:281-287.
18. Index fungorum. Disponible en: <http://www.indexfungorum.org/names/namesrecord.asp.recordid>.
Fecha de consulta, enero de 2005.
19. Moreno-Fuentes A. *et al.* Kuté-mo'kó-a: Un hongo comestible de los indios Rarámuri de México. Rev Mex Mic 1996; 12:31-39.
20. Gaitán-Hernández R. Obtención de cepas de *Neolentinus suffrutescens* por entrecruzamiento, su caracterización *in vitro* y producción de cuerpos fructíferos a nivel de planta piloto. Rev Iberoam Micol 2000; 17:20-24.
21. Palacios, A. Investigación sobre la potencialidad de cultivo de dos cepas silvestres de *Neolentinus lepideus* y *N. ponderosus*. En: Memorias del VII Congreso Nacional de Micología. Querétaro, México, 2000. p53.
22. Mier T., Toriello C., Ulloa M. Hongos microscópicos saprobios y parásitos: Métodos de Laboratorio. 1^a. Ed. Universidad Nacional Autónoma de México, México 2002. p34.

23. Labarère, J., Bois, F. La conservación y el uso de los recursos genéticos de *Pleurotus* spp. En: Sánchez, J., Royse, D. (Eds). Editorial LIMUSA, México. 2001. Pág. 83-124.
24. Nobles, M. Identification of cultures of wood-inhabiting Hymenomycetes. *Can J Botany* 1965; 43: 1097-1139.
25. Gaitán-Hernández, R., Mata, G., Guzmán, G. Behavior of a mexican strain of *Lentinus lepideus* on three solid media. *Rev Mex Mic* 1995; 11:23-27.
26. Salmenes, D., Gaitán-Hernández, R., Pérez-Merlo, R., Guzmán, G. Estudios sobre el género *Pleurotus*. VIII. Interacción entre el crecimiento micelial y productividad. *Rev Iberoam Micol* 1997; 14:173-176.
27. Miller, O. K. Jr. Three new species of lignicolous agarics in the *Tricholomataceae*. *Mycologia* 1965; 57: 933-945.

XIII. ANEXOS

Anexo 1.

Producción mundial de hongos comestibles cultivados de 1960 a 1997 (peso fresco).

Año	Producción x (1000TM)	Incremento (%)	Incremento anual (%)
1960	170.0		
1965	341.0	100.6	20.1
1970	546.0	60.0	12.0
1975	916.0	67.8	13.6
1981	1257.2	37.3	6.2
1986	2176.0	73.1	14.6
1990	3794.0	74.4	18.6
1991	4273.0	12.6	12.6
1994	4909.3	14.9	5.0
1997	6158.4	25.4	8.5

Fuente: Chang S., & Miles P. Mushrooms, Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect and Environmental Impact. 2a. Ed. CRC Press. USA, 2004. p212.

Anexo 2.**Hoja de recolección de datos para determinar la tasa de crecimiento radial de cepas de *Neolentinus***

Cepa: _____ Fecha: _____

Caja de petri No. (Réplica): _____ Temperatura: _____

Día	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Crecimiento (mm) Promedio										

Tasa de crecimiento radial a los 15 días de incubación: _____ mm/día