

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Descripción de las características macroscópicas, de cultivo *in vitro* y producción de inóculo en paja y granos de trigo de *Agrocybe aegerita* (Brigant) Singer



Claudia Andrade Martínez

Química Bióloga

Guatemala, abril del 2007.

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

**Descripción de las características macroscópicas, de cultivo *in vitro* y producción de
inóculo en paja y granos de trigo de *Agrocybe aegerita* (Brigant) Singer**

Informe de Tesis

Presentado por

Claudia Andrade Martínez

Para optar al título de

Química Bióloga

Guatemala, abril del 2007.

JUNTA DIRECTIVA

Òscar Còbar Pinto, Ph. D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M. A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urízar	Vocal II
Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez	Vocal III
Br. Àngel Damián Reyes Valenzuela	Vocal VI
Br. Àngel Jacobo Conde Pereira	Vocal V

ACTO QUE DEDICO

A DIOS	Por darme fortaleza para llegar al final del camino
A MIS PADRES	Rosa Maria Martínez de Andrade y Enrique Andrade (†) Por sus sabios consejos, ejemplos y ayudarme a cumplir mi anhelo
A MI NOVIO	Byron Carrillo Con cariño, gracias por su apoyo incondicional
A MIS HERMANOS	Eduardo Andrade (†), Enrique Andrade y Julita de Andrade Por todos los momentos compartidos y su apoyo
A MIS TIOS Y TIAS	Por sus consejos
A MIS PRIMOS Y SOBRINOS	Con cariño fraternal
A MIS AMIGOS	Por los momentos compartidos.
A MIS ALUMNOS	Por compartir conmigo gratos momentos
A MIS PADRINOS	Rosa Maria de Andrade, Edna Elvira de Echeverría, Hector Guzmán y Jaime Ramirez Por su ejemplo como profesionales, sus consejos y apoyo
AL PERSONAL DEL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA	Por ayudar en mi formación profesional
A MIS COMPAÑEROS DE TRABAJO	Por sus amistad incondicional
A	Elsa Margarita Morales y Amparo de Villeda Agradecimiento sincero

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

AL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA

**A MIS ASESORES LICDA. MARIA DEL CARMEN BRAN GONZALEZ Y LIC.
OSBERTH ISAAC MORALES ESQUIVEL**

A MIS REVISORES LICDA. KAREN HERERA Y LICDA KARLA LANGE

ÍNDICE

	Pág.
I. Resumen	1
II. Introducción	2
III. Antecedentes	
A. Historia	4
B. Valor nutricional	5
C. Consideraciones de <i>Agrocybe aegerita</i>	
1. Etnomicología	5
2. Taxonomía	6
3. Descripción de <i>A. aegerita</i> (Brigant) Singer	6
4. Hábitat y distribución	9
5. Ciclo de vida	10
6. Requerimientos para el crecimiento de <i>A. aegerita</i>	11
D. Conocimientos sobre <i>A. aegerita</i>	14
E. Producción de inóculo	17
IV. Justificación	18
V. Objetivos	19
VI. Hipótesis	20
VII. Materiales y métodos	21
IX. Resultados	29
X. Discusión de resultados	35
XI. Conclusiones	40
XII. Recomendaciones	41
XIII. Referencias	42
XVI. Anexos	48
XV. Glosario	69

I. RESUMEN

Agrocybe aegerita es un hongo que se consume en el municipio de Tecpán Guatemala, Chimaltenango y las aldeas Escuachil y Vista Hermosa de San Antonio Sacatépequez, San Marcos y San Juan Ostuncalco, Quetzaltenango.

En la presente investigación se utilizaron seis cepas guatemaltecas de *A. aegerita*. A los cuerpos fructíferos se les realizó un estudio taxonómico verificando que correspondieron a la especie *A. aegerita* (Brigant) Singer; además al micelio vegetativo, se le determinó la morfología colonial, la mejor condición para obtención de biomasa fúngica y producción de inóculo.

En la investigación se determinó que todos los cuerpos fructíferos cumplieron con las características reportadas en la literatura para *A. aegerita* (Brigant) Singer; la mejor condición para la obtención de biomasa fúngica y crecimiento miceliar fue utilizar agar papa dextrosa como medio de cultivo a una temperatura de 26 °C con todas las cepas. Además se estableció que la producción de inóculo se obtuvo los mejores resultados incubando todas las cepas a 26 °C sobre granos de trigo, si embargo no se logró la completa compactación del mismo; por tal razón, se concluyó que los soportes empleados en el estudio no fueron colonizadas efectivamente por las cepas evaluadas.

II. INTRODUCCIÓN

Desde tiempos ancestrales, los hongos silvestres comestibles han tenido un lugar importante en la alimentación de algunas culturas, por su valor nutricional y sabor agradable al paladar. Guatemala es un país donde existe la tradición de la búsqueda y consumo de hongos, principalmente en las etnias de origen maya, las cuales conocen y recolectan alrededor de 70 especies de hongos comestibles, entre los que se encuentran *Agrocybe aegerita*.

A. aegerita es un hongo comestible muy apreciado en las aldeas Escuachil y Vista Hermosa de San Antonio Sacatepéquez, San Marcos; Tecpán Guatemala, Chimaltenango y San Juan Ostuncalco, Quetzaltenango, donde se conoce con los nombres de rukoxil tunay che' (idioma Kachikel), hongo de saúco, hongo del tunay che' y hongo del soico.

En el interior de la república existen muchas comunidades de escasos recursos, que requieren de fuentes alternativas de alimento de alta calidad como los hongos comestibles.

A. aegerita es una especie potencialmente cultivable artesanalmente, lo que puede permitir que sea utilizado para autoconsumo y comercialización. Sin embargo, para lograr su cultivo y propagación, es necesario ensayar y describir las condiciones de crecimiento *in vitro* del micelio, determinar el sustrato adecuado como soporte para el desarrollo de inóculo, con el fin de propagar la biomasa en las mejores condiciones y en el menor tiempo.

En este trabajo se describieron las características macroscópicas y microscópicas de seis cuerpos fructíferos herborizados de *A. aegerita* y de las cepas aisladas de cada uno de ellos. También se estudiaron los medios de cultivos (agar extracto de malta –AEM-, agar papa dextrosa –PDA- y agar sabouraud dextrosado –ASD-) y las temperaturas (18, 24 y 26 °C) para determinar a cual se produjo mayor tasa radial de crecimiento miceliar. Así mismo se

evaluó el sustrato (paja y granos de trigo) y la temperatura (18, 24 y 26 °C) más adecuadas para la producción del inóculo. Los resultados obtenidos fueron analizados con el fin de determinar las mejores condiciones para el desarrollo de las cepas.

III. ANTECEDENTES

A. HISTORIA

Desde la antigüedad, los hongos han llamado la atención de la humanidad, debido a sus diversas formas y colores. Se sabe que antiguas civilizaciones de extremo oriente y Mesoamérica (regiones comprendidas desde el Noroeste Central de México hasta el Noroeste de Costa Rica) los utilizaron especialmente en prácticas terapéuticas, actividades religiosas y como alimento. Para los griegos, los hongos les conferían fuerza a los guerreros; en Egipto, eran catalogados como “un bocadillo exquisito” o como “alimento de los dioses” y los chinos les consideraban “un elixir de vida” (1-3).

Las culturas prehispánicas emplearon los hongos en diversas prácticas, como lo prueban las piedras hongo, que datan desde aproximadamente 1500 a.C. hasta 900 d.C. En la actualidad la transmisión oral de estas costumbres se conserva en las comunidades indígenas, donde todavía se buscan y consumen hongos de diversos tipos (4-6).

Agrocybe aegerita es un hongo silvestre comestible que fue consumido por antiguas civilizaciones como Grecia, Roma y algunas culturas orientales, las cuales lo apreciaron por su sabor agradable al paladar (1).

A. aegerita se encuentra entre los hongos comestibles que han tomado importancia en los últimos años, siendo una de las diez especies cultivadas recientemente en China. También se cultiva a nivel comercial en regiones del Mediterráneo y Asia (6).

B. VALOR NUTRICIONAL DE LOS HONGOS COMESTIBLES

De manera general, los hongos comestibles contienen proteínas de alta calidad biológica, contienen nueve aminoácidos esenciales para el ser humano y un contenido de fibra entre 7 y 28 %. La proteína cruda tiene una digestibilidad del 60 y 70 %, se degradan de 70 a 90 %, por lo que los hongos pueden ser utilizados como fuente alternativa de este componente (Anexo 1) (2, 7).

C. CONSIDERACIONES DE *Agrocybe aegerita*.

1. Etnomicología

Es un hongo silvestre comestible, conocido con los nombres comunes Piopparello y Pioppino en Italia, “Yanagi-Matsutake” en Japón, “El popular hongo del sur” o “Zhuzhuang–Tiantoagu” en China, hongo de chopo en México, también se conoce como hongo negro del álamo, el cinturón *Agrocybe* y seta del chopo (4, 7-10).

En Guatemala se consume tradicionalmente en las aldeas Escuachil y Vista Hermosa, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos; Tecpán Guatemala, Chimaltenango y San Juan Ostuncalco, Quetzaltenango, donde es conocido como rukoxil tunay che’ (idioma Kaqchikel), hongo de saúco, hongo de tunay che’ y hongo del soico (4-6, 11-15).

2. Taxonomía

Singer en 1975, clasificó a *A. aegerita* como parte del género *Agrocybe*, subgénero *Agrocybe*, sección APORUS, debido a que crece sobre madera de árboles

mueritos y vivos y desarrolla carpóforos grandes, de colores claros y carnosos. Además, posee hifas con fíbulas y esporas con poro germinativo, angostas y no truncadas o moderadamente amplias y truncadas. De manera global, se clasifica de la siguiente forma (2, 16-18):

Reino	Fungi
Phylum	Basidiomycota
Clase	Basidiomycetes
Subclase	Agaricomycetidae
Orden	Agaricales
Familia	<i>Bolbitiaceae</i>
Género	<i>Agrocybe</i>
Especie	<i>Aegerita</i>

3. Descripción de *Agrocybe aegerita* (Brigant) Singer:

A. aegerita un hongo comestible y saprófito era conocido anteriormente como *Pholiota aegerita* (V. Brig.) Quéll o *Agaricus aegrita* Fr. Una alternativa del nombre en latín es *Agrocybe cylindracea* (De Candolle. ex Fries) Maire (Anexos 2, 3 y 4) (18-23).

a. Características macroscópicas y microscópicas del basidiocarpio

- i. Píleo de 2 a 14 cm, pudiendo alcanzar 20 cm de diámetro. El espécimen joven es globoso, hemisférico, extendible, llegando a ser convexo, tiene una superficie irregular que se torna eventualmente depresible. Seco con alguna depresión volviéndose reseco y presentando arrugas, mostrando hendiduras conforme este madura. Color café dorado a café cuando es joven, desplegando tonos cremas o blanquecinos al madurar. Al inicio los

márgenes son enrollados y regulares, luego mostrando grietas, además de eventuales depresiones conforme envejece, con bordes irregulares. Microscópicamente, la superficie del píleo es himeniforme. Consistencia es suave y su color va de beige a marrón, oscureciéndose en el centro y la longitud de la carnosidad es grande (9, 10, 16, 18, 24-31).

- ii. Contexto compacto y firme, llegando a ser duro y resistente en el estípite, color blanco, consistencia similar al píleo. En ejemplares jóvenes tiene un sabor dulce, atractivo al paladar y posee un olor a vino o afrutado, ácido, el cual se torna similar a nuez conforme madura y el estípite posee un inusual sabor a corcho o madera de barril (16, 18, 22, 24-29).
- iii. Estípite de 3 a 15 cm de largo por 0.5 a 3 cm de diámetro, es firme, fibroso, típicamente cilíndrico y central. Color blanco a ocre y el extremo superior, justamente donde llega la lámina, es hundido, blanco, denso, sedoso, y posee un anillo membranoso. Superficie puede ser lisa o longitudinalmente fibrilosa. Puede llegar a presentar manchas café oscuro cuando se producen las esporas (16, 18, 22, 24-29).
- iv. Anillo persistente en especies maduras, membranoso algodonoso en el tercio superior, amplio, y de color blanco que se colorea de café con el desarrollo de las esporas (16, 18, 22, 24-29).
- v. Himenio con láminas delgadas y numerosas lamélulas decurrentes. Es de color crema a beige al inicio y se colorea a café tabaco conforme maduran las esporas. Se encuentra adherido al estípite (16, 18, 22, 24-29).

- vi. Esporas de 8 a 10 μm de largo por 4.5 a 7 μm de ancho, elípticas color café tabaco o café chocolate opaco y en ocasiones ocre cuando se encuentran en grupos; carece de un poro germinativo distintivo. Puede presentar basidios tetraesporicos (16, 18, 22, 24-29).

b. Características del micelio

- i. Macroscópicas: Velocidad de crecimiento moderado y longitudinalmente lineal, cubriendo en área de la caja de Petri en tres semanas, margen bien definido. El micelio es de afelpado a homogéneamente sedoso de color blanco; color café oscuro en la zona alrededor del inóculo que se expande en el agar conforme la colonia envejece. No presenta olor. El reverso presenta parches de color café correspondiente al color del micelio. Desarrolla primordios usualmente en agar extracto de malta -AEM-. Reacción oxidativa: negativo y sin crecimiento en ácido gálico, ácido tánico y guaiacol; negativo y con crecimiento en paracresol y moderadamente positivo y con crecimiento para tyrosina (reacción amarillo naranja) (21, 32-35).
- ii. Microscópicas: Abundante micelio aéreo. Presenta hifas germinativas con fíbulas, se tiñe con floxina, hialinas, regularmente ramificadas de 1.5 a 2 x 4 a 5 μm , ocasionalmente diverticulado; clamidosporas terminales o intercaladas, elípticas a globosas y de forma irregular, mide 5 a 12 X 6 a 20 μm , con paredes delgadas bien definidas, contiene muchas vesículas protuberantes, producidas por debajo de la porción hifal, estas tienen un tamaño de 1.5 a 2 μm de diámetro. La hifa posee numerosas irregularidades en la pared, desarrolla una textura angularis *sensu* Desjardin 1990, que confiere un color café oscuro al micelio (35).

c. Similitudes

El cuerpo fructífero herborizado puede confundirse con algunas especies como *Armillaria mellea*, por presentar escamas del píleo y las esporas elípticas. La diferenciación es confusa con especies pertenecientes a los géneros *Pholiota* y *Hypholoma* que son comestibles o tóxicos, presentando características similares con *Hemipholiota populnea*. El cuerpo fructífero es semejante a *Stropharia*, del cual se puede diferenciar por el color de las esporas, siendo las de esta última café brillantes (16, 22, 25, 29, 33).

d. Observaciones

Es un hongo saprófito de crecimiento rápido en plantas muertas y en estado de descomposición. Puede ser cultivado de forma artesanal o industrial utilizando como sustrato material de desecho de procesos agropecuarios e industriales (Figura 2) (16, 19, 25, 26).

4. Habitat y distribución

A. aegerita crece a menudo en grupos voluminosos sobre árboles como *Acer*, *Fraxinus*, *Populus*, *Salix*, *Sambucus* y *Vilms* en Asia. En China crece sobre desechos de té. En Europa e islas de Gran Bretaña cerca de *Ulum* y en Italia en *Ficus* vivo. En América se ha localizado en *Melia*, *Broussonetia*, *Albophylus*, *Cupania*, *Quercus* y *Phoebe* (4, 7, 14, 16, 23).

En Guatemala, Bran y colaboradores han reportado la presencia de *A. aegerita* en las comunidades de Tecpán Guatemala, Chimaltenango a una altitud de 2300 msn y en las aldeas Escuatichil y Vista Hermosa, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos a una altitud de 2500 msnm y San Juan Ostuncalco Quetzaltenango creciendo sobre *Sambucus* spp; también se ha reportado sobre árboles de Sauce (*Salix*) en Tecpán Guatemala (Anexo 4) (11, 15).

5. Ciclo de vida

Los hongos se reproducen por esporas, las cuales al depositarse en sustratos adecuados germinan y se desarrollan. La proliferación puede presentar una reproducción heterotálica o sexual y/o una reproducción homotálica o asexual (Anexo 5) (14).

En la reproducción heterotálica o sexual los basidiomicetes producen basidios (células binucleadas que sufren cariogamia y mitosis). El ciclo de reproducción típico consta de un período corto diplode y uno prolongado dicariótico, a excepción de las especies de los géneros *Uredinales* y *Ustilaginales* que lo presentan virtualmente corto. Estas basidiosporas producen un micelio monocariótico que inicialmente no presenta septos y cuando los presenta, cada segmento posee un núcleo. El micelio dicariótico se produce por fusión de dos hifas monocarióticas, produciendo cambios morfológicos como la migración del núcleo, obteniéndose una combinación de dos tipos genéticos. Las hifas dicarióticas producen el primordio que en condiciones adecuadas llega a desarrollarse a cuerpo fructífero (33-34).

A. aegerita es un hongo que presenta una reproducción heterotálica, debido a que el micelio dicariótico se produce a partir de la anastomosis de dos micelios homocarióticos, obteniéndose una combinación de dos tipos genéticos (17, 19, 34).

6. Requerimientos para el cultivo de *Agrocybe aegerita*

a. Aireación

Cuando se produce la invasión del micelio en el sustrato y la formación del primordio, soporta concentraciones de dióxido de carbono mayores de 20,000 ppm si no hay recambio de aire. En el desarrollo el cuerpo fructífero, requiere

concentraciones inferiores a 2,000 ppm, haciendo necesario un buen flujo de aire (Anexo 6) (7, 14, 21).

Los recambios de aire en la invasión del sustrato por el micelio requiere que sea con la frecuencia de 0 a 1 hora y cuando aparece el primordio hasta el desarrollo del cuerpo fructífero se requiere que sea de al menos 4 a 8 horas (21).

b. Temperatura

A. aegerita presenta un desarrollo miceliar adecuado de 21 a 27 °C (Stamets, 1993) y de cuerpo fructífero de 13 a 18 °C (Zadrazil, 1989), además el primordio muestra un crecimiento adecuado de 10 a 16 °C (6, 14, 21).

Lau 2001 utilizó cepas de *A. aegerita*, indicando que las cepas guatemalteca AA1 produce mayor cantidad de micelio a 26 °C en agar papa dextrosa; la cepa guatemalteca AA2 lo muestra a 26 °C en agar extracto de malta y la cepa europea AA0 lo exhibe a 22 °C en agar extracto de malta (6, 14).

c. Luz

Es un factor importante para algunas fases reproductivas de los hongos, como la producción y dispersión de esporas, ya que las estructuras encargadas de la esporulación son fototróficas (14).

Stamets 1993 y Zadrazil 1989, reportaron que *A. aegerita* no requiere luz para el crecimiento miceliar, además que los primordios y los cuerpos fructíferos se desarrollan adecuadamente si reciben de 10 a 12 horas diarias de luz, entre el rango de 500 a 1000 lux (17, 14).

d. pH

Zadrazil y Brunnert 1978 y Zadrazil 1979, reportaron que *A. aegerita* presenta crecimiento en rangos de pH de 4.7 a 6.1. Vallejo 2001 indicó que el hongo cuando degrada la paja de cebada suplementada con Nitrito de sodio (NaNO_2), eleva el pH de 5.5 a 6.8 (6, 29).

e. Humedad

La humedad relativa óptima para el crecimiento miceliar y aparición del primordio es de 95 a 100 %. Debajo de 80 a 85 % disminuye el crecimiento. El desarrollo de los cuerpos fructíferos requieren de un 90 a 95 % de humedad (6, 15, 36).

El contenido de humedad óptimo para el sustrato utilizado en el crecimiento miceliar debe ser de aproximadamente del 70 al 80 % del peso, debido a que los porcentajes de humedad fuera de estos rangos disminuyen el crecimiento (Zadrazil, 1979) (6, 36).

f. Carbono

Zadrazil, citó que *A. aegerita* coloniza diferentes desechos agrícolas como bagazo de caña de azúcar, rastrojos de maíz, paja de cebada y trigo, de las cuales utiliza lignina, quitina y la celulosa como fuente de carbono ya que produce enzimas que degradan estos compuestos (6, 14).

Lau 2001, obtuvo mayor crecimiento del micelio vegetativo de *A. aegerita* en las cepas AA1 en agar papa dextrosa, cepa AA2 y AA0 en el agar extracto de malta que en agar sabouraud, indicando que esto se debe a la presencia de malta, un componente formado por moléculas de glucosa, materia prima para la glucólisis (6).

g. Nitrógeno

Zadrazil 1989, indicó que los cuerpos fructíferos de *A. aegerita* crecen mejor al agregar al sustrato Nitrato de amonio como fuente de Nitrógeno (6, 36).

Lau 2001, observó que las cepas AA1 y AA0 de *A. aegerita* degradan mayor cantidad de paja de cebada cuando esta se suplementa con Fosfato diamónico ((NH₄)₂HPO₄). La cepa AA2 lo hace al estar enriquecida con NaNO₃ (6, 36).

Cuando la relación C:N en el rango de 42 a 36 % y la relación N:P es de 1.83 a 1.63 %, se aumenta la degradación de paja de cebada hasta un 25.64 a 25.06 % cuando se suplementa con (NH₄)₂HPO₄ (Vallejo, 2001) (15).

h. Fósforo

Lau 2001, observó que *A. aegerita* degrada mayor porcentaje de paja de cebada cuando se suplementa con Fosfato diamónico ((NH₄)₂HPO₄) comparándolo con el suplementado con Nitrato de sodio (NaNO₃) y Nitrato de acetilo (C₄H₇NO₄), concluyendo que se debe a la presencia de Fósforo en el medio (6).

Vallejo 2001, indicó que el rango de la relación N:P óptimo para la degradación adecuada de paja de cebada es de 1.63 a 1.83 %, debido a que valores menores de 9.31 disminuyen los valores obtenidos en porcentaje de degradación (15).

D. CONOCIMIENTOS SOBRE *Agrocybe aegerita*

En la actualidad se han realizado estudios genéticos con *A. aegerita*, debido a la facilidad que se tiene de producir micelio vegetativo y primordios en medios de cultivo

con base de agar bajo condiciones ambientales adecuadas. Fernández y Labarére 1997, identificaron el gen Aa-Pri1 y su proteína, señalando que éste aumenta su transcripción al iniciar la fructificación y esta decrece conforme el cuerpo fructífero de *A. aegerita* madura (37).

Sirand-Pugnet y Labarére 1997, clonaron e identificaron el gen Pri3 y su proteína. Este gen se expresa en dos cariosomas al inicio de la fructificación, en nueve cepas de *A. aegerita* procedentes de Europa, Asia y América Latina. La proteína Pri3 no presenta homólogo significativo con otras proteínas relacionadas con el crecimiento del hongo, constituyendo una nueva clase de proteína rica en cisteína. Comparando la secuencia del gen se encontró una divergencia en la evolución de los grupos genéticos analizados (38).

Bois y col 1999, clonaron el gen mitocondial Aa-polB de *A. aegerita*, localizado en la región Aa-polB, este gen fue obtenido de especies de regiones europeas (39).

Cruz y Labarére 1999, identificaron el gen Aa-Pri2, que se expresa durante la diferenciación del basidioma de *A. aegerita*. La hibridación del DNA del genoma de varios hongos comestibles con el gen Aa-Pri2 cDNA, mostraron un segmento de 2.7 Kb de DNA, similar al gen Aa-Pri2 presente en *Agrocybe chaxingu*; secuencia que muestra una pequeña hibridación detectada en las especies *Pleurotus eryngii*, *Lentinula edodes* y *Agaricus bisporus* (40).

Hofrichter y col. 2002, utilizaron varias especies entre ellas *Agrocybe praecox* para determinar la producción de manganeso peroxidasa (MnP) por los hongos agaricales. Enzima secretada principalmente en sus microambientes como respuesta a concentraciones elevadas de Mn^{2+} (41).

Sattayaphist y col. 2002, utilizando *Agrocybe cylindracea*, determinaron que el genoma de los hongos producidos en Tailandia es estable después de 20 subcultivos sucesivos, a través del examen del micelio primario producido a gran escala (42).

En la caracterización del ADN mitocondrial de *A. aegerita* utilizando micelio vegetativo y su clonación en *Escherichia coli*, Barroso y Laberére 1991, determinaron que el gen mitocondrial presenta un tamaño equivalente a 76000 +/- 3000 pb (43).

Nöel y col. 1991, comprobaron que *A. aegerita* presenta tres tipos de genes involucrados en la morfología de los cuerpos fructíferos que pueden ser clonados y que codifican el ARN ribosomal, así como la biosíntesis de algunas enzimas. En la diferenciación del primordio, se encuentran involucrados ocho secuencias de ARN denominadas de EMA 1 a EMA 8, de los cuales del EMA 1 al 3 contienen 620 nucleótidos, además de una secuencia mitocondrial de ARN (ARNm) denominada EAMa-rib que presenta una secuencia complementaria ADNc EMAa-rib. La biosíntesis de enzimas se encuentra controlada por el gen Ura-1 que posee un tamaño de 3.8 Kb, el cual fue obtenido al incorporarlo a la secuencia genética de la *E. coli* SO4058 (Ura-) (44).

Mau y col. 1999, utilizando *A. cylindracea* para comprobar el efecto del ácido 10-oxo-trans-8-decanoico, como suplemento del medio líquido papa dextrosa levadura (PDY) y aplicando concentraciones de 2.5, 5 y 10 ppm, obtuvieron un aumento en el crecimiento miceliar al compararlo con los controles, incrementándose la actividad de la lacasa, lo que indica que la suplementación con este ácido es beneficioso para el cultivo de este hongo (35).

En los agaricales como *A. aegerita*, Nöel y col. 1991, evidenciaron que la fructificación en el estado homocariótico se diferencia en tres tipos: el primero de ellos presenta un micelio que produce cuerpos fructíferos que no esporulan; el segundo desarrolla cuerpos fructíferos que producen poca esporulación y el tercer tipo que

promueve el desarrollo de cuerpos fructíferos homocarióticos que liberan esporas dicarióticas. Este proceso se regula por el gen su^+ el cual en conjunto con los genes fi^+ y fb^+ completan la diferenciación. La presencia de estos tres tipos de producción de cuerpos fructíferos se pueden diferenciar por el fenotipo; los cuales se identifican como AHF (abotivite homocariotic fruiting) THF (true homocariotic fruiting) y PHF (pseudo-homocariotic fruiting), sus alelos se encuentran localizados en el loci A y B y el tipo de fructificación indica la diferenciación genética que presenta el espécimen (45).

Barroso y col 1995, utilizaron 36 cultivos de *A. aegerita* para realizar un análisis del polimorfismo mitocondrial y su regeneración, identificando los segmentos *Cox I*, *Cox II*, ATP6 y ATP8, determinando que la mutación es resultado de marcadores mitocondriales de segmentos específicos y que el tiempo de la mutación dura lo que tarda el genoma en regenerarse, insertarse y copiarse. También determinaron la presencia de dos polimorfismos y cuatro haplotipos mitocondriales (46).

Barroso y col. 1997, analizaron la transición mitocondrial durante la plasmogamia, crecimiento del micelio vegetativo y la diferenciación del basidiocarpo empleando *A. aegerita*, comprobaron que la migración nuclear es bilateral y que la migración depende del genotipo expresado, estableciendo que solamente el 75 % en los dicarióticos producen una migración mitocondrial parcial haplotípica (mezcla de homocarióticos) y que en un 25 % presentan un solo haplotipo (dicariótico homoplásmico) (47).

E. PRODUCCIÓN DE INÓCULO

La producción de algunos hongos saprofitos comestibles y medicinales se puede llevar a cabo de forma artesanal, después de encontrar las condiciones adecuadas de crecimiento *in vitro* (48).

La producción artesanal de estos hongos se lleva a cabo mediante la producción *in vitro* de inóculo, proceso que consiste en expandir la masa micelial sobre un sustrato, soporte o

vehículo, para lo cual se pueden emplear granos de cereales como trigo, sorgo, maicillo, mijo, arroz y maíz (49).

Bran y col 2002 inocularon *A. aegerita* cepa 112.2002 en maicillo, sin obtener crecimiento miceliar, sin embargo usando como soporte paja de trigo, lograron el crecimiento de micelio y el mejor crecimiento se observó en granos de trigo en 30 días (15).

Lau, 2001, determinó que el crecimiento de las cepas AA0, AA1 y AA2 de *A. aegerita* presenta un mejor crecimiento sin suplemento, llenando la cebada en menor tiempo (6).

IV. JUSTIFICACIÓN

Agrocybe aegerita es un hongo apreciado por su agradable sabor en comunidades de Tecpán Guatemala, Chimaltenango; San Antonio Sacatepéquez, San Marcos y San Juan Ostuncalco, Quetzaltenango. Estas localidades recolectan los cuerpos fructíferos de este hongo entre los meses de junio y julio, cuando inician las lluvias (11-13).

Guatemala es un país con un alto porcentaje de comunidades de escasos recursos, ubicadas en su mayoría en el interior del país. Estas comunidades requieren productos alimenticios de bajo costo y accesibles. Debido a esto se puede considerar a *A. aegerita* como un alimento que proporciona nutrientes y vitaminas que benefician a la salud humana, ya que se encuentra reportada como uno de los 70 hongos comestibles del país, Por lo tanto puede ser utilizado para la alimentación humana y/o comercialización, a través del cultivo artesanal (13).

En los proyectos de investigación realizados durante el 2001 y el 2002 en la Universidad de San Carlos de Guatemala por Bran y col. (9, 15), se han colectado y herborizado ejemplares de *A. aegerita*, así como aislado sus respectivas cepas. Sin embargo no se conocen las condiciones de crecimiento, ni las características macroscópicas y microscópicas de las cepas aisladas (13, 36). Por lo anterior, fue necesario hacer una revisión detallada de la descripción de las características macroscópicas de los cuerpos fructíferos herborizados de *A. aegerita*, así como de su morfología microscópica, no solo para identificar y/o confirmar la especie, sino además para elaborar una descripción completa de los especímenes nativos para su documentación. También, se describieron las características de cultivo, y las condiciones de crecimiento de las cepas aisladas, con el fin de conocer las mejores condiciones para la obtención de biomasa y elaboración de inóculo.

V. OBJETIVOS

A. GENERALES

1. Confirmar las características de los cuerpos fructíferos herborizados de *Agrocybe aegerita* recolectados en diferentes regiones de Guatemala.
2. Establecer las condiciones necesarias para el crecimiento *in vitro* de cepas de *A. aegerita* y la producción de inóculo utilizando como soporte granos y paja de trigo.

B. ESPECÍFICOS

1. Describir las características taxonómicas de los cuerpos fructíferos herborizados de *A. aegerita*, a través de la observación de las características macroscópicas y microscópicas de cada uno de ellas, para confirmar la especie previamente identificada.
2. Describir las características macroscópicas y microscópicas de las cepas de *A. aegerita* para su documentación.
3. Evaluar la tasa radial de crecimiento y biomasa en varios medios de cultivo (Agar Papa Dextrosa –PDA-, Agar Sabouraud Dextrosa –ASD- y Agar Extracto de Malta –AEM-) a diferentes temperaturas (18, 24 y 26°C), con el fin de determinar la mejor condición de crecimiento *in vitro* de las seis cepas de *A. aegerita*.
4. Evaluar la tasa de crecimiento en varios sustratos (paja y granos de trigo) en distintas temperaturas (18, 24 y 26°C), con el fin de determinar la mejor condición de desarrollo del inóculo de las seis cepas de *A. aegerita*.

VI. HIPÓTESIS

- A. Los cuerpos fructíferos herborizados de *Agrocybe aegerita* presentan características que corresponden a la especie *A. aegerita* (Brigant) Singer.
- B. Las cepas de *A. aegerita* producen igual tasa radial de crecimiento en los distintos medios de cultivo (PDA, AEM y ASD) y temperaturas (18, 24 y 26 °C) evaluadas.
- C. Es posible producir inóculo de cepas de *A. aegerita* en los sustratos (paja y granos de trigo) y temperaturas (18, 24 y 26 °C) evaluadas en el estudio.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. UNIVERSO DE TRABAJO

Cepas silvestres guatemaltecas de *Agrocybe aegerita* y cuerpos fructíferos herborizados.

B. MUESTRA

Cuerpos fructíferos herborizados y cepas de *Agerocybe aegerita* que fueron recolectados en los años 2001 y 2002 en diferentes regiones de Guatemala y almacenados en la Micoteca de Macrohongos de Guatemala “Lic. Rubén Mayorga Peralta” y en el Cepario de Hongos Saprofítos y Micorrícicos, ambos del Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

Agrocybe aegerita 2.2001, Tecpán Guatemala, Chimaltenango

A. aegerita 58.2001; Aldea Escuachil, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos

A. aegerita 59.2001; Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos

A. aegerita 60.2001, Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos

A. aegerita 97.2002, Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos

A. aegerita 112.2002, Tecpán Guatemala, Chimaltenango

C. MATERIALES

1. Medios de cultivo

Agar sabouraud dextrosado (ASD)

Agar papa dextrosa (PDA)

Agar extracto de malta (AEM)

2. Reactivos

Ácido sulfúrico en relación 1:3 (H₂SO₄)

Agua desmineralizada estéril

Azul de lactofenol al 3 %

Fenol al 5 %
Floxina
Formalina
Hidróxido de amonio al 5 % (NH_4OH)
Hidróxido de potasio al 3 % (KOH)
Hidróxido de sodio al 5 % (NaOH)
Reactivo de Melzer
Sulfato ferroso al 10 % ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$)
Tintura de Guayacol o 2-metoxifenol
Tintura de yodo

3. Sustrato

Granos de trigo
Paja de trigo molido

4. Equipo

Asas de nicromo
Autoclave
Balanza analítica con sensibilidad de 0.001 a 200 gramos
Balanza semianalítica, con sensibilidad de 0.1 a 300 gramos
Cabina de seguridad biológica clase III
Estereoscopio de 10 a 15 aumentos
Estufa
Incubadoras
Hoja de bisturí No. 20 ó 22
Mango de bisturí No. 4.
Mechero
Oradores de 5mm de diámetro
Papel filtro
Picadores de paja

Regla

5. Cristalería

Cajas plásticas de Petri de 20 mL

Erlenmeyer de 500 y 1000 mL

Frascos con tapadera de rosca de 50 mL

Pipetas Pasteur

Pipetas serológicas graduadas de 0.1 a 10 mL

Probetas graduadas de 150, 250 y 1000 mL

Láminas cubreobjetos y portaobjetos

Tubos de ensayo de 15 mL

D. MÉTODOS

1. Descripción de las características macroscópicas del cuerpo fructífero

Para realizar la descripción completa de las características de los cuerpos fructíferos herborizados de *A. aegerita*, se tomaron los ejemplares herborizados y la revisión de datos obtenidos se anotaron en la ficha para la descripción de las características macroscópicas y microscópicas del cuerpo fructífero de *A. aegerita* (anexos 7 y 8), tomando en cuenta las siguientes características:

- a. Píleo: diámetro en milímetros (mm) y forma del píleo, centro y margen, tipo de margen y borde, color del píleo y del contexto debajo de ella, ornamentación y presencia de cutícula desprendible (49, 50).
- b. Himenio: láminas, la unión con el estípite y borde, forma, color, textura y frecuencia (49, 50).
- c. Estípite: diámetro y la longitud en milímetros (mm), además de la forma, textura, presencia de vello, anillo, volva, escrobículos y color (49, 50).

- d. Contexto: consistencia, espesor, sabor, color y sus cambios al exponerse al ambiente, tanto en el segmento del píleo como del estípite (49, 50).
- e. Esporas: observar al microscopio, dibujar la morfología y medir las dimensiones (49 - 51).

2. Descripción de las características microscópicas del cuerpo fructífero

Para realizar la descripción completa de las características microscópicas de los cuerpos fructíferos herborizados de *A. aegerita*, se tomó un ejemplar herborizado y se le realizaron cortes del tejido en forma paralela y perpendicular al margen en cada una de las partes y se revisaron y anotaron en la ficha para la descripción de las características macroscópicas y microscópicas del cuerpo fructífero *A. aegerita* (anexos 7 y 8) las siguientes características:

- a. Arreglo de la trama en la lámina y del pellis en cada una de las partes del hongo.
- b. Reacción con Melzer de cada una de las estructuras y se midió el largo y ancho en micras (μm) de basidios, basidiolos, cistidias y esporas.
- c. Observar la presencia de micelio germinativo, de unión, esquelético, fíbulas y otros, determinando el ancho de las hifas y el grosor de su pared así como su distribución y relación (30, 49-51).

3. Determinación de la tasa radial de crecimiento y producción de biomasa de la cepa de *A. aegerita* a diferentes temperaturas

Antes de iniciar con el procedimiento se verificó la presencia de fíbulas de 4 a 8 mm de diámetro y la pureza de la cepa.

- a. A partir de un cultivo joven, se sembraron 15 cajas de Agar Papa Dextrosa (PDA), Agar Sabouraud Dextrosa (ASD) y Agar Extracto de Malta (AEM), colocando en el centro de la placa un fragmento miceliar de 5 mm de diámetro de una cepa de *A. aegerita* e incubar durante 15 a 21 días, colocando 5 cajas de cada medio a las siguiente temperaturas 18, 24 y 26 °C (52).
- b. Cada 72 horas se midieron los dos diámetros (traspuestos perpendicularmente), sacando un promedio del diámetro para estimar la velocidad de crecimiento medio de la colonia con respecto al tiempo (mm/día) y se anotó en las fichas para la determinación de la tasa radial de crecimiento y producción de biomasa de la cepa de *A. aegerita* en diferentes medios a diferentes temperaturas (anexos 9 y 10) (52).
- c. Se expresó gráficamente el crecimiento radial del hongo calculando la tasa radial de crecimiento (52).

4. Descripción de las características macroscópicas de las cepas de *A. aegerita*

Antes de determinar la biomasa, se observaron con la ayuda de un estereoscopio la forma del crecimiento miceliar, el color, apariencia, consistencia, forma de la colonia y pigmento difusible en el medio, anotándose en la ficha para la descripción de las características macroscópicas de las cepas de *A. aegerita* (anexo 11). Además se anotó el cambio de la densidad del micelio producido por envejecimiento (21, 33).

5. Medición del peso seco para determinar el desarrollo o biomasa de una colonia fúngica en medio sólido.

- a. Una vez concluida la incubación, se extrajeron las colonias obtenidas con un asa micológica o una pequeña espátula flameada, procurando que no presente restos de agar y depositarlo en círculos de papel de aluminio previamente pesado (52).

- b. Se envolvieron bien y se sumergieron los fragmentos de papel de aluminio conteniendo las colonias en un baño de agua hirviendo durante 5 a 10 minutos, con el objeto de fundir el agar, el cual se eliminó por decantación, luego se colocó en un horno a una temperatura de 75 a 80 °C y mantener allí hasta haber alcanzado peso constante, anotándose en la ficha para la descripción de las características macroscópicas de las cepas de *A. aegerita* (anexo 11). (52).
- c. Se determinó la biomasa fúngica en gramos, obtenida por la diferencia entre el peso inicial y el final (52).

6. Producción de inóculo

- a. Se dejó en remojo los sustratos (la paja de trigo y los granos) de trigo por 24 horas.
- b. Se escurrieron los sustratos y se colocaron en bolsas de polipapel pesando 200 gramos en cada uno de ellos y esterilizarlos a 121 °C por 45 minutos a 15 psi.
- c. A partir de un cultivo joven luego de haber verificado la pureza, se sembraron 15 paquetes cada uno con 15 fragmentos de micelio vegetativo de 1 cm de diámetro de cada una de las cepas de *A. aegerita* y se incubaron durante 30 días, colocándose 5 paquetes a cada una de las siguiente temperaturas 18, 24 y 26 °C. Cuando se agregó a cada bolsa de polipapel el micelio hubo que tener cuidado de no apelmazar los sustratos y colocar los segmentos donde quedaron en contacto con el aire.
- d. Se cerraron las bolsas, dejándolas con poca ventilación.
- e. Durante un mes se observaron cada 7 días los paquetes, con el fin de verificar la tasa de crecimiento del micelio hasta que cubriera totalmente el sustrato, se anotó el desarrollo miceliar mediante números del 0 al 10; siendo 0 el día que se coloca el inóculo en el paquete, 5 cuando el micelio vegetativo cubrió totalmente el paquete sin estar compacto y 10 cuando el micelio cubrió totalmente el paquete y

esta compacto, anotando los valores se anotaron en la ficha para la producción de inóculo de *A. aegerita* en diferentes soportes a diferentes temperaturas (anexo 12).

E. DISEÑO EXPERIMENTAL

1. Tipo de estudio

Se realizó un estudio experimental con un diseño factorial 6 x 3 x 3

2. Muestreo

Se utilizó un muestreo no probabilístico, por conveniencia, empleando un total de seis ejemplares (100 % de la muestra), analizando las características macroscópicas de los cuerpos fructíferos y la velocidad de crecimiento de las cepas, así como la producción de inóculo.

3. Variables

a. Variables dependientes

- i. Crecimiento miceliar, indicado como velocidad media de crecimiento (mm/día).
- ii. Producción de micelio y biomasa fúngica (gramos).
- iii. Crecimiento del micelio sobre el sustrato (cualitativo)

b. Variables independientes:

- i. Cepas
- ii. Temperaturas (18, 24 y 26 °C)
- iii. Medios de cultivo (agar extracto de malta –AEM-, agar papa dextrosa –APD- y agar sabouraud dextrosado –ASD-)
- iv. Sustratos (paja y granos de trigo)

c. Réplicas

- i. Se realizaron 5 replicas con un total de cinco repeticiones de cada una.

4. Análisis de datos

- a. Determinación del medio y la temperatura óptima de crecimiento de las cepas de *A. aegerita*: Análisis de varianza factorial, para un diseño 6 x 3 x 3.
- b. Producción de inóculo: Cualitativo.

VIII. RESULTADOS

A. Descripción taxonómica

El estudio taxonómico de los ejemplares herborizados, demostró que efectivamente, se trataba de *Agrocybe aegerita* (Brigant) Singer; ya que sus características macroscópicas y microscópicas, concordaban con la identificación realizada en la Micoteca de Macrohongos de Guatemala “Lic. Rubén Mayorga Peralta”.

A continuación se presenta una descripción detallada de las características macroscópicas y microscópicas de cuerpos fructíferos.

Agrocybe aegerita (Brigant) Singer

Píleo de 40 a 250 mm de diámetro, de convexo en jóvenes, a plano convexo en adultos. Superficie de húmeda a seca, rugosa en el margen, en algunos casos aerolada más evidente hacia el centro. Margen incurvado a recto, borde entero a desgarrado en adultos. Color en el centro beige 5^{7/E} * y el resto color beige 5^{3/A}. Cutícula no desprendible, color beige 5^{4/B} manchado de café 6^{6/E} a 6^{7/F} en algunos ejemplares adultos puede decolorarse hasta llegar a amarillo naranja 5^{4/B} con beige 5^{4/B} en las orillas. Contexto blanco, carnoso, esponjoso de 4 a 200 mm de espesor. Himenio con láminas subadheridas, muy juntas, anchas, color beige 5^{2/A} a 7^{2/A}, con algunas manchas más oscuras, borde entero. Lamélulas atenuadas en estadios juveniles, un velo algodonoso, algo membranoso de color blanco a beige cubre las láminas, que se mancha de café 6^{7/E}. Estípite de 20 a 130 mm de longitud, de hasta 25 mm de diámetro de ápice y de 12 a 30 mm de diámetro de base, cilíndrico, superficie fibrilosa a escamosa. Contexto fibroso, leñoso, de color blanco a beige que presenta líneas higrófanos longitudinales. Anillo colgante, membranoso, grueso, parte externa estriada, 12.0 μm tomentosa de color café 8^{6/F}, sobre fondo café 7^{4/C} y parte interna irregular, tomentosa de

* Esta nomenclatura corresponde a los colores de la guía Kornerup H. & Wanscher J. Metheun Handbook of Colour. 3. ed. London : 1989.

color beige 7^{2/A}. Sabor afrutado, un poco dulce. Olor no determinado. Esporas de 6.0 a de largo por 4.0 a 8.0 μm de ancho, ovaladas, de pared gruesa, lisas e inamiloides. El pileipellis himeniforme, con pigmento en la pared y sin vacuolas. Contexto inamiliode, con hifas generativas de 3.0 a 8.0 μm de ancho, angostas, de pared delgada, no vacuoladas; hifas de unión de 10.0 a 20.0 μm de ancho, anchas de pared gruesa con vacuolas eventuales. Trama lamelar paralela con un cistidios mucronados, basidiolos de 19.0 a 32.0 μm de largo por 6.0 a 10.0 μm de ancho, con forma de mazo; basidios de 18.0 a 38.0 μm de largo por 6.0-10.0 μm de ancho, con forma de mazo, tetraesporicos; pleurocistidios de 25.0 a 38.0 μm de largo por 8.0 μm de ancho. Estipitipellis himeniforme, con pigmento en la pared y sin vacuolas, contexto inamiliode, hifas generativas de 3.0 a 6.0 μm de ancho, angostas, de pared delgada, no vacuoladas; hifas de unión de 8.0 a 25.0 μm de ancho, anchas, de pared gruesa con vacuolas eventuales, en ambos casos más largas que el contexto del píleo (Figura 1).

Reacciones microquímicas: KOH (3 %), NaOH (5 %), H₂SO₄ (30 %), FeCl₃ y Reactivo de Melzer: negativo en todas las estructuras.

Hábitat: Todos los ejemplares estudiados se encontraron creciendo sobre troncos de *Sambucus mexicana* Presl., con excepción de los ejemplares 112.2002, los cuales se recolectaron en troncos de *Salix* sp.



Figura 1. Cuerpo fructífero. Fotografía del Proyecto Hongos comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula (Fase IV).

B. Crecimiento miceliar

Las características macroscópicas de las colonias de las cepas estudiadas en todos los medios y temperaturas, presentaron color blanco, consistencia algodonosa, textura afelpada y bordes bien definidos, densidad regular y abundante micelio aéreo en colonias jóvenes, que se tornó compacta con el envejecimiento. Sin olor distintivo. Se observó la aparición de pigmento café en el reverso de las colonias, a los quince días de incubación en el medio AEM y después de treinta días en los medios PDA y ASD.

Microscópicamente se observaron hifas de pared delgada, de 4.0-5.0 μm de diámetro, moderadamente ramificadas, con fíbulas. Al final de la incubación fue posible observar hifas en forma de raqueta.

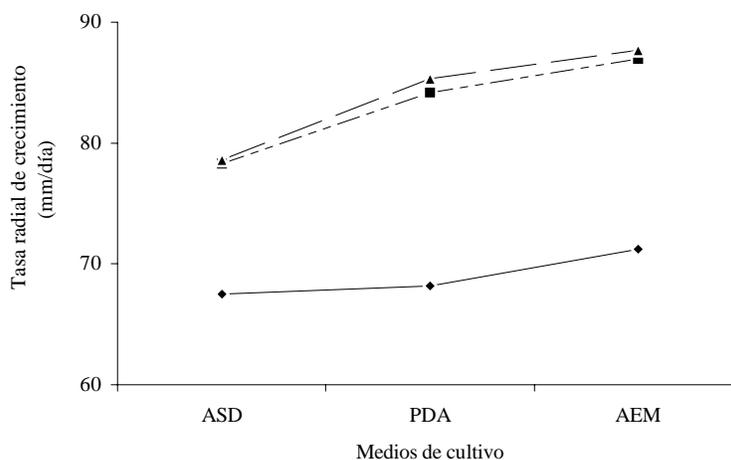
Al ser evaluado el crecimiento miceliar de las seis cepas, se determinó que los valores más altos se encontraron en AEM a 26 °C con un diámetro final de 87.8 mm (5.85 mm/día), aunque a 24 °C se observó también un rápido crecimiento con un valor de 87.4 mm (5.83 mm/día). La menor tasa radial de crecimiento se presentó a 18 °C en los tres medios de cultivo evaluados, hallándose los más bajos en ASD con valores de 66.4 (4.42 mm/día) (tabla 1 y gráfica 1).

De acuerdo con la prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher, se estableció que existe diferencia significativa en: 1. la confrontación de los medios de cultivo y las temperaturas ($p < 0.00001$); 2. únicamente entre la cepa 112.2002 en relación a las cepas restantes, al compararlas entre sí.

Tabla 1. Crecimiento de las cepas de *Agrocybe aegerita* a los 15 días de incubación

Cepas	Temperaturas Medios	18 °C			24 °C			26 °C			Valor P*
		ASD	PDA	AEM	ASD	PDA	AEM	ASD	PDA	AEM	
2.2001	DF ¹	67.8	68.8	71.8 ³	78.8	84.2	86.4	78.0	85.4	87.8	< 0.00001
	Mm/día ²	4.52	4.59	4.78 ³	5.25	5.61	5.76	5.20	5.69	5.85	
58.2001	DF	67.4	67.8	70.2	77.4	83.2	87.2	77.4	84.4	88.0	< 0.00001
	Mm/día	4.49	8.48	4.68	5.16	5.55	5.81	5.16	5.63	5.87	
59.2001	DF	67.4	68.6	70.8	78.8	84.0	86.8	78.6	85.6	87.4	< 0.00001
	Mm/día	4.49	4.57	4.72	5.25	5.60	5.79	5.24	5.71	5.83	
60.2001	DF	67.2	67.4	71.2	78.2	84.2	86.8	78.2	85.8	87.8	< 0.00001
	Mm/día	4.48	4.49	4.75	5.21	5.61	5.79	5.21	5.72	5.85	
97.2002	DF	66.4	67.8	71.4	77.8	84.6	87.2	79.2	85.4	87.4	< 0.00001
	Mm/día	4.42	8.48	4.76	5.19	5.64	5.81	5.28	5.69	5.83	
112.2002	DF	67.0	68.6	72.0	79.0	84.8	87.4	80.2	85.4	87.8	< 0.00001
	Mm/día	4.47	4.57	4.80	5.27	5.65	5.83	5.34	5.69	5.85	

1. Diámetro final de las colonias en (mm). 2. Tasa radial de crecimiento miceliar. 3. Valores en negritas indica el mayor diámetro y tasa radial de crecimiento en el medio y temperatura indicados. *. Valor de la probabilidad con el 95 % de confianza.

Gráfica 1. Efecto de la temperatura y el medio de cultivo sobre la tasa radial de crecimiento de cepas de *Agrocybe aegerita*

C. Producción de biomasa

La mayor producción de biomasa obtenida fue de 0.180 g y se logró en el medio AEM a 18, 24 y 26 °C para casi todas las cepas estudiadas (con excepción de la cepas 97.2002 a 24 y 26 °C y la cepa 60.2001 a 26 °C). Este mismo peso de biomasa se obtuvo también en el

medio PDA principalmente a 18 °C (cepas 2.2001, 58.2001, 60.2001 y 112.2002). En este mismo medio, a 24 °C solamente las cepas 58.2001 y 59.2001 alcanzaron este peso y a 26 °C, solamente la cepa 2.2001 produjo esta cantidad de biomasa (Tabla 2).

La producción de biomasa fue menor para todas las cepas, en agar ASD a todas las temperaturas evaluadas (Tabla 2).

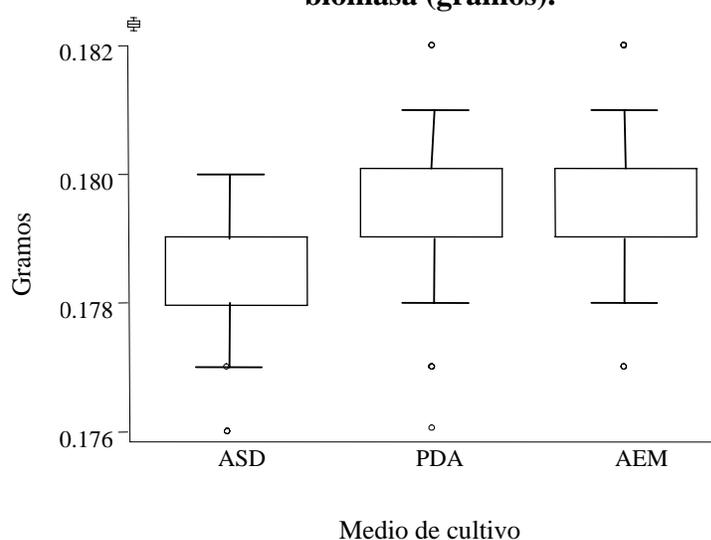
Se determinó que existió diferencia significativa entre medios de cultivo ($p < 0.00001$) (Gráfica 2) y al realizar la prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher, se estableció que la biomasa fúngica en ASD fue significativamente diferente que en PDA y AEM, los cuales no presentaron diferencia significativa entre ellos.

Tabla 2. Producción de biomasa de cepas de *Agrocybe aegerita*

Temperaturas Medios Cepas	18 °C			24 °C			26 °C		
	ASD	PDA	AEM	ASD	PDA	AEM	ASD	PDA	AEM
2.2001	0.178	0.180*	0.180	0.178	0.179	0.180	0.178	0.180	0.180
58.2001	0.178	0.180	0.180	0.178	0.180	0.180	0.178	0.179	0.180
59.2001	0.178	0.179	0.180	0.178	0.180	0.180	0.178	0.179	0.180
60.2001	0.178	0.180	0.180	0.178	0.179	0.180	0.178	0.179	0.179
97.2002	0.178	0.179	0.180	0.178	0.179	0.179	0.178	0.179	0.179
112.2002	0.178	0.180	0.180	0.178	0.179	0.180	0.178	0.179	0.180

*Los valores en negritas indican la mayor cantidad de biomasa producida.

Gráfica 2. Comparación del efecto de los medios de cultivo sobre la producción de biomasa (gramos).



D. Producción de inóculo

Todas las cepas colonizaron los granos y paja de trigo en menor tiempo (ocho semanas), a 26 °C. Es importante mencionar que a 18 °C, la colonización tardó más tiempo en granos de trigo y no hubo crecimiento del micelio en la paja de trigo. Existió una diferencia de una semana en la colonización de ambos sustratos a 24 °C, con relación a la temperatura de 26 °C (Tabla 3).

Tabla 3. Producción de inóculo sobre granos y paja de trigo.

Cepas	Tiempo Temperaturas Soportes	Semanas					
		18 °C		24 °C		26 °C	
		trigo	paja	trigo	paja	trigo	paja
2.2001	10	NC ¹		9	9	8	8
58.2001	10	NC		9	9	8	8
59.2001	10	NC		9	9	8	8
60.2001	10	NC		9	9	8	8
97.2002	10	NC		9	9	8	8
112.2002	10	NC		9	9	8	8

1. No hubo crecimiento.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las características macroscópicas y microscópicas analizadas y evaluadas de los ejemplares herborizados de *Agrocybe aegerita*, coincidieron con lo reportado en la literatura; siendo importante mencionar a nivel microscópico: 1. El sistema hifal de la lámina presentó un arreglo paralelo, una de las principales características del género *Agrocybe*; 2. Las formas y medidas de esporas, basidios, basidiolos, pleurocistidios, hifas germinativas y de unión en el contexto del píleo y el estípite, y 3. Las reacciones microquímicas. Por lo anterior se confirmó que todos los ejemplares correspondieron a la identificación *Agrocybe aegerita* (Brigant) Singer, verificando la hipótesis planteada (13, 16, 18, 22 - 31, 51 - 55).

La morfología del micelio vegetativo de *A. aegerita* de todas las cepas evaluadas corresponden a las reportadas Mau y Li para esta especie, siendo las más significativas a nivel macroscópico el color, la morfología colonial en general, que cubrió la caja de Petri con agar en 21 días, el color del pigmento difusible en el medio de cultivo en el reverso de la caja de Petri; y microscópicamente, la medida de las hifas (35).

En relación con la tasa radial de crecimiento miceliar de *A. aegerita*, es importante mencionar que todas las cepas presentaron valores similares en los diferentes medios de cultivo a las diferentes temperaturas. Estos resultados pueden estar relacionados con los siguientes factores todas las cepas provienen del cepario y no directamente del cuerpo fructífero, además los lugares en los cuales fueron recolectados los ejemplares, presentan condiciones similares de altura y humedad. Por tratarse de seis cepas de la misma especie, se hizo necesario realizar la prueba de la mínima diferencia de Fisher, determinando que los valores más altos de tasa radial de crecimiento miceliar, los presentó la cepa 112.2002 en todos los medios de cultivo.

En cuanto a los medios de cultivo empleados para la determinación de la tasa radial de crecimiento miceliar de *A. aegerita* a todas las temperaturas, se determinó que en AEM se presentaron los valores de tasa radial de crecimiento miceliar más altos, como lo citó Lau y Mau y Li. La obtención de estos valores pudo deberse a que este medio de cultivo contiene extracto de malta y peptona de germen de soya, con lo cual se favoreció la formación del micelio vegetativo de *A. aegerita*. Además, es importante mencionar que en este medio de cultivo se produjo un pigmento difusible de color café a los 15 días de inoculación y éste puede reducir el tiempo de vida al micelio vegetativo (35, 56).

En el medio de cultivo PDA se presentaron los valores intermedios de tasa radial de crecimiento miceliar, esto pudo deberse a que éste medio consta con infusión de papa y D(+) glucosa, los cuales favorecen el desarrollo adecuado del micelio vegetativo; además en éste se produjo menor cantidad de pigmento difusible, el cual apareció aproximadamente a los 30 días, lapso para el cual, el micelio vegetativo debió haber sido utilizado para producción de inóculo ó almacenado en condiciones de cepario (35,53).

En caso de no contar con los medio de cultivo anteriores, se puede utilizar ASD, aunque tiene la desventaja de que la tasa radial de crecimiento miceliar es menor y la aparición de pigmento se observa alrededor de los 30 días. Sin embargo, el costo de este medio es menor en relación a los otros medios de cultivo (35, 52).

El valor de la tasa radial de crecimiento miceliar de *A. aegerita* se vio afectado básicamente por la temperatura, lográndose los diámetros menores a la temperatura de 18 °C en comparación con 24 y 26 °C, el cual fue verificado con la prueba de la mínima diferencia de Fisher (probabilidad de 95 %); a pesar de que existen cepas provenientes de clima frío como lo son las aldeas Escuachil y Vista Hermosa de San Antonio Sacatepéquez, San

Marcos y San Juan Ostuncalco, Quetzaltenango. Esto pudo deberse a que todas las cepas utilizadas vienen de un cepario y no directamente de un ejemplar (11, 15).

La producción de biomasa presentó diferencia significativa mediante la prueba de las diferencias mínimas significativas de Fisher (probabilidad de 95 %), al comparar los valores entre los medios AEM y PDA, con el medio ASD. De los medios de cultivo empleados en el estudio, se recomienda la utilización de PDA a 26 °C ó 24 °C para la producción de biomasa por los resultados obtenidos en la parte experimental.

Con los resultados obtenidos a través de los tres medios de cultivo, las tres temperaturas en la parte experimental y el análisis estadístico, se invalidó la hipótesis planteada.

Para la producción de inóculo, se eligieron granos y paja de trigo, en los cuales los resultados obtenidos no fueron los adecuados, debido a que en el soporte las cepas no tomaron una consistencia adecuada conforme lo fue invadiendo el micelio vegetativo de *A. aegerita*.

En el caso de la paja de trigo no presenta un desarrollo miceliar adecuado, debido a que éste contiene un alto porcentaje de materia orgánica, pocos nutrientes y poca fibra, con lo que no se logró suplir los requerimientos nutricionales del micelio vegetativo, produciendo solamente el cubrimiento de la superficie del soporte (2, 48).

El cubrimiento producido por el micelio vegetativo fue mayor en los granos de trigo. Se observó que llegó a tomar cierta consistencia y posteriormente se ablandó. Esto se pudo deber a que los granos de trigo cuentan con un alto contenido de nutrientes y poca fibra, los

cuales al agotarse por ser consumidos durante el desarrollo del micelio vegetativo, hicieron que perdiera parte de la consistencia que habían tomado durante el proceso de invasión.

Por lo anterior se pudo determinar que ninguno de los soportes utilizados fue colonizado adecuado por el crecimiento del micelio vegetativo de *A. aegerita* para producción de inóculo, lo que invalida la hipótesis planteada (57).

Comparando el comportamiento del crecimiento del micelio vegetativo en los dos soportes seleccionados, la principal diferencia fue la velocidad de crecimiento miceliar y el deterioro del soporte fue más evidente en granos de trigo, mientras que en la paja no fueron evidentes los parámetros antes mencionados y al no cubrir el soporte por completo, no se observa deterioro.

La temperatura fue la variable que más afectó el crecimiento del micelio vegetativo para la producción de inóculo; se pudo determinar que a 18 °C se presentaron los valores más largos en tiempo de invasión del micelio vegetativo de las cepas (10 semanas), además se produjo una condensación de agua en la superficie de la bolsa de polipapel, lo que hizo que se deteriorara el sustrato, deteniendo el desarrollo del micelio vegetativo.

A las temperaturas de 24 y 26 °C, no se observó diferencia significativa en cuanto al tiempo en que llegó a tomar la mejor consistencia lograda en el experimento (semicompacto), por lo cual son las temperaturas óptimas para incubar el soporte para producción de inóculo y debido a que el crecimiento a 18 °C fue ineficiente, se anuló la hipótesis planteada (48).

Se recomienda el uso de un soporte que contenga un alto porcentaje de carbohidratos y de fibra, debido a que cuando llega a llenar por completo el soporte, la fibra favorece que el inóculo llegue a tomar la consistencia adecuada y no se deteriore con facilidad.

X. CONCLUSIONES

- A. Todos los ejemplares evaluados corresponden a la especie *Agrocybe aegerita* (Brigant) Singer, según las características macro y microscópicas.
- B. La producción de micelio vegetativo de *A. aegerita* debe de realizarse en el medio de cultivo PDA a una temperatura de 26 °C, ya que en el medio de cultivo AEM se produce pigmento que le reduce la vida media al micelio vegetativo.
- C. La cepa que presentó mejor crecimiento fue la 112.2002, a pesar de que no se observó una gran diferencia en cuanto a los valores obtenidos.
- D. Los sustratos elegidos para la producción de inóculo no fueron colonizados adecuadamente, debido a que no llega a tomar la consistencia requerida durante el tiempo de incubación.
- E. La temperatura de elección para la producción de inóculo es 26 °C, para que el soporte se cubra en menor tiempo.

XI. RECOMENDACIONES

- A. No utilizar la temperatura de 18 °C para determinar la tasa radial de crecimiento del micelio vegetativo, la producción de biomasa o de inóculo, porque se obtiene baja tasa radial de crecimiento miceliar.

- B. Se recomienda utilizar como sustrato, un elemento que contenga alto porcentaje de fibra.

VIII. REFERENCIAS

1. Vallée SJ. Los Hongos, Elementos de su Historia. Ambiente ecológico. Disponible en: [www Argentina http://www.ambiente-ecologico.com%2Fhongos52.htm](http://www.ambiente-ecologico.com%2Fhongos52.htm). Mayo 2003.
2. Sánchez J. Producción de hongos comestibles. Cuaderno de trabajo No. 1. México: Centro de investigación ecológica del sur este. 1994. 105p (20-30).
3. Kuniaki O, Torres M. Piedras-Hongos. Tokio 1994. 67p (8-9).
4. Morales O, *et al.* Estudio etnomicológico de la cabecera municipal de Tecpán Guatemala, Chimaltenango. Revista Científica Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas (IIQB). Volumen 15, Guatemala 2002 46p (10-20).
5. Argueta J. Estudio de los Macromicetos de la Ciudad de Guatemala, Mixco y San Juan Sacatepéquez. Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis de graduación de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) Guatemala. 1983. 83p.
6. Lau D. Factores que afectan el crecimiento miceliar y degradación de sustrato por *Agrocybe aegerita*. Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis de graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) Guatemala. 2001. 48p.
7. Regés R. Cultivo de hongos, la ecología y su situación actual. Argentina: Centro de estudios ecológicos Argentino (C.D.E.E.A). 1999. Disponible en: <http://www.cdeea.com/medicinales.html>. Mayo 2003.
8. Chang S-T, Miles P. Mushrooms, Cultivation, Nutritional Value, Medical Effect, and Environmental Impact. 2. ed. United States of America: CRC Press. 2004.
9. Guzmán, G. El cultivo de los hongos comestibles. México. Instituto Politécnico Nacional, 1993. Págs. 26-105.
10. Guzmán G. Identificación de los hongos comestibles, venenosos y alucinógenos. México. 1980. 452p (142).
11. Bran MC, *et al.* Hongos comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula (Fase I). Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación (DIGI). Informe técnico final 2001. 90p.
12. Morales O. Comunicación personal. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Mayo 2003.

13. Morales O. Estudio etnomicológica de la cabecera municipal de Tecpán Guatemala, Chimaltenango. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). Guatemala 2001. 82p.
14. Vallejo C. Análisis químico de la paja de cebada sin y con suplementos para el crecimiento de *Agrocybe aegerita*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). Marzo 2002. 48p.
15. Bran MC, *et al.* Hongos comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula (Fase II). Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación (DIGI). Informe técnico final 2002. 50p (11).
16. Indexfungorum, Clasificación taxonómica *Agrocybe aegerita*. Disponible en: <http://www.indexfungorum.org/names/namesrecord.asp.?recordID=114787>. Mayo 2004.
17. Könemann V. The Great Encyclopedia of Mushrooms, Könemann. Germany: Verlagsgesellschaft mbH. 1999. 240p (150).
18. Courtecuisse R, Duhem B. Clasificación *Agrocybe aegerita*. Disponible en: http://www.funghi-italia.it/aegerita_sch.htm. Mayo 2003.
19. Las setas de nuestros bosques. Disponible en: <http://www.grn.es/amjc/boscos/boscoscs.htm>. Mayo 2003.
20. Hosting R. *et al.* Etnobotánica Mam. Guatemala. GTZ: 1998.
21. Stamets P. Growing, gourmet and medicinal Mushrooms. Hong Kong: Ten spress. 1993. 554p.
22. Starosta P, Epinat C. Hongos. Italia; Benedikt Taschen Verlag GMBH. 1999. 128p (119- 125).
23. Grünert H. y Grünert R. Guía de naturaleza Blume Setas. Barcelona: Gayban Grafic S. A. 1990. 286p (116).
24. Salvai G. *Agrocybe aegerita* (Brig.). Disponible en: <http://funghiitalia.it/schede/ottime/Agrocybe%20aegerita/Agrocybe20%aegerita.htm>. Mayo 2003.

25. *Agrocybe aegerita* (Brig.). Disponible en: <http://natura.cr-sirfing.net/funghi/>. Mayo 2003.
26. Micology associ@ti. *Agrocybe aegerita*. Disponible en: <http://www.micologi.it/agerita.htm>. Mayo 2003.
27. Papetti C, Consiglio G, Simonini G. Tálate fotografico dei Fungí d'Italia. Lugio: Associazione Micologica. Bresadola 1999. p 247, 512.
28. Stuntz D. How to Identify Mushroom to Genus IV. Key to Families and Genera. United States of America 1977. 75p (25, 32, 49).
29. Arora D. Mushroom Demystified. A comprehensive Guide of the Fleshy Fungi. 2. ed. United States of America: Ten Speed Press 1986. 960p (467).
30. Largent D. How to identify mushrooms to genus IV: keys to Families and Genera. United States of America 1997. 93p (49).
31. *Agrocybe aegerita*. Disponible en: <http://www.andoa.het/paginas/galeria/fotografica/ampliaciones/aaegerita.htm>. Mayo 2003.
32. Sede S, López S. Cultural Studies of *Agrocybe cylindrica*, *Gymnopilus panpeanus* and *Oudemansella canarii* (Agaricales) Isoetes from urban trees. *Mycotaxon* 70: 377-386; 1999.
33. Moore-Landecker E. Fundamentals of the fungi. 3. ed. United States of América: Printece-Hall Internacional 1990. 561p (170-175).
34. Brock, *et al.* Biología de los microorganismos 10 ed. España: Printece – Hall 1999. 986p (776-778).
35. Mau JL, Li JY. Effect of 10-oxo-trans-8-decanoic acid on growth of *Agrocybe cylindracea*. *Mushroom Res* 8 (1): 47-54; 1999.
36. De León R, Lau D. Avances sobre la fisiología de *Agrocybe aegerita* utilizando cepas guatemaltecas. Estudio sobre los hongos Latinoamericanos, Nanacatepec, Xalapa. Universidad de Veracruz, México 2001.
37. Fernandez M, *et al.* Cloning and sequencing of the Aa-Pri1 gene specifically expressed during fruiting initiation in the edible mushroom *Agrocybe aegerita*, and analysis of the predicted amino-acid sequence. *Spr-Ver* 2002 32 (6) : 420 -424 ; 1997.

38. Sirand-Pugnet P, *et al.* Molecular characterization of the Pri3 gene encoding a cysteine-rich protein, specifically expressed during fruiting initiation within the *Agrocybe aegerita* complex. *Spr-Ver* 2002 (41): 31-42. Disponible en: <http://link.springer.de/link/sercive/journals/00294/contents/02/00272//index.htm>. Mayo 2003.
39. Bois F, *et al.* Molecular cloning, sequence and expression of *Aa-polB*, a mitochondrial gene encoding a family B DNA polymerase from the edible basidiomycete *Agrocybe aegerita*. *Spr-Ver* 2002 261 (3) : 508-513; 1999.
40. Cruz S, Labarère J. *Aa-Pri2*, a single-copy gene from *Agrocybe aegerita*, specifically expressed during fruiting initiation, encodes a hydrophobin with a leucine-zipper domain. *Spr-Ver* 2002 35 (5): 564-570; 1999.
41. Hofrichter M, Steffer KT, Hatalla A. Decomposition of humic substances, lignin and organopollutants by soil-litter decomposing. *IMC7 Book of Abstracts*, Oslo. August, 2002. 387p (31).
42. Sattayaphist W, Boonkwrđ N, Teaumorrong N, Rodtong S. Stability of some commercial mushrooms in Tailand after continuos subcultive of mycelia for produccion. *IMC7 Book of Abstracts*, Oslo. August, 2002. 387p (355).
43. Barroso G, Laberère J. Mitochondrial DNA of the mushroom *Agrocybe aegerita*: Characterization and cloning in *Escherichea coli*. *Science and cultivation of edible fungi*. Tome I. United States of America: A.A. Balkena publisher. 1991.
44. Noël T, Salvado JC, Laberère J. Especific aspects of molecular cloning in *Agrocybe aegerita* and their practical applications. *Science and cultivation of edible fungi*. Tome I. United States of America: A.A. Balkena publisher. 1991.
45. Noël T, Rochelle P, Laberère, J. Genetic studies on the differentiation of fruti bodies from homokaryotic strain in the basidiomycete *Agrocybe aegerita*. *Science and Cultive of Edible Fungi*, Tome I; United States of America: Mahar. 1991. (79-84).
46. Barroso G, Blesa S, Laberère J. Wide Distribution of mitochondrial genome rearregaments and wild strain of the cultivated Basidiomycetes. *Appl Environ Microbiol*: 1187 – 1193; 1995.

47. Barroso G, Laberére J. Genetic Evidence for Nonrandom Sorting of Mitochondrial in the Basidiomycete *Agrocybe aegerita*. *Appl Environ Microbiol* : 4686 – 4691; 1997.
48. Sanchez J. Producción de *Pleurotus*. México: Centro de investigación ecológica del sur este. 2004 105p (20-30).
49. Largent D. How to Identify Mushrooms to Genus I: Macroscopic Features. United States of America 1997, 51-59p.
50. Bessey E. Morphology & Taxonomy of Fungy. Philadelphia: Blakistin 1950.
51. Largent D. How to identify mushrooms to genus III: Microscopic Features. United States of America 1997. 121p (p:21-27).
52. Meir T, Toriello C, Ulloa M. Hongos microscópicos, saprobios y parásitos, métodos de laboratorio. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México 2002. 90p (34-38).
53. Ferri F. I funghi, Micologia, isocamento, coltivazione. Bologna: Edagricales. 1985. 400p. (88, 124-127).
54. El cultivo de hongos comestibles Disponible en: <http://www.surmicel.freesrvers.com> Mayo 2003.
55. Bessette AE, Vésete AR, Fischer D. Mushrooms of Northwest North America. Hong Kong. Library of Congress Cataloging –in- Publication Data. 1997.
56. Merck. Manual Merck. Merck S. A. United States of America 2002
57. Sabormediterraneo.com ¿La pasta engorda? Disponible en: http://www.sabormediterraneo.com/salud/pasta_diet.htm. Octubre 2005
58. Lincoff G. National Audubon Society Field Guide to North America Mushrooms Alfred A. Knopf Inc. United States of America 1997. 927p (555).
59. Logeman H. Manual Práctico de Micología Médica. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. 1995. 227p.
60. López A, García J. Estructura del Pleuroma de *Pleurotus*. Disponible en: <http://www.uv.mx/institutos/forest/hongos/estruc.html>. Mayo 2003.
61. Largent D. How to identify mushrooms to genus IV: keys to Families and Genera. United States of America 1997. 121p (29,43, 89-91).

62. Sommerkamp Y. Hongos comestibles en los mercados de Guatemala. No. 3-90. Cuaderno de investigación. Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación (DIGI). Guatemala: Imprenta Litográfica e imprenta Llerena S. A. 1991. 70p P:71-72.

VIII. ANEXOS

Anexo1. Valor nutricional de los hongos comestibles.

Compuesto	Sustancia	Cantidad
Grasas ¹		1-2.2 %
Carbohidratos		55 al 81 %.
Proteínas		entre 10 y 30 %
Vitaminas	Ácido ascórbico	144 mg/ 100 g de peso seco.
	Niacina	108 mg/ 100 g de peso seco.
	Tiamina	4.8 mg/ 100 g de peso seco.
	Riboflavina	4.7 mg/ 100 g de peso seco.
Minerales	Potasio	3.790 mg / 100 g de peso seco
	Fósforo	1.345 mg/ 100 g de peso seco
	Sodio	838 mg/ 100 g de peso seco
Fibra		0.2 – 1 %
Contenido calórico		4.2 Kcal/g

¹ Principalmente ácido oleico 56 %, palmítico 16 % y esteárico 24 %.

Nota: Todos se basan en peso seco de un hongo comestible (52,53).

Anexo 2. *Agrocybe aegerita* Fotografía taxonómica del cuerpo fructífero.



Fotografía del Proyecto de investigación "Hongos comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula (Fase II)". Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación (DIGI).

Anexo3. *Agrocybe aegerita* (Brig..) Singer Ref. 97.02 sobre *Sambucus mexicana* Prsl.



Fotografía del Proyecto de investigación. "Hongos comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula (Fase II)". Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación (DIGI).

Anexo 4. Características género *Agrocybe*

El género *Agrocybe* es bastante reducido, contiene hongos pequeños y grandes, que crecen sobre varios sustratos incluyendo jardines, césped y otros tipos de hierbas, fragmentos de madera en descomposición y estiércol. Las esporas son de color café rojizo a café oscuro suave y se producen en la porción apical de la lámina. La superficie del píleo es suave y se va agrietando conforme el hongo madura. Algunas especies son comestibles, se desconoce si la mayoría de ellas lo son (54, 55).

El género *Agrocybe* pertenece a la familia *Bolbelaceae*, por lo cual presenta mayor similitud con el género *Pholiota* que con los otros géneros pertenecientes a este grupo (58).

En Latinoamérica y el Caribe se han reportado 24 especies pertenecientes al género *Agrocybe* (6).

Clave de identificación:

Velo parcial o ausente: la carencia de los remanentes del velo en el margen del píleo ó el anillo alrededor del estípite. El píleo de $\frac{3}{4}$ a $3\frac{1}{8}$ ” (2- 8 cm) de tamaño al madurar, café negruzco a café grisáceo cuando aparece el primordio. Crece sobre madera en descomposición. -*A. firma* (Peck) Singer (55).

Presencia de velo parcial en especímenes jóvenes: la presencia de remanentes en los márgenes del píleo (algunas veces en las esporas) o un anillo alrededor del estípite. Se divide en los siguientes grupos (55).

Píleo oscuro, que inicialmente era blanco, tornándose café dorado o marrón en la superficie del disco cuando madura, blando, liso y con apariencia de gamuza, pasando de agrietado a fisuras gruesas conforme desarrolla. La lámina es compacta y blanquecina cuando es joven, llegando a ser grisáceo o café púrpura oscuro conforme madura. La carne es blanquecina. El estípite de $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{2}$ ” (5 a 13 mm) de espesor, blanco casi liso, usualmente con rizomorfos blancos en la base, presenta un velo parcial, el cual es sub-membranoso, exhibe remanentes

del velo en los márgenes del píleo o un anillo superior transitorio. Las esporas de 10-14 x 6-8 μm , truncadas con una porción apical. Crece sobre césped, en el campo y otros tipos de hebras, es comestible. - *A. dura* (Fries) Siger (55).

Píleo mucilaginoso o viscoso cuando aparece el primordio; inicialmente es café rojizo oscuro tendiendo a ocráceo a café naranja, a menudo presenta los márgenes de color café. El estípite romo, de color café cuando madura. Crece sobre césped o jardines y sobre terrenos que contienen troncos. - *A. erebia* (Fries) Kühner (55).

Píleo viscoso a ligeramente gomoso y con apariencia de gamuza cuando aparece el primordio, llegando a ser seco, lustroso y presenta agrietamiento en la superficie del disco conforme madura, inicialmente es de color ocráceo a ocráceo rojizo, tornándose ocráceo amarillento a amarillento o a café dorado conforme madura. Mide de $\frac{3}{8}$ a $\frac{1}{2}$ " (1-5 cm), hemisférico cuando es joven, llegando a aplanarse hasta tornarse convexo conforme madura. La porción de la lámina es café al inicio y llega a café naranja o café rojizo al madurar. El estípite tiene un espesor de $\frac{1}{8}$ - $\frac{1}{2}$ " (2 a 12mm), casi céntrico de color amarillo a ocráceo, fibriloso, ligeramente bulboso cerca de la base, a menudo presenta rizomorfos blancos. Cuando es joven el olor y el sabor es similar a almidón o sugestivo de mantequilla a desagradable. Las esporas miden de 10 a 14 x 7 a 10 μm . Crece sobre césped, en madera en descomposición o en polvo de plumas de cisne mezclado con estiércol, se considera comestible de poca calidad. - *A. simiorbicularis* (Bulliard) Fayod = *A. pediades* (Fries) Fayod (55).

Píleo húmedo o seco, no viscoso, blanquecino, tiñéndose de amarillo, color canela o café rojizo a café en la superficie del disco conforme madura, presenta un anillo pequeño y delgado localizado en la parte superior o medio, algunas veces se cae conforme madura. Crece sobre césped, en jardines o en otro tipo de hierbas, algunas veces crece sobre madera en descomposición. - *A. praecax* (Fries) Fayord complex (55).

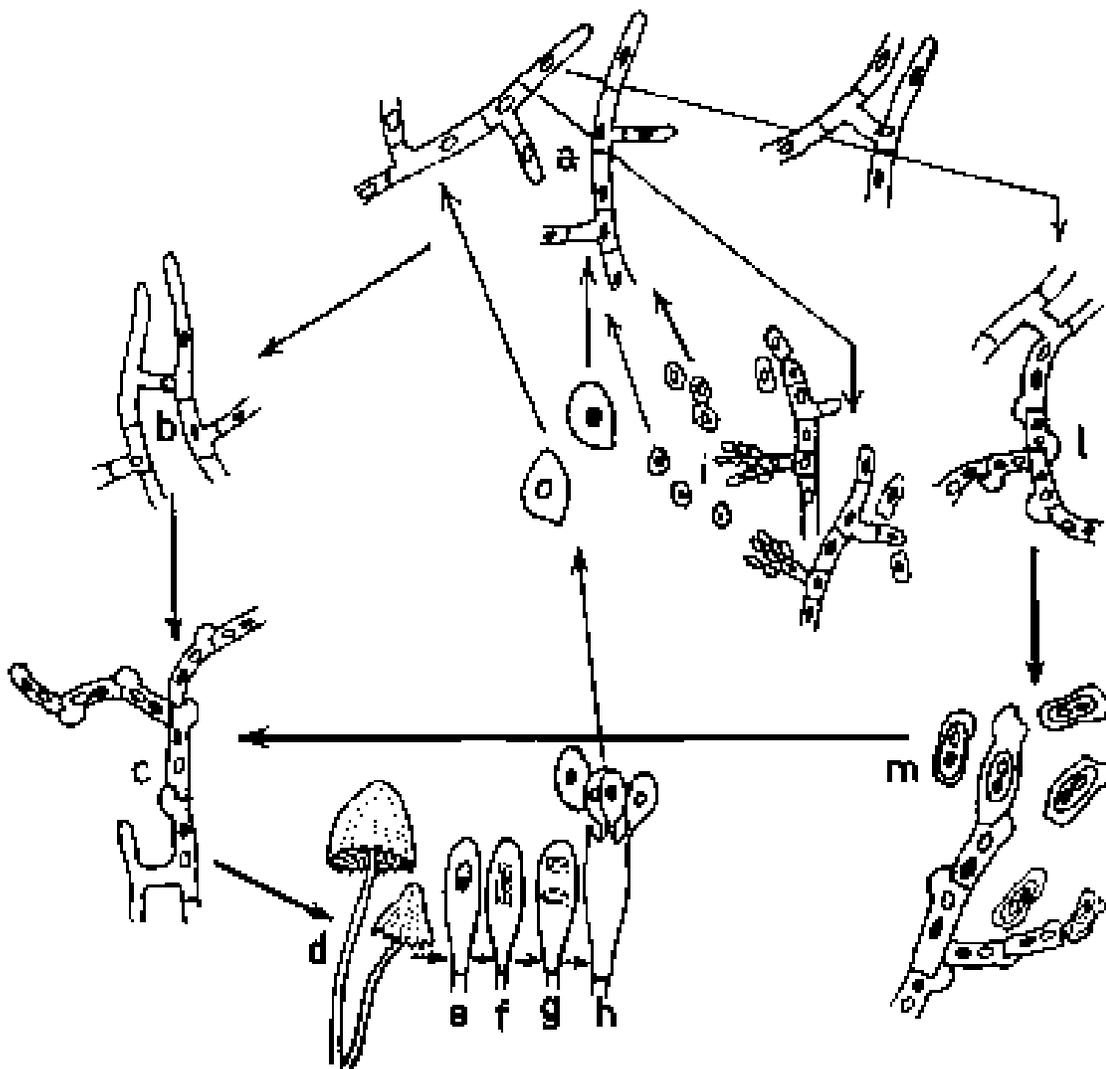
Píleo húmedo o seco, no viscoso, de color variable, ocráceo amarillento a canela amarillento o café amarillento, presenta un anillo largo, persistente, que cae de la parte superior; crece sobre troncos en descomposición, desechos y corteza de madera, especialmente en regiones urbanas donde se originan estos productos de desecho. - *A. acericola* (Peck) Singer (55).

Reacciones químicas:

- Hidróxido de potasio (KOH) al 3 % e Hidróxido de sodio (NaOH) al 5 %: Se utilizan para determinar el tipo de hifas que componen secciones del cuerpo fructífero (51).
- Hidróxido de amonio ($\text{NH}_4 \text{OH}$) al 5 %: Medio adecuado para determinar la ornamentación de las esporas, así como su estructura interna (51).
- Reactivo de Melzer: Colorea el tejido fúngico. La reacción se considera positiva si se produce un color negro o azul oscuro, evidenciando el tejido amiloide; la presencia de color café o café rojizo en el tejido se considera pseudoamiloide o dextroide y si la coloración es amarilla o hialina el material se considera inamiloide (51).
- Tintura de Guayacol: Tiñe el tejido fúngico identificando la presencia de oxidasa, si el color producido es azul oscuro o verde oscuro, la reacción es positiva (13, 51).
- Azul de lactofenol al 3 %: Sirve para identificar estructuras fúngicas, tiñéndolas de color azul, utilizándose principalmente para análisis de micelio (59).
- Rojo Congo: Usualmente se utiliza en combinación con floxina y agua o hidróxido de amonio o hidróxido de potasio; este colorante tiñe la pared de las hifas y la floxina tiñe el interior (55).
- Floxina: Rutinariamente se utiliza con Rojo Congo y un alcali (KOH o NH_4OH), se emplea para estudiar las características de los diferentes tipos de hifas. La tinción se produce por la difusión de este colorante hacia el interior del citoplasma de las hifas (55).
- Azul de Cresyl 0.5 a 1.0 %: Tiñe de color rojizo o violeta las paredes de hifas y esporas. Si el cambio de color es metacromático, la reacción es positiva. Algunas especies de *Agrocybe* tiñen la trama con azul de cresyl y la reacción no se puede evaluar en áreas gelatinizadas de los cuerpos fructíferos (55).

Otras reacciones que se utilizan son ácido sulfúrico (H_2SO_4)1:3; fenol al 5 % y sulfato ferroso ($Fe_2(SO_4)_3$) al 10 %, las que producen cambio de color característico para cada especie de hongo (56).

Anexo 5: Ciclo de vida Basidiomicetes



a. Ciclo de reproducción monocariótica; b. Ciclo de reproducción dicariótico; c. Presencia de fibulas; d. Desarrollo de cuerpo fructífero; e - h. Desarrollo de basidios; i. Liberación de esporas; j. Desarrollo de micelio monocariótico y k - m. Desarrollo de micelio dicariótico.

Tomado de: Ferri F. I fungí, Micologia, isocamento, coltivazione. Edagricales 1985 Bolonga 400p (81) (53).

Anexo 6: Parámetros de crecimiento de los hongos

	Temperatura de incubación (°C)	Humedad relativa (%)	Concentración de dióxido de carbono (ppm)	Recambio de aire (horas)	Requerimientos de luz (lux)	Tiempo de duración (días)
Invasión del micelio al sustrato	21-27	95-100	> 20000	0-1	N.D.	20-28
Formación del primordio	10-16	95-100	< 20000	4-8	500-1000	7-14
Fructificación	13-18	90-95	< 20000	4-8	500-1000	4-6
Ciclo de cosecha						10-14

N.D.: No determinado

Tomado de: Stamets P. Growing, gourmet and medicinal Mushrooms. Ten spress. Hong Kong 1993. 554p (223) (21)

**Anexo 7: Ficha para la descripción de las características macroscópicas y
microscópicas del cuerpo fructífero de *A. aegerita*.**

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA Referencia: _____

ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA

Fecha: __/__/__

**CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DEL CUERPO
FRUCTÍFERO DE *Agrocybe aegerita*.**

Estructura	Medidas (mm)		Características	Olor	Otros
	∅	Altura			
Píleo					
Himenio					
Estípite					
Anillo					
Esporas					
Contexto					

∅: Diámetro

HOJA 1

Anexo 8: Reverso de ficha para la descripción de las características macroscópicas y microscópicas del cuerpo fructífero *A. aegerita* (reverso).

Referencia: _____

Fecha: __/__/__

REACCIÓN DE IDENTIFICACIÓN CUERPOS FRUCTÍFEROS DE *Agrocybe aegerita*.

Anotar cambio de color y si la reacción es positiva (+) y negativo (-).

	Píleo	Himenio	Estúpide	Anillo	Esporas	Carne
KOH al 3 %						
NaOH al 5 %						
NH₄ OH al 5 %						
Fe₂(SO₄)₃ al 10 %						
H₂SO₄ 1:3						
Fenol al 5 %						
Reactivo de Melzer						
Tintura de Guayacol						
Tintura de yodo						
Azul de lactofenol al 3 %						
Floxina						

HOJA 2

Anexo 9: Ficha de determinación de la tasa radial de crecimiento micelial y producción de biomasa de cepa de *A. aegerita* en diferentes medios de cultivo a diferentes temperaturas

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
 FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
 ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA
 DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA

Referencia: _____
 Temperatura: _____ °C
 Fecha de inoculación: ___/___/___

CRECIMIENTO DEL MICELIO VEGETATIVO DE CEPA DE *Agrocybe aegerita*

EN DIFERENTES TEMPERATURAS Y MEDIOS DE CULTIVO

Día	Agar Papa Dextrosa					Agar Extracto de Malta					Agar Sabouraud Dextrosado				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
3															
6															
9															
12															
15															
18															
21															
Tara															
Peso															
P.S.															

Anexo 10: Reverso de ficha para la determinación de la tasa radial de crecimiento miceliar y producción de biomasa de cepa de *A. aegerita* en diferentes medios de cultivo y diferentes temperaturas

Día	Agar Papa Dextrosa			Agar Extracto de Malta			Agar Sabouraud Dextrosado		
	Pigmento	Crecimiento	otros	Pigmento	Crecimiento	otros	Pigmento	Crecimiento	otros
0									
3									
6									
9									
12									
15									
18									
21									

02

Anexo 11: Ficha para la descripción de las características macroscópicas de la cepa de

Agrocybe aegerita

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Referencia: _____ Fecha: __/__/__

CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE LA CEPA DE *Agrocybe aegerita*.

	Características	otros
Diámetro		
Color		
Consistencia		
Presencia de pigmento		
Forma de la colonia		
Microscopía		

Anexo 12: Ficha para la determinación del crecimiento del micelio vegetativo de cepa de *Agrocybe aegerita* en diferentes sustratos y temperaturas

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
 FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
 ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA
 DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA

Referencia: _____
 Temperatura: _____ °C
 Sustrato: _____
 Fecha de inoculación: ___/___/___

**CRECIMIENTO DEL MICELIO VEGETATIVO DE CEPA DE *Agrocybe aegerita*
 EN DIFERENTES TEMPERATURAS Y SUSTRATOS**

Día	Cajas					Características	Otras
	1	2	3	4	5		
0	200	200	200	200	200		
3							
6							
9							
12							
15							
18							
21							
24							
27							
30							

NOTA: todas los pesos son en gramos

Anexo 13. Descripciones de los ejemplares herborizados de *Agrocybe aegerita*.

Agrocybe aegerita

Píleo de 102 a 250 mm de diámetro, de convexo en jóvenes a plano convexo en adultos. Superficie: húmeda, rugosa en el margen. Margen incurvado a recto, borde entero a desgarrado en adultos. Cutícula: no desprendible, color 6^{7/E} a 6^{6/E} en algunos ejemplares adultos puede decolorarse hasta llegar a amarillo naranja 5^{4/B}, con color crema en las orillas. Contexto: blanco, carnoso, esponjoso de hasta 200 mm de espesor. Himenio con Láminas subadheridas, muy juntas, anchas. Lamélulas atenuadas, color 6^{3/C}, con algunas machas más oscuras, borde de las láminas entero. Es estadios juveniles, cubre las láminas un velo algodonoso de color blanco. Estípite de hasta 130 mm de longitud, de hasta 25 mm de diámetro de ápice y hasta 30 mm de diámetro de base, cilíndrico. Superficie: fibrosa a escamosa. Contexto: fibroso, leñoso. Microscópicamente presenta Esporas de 8.0 a 12.0 µm de largo por 5.0 a 6.0 µm de ancho, ovaladas, de pared gruesa no ornamentada e inamiloides. Estructuras microscópicas: el píleo presenta pilipellis himeniforme, con pigmento en la pared y no presenta vacuolas y el contexto del píleo es inamilioide, con hifas generativas de 4.0 a 8.0 µm de ancho, angostas de pared delgada, no vacuoladas; hifas de unión de 14.0 a 20.0 µm de ancho, anchas de pared gruesa con vacuolas eventuales. La lámina presenta un arreglo paralelo con un cistidia de forma mucronado, basidiolos de 19.0 a 32.0 µm de largo por 6.0 a 7.0 µm de ancho, con forma de mazo; basidios de 25.0 a 30.0 µm de largo por 6.0 a 7.0 µm de ancho, con forma de mazo, tetraesporicos; pleurocistidias de 26.0 a 35.0 µm de largo por 8.0 a 10.0 µm de ancho, con forma de elipse. El estípite presenta estipitipellis himeniforme, con pigmento en la pared y no presenta vacuolas y el contexto del estípite es inamilioide, con hifas generativas de 3.0 a 6.0 µm de ancho, angostas de pared delgada, no vacuoladas; hifas de unión de 8.0 a 20.0 µm de ancho, anchas de pared gruesa con vacuolas eventuales, en ambos casos más largas que el contexto del píleo. Sabor y olor: a hongo.

Reacciones macroquímicas: KOH (3 %), NaOH (5 %), H₂SO₄ (30 %), FeCl₃ y Reactivo de Melzer: negativo en todas las estructuras.

Material estudiado Referencia: 2.2001; Tecpán Guatemala, Chimaltenango, 03/06/2001.

Hábitat: Sobre Sauce (*Sambucus mexicana*)

Agrocybe aegerita

Píleo de 40 a 75 mm de diámetro, de convexo a plano convexo, margen ondulado a recto, borde entero a apendiculado, en algunos ejemplares desgarrado. Superficie: rugosa (que en algunos casos se agrieta de manera que parece cuadrículada). Cutícula: desprendible solo en los bordes. Al tacto es seca, algo cerosa, de color beige ^{5^{4/B}} manchado de café ^{6^{7/F}}. Contexto: blanco o beige, carnosos, esponjoso, de hasta 8 mm de grosor. Himenio en ejemplares jóvenes, las láminas se encuentran cubiertas por un velo algodonoso, algo membranoso de color blanco a beige que se macha de café ^{6^{7/E}}. En adultos, se observan láminas sinuadas angostas, de borde liso, juntas. Lamélulas subtruncadas de color ^{5^{6/C}} o ^{5^{4/E}}. Estípites de 20^a 70 mm de longitud, cilíndrico, 15 mm de diámetro ápice, 12 mm diámetro base, superficie escamosa fino, con escamas color café ^{4^{4/E}} sobre un fondo beige. Contexto: lleno, fibroso-correoso, de color blanco a beige que presenta líneas higrófanos longitudinales. Esporas de 8.0 a 12.0 µm de largo por 6.0 a 8.0 µm de ancho, ovaladas de pared gruesa no ornamentada e inamiloides. Estructuras microscópicas el píleo presenta pilipellis himeniforme, con pigmento en la pared y no presenta vacuolas y el contexto del píleo es inamiloide, con hifas generativas de 4.0 a 5.0 µm de ancho, angostas de pared delgada, no vacuoladas; hifas de unión de 8.0 a 12.0 µm de ancho, anchas de pared gruesa con vacuolas eventuales. La lámina presenta un arreglo paralelo con un cistidia de forma mucronado, basidiolos de 20.0 a 32.0 µm de largo por 6.0 a 7.0 µm de ancho, con forma de mazo; basidios de 23.0 a 37.0 µm de largo por 10.0 µm de ancho, con forma de mazo, tetraesporicos; pleurocistidias de 20.0 a 36.0 µm de largo por 8.0 a 10.0 µm de ancho, con forma elipsoidal. El estípites presenta estipitipellis himeniforme, con pigmento en la pared y no presenta vacuolas y el contexto del estípites es inamiloide, con hifas generativas de 4.0 a 6.0 µm de ancho, angostas de pared delgada, no vacuoladas; hifas de unión de 10.0 a 15.0 µm de ancho, anchas de pared gruesa con vacuolas eventuales, en ambos casos más largas que el contexto del píleo. Sabor: afrutado. Olor: a hongo Nota: no se recogió esporada.

Reacciones macroquímicas: KOH (3 %), NaOH (5 %), H₂SO₄ (30 %), FeCl₃ y Reactivo de Melzer: negativo en todas las estructuras.

Material estudiado Referencia 58.2001; Aldea Escuachil, San Antonio Sacatépequez, San Marcos, 21/06/2001.

Agrocybe aegerita

Píleo de 40 a 75 mm de diámetro, de convexo a plano convexo, margen ondulado a recto, borde entero a apendiculado, en algunos ejemplares desgarrado. Superficie: rugosa (que en algunos casos se agrieta de manera que parece cuadrículada). Cutícula: desprendible solo en los bordes. Al tacto es seca, algo cerosa, de color beige $5^{4/B}$ manchado de café $6^{7/F}$. Contexto: blanco o beige, carnoso, esponjoso, de hasta 8 mm de grosor. Himenio en ejemplares jóvenes, las láminas se encuentran cubiertas por un velo algodonoso, algo membranoso de color blanco a beige que se macha de café $6^{7/E}$. En adultos, se observan láminas sinuadas angostas, de borde liso, juntas. Lamélulas subtruncadas de color $5^{6/C}$ o $5^{4/E}$. Estípite de 20 a 70 mm de longitud, cilíndrico, 15 mm de diámetro ápice, 12 mm diámetro base, superficie escamosa fino, con escamas color café $4^{4/E}$ sobre un fondo beige. Contexto: lleno, fibroso-correoso, de color blanco a beige que presenta líneas higrófanos longitudinales. Esporas de 8.0 a 10.0 μm de largo por 4.0 a 6.0 μm de ancho, ovaladas de pared gruesa no ornamentada e inamiloides. Estructuras microscópicas el píleo presenta pilipellis himeniforme, con pigmento en la pared y no presenta vacuolas y el contexto del píleo es inamiloide, con hifas generativas de 4.0 a 5.0 μm de ancho, angostas de pared delgada, no vacuoladas; hifas de unión de 8.0 a 10.0 μm de ancho, anchas de pared gruesa con vacuolas eventuales. La lámina presenta un arreglo paralelo con un cistidia shape mucronado, basidiolos de 16.0 a 27.0 μm de largo por 5.0 a 6.0 μm de ancho, con forma de mazo; basidios de 23.0 a 30.0 μm de largo por 7.0 a 9.0 μm de ancho, con forma de mazo, tetraesporicos; pleurocistidias de 25.0 a 28.0 μm de largo por 8.0 μm de ancho, con forma de elipse. El estípite presenta estipitipellis himeniforme, con pigmento en la pared y no presenta vacuolas y el contexto del estípite es inamiloide, con hifas generativas de 4.0 a 8.0 μm de ancho, angostas de pared delgada, no vacuoladas; hifas de unión de 10.0 a 15.0 μm de ancho, anchas de pared gruesa con vacuolas eventuales, en ambos casos más largas que el contexto del píleo. Sabor: afrutado. Olor: a hongo. Nota: no se recogió esporada.

Reacciones macroquímicas: KOH (3 %), NaOH (5 %), H₂SO₄ (30 %), FeCl₃ y Reactivo de Melzer: negativo en todas las estructuras.

Material estudiado Referencia 59.2001; Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sacatépequez, San Marcos, 21/06/2001

Agrocybe aegerita

Píleo de 40 a 75 mm de diámetro, de convexo a plano convexo, margen ondulado a recto, borde entero a apendiculado, en algunos ejemplares desgarrado. Superficie: rugosa (que en algunos casos se agrieta de manera que parece cuadrículada). Cutícula: desprendible solo en los bordes. Al tacto es seca, algo cerosa, de color beige $5^{4/B}$ manchado de café $6^{7/F}$. Contexto: blanco o beige, carnoso, esponjoso, de hasta 8 mm de grosor. Himenio en ejemplares jóvenes, las láminas se encuentran cubiertas por un velo algodonoso, algo membranoso de color blanco a beige que se macha de café $6^{7/E}$. En adultos, se observan láminas sinuadas angostas, de borde liso, juntas. Lamélulas subtruncadas de color $5^{6/C}$ o $5^{4/E}$. Estípite de 20 a 70 mm de longitud, cilíndrico, 15mm de diámetro ápice, 12mm diámetro base, superficie escamosa fino, con escamas color café $4^{4/E}$ sobre un fondo beige. Contexto: lleno, fibroso-correoso, de color blanco a beige que presenta líneas higrófanos longitudinales. Esporas de 6.0 a 10.0 μm de largo por 4.0 a 5.0 μm de ancho, ovaladas de pared gruesa no ornamentada e inamiloides. Estructuras microscópicas el píleo presenta pilipellis himeniforme, con pigmento en la pared y no presenta vacuolas y el contexto del píleo es inamilioide, con hifas generativas de 4.0 a 5.0 μm de ancho, angostas de pared delgada, no vacuoladas; hifas de unión de 8.0 a 10.0 μm de ancho, anchas de pared gruesa con vacuolas eventuales. La lámina presenta un arreglo paralelo con un cistidia con forma mucronado, basidiolos de 16.0 a 32.0 μm de largo por 8.0 a 10.0 μm de ancho, con forma de mazo; basidios de 18.0 a 32.0 μm de largo por 8.0 a 10.0 μm de ancho, con forma de mazo, tetraesporicos; pleurocistidias de 25.0 a 38.0 μm de largo por 8.0 a 10.0 μm de ancho, con forma de elipse. El estípite presenta estipitipellis himeniforme, con pigmento en la pared y no presenta vacuolas y el contexto del estípite es inamilioide, con hifas generativas de 4.0 a 5.0 μm de ancho, angostas de pared delgada, no vacuoladas; hifas de unión de 10.0 a 15.0 μm de ancho, anchas de pared gruesa con vacuolas eventuales, en ambos casos más largas que el contexto del píleo. Sabor: afrutado. Olor: a hongo. Nota: no se recogió esporada. Reacciones macroquímicas: KOH (3 %), NaOH (5 %), H₂SO₄ (30 %), FeCl₃ y Reactivo de Melzer: negativo en todas las estructuras.

Material estudiado 60.2001; Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sacatépequez, San Marcos, 21/06/2001

Agrocybe aegerita

Píleo de 52 a 95 mm de diámetro, convexo, centro a veces un poco umbonado, margen recto, borde decurvado a incurvado. Superficie: seca un poco tomentosa, rugosa, irregular, como con cráteres. Color en el centro 5^{7/E} y el resto color beige 5^{3/A}. Contexto lleno, de 4 mm de grosor, blanco, consistencia carnosa, esponjosa. Cutícula desprendible, solamente hasta el margen. Himenio con láminas delgadas, apretadas, subdecurrentes, con línea que se continúa al ápice de estípite. Lámélulas atenuadas, borde entero a aserrado. Color beige 5^{2/A}, que se mancha de café 5^{8/B}, línea higrófana sobre la lámina. Un velo parcial cubre la lámina en estados inmaduros. Estípite incompleto, 20 mm de longitud, cilíndrico, 12 mm de diámetro ápice. Superficie fibrilosa longitudinalmente. Color beige 5^{2/A} y con fibras café 5^{8/B}. Contexto de color blanco, fibriloso. Velo parcial, color blanquecino a beige 5^{2/A}, algodonoso a tomentoso en el exterior y el interior es blanco, estriado-surcado, tomentoso. Luego queda un velo colgante. Esporas de 10.0 a 12.0 µm de largo por 5.0 a 7.0 µm de ancho, ovaladas de pared gruesa no ornamentada e inamiloides. Estructuras microscópicas el píleo presenta pilipellis himeniforme, con pigmento en la pared y no presenta vacuolas y el contexto del píleo es inamiloide, con hifas generativas de 3.0 a 4.0 µm de ancho, angostas de pared delgada, no vacuoladas; hifas de unión de 8.0 a 12.0 µm de ancho, anchas de pared gruesa con vacuolas eventuales. La lámina presenta un arreglo paralelo con un cistidia de forma mucronada, basidiolos de 20.0 a 30.0 µm de largo por 6.0 a 9.0 µm de ancho, con forma de mazo; basidios de 22.0 a 38.0 µm de largo por 8.0 a 9.0 µm de ancho, con forma de mazo, tetraesporicos; pleurocistidias de 25.0 a 35.0 µm de largo por 8.0 a 10.0 µm de ancho, con forma de elipse. El estípite presenta estipitipellis himeniforme, con pigmento en la pared y no presenta vacuolas y el contexto del estípite es inamiloide, con hifas generativas de 4.0 a 5.0 µm de ancho, angostas de pared delgada, no vacuoladas; hifas de unión de 12.0 a 25.0 µm de ancho, anchas de pared gruesa con vacuolas eventuales, en ambos casos más largas que el contexto del píleo. Sabor y olor: a hongo un poco dulce.

Reacciones macroquímicas: KOH (3%), NaOH (5%), H₂SO₄ (30%), FeCl₃ y Reactivo de Melzer: negativo en todas las estructuras.

Material estudiado: Referencia 97.2002; Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos, 29/06/2002

Hábitat: Sobre *Sambucus* sp

Agrocybe aegerita

Píleo de 148 mm de diámetro, convexo, centro levemente ombonado, margen recto, borde incurvado, cutícula levemente desprendible en el margen, con contexto de color blanco bajo ella. Superficie seca, aereolada más evidente hacia el centro, sin cutícula, sólo contexto, de color café 5^{3/C}, la superficie aereolada, sobre fondo de color café naranja (Beige) 7^{2/A}. Contexto: color blanco, carnoso, de 12mm de espesor, algo fibroso. Himeno con láminas, muy juntas, subdecurrentes, delgadas, lámelulas atenuadas, bordes lisos o aserolado de color beige 6^{3/B}, que puede colorearse más café en las regiones dañadas. Estípite de 65 mm de longitud, 16 mm de diámetro ápice y 15 mm de diámetro de base, superficie escamosa, fibilosa, cutícula levantada o desgarrada, escamosa de color café 8^{6/F}, sobre fondo beige 7^{2/A}, en las regiones da dañadas se torna café 8^{6/F}. Contexto carnoso, fibroso de color blanco, lleno. Anillo Colgante, membranoso, grueso. Parte externa: estriada, tomentosa de color café 8^{6/F}, sobre fondo café 7^{4/C}. Parte interna: irregular, tomentosa de color beige 7^{2/A}. Apariencia enguatada. Esporas de 6.0 a 12.0 µm de largo por 5.0 a 6.0 µm de ancho, ovaladas de pared gruesa no ornamentada e inamiloides. Estructuras microscópicas el píleo presenta pilipellis himeniforme, con pigmento en la pared y no presenta vacuolas y el contexto del píleo es inamiloide, con hifas generativas de 4.0 µm de ancho, angostas de pared delgada, no vacuoladas; hifas de unión de 10.0 a 15.0 µm de ancho, anchas de pared gruesa con vacuolas eventuales. La lámina presenta un arreglo paralelo con un cistidia de forma mucronado, basidiolos de 15.0 a 28.0 µm de largo por 8.0 µm de ancho, con forma de mazo; basidios de 23.0 a 30.0 µm de largo por 8.0 a 10.0 µm de ancho, con forma de mazo, tetraesporicos; pleurocistidias de 24.0 a 35.0 µm de largo por 10.0 µm de ancho, con forma de elipse. El estípite presenta estipitipellis himeniforme, con pigmento en la pared y no presenta vacuolas y el contexto del estípite es inamiloide, con hifas generativas de 4.0 a 5.0 µm de ancho, angostas de pared delgada, no vacuoladas; hifas de unión de 15.0 a 25.0 µm de ancho, anchas de pared gruesa con vacuolas eventuales, en ambos casos más largas que el contexto del píleo. Olor y sabor: afrutado, retrabusto picante.

Reacciones macroquímicas: KOH (3%), NaOH (5%), H₂SO₄ (30%), FeCl₃ y Reactivo de Melzer: negativo en todas las estructuras.

Material estudiado Referencia: 112.2002; Tecpán Guatemala, Chimaltenango, 11/07/2002

Hábitat: Sobre Sauce (*Sambucus mexicana*)

IX. GLOSARIO

- A. Anillo: Estructura en forma de cortina que cuelga en la parte superior del estípite. Se forma por el desgarramiento del velo parcial de la envoltura que cubre el himenio en el estado joven del hongo (60).
- B. Basidioma: Estructuras complejas que poseen un alto grado de diferenciación de tejidos hifales, provenientes del micelio vegetativo, el cual se transforma en micelio reproductor y productor de estructuras generadoras de esporas (basidios y basidiosporas), también recibe los nombres de basidiocarpo, carpóforo, cuerpo fructífero, himenóforo, esporóforo, entre otros (60).
- C. Basidio: Células independientes que se localizan en la orilla del himenio, es la estructura en la que se lleva a cabo la cariogamia, la meiosis y se desarrollan normalmente las meiosporas (basidiosporas). Contiene en esta especie cuatro esporas unidas cada una a un gancho cuando es joven (60, 61).
- D. Basidiolo: Célula considerada inmutable, no presenta ganchos y su morfología es similar a la de la basidia (61)
- E. Cistidia: Célula diferenciada de la hifa que se localiza en Himenio y produce basidiosporas (61).
- F. Cuerpo fructífero de los Basidiomycetes: Estructura especializada y diferenciada diseñada para la producción y dispersión de gran número de esporas, el crecimiento es regulado por los ápices de la hifas y su posterior ramificación de los compartimentos subapicales por debajo de la región apical de la hifa y la diferenciación hifal ocurre aun en el estado de colonización del micelio vegetativo dentro del sustrato (62).
- G. Cutícula: Otro nombre con el que se conoce al pellis, se le denomina cutícula cuando se hacen descripciones macroscópicas del hongo (61).
- H. Estípite: Porción del hongo que une el píleo con la base (61).
- I. Espora: Corpúsculo microscópico que se encuentra en la parte reproductiva del hongo, la cual se dispersa y sirve para la producción y perpetuación de la especie (62).
- J. Fíbulas: Unión entre las hifas germinativas, se presenta como una protuberancia en el extremo de la hifa (61)

- K. Himenio: Superficie fértil de un hongo; corresponde a la parte del cuerpo fructífero que posee las esporas (62).
- L. Lámina: Cada tabique delgado vertical situado en la parte superior del píleo, donde se encuentra el himenio (61).
- M. Pellis: Superficie del hongo o recubrimiento cortical; se le antepone la parte del hongo que se está analizando, dando estipitipellis y pilipellis (61).
- N. Píleo: Parte superior del cuerpo del hongo, comúnmente se conoce como seta (61).
- O. Primordio: El primer estado del desarrollo del cuerpo fructífero es el que mide de 1 a 2 mm de altura se pueden reconocer como cuerpos redondos blanquecinos (61).
- P. Sistema hifal: Conjunto de hifas que contiene hifas germinativas que son de pared delgada y septadas e hifas esqueléticas que son de pared gruesa, rectas, sin septos, Hifas de unión que son bien definidas de pared no muy gruesa sin septos (61).
- Q. Trama: Sistema hifal comprendido en una porción del hongo; si se trata de trama himeniforme se refiere al contexto y si se refiere a la lámina es el arreglo que tienen las hifas en el espacio del himenio (61).

Claudia Andrade Martínez
Autor

Licda. María del Carmen Bran
Asesora

Lic. Osberth Morales Esquivel
Asesor.

M.Sc. Karin Herrera
Revisora

Licda. Karla Lange
Revisora

M.Sc. Vivian Matta
Directora

Oscar Cóbar Pinto, Ph. D.
Decano

Descripción de las características macroscópicas, de cultivo *in vitro* y producción de inóculo en paja y granos de trigo de *Agrocybe aegerita* (Brigant) Singer

Andrade, C., Bran, M., Morales, O.

Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia,
Universidad de San Carlos de Guatemala

RESUMEN

En este estudio se utilizaron seis cepas y cuerpos fructíferos guatemaltecos de *A. aegerita*. A los cuerpos fructíferos se les realizó un estudio taxonómico para verificar su correspondencia con la especie *A. aegerita* (Brigant) Singer. A las cepas, se les estudió la morfología colonial, la mejor condición para obtención de biomasa fúngica y producción de inóculo. Se determinó que todos los cuerpos fructíferos cumplieron con las características reportadas en la literatura para *A. aegerita* (Brigant) Singer. Para todas las cepas la mejor condición para la obtención de biomasa fúngica y crecimiento miceliar fue utilizar agar papa dextrosa como medio de cultivo a una temperatura de 26 °C. Además se estableció que en la producción de inóculo se obtuvieron los mejores resultados incubando todas las cepas a 26 °C sobre granos de trigo, si embargo no se logró la completa colonización del mismo; por tal razón, se concluyó que los soportes empleados en el estudio no fueron colonizados efectivamente por las cepas evaluadas.

INTRODUCCIÓN

En Guatemala, desde tiempos ancestrales, las etnias de origen maya tienen la tradición de la búsqueda y consumo de hongos, recolectando alrededor de 70 especies de hongos comestibles, entre los que se encuentran *Agrocybe aegerita*.

A. aegerita es comestible en las aldeas Escuachil y Vista Hermosa de San Antonio Sacatepéquez, San Marcos; Tecpán Guatemala, Chimaltenango y San Juan Ostuncalco, Quetzaltenango, donde se conoce con los nombres de rukoxil tunay che' (idioma Kachikel), hongo de saúco, hongo del tunay che' y hongo del soico.

En el interior de la república existen muchas comunidades de escasos recursos, que requieren de fuentes alternativas de alimento de alta calidad como los hongos comestibles.

A. aegerita es una especie potencialmente cultivable a nivel artesanal; sin embargo, para lograr su propagación y cultivo, es necesario ensayar, determinar y describir las condiciones óptimas de crecimiento *in vitro* del micelio y desarrollo del inóculo.

En este artículo se describen las características macroscópicas y microscópicas de seis cuerpos fructíferos herborizados de *A. aegerita* y se determinan las características macroscópicas y microscópicas de las cepas aisladas de cada uno de ellos. También se estudiaron los medios de cultivos (agar extracto de malta –EAM-, agar papa dextrosa –PDA- y agar sabouraud dextrosado –ASD-) y las temperaturas (18, 24 y 26 °C) para determinar en cual se producía mayor tasa radial de crecimiento miceliar. Así mismo se determinó el sustrato (paja y granos de trigo) y la temperatura (18, 24 y 26 °C) más adecuadas para la producción

del inóculo. Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente con el fin de determinar las mejores condiciones para el desarrollo de las cepas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cuerpos fructíferos herborizados y cepas: Seis ejemplares recolectados en el período 2001 y 2002 en diversas regiones de Guatemala, almacenados en la Micoteca de Macrohongos de Guatemala “Lic. Rubén Mayorga Peralta” y en el Ceparío de Hongos Saprófitos y Micorrícicos, ambos del Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

Los hongos y cepas estudiadas fueron: 2.2001, Tecpán Guatemala, Chimaltenango; 58.2001; Aldea Escuachil, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos; 59.2001 y 60.2001, Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos; 97.2002, Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos y 112.2002, Tecpán Guatemala, Chimaltenango.

Descripción de las características macroscópicas del cuerpo fructífero: Se evaluaron los ejemplares herborizados de *A. aegerita*, revisando las descripciones macroscópicas (1-3).

Descripción de las características microscópicas del cuerpo fructífero: Se determinaron en un ejemplar herborizado, realizando cortes y montajes en KOH, floxina y Melzer para evaluar reacciones químicas, arreglo y medida de las estructuras microscópicas de identificación de la especie en himenio, estípites y píleo (1-4). Luego se compararon y evaluaron estas características

frente a claves taxonómicas, identificando y confirmando la especie.

Determinación de la tasa radial de crecimiento y producción de biomasa de la cepa de *A. aegerita* a diferentes temperaturas: Verificada la pureza micelio, se inocularon en los medios de cultivo EAM, PDA y ASD, utilizando el procedimiento descrito por Mier (2002) (5).

Descripción de las características macroscópicas de las cepas de *A. aegerita*: Se determinó, con ayuda de un estereoscopio, las características reportadas por Mau y Li para esta especie (6).

Medición del peso seco para determinar el desarrollo o biomasa de una colonia fúngica en medio sólido: Finalizada la incubación, se utilizó el procedimiento descrito por Mier (2002) (5).

Preparación de inóculo: Se remojaron los soportes (paja y granos de trigo) por 24 horas, escurriéndolos y colocando 200 gramos en bolsas de polipapel y esterilizar a 121 °C por 45 minutos a 15 psi.

Producción de inóculo: Verificada la pureza de un cultivo joven, se inocularon 15 paquetes, cada uno con 15 fragmentos de micelio de 1 cm² de diámetro de cada una de las cepas de *A. aegerita*, se incubaron 5 paquetes a 18, 24 y 26 °C, observándose cada 7 días hasta que quedaron completamente compactos, a fin de verificar la tasa de crecimiento del micelio vegetativo.

Análisis estadístico: Se realizó un estudio experimental con un diseño factorial 6 x 3 x 3 y muestreo no probabilístico, por conveniencia, empleando un total de seis ejemplares. Todos los

valores obtenidos fueron almacenados en una base de datos y analizados por el programa Stata.

RESULTADOS

Descripción taxonómica: El estudio taxonómico de los ejemplares herborizados, demostró que efectivamente, se trataba de *Agrocybe aegerita* (Brigant) Singer; ya que sus características macroscópicas y microscópicas, concordaban con la identificación realizada en la Micoteca de Macrohongos de Guatemala “Lic. Rubén Mayorga Peralta” y lo reportado por Mau y Li.

A continuación se presenta una descripción detallada de cuerpos fructíferos.

***Agrocybe aegerita* (Brigant) Singer:** Píleo de 40 a 250 mm de diámetro, de convexo en jóvenes, a plano convexo en adultos. Superficie de húmeda a seca, rugosa en el margen, en algunos casos aerolada más evidente hacia el centro. Margen incurvado a recto, borde entero a desgarrado, en adultos. Color en el centro beige 5^{7/E} * y el resto color beige 5^{3/A}. Cutícula no desprendible, color beige 5^{4/B} manchado de café 6^{6/E} a 6^{7/F} en algunos incurvado a recto, borde entero a desgarrado, en ejemplares adultos puede decolorarse hasta llegar a amarillo naranja 5^{4/B}, de color crema en las orillas. Contexto blanco, carnoso, esponjoso de 4 a 200 mm de espesor. Himenio con láminas subadheridas, muy juntas, anchas, color beige 5^{2/A} a 7^{2/A}, con algunas manchas más oscuras, borde entero. Lamélulas atenuadas en estadios juveniles, un velo algodonoso, algo membranoso de color blanco a beige cubre las láminas, que se mancha de café 6^{7/E}. Estípites de 20 a 130 mm de longitud, de hasta 25 mm de

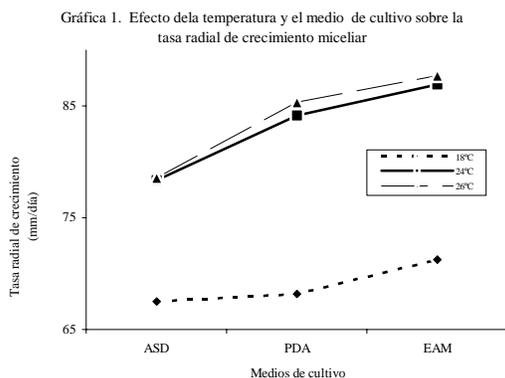
* Esta nomenclatura corresponde a los colores de la guía Komerup H. & Wanscher J. Metheun Handbook of Colour. 3. ed. London : 1989.

diámetro de ápice y de 12 a 30 mm de diámetro de base, cilíndrico, superficie fibrilosa a escamosa. Contexto fibroso, leñoso, de color blanco a beige que presenta líneas higrófanos longitudinales. Anillo colgante, membranoso, grueso, parte externa estriada, 12.0 µm tomentosa de color café 8^{6/F}, sobre fondo café 7^{4/C} y parte interna irregular, tomentosa de color beige 7^{2/A}. Sabor afrutado, un poco dulce. Olor no determinado. Esporas de 6.0 a de largo por 4.0 a 8.0 µm de ancho, ovaladas, de pared gruesa, lisas e inamiloides. El pileipellis himeniforme, con pigmento en la pared y sin vacuolas. Contexto inamiliode, con hifas generativas de 3.0 a 8.0 µm de ancho, angostas, de pared delgada, no vacuoladas; hifas de unión de 10.0 a 20.0 µm de ancho, anchas de pared gruesa con vacuolas eventuales. Trama lamelar paralela con cistidios mucronados, basidiolos de 19.0 a 32.0 µm de largo por 6.0 a 10.0 µm de ancho, con forma de mazo; basidios de 18.0 a 38.0 µm de largo por 6.0-10.0 µm de ancho, con forma de mazo, tetraesporicos; pleurocistidios de 25.0 a 38.0 µm de largo por 8.0 µm de ancho. Estipitipellis himeniforme, con pigmento en la pared y sin vacuolas, contexto inamiliode, hifas generativas de 3.0 a 6.0 µm de ancho, angostas, de pared delgada, no vacuoladas; hifas de unión de 8.0 a 25.0 µm de ancho, anchas, de pared gruesa con vacuolas eventuales, en ambos casos más largas que el contexto del píleo. Reacciones microquímicas: KOH (3 %), NaOH (5 %), H₂SO₄ (30 %), FeCl₃ y Reactivo de Melzer: negativo en todas las estructuras. Hábitat: Todos los ejemplares estudiados se encontraron creciendo sobre troncos de *Sambucus mexicana* Presl., con excepción de los ejemplares 112.2002, los cuales se recolectaron en troncos de *Salix* sp.

Crecimiento miceliar: Las características macroscópicas de las colonias de las cepas en todos los medios y temperaturas, presentaron color blanco, consistencia algodonosa, textura afelpada y bordes bien definidos, densidad regular y abundante micelio aéreo en colonias jóvenes, que se tornó compacta con el envejecimiento. Sin olor distintivo. Se observó la aparición de pigmento café en el reverso de las colonias, a los quince días de incubación en el medio EAM y después de treinta días en los medios PDA y ASD.

Microscópicamente se observaron hifas de pared delgada, de 4.0-5.0 μm de diámetro, moderadamente ramificadas, con fíbulas. Al final de la incubación fue posible observar hifas en forma de raqueta.

Al ser evaluado el crecimiento miceliar de las seis cepas, se determinó que los valores más altos se encontraron en EAM a 26 °C (87.8 mm), aunque a 24 °C se observó también un rápido crecimiento y los menores valores se presentaron a 18 °C, hallándose los más bajos en ASD (67.8 mm) (Gráfica 1). Además, se observó diferencia significativa entre la cepa 112.2002 y las cepas restantes.



Producción de biomasa: La mayor producción de biomasa obtenida fue de 0.180 g y se logró en el

medio EAM a 18, 24 y 26 °C para casi todas las cepas estudiadas (excepto las cepas 97.2002 a 24 y 26 °C y la 60.2001 a 26 °C). Este mismo peso de biomasa se obtuvo también en el medio PDA principalmente a 18 °C (cepas 2.2001, 58.2001, 60.2001 y 112.2002). En este mismo medio solamente se produjo esta cantidad de biomasa en las cepas 58.2001 y 59.2001 a 24 °C y, 2.2001 a 26 °C. Además, los valores más bajos se presentaron en ASD a todas las temperaturas evaluadas.

Producción de inóculo: Todas las cepas colonizaron los granos y paja de trigo en menor tiempo (ocho semanas), a 26 °C. A 18 °C, la colonización tardó más tiempo en granos de trigo y no hubo crecimiento del micelio en la paja de trigo. Existió una diferencia de una semana en la colonización de ambos sustratos a 24 °C, con relación a la temperatura de 26 °C (Tabla 1).

Tabla 1. Producción de inóculo sobre granos y paja de trigo.

Tiempo Temperaturas Soportes Cepas	Semanas					
	18 °C		24 °C		26 °C	
	Trigo	Paja	Trigo	Paja	Trigo	Paja
2.2001	10	NC ¹	9	9	8	8
58.2001	10	NC	9	9	8	8
59.2001	10	NC	9	9	8	8
60.2001	10	NC	9	9	8	8
97.2002	10	NC	9	9	8	8
112.2002	10	NC	9	9	8	8

1. No hubo crecimiento.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las características macroscópicas y microscópicas analizadas y evaluadas de los ejemplares herborizados de *Agrocybe aegerita*, coincidieron con lo reportado en la literatura; siendo a nivel microscópico: 1. El sistema hifal de la lámina presentó un arreglo paralelo, una de las principales características del género *Agrocybe*; 2. Las formas, arreglo y medidas de las estructuras microscópicas de identificación de la especie

presentes en himenio, píleo y estípote, y 3. Las reacciones microquímicas; confirmando que todos los ejemplares correspondieron a la identificación *Agrocybe aegerita* (Brigant) Singer (7-16).

La morfología del micelio vegetativo de *A. aegerita* de todas las cepas evaluadas corresponden a las reportadas por Mau y Li para esta especie, así como también a nivel macroscópico el color, la morfología colonial en general que cubrió la caja de Petri con agar en 21 días, el color del pigmento difusible en el medio de cultivo en el reverso de la caja de Petri; y microscópicamente, la medida de las hifas (6).

En relación con la tasa radial de crecimiento miceliar de *A. aegerita*, es importante mencionar que todas las cepas presentaron valores similares en los diferentes medios de cultivo a las diferentes temperaturas. Estos resultados pueden estar relacionados de acuerdo a los siguientes factores: todas las cepas provienen del cepario y no directamente del cuerpo fructífero, además los lugares en los cuales fueron recolectados los ejemplares presentan condiciones similares de altura y humedad. Se determinó estadísticamente que mejores valores los presentó la cepa 112.2002 en todos los medios de cultivo.

En cuanto a los medios de cultivo empleados para la determinación de la tasa radial de crecimiento miceliar de *A. aegerita* a todas las temperaturas, se determinó que en EAM se presentaron los valores de tasa radial de crecimiento miceliar más altos, como lo citó Mau y Li. La obtención de estos valores pudo deberse a que este medio de cultivo contiene azúcares y péptido, que favorecieron la formación del micelio vegetativo de *A. aegerita*. Además, en este medio

de cultivo se produjo un pigmento difusible de color café a los 15 días de inoculación. y éste puede reducir el tiempo de vida al micelio vegetativo (6, 15).

En el medio de cultivo PDA se presentaron los valores intermedios de tasa radial de crecimiento miceliar, esto pudo deberse a que este medio contiene un alto porcentaje de carbohidratos complejos y glucosa, los cuales fomentan un desarrollo miceliar adecuado. Además, se produjo menor cantidad de pigmento difusible, el cual apareció aproximadamente a los 30 días, lapso para el cual, el micelio vegetativo debió haber sido utilizado para producción de inóculo ó almacenado en condiciones de cepario (6, 15).

En caso de no contar con los medio de cultivo anteriores, se puede utilizar ASD, aunque tiene la desventaja de que la tasa radial de crecimiento miceliar es menor y la aparición de pigmento se observa alrededor de los 30 días. Sin embargo, el costo de este medio es menor en relación a los otros medios de cultivo (15).

El valor de la tasa radial de crecimiento miceliar de *A. aegerita* se vio afectado básicamente por la temperatura, lográndose los diámetros menores a la temperatura de 18 °C en comparación con 24 y 26 °C; a pesar de que existen cepas provenientes de clima frío como lo son las aldeas Escuachil y Vista Hermosa de San Antonio Sacatepéquez, San Marcos y San Juan Ostuncalco, Quetzaltenango. Esto pudo deberse a que todas las cepas utilizadas vienen de un cepario y no directamente de un ejemplar (18, 19).

La producción de biomasa presentó una diferencia significativa al comparar los valores

entre los medios EAM y PDA, con el medio ASD. De las condiciones empleadas en el estudio, se recomienda la utilización de PDA a 26 °C ó 24 °C para la producción de biomasa por los resultados obtenidos en la parte experimental.

Para la producción de inóculo, se eligieron granos y paja de trigo, en los cuales los resultados obtenidos no fueron los adecuados, debido a que, en el soporte las cepas no tomaron una consistencia adecuada conforme lo fue invadiendo el micelio vegetativo de *A. aegerita*.

En el caso de la paja de trigo no se presentó un desarrollo miceliar adecuado, debido a que éste contiene un alto porcentaje de materia orgánica, pocos nutrientes y poca fibra, con lo que no se logró suplir los requerimientos nutricionales del micelio vegetativo, produciendo solamente una ligera invasión miceliar del soporte (20, 21).

El cubrimiento producido por el micelio vegetativo fue mayor en los granos de trigo. Se observó que llegó a tomar cierta consistencia y posteriormente se ablandó. Esto se pudo deber a que los granos de trigo cuentan con un alto contenido de nutrientes y poca fibra, los cuales al agotarse por ser consumidos durante el desarrollo del micelio vegetativo, hicieron que perdiera parte de la consistencia que habían tomado durante el proceso de invasión.

Por lo anterior se pudo determinar que no fueron colonizados adecuadamente ninguno de los soportes utilizados para el crecimiento del micelio vegetativo de *A. aegerita* para producción de inóculo (22).

Comparando el comportamiento del crecimiento del micelio vegetativo en los dos soportes seleccionados, la principal diferencia fue la velocidad de crecimiento miceliar y el deterioro del soporte fue más evidente en granos de trigo, mientras que en la paja no fueron evidentes estos parámetros y, al no cubrir el soporte por completo, no se observa deterioro.

La temperatura fue la variable que más afectó el crecimiento del micelio vegetativo en la producción de inóculo; se pudo determinar que a 18 °C se presentaron los valores más largos en tiempo de invasión del micelio vegetativo de las cepas (10 semanas), además se produjo una condensación de agua en la superficie de la bolsa de polipapel, deteriorando el sustrato y deteniendo el desarrollo del micelio vegetativo.

A las temperaturas de 24 y 26 °C, no se observó diferencia significativa en el tiempo en que llegó a tomar la mejor consistencia lograda en el experimento (semicompacto), por lo cual son las temperaturas óptimas de incubación del soporte para producción de inóculo (21).

CONCLUSIONES

1. Todos los ejemplares evaluados corresponden a la especie *Agrocybe aegerita* (Brigant) Singer, según las características macro y microscópicas.
2. *A. aegerita* debe de inocularse en el medio de cultivo PDA a una temperatura de 26 °C, ya que en AEM se produce pigmento que le reduce la vida media al micelio vegetativo.
3. La cepa que presenta mejor crecimiento es la 112.2002, a pesar de que no se observa una

gran diferencia en cuanto a los valores obtenidos.

4. Los sustratos elegidos para la producción de inóculo no fueron colonizados adecuadamente, debido a que no llega a tomar la consistencia requerida durante el tiempo de incubación.
5. La temperatura de elección para la producción de inóculo es 26 °C, para que el soporte se cubra en menor tiempo.

RECOMENDACIONES

1. No utilizar la temperatura de 18 °C para determinar la tasa radial de crecimiento del micelio vegetativo, la producción de biomasa o de inóculo, porque se obtienen malos resultados.
2. Se recomienda utilizar como sustrato un elemento que contenga alto porcentaje de fibra.

AGRADECIMIENTOS

A la facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y al personal del Departamento de Microbiología.

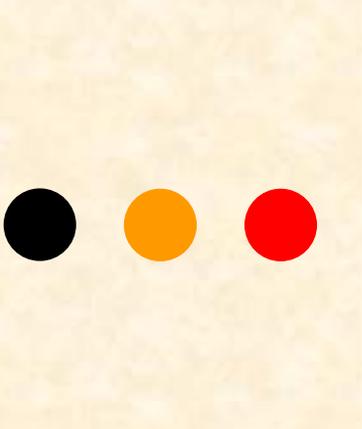
REFERENCIAS

1. Largent D. How to Identify Mushrooms to Genus I: Macroscopic Feature. United States of America 1997, 51-59p.
2. Bessey E. Morphology & Taxonomy of Fungy. Philadelphia: Blakistin 1950.
3. Largent D. How to identify mushrooms to genus III: Microscopic Features. United States of America 1997. 121p (p:21-27).
4. Largent D. How to identify mushrooms to genus IV: keys to Families and Genera. United States of America 1997. 93p (49).
5. Meir T, Toriello C, Ulloa M. Hongos microscópicos, saprobios y parásitos, métodos de laboratorio. Instituto de Biología,

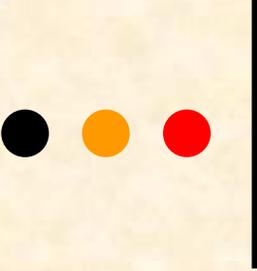
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México 2002. 90p (34-38).

6. Mau JL, Li JY. Effect of 10-oxo-trans-8-decanoic acid on growth of *Agrocybe cylindracea*. United States of America, Mushroom Res 8 (1): 47-54; 1999.
7. Morales O. Estudio etnomicológico de la cabecera municipal de Tecpán Guatemala, Chimaltenango. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). Guatemala 2001. 82p.
8. Starosta P, Epinat C. Hongos. Italia; Benedikt Taschen Verlag GMBH. 1999. 128p (119- 125).
9. Salvai G. *Agrocybe aegerita* (Brig.). Disponible en: <http://funghitalia.it/schede/ottime/Agrocybe%20aegerita/Agrocybe20%aegerita.htm>. Mayo 2003.
10. Papetti C, Consiglio G, Simonini G. Tálate fotografico dei Fungí d'Italia. Lugio: Associazione Micologica. Bresadola 1999. p 247, 512.
11. Stuntz D. How to Identify Mushroom to Genus IV. Key to Families and Genera. United States of America 1977. 75p (25, 32, 49).
12. Arora D. Mushroom Demystified. A comprehensive Guide of the Fleshy Fungi. 2. ed. United States of America: Ten Speed Press 1986. 960p (467).
13. Largent D. How to identify mushrooms to genus IV: keys to Families and Genera. United States of America 1997. 93p (49).

14. Largent D. How to identify mushrooms to genus III: Microscopic Features. United States of America 1997. 121p (p:21-27).
15. Ferri F. I funghi, Micologia, isocamento, coltivazione. Bologna: Edagricole. 1985. 400p. (88, 124-127).
16. Bessette AE, Vésete AR, Fischer D. Mushrooms of Northwest North America. Hong Kong. Library of Congress Cataloging -in- Publication Data. 1997.
17. Merck. Manual Merck. Merck S. A. United States of America 2002
18. Bran MC, *et al.* Hongos comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula (Fase I). Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación (DIGI). Informe técnico final 2001. 90p.
19. Bran MC, *et al.* Hongos comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula (Fase II). Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación (DIGI). Informe técnico final 2002. 50p (11).
20. Sánchez J. Producción de hongos comestibles. Cuaderno de trabajo No. 1. México: Centro de investigación ecológica del sur este. 1994. 105p (20-30).
21. Sanchez J. Producción de *Pleurotus*. México: Centro de investigación ecológica del sur este. 2004 105p (20-30).
22. Sabormediterraneo.com ¿La pasta engorda? Disponible en: http://www.sabormediterraneo.com/salud/pasta_diet.htm. Octubre 2005

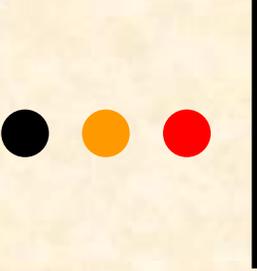


**DESCOPCIÓN DE LAS
CARACTERÍSTICAS
MACROSCÓPICAS, DE
CULTIVO *in vitro* Y
PRODUCCIÓN DE INÓCULO
EN GRANOS Y PAJA DE
TRIGO DE *Agrocybe
aegerita* (Brigant) Singer**



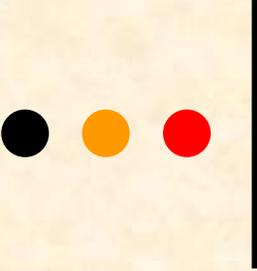
INTRODUCCION

- *Agrocybe aegerita* hongo comestible en Guatemala.
- Se consume en
 - Tecpán Guatemala, Chimaltenango
 - Aldeas Escuachil y Vista Hermosa de San Antonio Sac., San Marcos;
 - San Juan Ostuncalco, Quetzaltenango,
- Fuentes alternativas de alimento de alta calidad
- *A. aegerita* es una especie potencialmente cultivable a nivel artesanal



HIPOTESIS

- Los cuerpos fructíferos herborizados de ***Agrocybe aegerita*** presentan características que corresponden a la especie ***A. aegerita*** (Brigant) Singer.
- Las cepas de ***A. aegerita*** producen igual tasa radial de crecimiento en los distintos medios de cultivo (PDA, AEM y ASD) y temperaturas (18, 24 y 26 °C) evaluadas.
- Es posible producir inóculo de cepas de ***A. aegerita*** en los sustratos (paja y granos de trigo) y temperaturas (18, 24 y 26 °C) evaluadas en el estudio.



MATERIALES Y MÉTODOS

o Hongos y cepas estudiadas

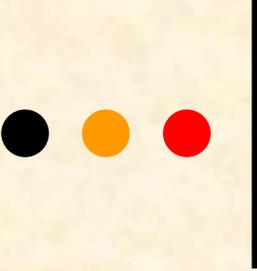
- **02.2001** Tecpán Guatemala, Chimaltenango
- **58.2001** Aldea Escuachil, San Antonio Sac., San Marcos
- **59.2001** Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sac., San Marcos
- **60.2001** Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sac., San Marcos
- **97.2002** Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sac., San Marcos
- **112.2002** Tecpán Guatemala, Chimaltenango

Cuerpo fructífero



Taza radial de crecimiento micelar

- Medios de cultivo
 - Agar extracto de malta
 - Agar papa dextrosa
 - Agar sabouraud dextrosado
- Temperaturas
 - 18°C
 - 24°C
 - 26°C
- Características macroscópicas del micelio vegetativo
- Características microscópicas del micelio vegetativo
- Producción de biomasa en medio sólido



Producción de inóculo

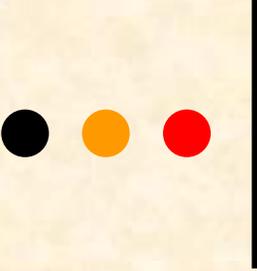
- Soportes
 - Granos de trigo
 - Paja de trigo
- Temperaturas
 - 18°C
 - 24°C
 - 26°C
- Observación de la invasión del micelio vegetativo

RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Descripción taxonómica

- Coincidieron con *Agrocybe aegerita* (Brigant) Singer
- Características microscópicas
 - Sistema hifal de la lámina con arreglo paralelo
 - Formas, arreglo y medidas de las estructuras microscópicas de identificación en himenio, píleo y estípite
 - Reacciones microquímicas





Crecimiento micelial

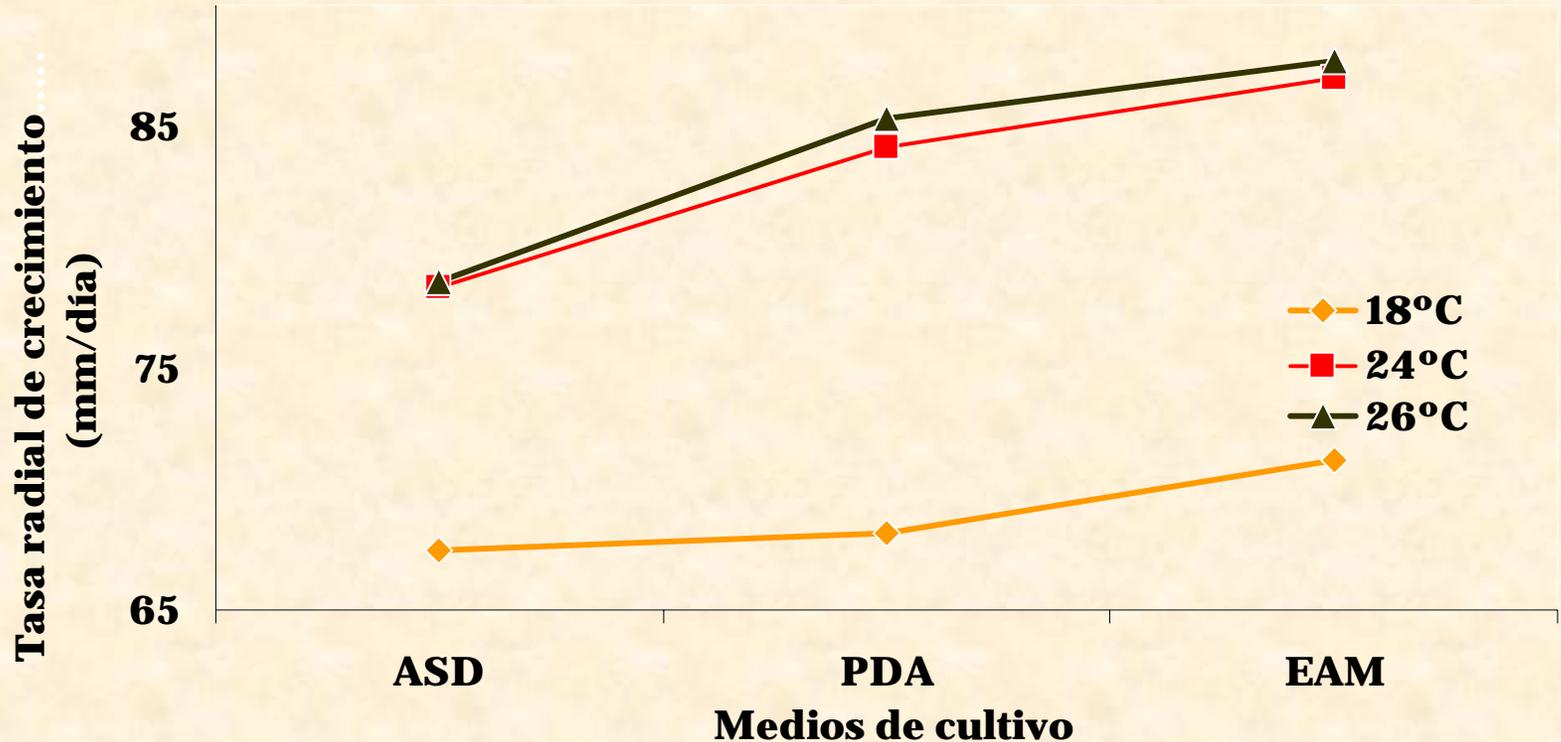
○ Características macroscópicas

- Color blanco, consistencia algodonosa, textura afelpada y bordes bien definidos, densidad regular y abundante micelio aéreo en colonias jóvenes, que se tornó compacta con el envejecimiento. Sin olor distintivo.
- Aparición de pigmento café en el reverso de las colonias, en EAM (15 días) y en PDA y ASD (30 días).

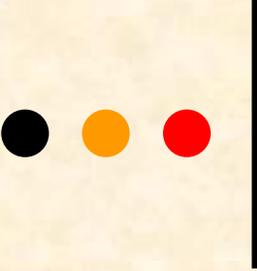
○ Características Microcópicas

- hifas de pared delgada, de 4.0-5.0 μm de diámetro, moderadamente ramificadas, con fíbulas.
- Al final de la incubación se observó hifas en forma de raqueta.

Taza radial de crecimiento miceliar



- La mayor producción de biomasa obtenida fue de 0.180 g
 - EAM a 18, 24 y 26 °C
 - PDA a 18 °C

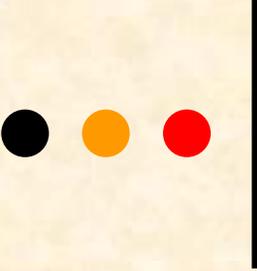


Producción de inóculo

Tiempo	Semanas					
Temperaturas	18°C		24°C		26°C	
Soportes	Trigo	Paja	Trigo	Paja	Trigo	Paja
Cepas						
2.2001	10	NC	9	9	8	8
58.2002	10	NC	9	9	8	8
59.2001	10	NC	9	9	8	8
60.2001	10	NC	9	9	8	8
97.2002	10	NC	9	9	8	8
112.2002	10	NC	9	9	8	8

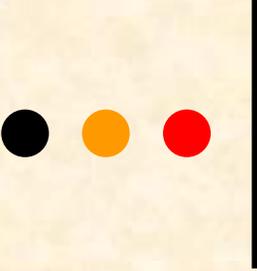
NC: No hubo crecimiento.

- No fueron colonizados adecuadamente ninguno de los soportes



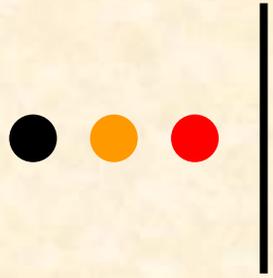
CONCLUSIONES

1. Todos los ejemplares evaluados corresponden a la especie ***Agrocybe aegerita* (Brigant) Singer**, según las características macro y microscópicas.
2. ***A. aegerita*** debe de inocularse en el medio de cultivo PDA a una temperatura de 26 °C, ya que en AEM se produce pigmento que le reduce la vida media al micelio vegetativo.
3. La cepa que presenta mejor crecimiento es la 112.2002, a pesar de que no se observa una gran diferencia en cuanto a los valores obtenidos.
4. Los sustratos elegidos para la producción de inóculo no fueron colonizados adecuadamente, debido a que no llega a tomar la consistencia requerida durante el tiempo de incubación.
5. La temperatura de elección para la producción de inóculo es 26 °C, para que el soporte se cubra en menor tiempo.



RECOMENDACIONES

1. No utilizar la temperatura de 18 °C para determinar la tasa radial de crecimiento del micelio vegetativo, la producción de biomasa o de inóculo, porque se obtienen malos resultados.
2. Se recomienda utilizar como sustrato un elemento que contenga alto porcentaje de fibra.



**Gracias por
su atención**