

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



**DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DE CULTIVO *in vitro*,  
PRODUCCIÓN DE INÓCULO Y CUERPOS FRUCTÍFEROS DE UNA CEPA  
GUATEMALTECA DE *Schizophyllum commune* Fr.**

LIGIA IVETTE QUAN SIERRA  
QUÍMICA BIÓLOGA  
GUATEMALA, OCTUBRE DE 2009

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



**DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DE CULTIVO *in vitro*,  
PRODUCCIÓN DE INÓCULO Y CUERPOS FRUCTÍFEROS DE UNA CEPA  
GUATEMALTECA DE *Schizophyllum commune* Fr.**

Informe de Tesis

Presentado por  
LIGIA IVETTE QUAN SIERRA

Para optar al título de  
QUÍMICA BIÓLOGA  
GUATEMALA, OCTUBRE DE 2009

## JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cóbar Pinto, PhD.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antillon, M.A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. María Estuardo Guerra Valle	Vocal IV
Br. Berta Alejandra Morales Mérida	Vocal V

## **ACTO QUE DEDICO**

- A DIOS** Por darme la vida y la fortaleza para alcanzar mis metas.
- A LA VIRGEN MARÍA** Que como madre me ha ayudado en todo momento.
- A MIS PADRES** Rosa Carlota Sierra Loaiza y José Manuel Quan Berducido(†)  
Por ser un gran ejemplo y guía. Por inculcarme el amor por el estudio.
- A MIS HERMANOS** Por su cariño y ayuda.
- A MIS AMIGOS** Por su apoyo incondicional y todo el afecto brindado.
- A MIS ABUELOS,  
TÍOS Y PRIMOS** Con mucho cariño.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad de San Carlos de Guatemala.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

A la Escuela de Química Biológica y al Departamento de Microbiología, sobre todo a su personal, por los momentos compartidos y su apoyo.

A la Unidad de Biodiversidad, Tecnología y Aprovechamiento de Hongos por la ayuda brindada.

A mi asesor Lic. Osberth Morales Esquivel por su orientación, paciencia y amistad.

A Roberto Cáceres por su ayuda en la realización de esta investigación.

A mis revisoras Licda. Rosario Hernández y Licda. Blanca Samayoa.

## ÍNDICE

<b>I. Resumen</b>	1
<b>II. Introducción</b>	2
<b>III. Antecedentes</b>	3
<b>A. Generalidades de los hongos</b>	3
<b>B. Hongos comestibles</b>	4
1. Morfología	4
2. Ciclo de vida	5
3. Valor nutricional	6
<b>C. Cultivo de hongos comestibles</b>	6
1. Cultivo de hongos comestibles en Guatemala	7
<b>D. <i>Schizophyllum commune</i></b>	8
1. Características macro y microscópicas del basidiocarpo	8
2. Características miceliares	9
3. Tipo de incompatibilidad sexual	9
4. Ciclo de vida	10
5. Hábitat	10
6. Distribución	10
7. Etnomicología	11
8. Propiedades medicinales	12
9. Estudios bioquímicos	12
10. Cultivo de <i>S. commune</i>	12
11. <i>S. commune</i> como posible agente causal de basidiomicosis	15
<b>IV. Justificación</b>	17
<b>V. Objetivos</b>	18

<b>VI. Hipótesis</b>	19
<b>VII. Materiales y Métodos</b>	20
<b>VIII. Resultados</b>	28
<b>IX. Discusión</b>	35
<b>X. Conclusiones</b>	40
<b>XI. Recomendaciones</b>	41
<b>XII. Referencias</b>	42
<b>XIII. Anexos</b>	49

## I. RESUMEN

En el presente estudio se llevó a cabo la descripción de las características del cultivo *in vitro* de una cepa guatemalteca de *Schizophyllum commune* (52.2003), determinándose el medio (ASD, PDA y AEM) y la temperatura de incubación (22°C y 26°C) para obtener el mayor crecimiento miceliar. Posteriormente se evaluaron tres sustratos (maicillo, trigo y arroz) a las mismas temperaturas de incubación, para determinar en cuál de ellos se obtiene el menor tiempo para la producción de inóculo. A continuación, se evaluó la producción de cuerpos fructíferos en cuatro sustratos (aserrín de pino con salvado de arroz al 10%, viruta de ciprés con salvado de arroz al 10%, viruta de pino con salvado de arroz al 10% y salvado de arroz), para determinar en cuál de ellos se alcanza la mayor eficiencia biológica y tasa de producción.

Se determinó que la cepa *S. commune* 52.2003, obtuvo las mejores respuestas tanto en crecimiento miceliar como en producción de biomasa a 26°C, observándose el mayor crecimiento miceliar (85.00 mm) y biomasa (0.77 g) en el medio ASD a esta temperatura. Macroscópicamente, las colonias obtenidas en todos los medios de cultivo y temperaturas desarrollaron micelio algodonoso de color blanco con producción de exudado a 26°C de temperatura de incubación y microscópicamente presentaron hifas de 2.0 a 7.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, proyecciones de las paredes hifales y fíbulas, se observó la formación de clamidosporas en los medios ASD y AEM, a ambas temperaturas de incubación.

El inóculo de la cepa *S. commune* 52.2003, se desarrolló en menor tiempo a la temperatura de incubación de 26°C, siendo el maicillo el sustrato que presentó los menores tiempos de producción a 26°C y 22°C (12 y 15 días, respectivamente).

Finalmente, la mayor eficiencia biológica de la cepa *S. commune* 52.2003 (22.8 %) y tasa de producción (0.651), fueron obtenidas en el sustrato de viruta de ciprés suplementado con salvado de arroz al 10%.



## II. INTRODUCCIÓN

Los hongos han sido apreciados desde la antigüedad por griegos, romanos y otras culturas como un alimento especial. A nivel mundial se considera que más de 3,000 especies de hongos se consideran como comestibles. De ellas, solamente 200 se han cultivado experimentalmente, y aproximadamente 60 se cultivan comercialmente.

Guatemala posee una gran diversidad de hongos que se conocen desde tiempos inmemoriales, lo cual se refleja en la tradición que las diferentes etnias poseen con respecto a la recolección y consumo de hongos comestibles silvestres. Uno de éstos es *Schizophyllum commune*, el cual también se aprecia en algunas regiones de México.

En el país, este hongo se utiliza principalmente en las regiones de Cobán y Tactic (Alta Verapaz); Petén; Jacaltenango y San Mateo Ixtatán, (Huehuetenango); así como en Tecpán (Chimaltenango), donde se conoce con distintos nombres de origen maya (asam, xikin che', isem, 'asn, esem y xikin kuk).

En el año 2,003, Bran y colaboradores colectaron y aislaron *Schizophyllum commune* del área de Jacaltenango, Huehuetenango (cepa 52.2003). Esta cepa debe ser estudiada y evaluada por su potencial para cultivo a nivel de sustrato, debido a la demanda que posee para autoconsumo y comercialización en las diversas comunidades en donde se utiliza como producto alimenticio. Además a través del cultivo se contribuiría con la utilización de los desechos agrícolas producidos en el país y con esto la conservación del medio ambiente.

En este estudio, se llevó a cabo la evaluación de las características miceliales, crecimiento en diferentes medios de cultivo (agar papa dextrosa, agar extracto de malta y agar sabouraud dextrosado) y temperaturas (22 y 26°C), de la cepa de *Schizophyllum commune*. Así también la producción de inóculo en maicillo, trigo y arroz a dos temperaturas (22 y 26°C), y la fructificación en diferentes sustratos (salvado de arroz, mezclas de viruta de pino, viruta de ciprés y aserrín de pino con salvado de arroz).

### III. ANTECEDENTES

#### A. Generalidades de los hongos

Los hongos forman un grupo taxonómico independiente de los vegetales y los animales, al cual se le denomina Reino Fungi. Los organismos que lo conforman son heterótrofos, inmóviles, poseen talos unicelulares o filamentosos rodeados por paredes celulares y se reproducen por esporas sexuales y asexuales. De acuerdo con el tamaño de las fructificaciones que producen, se pueden clasificar en macrohongos y microhongos, según sean macroscópicos o microscópicos, respectivamente, e incluso existen microhongos que no producen fructificaciones (1,2).

Durante la presente década, los micólogos han tenido un progreso sin precedente al elaborar una clasificación filogenética de los hongos, basada en análisis de ADN, la cual evidenció que son organismos polifiléticos con morfologías convergentes, pero que derivaron independientemente de varios linajes eucarióticos. Así, actualmente se clasifican en cuatro phyla: *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota* y *Basidiomycota* (1,3).

El número de hongos en el mundo suponen 1.5 millones de especies, de manera que si este estimado es correcto, se han descrito menos del 5 por ciento de las especies. Esto se debe a que aún se tiene información incompleta de muchas especies, ya que los hongos y los grupos parecidos a los hongos (mohos acuáticos, Reino Straminipila, mohos limosos y relacionados, Reino Protista) comprenden una asombrosa variedad de taxa, estrategias de vida y morfologías (desde formas similares a amebas y chytridiomycetes acuáticos unicelulares hasta los grandes hongos basidiomycetes) (1).

Los hongos se cuentan entre los más importantes en el mundo, no solo por el papel vital en la función de los ecosistemas, sino que además son esenciales e incluso cruciales en actividades como la descomposición, reciclamiento y transporte de nutrientes y son indispensables para el desarrollo sostenible del ambiente. Algunas especies son patógenas

importantes de plantas y animales, mientras que otras forman simbiosis obligadas con algunas especies de plantas, algas, cianobacterias y animales (1).

Muchos hongos también tienen una gran importancia económica, aquellos hongos que se han domesticado se utilizan en la elaboración de cerveza, en cocina, fermentación industrial, biotecnología y algunas otras especies se cultivan o se recolectan para ser utilizadas como alimento (2).

## **B. Hongos comestibles**

Los hongos comestibles se conocen desde tiempos inmemoriales. Se estima que cerca de 7,000 especies poseen varios grados de comestibilidad, y más de 3,000 especies de 31 géneros se consideran como las principales comestibles (4).

### **1. Morfología**

Los hongos comestibles se consideran macrohongos y se pueden encontrar principalmente en el grupo Basidiomycota. Los cuerpos fructíferos de este grupo pueden ser carnosos, gelatinosos o pulverulentos y tener forma de sombrilla, oreja, repisa, trompeta, coral, etc.; y poseen basidios, que son estructuras microscópicas especializadas sobre las cuales se producen las esporas (basidiosporas) (5).

El típico cuerpo fructífero posee un píleo (sombrero), himenóforo (estructura que sostiene la capa fértil, ya sea lamelas, tubos, etc.), contexto y estípite. Los cuerpos fructíferos sésiles que no tienen estípite no son comunes, como en el caso de las llamadas “orejas de palo”, que se adhieren lateralmente al sustrato; “costras” que no tienen píleo ni estípite, y unos cuantos con características únicas de ellos o típicas de la familia, género o especie a los que pertenecen (5).

## 2. Ciclo de vida

Las basidiosporas de los hongos comestibles germinan cuando entran en contacto con un sustrato y encuentran una temperatura, pH y humedad adecuados para su crecimiento. Dan origen a un micelio primario bien desarrollado, conocido como homocarión por tener un solo tipo de núcleos generalmente haploides. En algunas especies donde únicamente hay un núcleo por compartimiento hifal se le llama monocarión. En estos casos, los términos se utilizan como sinónimos. En la mayoría de los basidiomycetes el micelio homocarión no fructifica, pero es capaz de crecer vegetativamente. En ciertos tipos de hongos comestibles, puede formar esporas asexuales del tipo oidio que al germinar dan origen a micelio homocarión. En otros casos los oidios funcionan como gametos masculinos y se unen a hifas de micelio compatible para formar el micelio heterotálico, típico de la reproducción sexual (6).

Para que el cuerpo fructífero se desarrolle, es necesario que dos micelios homocarióticos compatibles se fusionen y por disolución de la pared del punto de contacto, formen compartimientos hifales de citoplasma continuo y con dos tipos de núcleos provenientes cada uno de los compartimientos que se fusionaron. Es a partir de estos, que por divisiones conjugadas de ambos tipos de núcleos y su posterior migración hacia los compartimientos de compatibilidad sexual contraria al núcleo que migra, se forma el micelio heterocarión o dicarión. A este tipo de micelio también se le conoce como micelio secundario. En la mayoría de casos, este micelio presenta en cada septo una estructura lateral conocida como conexión grapa o fíbula. El micelio que presenta este tipo de estructura frecuentemente se identifica como heterocarión y el que no las tiene como homocarión. Esto no es del todo verdadero, pues en un buen número de hongos el heterocarión no las forma (6).

El micelio heterocarión es capaz de crecer vigorosamente y de multiplicarse vegetativamente en esta condición de forma indefinida. Aún cuando la inducción y la formación de los basidiocarpos o setas son regulados por la interacción de un gran

número de factores, se pueden mencionar que estas son favorecidas por los cambios bruscos de humedad y concentración de CO<sub>2</sub> (6).

La cariogamia de los núcleos que forman el micelio heterocariótico, se presenta en las puntas de las hifas que forman la capa fértil del basidiocarpo (himenio), dando origen a basidios monocarióticos y diploides. Posteriormente el núcleo (2n) presenta meiosis y da origen a cuatro núcleos haploides (1n) que migran hacia los esterigmas, para formar las basidiosporas generalmente haploides y con un solo tipo de núcleo (6).

Las basidiosporas maduras son liberadas y pueden ser diseminadas por el viento, insectos, agua, animales y otros factores, para dar origen a hifas somáticas uninucleadas e iniciar nuevamente el ciclo de vida del hongo (Anexo 1) (6).

### **3. Valor nutricional**

Los análisis de la composición de los hongos cultivados han revelado que los hongos comestibles son ricos en proteínas y carbohidratos, moderados en fibra y cenizas, y bajos en grasas. Su valor energético es bajo, y son una buena fuente de aminoácidos esenciales, vitaminas y minerales. El potasio y el fósforo son dos elementos dominantes en la porción mineral. Los hongos contienen una porción sustancial de tiamina, riboflavina, niacina y de vitamina D<sub>2</sub>. En 100g de proteína cruda hay 32 a 48g de nueve aminoácidos esenciales. De estos, la lisina es la más abundante, mientras que las cantidades de triptófano y metionina son bajas (4).

### **C. Cultivo de hongos comestibles**

Se estima que el primer intento por cultivar hongos tuvo lugar en China hace 1,400 años. La primera especie cultivada fue *Auricularia auricula*, la siguiente fue *Flammulina velutipes*, la cual se cultivó 200 a 300 años después y la tercera fue *Lentinula edodes* (4).

Los hongos pueden ser cultivados a través de una variedad de métodos. Algunas técnicas son simples y requieren de poca o casi nada de experiencia por parte del cultivador. Otros, demandan mucha más técnica ya que incluyen procedimientos como el cultivo de tejido estéril. Los métodos simples toman poco tiempo, pero también requieren mayor paciencia por parte del cultivador. A medida que se progresa hacia métodos más técnicos la probabilidad de éxito se ve incrementada (7).

El cultivo de hongos comestibles requiere el cumplimiento de diferentes fases las cuales comprenden: a) selección del hongo, b) determinación de los requerimientos para el cultivo, c) producción de inóculo, d) preparación del sustrato, e) desarrollo del micelio y f) desarrollo de los cuerpos fructíferos (4,6).

El uso extensivo de las técnicas mecanizadas para cultivo para la producción de hongos para alimento, en grandes cantidades, como otras actividades agrícolas de gran escala, es un fenómeno del siglo XX. Después de la segunda guerra mundial, hubo una aceleración en la producción de *Agaricus*, y en las últimas décadas también se ha visto incremento en la producción de *Lentinula* y *Pleurotus*, y un poco menos extendido el cultivo de *Volvariella* y *Flammulina* (4).

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

En el año 1977, se estableció la primera planta productora de *Agaricus bisporus* y su actividad continúa hasta ahora. En la actualidad, cuatro compañías cultivan también este hongo y todas utilizan paja de trigo como sustrato. La producción de *Agaricus* en Guatemala es de 68,504 kg por año, el 70% de esta producción se consume en el país y el resto se exporta (8).

La primera planta productora de *L. edodes* se estableció en 1984, utilizando troncos de *Quercus* como sustrato. La producción comercial de *Pleurotus* inició en 1986, utilizando paja de trigo y pulpa de café como sustrato. La producción anual de *Pleurotus* es de aproximadamente de 29,580 Kg y la mayoría se consume en Guatemala. Este tipo

de hongo se vende en los mercados y supermercados, aunque inicialmente fue consumido por los franceses e italianos residentes en Guatemala (8).

La producción total de hongos comestibles en Guatemala ha sido estimada en 132,104 kg por año, incluyendo *A. bisporus* y *A. bitorquis* (51.9%), *L. edodes* (25.7%), y *Pleurotus* spp. (22.4%) (8).

#### **D. *Schizophyllum commune* Fr.**

El género *Schizophyllum* tradicionalmente se ha incluido en el orden de los Agaricales. Sin embargo, se ha señalado también que posee afinidades con los Aphylophorales, aunque la ontogénesis de sus láminas tiene una peculiar homología con las láminas de los Agaricales. Actualmente se clasifica de la siguiente manera (9,10):

Reino:	Fungi
Phylum:	Basidiomycota
Clase:	Basidiomycetes
Subclase:	Agaricomycetidae
Orden:	Agaricales
Familia:	<i>Schizophyllaceae</i>
Género:	<i>Schizophyllum</i>
Especie:	<i>commune</i> Fr.

#### **1. Características macro y microscópicas del basidiocarpio**

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

algunos pueden presentar un estípote pequeño de 0.3 a 0.8 cm de longitud y 0.3 a 0.5 cm de ancho, con las mismas características de textura de la superficie del píleo. Esporada blanca (11).

Las esporas miden de 3.0 a 5.0 por 1.0 a 2.0  $\mu\text{m}$ , cilíndricas a ovaladas, hialinas y lisas. Los basidios miden de 15.0 a 22.0 por 4.0 a 5.0  $\mu\text{m}$ , hialinos, cilíndricos con la base angosta (2).

## 2. Características miceliares

**a. Características coloniales:** Crecimiento moderadamente rápido, cubre completamente las cajas de petri en 3 semanas (2.0 cm/semana), cuando se incuba a 25°C en oscuridad; el micelio crece en los bordes de la caja después de 4 semanas. En la zona de avance, el micelio es hialino y compacto, cerca del inóculo se observa micelio aéreo, color blanco mate. La colonia es de textura algodonosa que se torna flocosa y tomentosa, con pequeños conglomerados de micelio compacto, después de cuatro semanas el reverso de la colonia se torna amarillento. Olor levemente afrutado. Se forman cuerpos fructíferos cerca de los bordes de la placa después de 6 semanas (12).

**b. Características hifales:** Zona de avance con hifas hialinas, septadas-nodosas, de pared delgada, ramificadas, de 2.0 a 4.0  $\mu\text{m}$  de diámetro. Micelio superficial y sumergido con hifas hialinas, septadas-nodosas, de pared delgada, ramificadas, de 1.5 a 9.0  $\mu\text{m}$  de diámetro (Anexo 2) (12).

## 3. Tipo de incompatibilidad sexual

Heterotámica y tetrapolar, es decir que la fecundación solo puede tener lugar entre dos micelios homocarióticos de genotipos diferentes para dos genes: los genes de incompatibilidad sexual o de tipo acoplamiento. Los hongos heterotálicos se prestan bien



a la mejora genética debido a que es fácil obtener micelios homocarióticos y, por lo tanto, es fácil dominar y controlar los cruzamientos que se deseen hacer con ellos (4, 13).

Los estudios con *Schizophyllum commune* proveen el marco de referencia para la investigación con hongos comestibles heterotálicos, ya que generalmente estas especies muestran un cercano paralelismo en cuanto a las consideraciones de los moduladores tipo Loci y la morfogénesis sexual. Esta especie se cuenta entre los hongos filamentosos de importancia especial para la investigación básica en basidiomycetes (4).

#### **4. Ciclo de vida**

En *S. commune*, una basidiospora (meiospora) germina para producir micelio monocariótico haploide. Dos complejos sexuales de compatibilidad opuesta controlan la compatibilidad sexual en los monocariones y regulan el mantenimiento del estado dicariótico. La fusión del micelio haploide monocariótico sexualmente compatible, resulta en la formación del micelio dicariótico. Las hifas de los dicariones, desarrollan fíbulas en cada septo, mientras que las hifas monocarióticas no lo hacen. El dicarion es la estructura vegetativa predominante en *S. commune* y en la mayoría de los basidiomycetes. Bajo condiciones apropiadas el dicarion produce los cuerpos fructíferos, en los cuales ocurre la meiosis. El micelio monocariótico y dicariótico es capaz de crecer indefinidamente, permitiendo el mantenimiento y duplicación del genotipo (14).

#### **5. Hábitat**

Crece únicamente sobre madera, ya sea en ramas o troncos en descomposición. Es capaz de sobrevivir en época seca, en madera expuesta al sol (11).

#### **6. Distribución**

Amplia, en todo el mundo (11). En Guatemala ha sido encontrado en las regiones de Flores y Parque Nacional Tikal (Petén) (15,16); Cobán, San Pedro Carchá, San Juan

Chamelco y Tactic (Alta Verapaz) (15,17,18,19); Biotopo del Quetzal (Baja Verapaz) (17,20); Playa Dorada Lago de Izabal, La Esmeralda, Río Dulce y Biotopo Chocón Machacas Livingston (Izabal) (17); Chipotón, Sumpango y Antigua Guatemala, (Sacatepéquez) (17,21); Chichicastenango (El Quiché) (17); Jacaltenango y San Mateo Ixtatán (Huehuetenango) (18,22); Tecpán (Chimaltenango) (23) y en San Juan Sacatepéquez (Guatemala) (17,24,25) (Anexo 3).

La amplia distribución de este hongo, según observaciones iniciales, sugiere que se debe a la capacidad de dispersión de esporas a largas distancias, frecuentemente entre poblaciones intercontinentales. Muestréos de aire realizados en el Caribe, reportaron que las esporas de *S. commune* son muy abundantes, con un radio de sedimentación estimado de 18 esporas/m<sup>2</sup>/h (26).

## 7. Etnomicología

En Guatemala se vende en grandes cantidades en el mercado de Cobán y municipios cercanos, donde se le conoce como *asam* en el idioma Q'eqchi'. Al igual que en Cobán, este hongo se vende en los mercados de Petén. Los pobladores de esta región refieren que es llevado a los mercados por los nativos de las aldeas cercanas, quienes lo colectan del llamado palo de jiote, palo de chacaj o indio desnudo, donde crece en conjuntos. Además, preparan un platillo tradicional, muy popular, llamado igual que el hongo en idioma maya o *xikin che'* (15).

Recientemente se reportó su consumo en Tactic (Alta Verapaz), donde se conoce como *Isem* en idioma Poqomchi'. También se utiliza en Jacaltenango y San Mateo Ixtatán (Huehuetenango), donde es llamado *Esem* y '*Asn* en los idiomas Popti' y Chuj, respectivamente. Se conoce también en Tecpán (Chimaltenango) con el nombre de *xikin kuk* en idioma Kaqchikel (15, 22, 23).

También se emplea en poblaciones de Oaxaca y Veracruz, México, en donde se vende en los mercados populares a pesar de su consistencia correosa y poco apetecible (2).

## **8. Propiedades medicinales**

En la medicina tradicional china, *Schizophyllum commune* se utiliza en forma de infusiones contra la leucorrea. Este hongo produce el polisacárido inmunoestimulante schizophylano, el cual se utiliza ampliamente para el tratamiento de cáncer cervical (4, 27, 28).

## **9. Estudios bioquímicos**

Se ha evaluado la inducción de síntesis de xilanasa y celulasa (endoglucanasas) en *S. commune*, utilizando varios mono-, oligo- y polisacáridos. La formación de ambas enzimas se indujo por medio de la utilización de celulosa o sustratos ricos en celulosa, de los cuales la celulosa bacteriana fue el mejor inductor, así también el disacárido celobiosa. Otros compuestos estructuralmente relacionados, incluyendo soforosa, lactosa, y 4-*O*- $\beta$ -galactopiranosil-D-manopiranososa, provocaron la síntesis significativa de ambas enzimas. El xilano aislado de madera de abedul, xilosa, y  $\beta$ -metil-D-xilósido, un análogo estructural de la xilobiosa, no indujo la formación de xilanasa. Los resultados obtenidos indicaron que la síntesis de xilanasa y celulasa parece estar bajo control de un regulador común en *S. commune* (29).

## **10. Cultivo de *S. commune***

*S. commune* no se ha cultivado a nivel mundial para la producción de cuerpos fructíferos con finalidad comestible, únicamente se ha cultivado para estudios genéticos y bioquímicos (4).

#### **a. Crecimiento en medios de cultivo**

Este hongo se desarrolla adecuadamente en medios de cultivo para hongos, como agar papa dextrosa, agar extracto de malta al 2% y en el medio extracto de levadura a una temperatura de 27°C y una humedad relativa del 70% (30).

#### **b. Factores ambientales y fructificación**

Se ha demostrado el efecto inhibitorio del dióxido de carbono sobre la fructificación de *S. commune*, cuando se colocaron placas inoculadas con micelio dicariótico en desecadores que contenían KOH para absorber CO<sub>2</sub>. El KOH mantuvo una atmósfera con concentraciones bajas de CO<sub>2</sub> (menor del 5%), observándose la fructificación del micelio dicariótico, mientras que a una concentración del 5% se inhibió completamente la formación de primordios (4).

La fructificación de este hongo se ve estimulada por la remoción o disminución de nutrientes. Tanto en cepas poco fructíferas como las que tienen buenas capacidades genéticas de fructificación, ésta puede inducirse frecuentemente cortando con un bisturí el micelio vegetativo. Los cuerpos fructíferos aparecen en el borde del corte. Comúnmente se forman cuerpos fructíferos en el borde de las cajas de petri (4).

También se indujo la formación de primordios por medio de la suplementación con tiamina, un requerimiento conocido para la fructificación. Se encontró que se requiere una fuente de carbono para el crecimiento de los primordios, pero en la formación de píleos no se requiere nutrientes. De hecho, si se añade glucosa, el desarrollo de los píleos se inhibe. En experimentos simultáneos donde se estudió la fructificación en cultivos en desarrollo, se encontró que la fructificación no se inhibió con suplementos continuos de glucosa (4).

### **c. Factores multigénicos para la fructificación**

Raper y Krongelb en 1,958, realizaron un extenso estudio de la fructificación de *S. commune* utilizando una muestra mundial que contenía 80 cepas monacarióticas, las cuales se hibridaron en todas las combinaciones posibles. Teóricamente debían obtenerse 3160 dicariones, excepto que hubo 60 casos en los cuales los monocariones fueron incompatibles entre sí, entonces solamente se obtuvo 3100 dicariones. Se estudió la habilidad de fructificar de estos dicariones bajo condiciones estándar de ambiente y nutrición. El análisis de los cuerpos fructíferos se realizó a intervalos de tiempo por 6 semanas (4).

A partir de las observaciones de esta muestra, se hicieron las siguientes generalizaciones (4):

- La mayoría de los dicariones fructificaron durante el período de 6 semanas.
- Los dicariones mostraron variabilidad en el tiempo de fructificación y en la morfología de los cuerpos fructíferos.
- La rápida y abundante fructificación fue característica de dicariones compuestos por ciertas cepas.
- La lenta y poca fructificación fue característica de dicariones compuestos por cepas distintas a las señaladas en el inciso anterior.
- Cuando los dicariones estaban compuestos por una cepa que fructificaba rápida y abundantemente; y por otra cepa, que tenía una pobre y lenta fructificación, frecuentemente fructificaban de buena forma.

Se observó que la forma de fructificación se hereda genéticamente, y que la buena fructificación domina sobre la pobre. También se encontró que la competencia en la fructificación era definitivamente heredada, pero esto no pudo ser explicado sobre las bases de un solo gen para la fructificación, con alelos alternados dominantes y recesivos para una buena o pobre fructificación, respectivamente (4).

Finalmente se concluyó que el control genético de la fructificación de este hongo es poligénica, con los genes de la cepa que fructifica adecuadamente enmascarando a los de la cepa poco fructífera. Raper y Krongelb catalogaron las cepas homocigotas utilizadas en su estudio como fructíferas, intermedias y pobres. Cualquier combinación que incluyera una cepa fructífera, tendría una fructificación rápida y adecuada (4).

#### **d. Fructificaciones mutantes morfológicamente**

Hay varios tipos de fructificaciones mutantes. Probablemente el primero en ser reportado y analizado es el mutante “retorcido”o nodoso, estudiado por Zlatter. Esta es una característica de un gen recesivo que en condición homocigótica produce cuerpos fructíferos que forman esporas, pero los cuerpos fructíferos son bastante deformes (4).

Se han observado otras numerosas aberraciones de los cuerpos fructíferos en *S. commune*, las cuales fueron descritas por Raper y Krongelb (Anexo 4). Se puede notar que estas anomalías en los cuerpos fructíferos incluyen tanto mutaciones de genes simples dominantes o recesivos y mutaciones bajo control poligénico (4).

### **11. *S. commune* como posible agente causal de basidiomicosis**

*S. commune* se ha descrito en Austria, Brasil, Colombia, Canadá, Estados Unidos y Japón como agente causal de onicomycosis, basidioneuromycosis, micosis broncopulmonar alérgica, obstrucción bronquial, bolas fúngicas en el pulmón, lesión ulcerativa en el maxilar superior, absceso cerebral y varios casos de sinusitis alérgica (31-39).

Sin embargo, dicha patogenicidad no ha sido corroborada en México y Guatemala, donde no se ha registrado ningún problema en la salud, a pesar del gran consumo que se hace de este hongo en comunidades de estos países (2,40).

#### IV. JUSTIFICACIÓN

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

En el año 2,003 Bran y colaboradores aislaron a partir de un espécimen proveniente de Jacaltenango, Huehuetenango, una cepa de *Schizophyllum commune*, que puede ser utilizada con fines de estudio, conservación y bioprospección de la diversidad fúngica con que cuenta el país. En este sentido, esta cepa puede ser utilizada como una alternativa alimenticia y económica en comunidades campesinas, mediante la producción de cuerpos fructíferos que pueden utilizarse tanto para el autoconsumo como para la venta.

Por lo tanto, es necesario el estudio de esta cepa nativa para evaluar su crecimiento en diferentes medios de cultivo y temperaturas, producir el inóculo sobre diferentes sustratos y determinar su fructificación sobre varios desechos agrícolas y forestales, con el fin de generar una tecnología que posteriormente podría utilizarse para el cultivo en regiones rurales del país.



## V. OBJETIVOS

### 1. General

Establecer las condiciones adecuadas para el cultivo *in vitro*, producción de inóculo y cuerpos fructíferos de *Schizophyllum commune* utilizando diferentes medios de cultivo y sustratos.

### 2. Específicos

- 2.1. Determinar el medio de cultivo (Agar Papa Dextrosa, Agar Extracto de Malta y Agar Sabouraud Dextrosado) y temperatura de incubación (22 y 26°C) donde la cepa presente el mayor crecimiento miceliar, a través de la evaluación del diámetro de las colonias y la producción de biomasa.
- 2.2. Evaluar la producción de inóculo de *S. commune* sobre diferentes sustratos (granos de arroz, trigo y maicillo) a dos temperaturas (22 y 26°C), a través de la determinación del tiempo de colonización miceliar.
- 2.3. Evaluar la producción de cuerpos fructíferos de la cepa de *S. commune* sobre cuatro sustratos, por medio de la cuantificación de la eficiencia biológica y la tasa de producción.

## VI. HIPÓTESIS

1. La cepa 52.2003 de *S. commune* evidencia un mayor diámetro de crecimiento miceliar en por lo menos en un medio de cultivo y una temperatura a estudiar.
2. La cepa 52.2003 de *S. commune* evidencia una mayor producción de biomasa en por lo menos en un medio de cultivo y una temperatura a estudiar.
3. El tiempo de colonización de la cepa de *S. commune* 52.2003 para la producción de inóculo, es menor sobre granos de maicillo en por lo menos una temperatura a evaluar.
4. La eficiencia biológica de la cepa 52.2003 de *Shizophyllum commune* presenta valores mayores al 50%, al ser cultivada sobre cualquiera de los sustratos.
5. La tasa de producción de la cepa 52.2003 presenta valores mayores a 1, al ser cultivada en cualquiera de los sustratos.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Universo de trabajo

Cepa 52.2003 de *Shizophyllum commune* de procedencia guatemalteca.

#### 1. Muestra

Cepa de *Shizophyllum commune* (52.2003) aislada a partir de ejemplares recolectados en Jacaltenango, Huehuetenango en el año 2,003 y almacenada en el Cepario de Hongos Saprofitos y Micorrízicos, del Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

### B. Recursos

#### 1. Humanos

- Estudiante Ligia Ivette Quan Sierra
- Lic. Osberth Morales (Asesor)

#### 2. Institucionales

- Micoteca de Macrohongos de Guatemala “Lic. Rubén Mayorga Peralta”, Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Cepario de Hongos Saprofitos y Micorrízicos, Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Laboratorios de Microbiología, Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

## **C. Materiales**

### **1. Medios de cultivo**

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

### **2. Reactivos:**

- Agua desmineralizada estéril
- Etanol al 70 por ciento (v/v)
- Fenol al 5 por ciento (p/v)

### **3. Sustratos para producción de inóculo**

- Granos de arroz
- Granos de trigo
- Granos de maicillo

### **4. Sustratos**

- Aserrín de pino
- Viruta de pino
- Viruta de ciprés
- Salvado de arroz

### **5. Equipo**

- Balanza semianalítica de 0-300 g con precisión 0.1
- Balanza analítica de 0-300 g con precisión 0.001
- Gabinete de bioseguridad tipo III
- Mechero
- Autoclave
- Incubadoras a 22 y 26°C

- Estufa
- Papel filtro
- Asas de nicromo
- Oradores de 5mm de diámetro
- Estereóscopo o Lupa tipo cuenta hilos de 10 a 15 aumentos
- Microscopio
- Regla
- Bisturí No. 20 o 22 con mango No. 4

#### **6. Cristalería**

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

### **D. Procedimiento**

#### **1. Revitalización de la cepa de *Shizophyllum commune***

A partir de la cepa de almacenada a 4°C se realizó su subcultivo en agar PDA y se incubó a 26°C por 5 días.

#### **2. Determinación del diámetro de crecimiento miceliar y producción de biomasa de la cepa de *Shizophyllum commune* a diferentes temperaturas**

El procedimiento que se utilizó es el descrito por Mier para hongos saprófitos (2002) (41).

- Se inocularon 20 cajas de Agar Sabouraud Dextrosado, Agar Extracto de Malta y Agar Papa Dextrosa; cada una con un fragmento miceliar de 5mm de diámetro de la cepa de *Schizophyllum commune* colocándolo en el centro de la placa.

- Se incubaron a 22 y 26°C 10 cajas de cada medio, respectivamente; hasta que el micelio cubrió la totalidad de la caja.
- Cada 24 horas se llevó a cabo la medición de dos diámetros que se transpongan perpendicularmente para calcular el diámetro medio.
- Con ayuda de un estereoscopio se observó la forma del crecimiento miceliar, el color del micelio, así como apariencia, consistencia y la forma de la colonia. Además de la presencia de pigmento difusible en el medio.
- Para la descripción de las características microscópicas se realizaron preparaciones en fresco de las colonias con agua destilada.
- Una vez concluida la incubación, se extrajo la colonia completa con un asa micológica flameada, procurando que no presentara restos de agar.
- Se depositaron en sobres de papel de aluminio previamente tarado.
- Después de envolverlos adecuadamente, se colocaron los sobres en un baño de agua hirviendo durante 5 a 10 minutos, con el objeto de fundir el agar, y eliminarlo por decantación.
- Se pesaron los fragmentos.
- Luego se colocaron en un horno a una temperatura de 75 a 80°C y se mantuvo allí hasta haber alcanzado peso constante (24 horas).
- Se determinó el peso seco de la biomasa fúngica obtenida por la diferencia entre el peso inicial y el final, esto será expresado en gramos.
- A través de esto se identificó la temperatura óptima de crecimiento como aquella bajo la cual se haya alcanzado la mayor tasa radial de crecimiento y la mayor producción de biomasa.

### **3. Producción de inóculo (42)**

#### **a. Preparación de los sustratos**

- Se remojaron los sustratos (granos de arroz, trigo y maicillo) por 24 horas.
- Se escurrieron para eliminar el exceso de agua.
- Los sustratos se colocaron en bolsas de polipapel, pesando 200 gramos del sustrato en cada uno de ellos y fueron esterilizados por 45 minutos a 15 psi.

#### **b. Inoculación de los sustratos**

- Se cortaron cuadros de  $1\text{cm}^2$  del micelio contenido en las cajas de Petri (teniendo el cuidado de no lastimarlo).
- A cada bolsa de polipapel se le agregaron 5 segmentos del micelio, colocados en contacto con el aire y teniendo el cuidado de no apelmazarlos.
- Después se cerraron las bolsas.

#### **c. Incubación de los sustratos inoculados**

- Se incubaron 10 bolsas de cada sustrato a 22 y 26°C.
- El crecimiento del micelio se observó cada 3 días, hasta que el micelio cubrió completamente los sustratos.

### **4. Producción de cuerpos fructíferos (43)**

#### **a. Preparación de los sustratos**

- Se mezcló el aserrín de pino, viruta de pino y viruta de ciprés con salvado de arroz a una concentración del 10 por ciento.
- Se colocaron cada una de las tres mezclas y el salvado de arroz en diferentes recipientes.

- Se les añadió agua para alcanzar una humedad aproximada del 58-60 por ciento y se mezcló nuevamente.
- En bolsas de polipapel se colocaron 1,000g del sustrato, se prepararon 5 bolsas para cada sustrato.
- Después se cerraron y se esterilizaron por una hora a 121°C y 15psi.

#### **b. Inoculación de los sustratos**

- Los sustratos fueron enfriados a 20°C.
- Se inoculó el sustrato con 100 g del vehículo que contiene el micelio.
- Se cerraron las bolsas.
- A las 72 horas se colocó un respiradero de 5 cm<sup>2</sup> elaborado con gasa estéril y asegurado en los bordes con cinta adhesiva.

#### **c. Incubación de los sustratos inoculados**

- Las bolsas se colocaron en un cuarto oscuro a temperatura ambiente para permitir el desarrollo de micelio por un tiempo máximo de cuatro semanas.
- Se anotó el tiempo transcurrido hasta que el micelio cubrió todo el sustrato.
- Cuando el micelio cubrió totalmente el sustrato se abrieron las bolsas.
- Se colocaron las bolsas a la luz y fueron humedecidas 3 veces al día con agua potable.
- Se dejaron por un tiempo máximo de 8 semanas para permitir el desarrollo de primordios y cuerpos fructíferos maduros.
- Se anotó el tiempo al cual se obtuvieron los cuerpos fructíferos.
- Los cuerpos fructíferos obtenidos se cortaron y pesaron para determinar la eficiencia biológica de la cepa sobre los sustratos.



- Se determinó la eficiencia biológica (EB) según la siguiente fórmula:

$$EB = \text{Peso de hongos frescos producidos/peso seco del sustrato}$$

- La tasa de producción (TP) se determinó en base a la siguiente fórmula:

$$TP = EB/\text{días requeridos para la cosecha}$$

## 5. Descripción de las características macroscópicas de los cuerpos fructíferos

Se realizó la descripción completa de las características de los cuerpos fructíferos de *Schizophyllum commune*, utilizando los ejemplares obtenidos a partir del cultivo. Se revisaron los siguientes aspectos:

**Píleo:** diámetro en milímetros (mm) y forma del píleo, centro y margen, las características como tipo de margen y borde, color del píleo y del contexto debajo de ella, ornamentación y presencia de cutícula desprendible.

**Himeno:** Láminas: la unión con el estípite y borde, forma, color, textura y frecuencia.

**Estípite:** diámetro y longitud en milímetros (mm), además de la forma, textura, presencia de vello, anillo, volva, escrobículos y color.

**Contexto:** consistencia, sabor, color y cambios al exponerse al ambiente, tanto en el segmento del píleo como del estípite.

**Esporas:** observar al microscopio y medir las dimensiones.

## E. Diseño experimental

### 1. Tipo de estudio

- Para la tasa radial de crecimiento micelial y producción de biomasa se realizó un estudio experimental con un diseño factorial 3 x 2, con diez réplicas de cada uno.

- Para la producción de inóculo se realizó un estudio experimental con 10 réplicas para cada medio de cultivo a ambas temperaturas.
- Para la determinación de la eficiencia biológica y tasa de producción un estudio experimental con 5 repeticiones para cada sustrato.

## **2. Análisis estadístico**

### a. Variables dependientes:

- Crecimiento micelial expresado como diámetro de crecimiento (mm).
- Biomasa expresada en gramos.
- Producción de cuerpos fructíferos expresado como eficiencia biológica y tasa de producción.

### b. Variables independientes:

- Temperaturas (22 y 26°C)
- Medios de cultivo: Agar Extracto de Malta (AEM), Agar Papa Dextrosa (PDA) y Agar Sabouraud Dextrosado (ASD).
- Sustratos para la producción de inóculo: granos de arroz, trigo y maicillo.
- Sustratos para la producción de cuerpos fructíferos: aserrín de pino, viruta de pino, viruta de ciprés y salvado de arroz.

## **3. Análisis de datos**

- Para la determinación de la tasa radial de crecimiento y la producción de biomasa en los medios de cultivo: Análisis de varianza para un diseño factorial 3x2 y la prueba de rangos múltiples de Tukey.
- Para la producción de inóculo y cuerpos fructíferos: Análisis de varianza de una vía y la prueba de rangos múltiples de Tukey.

## VIII. RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados del estudio de las características de cultivo *in vitro* de la cepa de *S. commune* 52.2003, de acuerdo con los objetivos planteados. En primer lugar se presenta el estudio del crecimiento micelial en cuanto al diámetro de las colonias y producción de biomasa. Seguidamente se muestran los resultados de la producción de inóculo y por último se exponen los hallazgos encontrados al evaluar la producción de cuerpos fructíferos.

### A. Evaluación del crecimiento micelial

Después de 7 días de incubación, el mayor diámetro de crecimiento micelial se encontró en el medio ASD<sup>1</sup> a 26°C, seguido de los medios PDA<sup>2</sup> y AEM<sup>3</sup> a esta misma temperatura. Asimismo, al comparar los resultados obtenidos a ambas temperaturas se observó que existió entre todos los otros medios de cultivo a ambas temperaturas ( $p < 0.05$ ), con excepción de los medios AEM a 26°C con PDA a 22°C ( $p > 0.05$ ) entre los cuales no se observó diferencia significativa (Tabla 1).

Macroscópicamente, en todos los medios de cultivo las colonias presentaron color blanco y textura algodonosa, presentándose exudado solamente en los tres medios incubados a 26°C (Figura 1). La formación de primordios se observó únicamente en el medio PDA a 26°C.

Microscópicamente, la cepa presentó hifas con 2.0 y 7.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, presencia de fíbulas y proyecciones hifales en todos los medios de cultivo. La formación de clamidosporas se observó solamente en el medio ASD a ambas temperaturas, así como en el medio AEM a 22°C (Tabla 1, Figura 2).

---

<sup>1</sup> ASD: Agar Sabouraud Dextrosa

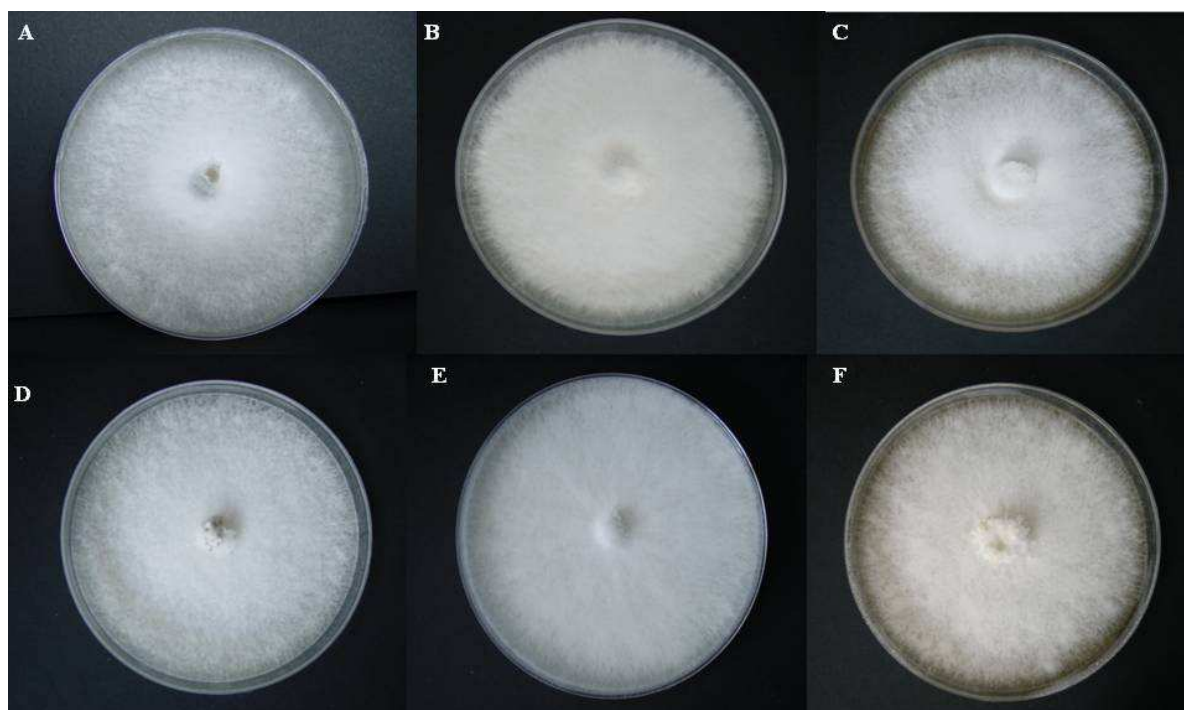
<sup>2</sup> PDA: Agar Papa Dextrosa

<sup>3</sup> AEM: Agar Extracto de Malta

**Tabla 1. Características de las colonias de *S. commune* 52.2003, en tres medios de cultivo y dos temperaturas, después de 7 días de incubación.**

Temperatura (°C)	Medio	Diámetro <sup>1</sup>	Exudado <sup>2</sup>	Primordios <sup>3</sup>
26	ASD	85.00 ± 0.00 a	P	A
	PDA	76.60 ± 1.34 b	P	P
	AEM	66.70 ± 0.94 c	P	A
22	PDA	65.90 ± 0.87 c	A	A
	ASD	64.50 ± 1.17 d	A	A
	AEM	58.00 ± 1.05 e	A	A

1. Diferentes letras en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa, de acuerdo con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ( $\alpha=0.05$ ).  
 2, 3. P = Presente; A = Ausente.



**Figura 1.** A-F. Colonias de la cepa de *Schizophyllum commune* 52.2003, obtenidas en los tres medios de cultivo a las dos temperaturas de incubación, presentando micelio algodonoso de color blanco. A. Micelio algodonoso y laxo obtenido en PDA a 22°C. B. Micelio algodonoso y compacto en el medio ASD a 22°C. C. Micelio algodonoso y laxo en el medio AEM a 22°C. D. Micelio algodonoso y laxo, con formación de primordio en el centro de la colonia, en el medio PDA a 26°C. E. Micelio algodonoso y compacto en el medio ASD a 26°C. F. Micelio algodonoso y laxo en el medio AEM a 26°C.



**Figura 2.** A-B. Características microscópicas de la cepa de *S. commune* 52.2003. A. Hifas en el medio PDA a 26°C, donde se observa la presencia de proyecciones sobre las paredes de las hifales o espículas (x400). B. Clamidospora terminal formada en las hifas desarrolladas en agar ASD a 26°C (x400). C. Fíbula formada en agar AEM a 26°C (x400).

## B. Evaluación de la producción de biomasa

La mayor cantidad de biomasa a ambas temperaturas se produjo en el medio ASD (a los 7 días de incubación), mientras que la menor cantidad se obtuvo en el medio AEM a 22°C (Tabla 2).

Se encontró diferencia estadísticamente significativa en la cantidad de biomasa producida en todos los medios y temperaturas evaluadas ( $p < 0.05$ ).

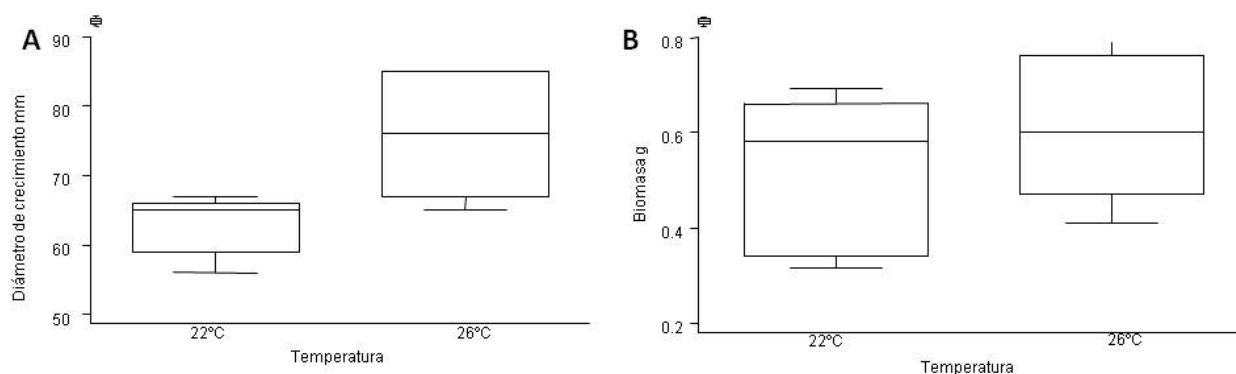
**Tabla 2. Biomasa de *S. commune* producida a los 7 días de incubación.**

Temperatura(°C)	Medio	Biomasa (g) <sup>1</sup>
26	ASD	0.77 ± 0.01 a
	PDA	0.60 ± 0.01 b
	AEM	0.45 ± 0.02 c
22	ASD	0.67 ± 0.14 d
	PDA	0.58 ± 0.01 e
	AEM	0.33 ± 0.01 f

1. Medias obtenidas a partir de 10 repeticiones, diferentes letras en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

Con respecto al efecto de las temperaturas de incubación evaluadas, se observó que a 26°C las colonias fueron mayores en diámetro y la producción de biomasa también fue alta (sin tomar en cuenta el medio de cultivo). Sin embargo, la temperatura influye de una forma más pronunciada en el crecimiento miceliar que en la producción de biomasa (Gráfica 1).

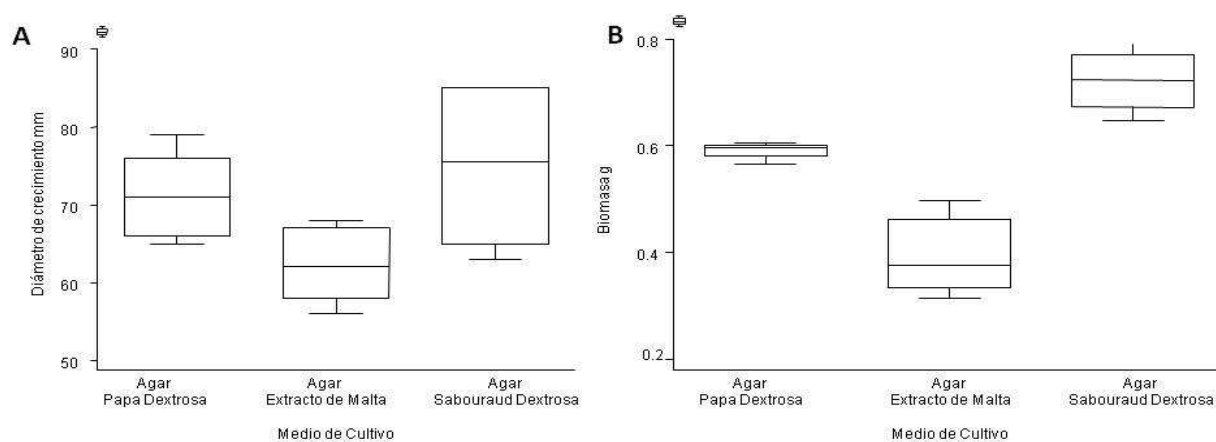
**Gráfica 1. Efecto de la temperatura sobre el diámetro de las colonias y producción de biomasa, de la cepa de *S. commune* 52.2003.**



A. Efecto de la temperatura sobre el diámetro de las colonias. B. Efecto de la temperatura sobre la producción de biomasa.

Por otra parte, se observó que tanto en el diámetro de las colonias y la producción de biomasa (independientemente de la temperatura de incubación), tuvieron un comportamiento similar dependiendo del medio de cultivo utilizado, puesto que para ambos parámetros se obtuvieron valores altos en el medio ASD, seguido de PDA y por último AEM (Gráfica 2).

**Gráfica 2. Efecto del medio de cultivo sobre el diámetro de las colonias y producción de biomasa, de la cepa de *S. commune* 52.2003.**



A. Efecto del medio de cultivo sobre el diámetro de las colonias. B. Efecto del medio de cultivo sobre la producción de biomasa.

### C. Evaluación de la producción de inóculo sobre diferentes sustratos a dos temperaturas

La colonización de los vehículos se observó en un rango de 12 a 24 días. El tiempo más corto para la producción de inóculo fue el de maicillo a 26°C (12 días), seguido de trigo a 26°C y maicillo a 22°C (15 días). El tiempo más prolongado fue en granos de arroz a 22°C (24 días). Este fue el sustrato en donde se presentó el crecimiento más lento a ambas temperaturas (Tabla 4).

Al comparar los días de producción del inóculo, se determinó que no existió diferencia estadísticamente significativa entre el maicillo a 22°C y el trigo a 26°C ( $p>0.05$ ), mientras que si se observó diferencia entre los anteriores y los otros sustratos a ambas temperaturas ( $p<0.05$ ) (Tabla3).

**Tabla 3. Tiempo de colonización de la cepa *S. commune* 52.2003 para la producción de inóculo**

Temperatura(°C)	Sustratos	Días <sup>1</sup>
26	Maicillo	12 ± 0.70 a
	Trigo	15 ± 0.70 b
	Arroz	21 ± 0.83 c
22	Maicillo	15 ± 0.70 b
	Trigo	18 ± 0.70 d
	Arroz	24 ± 0.83 e

1. Medias obtenidas a partir de 10 repeticiones. Diferentes letras en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

### D. Producción de cuerpos fructíferos

Los cuerpos fructíferos se desarrollaron a los 35 días después de la inoculación de los sustratos, a pesar de que estos no fueron colonizados en su totalidad por el micelio del hongo. La mayor eficiencia biológica y tasa de producción se obtuvieron en viruta de ciprés con salvado de arroz al 10% (22.88% y 0.651, respectivamente), aunque el rango de diámetro de los púleos fue el menor en este sustrato (0.5 a 3.0 cm). La menor eficiencia biológica y tasa de producción (10.88% y 0.311, respectivamente) se obtuvo en viruta de pino con salvado de arroz al 10% y los rangos de diámetro de los púleos estuvieron entre 0.5 y 3.5 cm (Tabla 4 y 5).

El análisis estadístico demostró diferencia significativa al comparar la eficiencia biológica obtenida en viruta de ciprés con salvado de arroz al 10% con los otros tres sustratos ( $p < 0.05$ ), mientras que entre estos últimos no se observó diferencia significativa ( $p > 0.05$ ).

**Tabla 4. Eficiencia biológica y tasa de producción de *S. commune*, obtenidas sobre diferentes sustratos.**

Sustrato	EB (%) <sup>1</sup>	TP <sup>2</sup>
Viruta de ciprés + salvado de arroz al 10%	22.88 ± 2.48 a <sup>3</sup>	0.651
Salvado de arroz	14.91 ± 3.75 b	0.426
Aserrín de pino + salvado de arroz al 10%	12.86 ± 3.08 b	0.367
Viruta de pino + salvado de arroz al 10%	10.88 ± 4.36 b	0.311

1. Eficiencia biológica determinada a partir de la media de 2 cosechas obtenidas y cinco repeticiones.

2. Tasa de producción, calculada a partir de la eficiencia biológica.

3. Eficiencias biológicas con la misma letra en la columna, no son significativamente diferentes, según la prueba de rangos múltiples de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

Los cuerpos fructíferos obtenidos sobre los cuatro sustratos ensayados mostraron características similares, observándose que el diámetro del píleo varió entre 0.3 a 3.5 cm de diámetro, todos ellos con forma espatulada. La coloración de los mismos varió entre café amarillento a blanquecino rosáceo. El estípite tuvo una longitud entre 0.1 y 0.3 cm (Tabla 5).

**Tabla 5. Características de los cuerpos fructíferos de *S. commune*, obtenidos sobre diferentes sustratos.**

Sustrato	Diámetro (cm)	Forma	Color	Estípite (cm)
Viruta de ciprés + salvado de arroz al 10%	0.5-3.0	Espatulada	Café-amarillento	0.1-0.3
Salvado de arroz	0.6-3.3	Espatulada	Amarillento rosáceo	0.1-0.2
Aserrín de pino + salvado de arroz al 10%	0.7-3.5	Espatulada	Gris-rosáceo	0.1-0.2
Viruta de pino + salvado de arroz al 10%	0.3-3.5	Espatulada	Blanquecino-amarillento	0.2-0.3





**Figura 3.** A-D. Cuerpos fructíferos obtenidos en los sustratos evaluados. A. Viruta de ciprés con salvado de arroz al 10%, cuerpos fructíferos de color café amarillento. B. Salvado de arroz, cuerpos fructíferos amarillo rosáceo. C. Aserrín de pino con salvado de arroz al 10 %, cuerpos fructíferos gris rosáceo. D. Viruta de pino con salvado de arroz al 10%, cuerpos fructíferos blanquecino amarillento.

## IX. DISCUSIÓN

En esta investigación se observó que la cepa de *S. commune* evaluada presentó mejores respuestas tanto en crecimiento micelial como en producción de biomasa a 26°C, comparado con los resultados a 22°C. Este comportamiento puede deberse a que la temperatura afecta el metabolismo de las células y, al aumentar la temperatura, se incrementa el metabolismo fúngico, obteniéndose un mayor crecimiento micelial y formación de biomasa (4).

Por otra parte, es posible que un hongo tenga una temperatura óptima de crecimiento micelial y otra diferente para la producción de biomasa (43). Sin embargo, en este caso tanto el crecimiento micelial como producción de biomasa se incrementaron al aumentar la temperatura de incubación, lo cual se considera una característica adecuada cuando una cepa se cultiva con fines de producción de cuerpos fructíferos (44).

Se ha observado que las cepas de todos los hongos se comportan de diferente manera en cada medio de cultivo. Puede variar su morfología, color, tasa de crecimiento, producción de biomasa y por lo tanto, se deben realizar estudios de caracterización micelial para conocer de qué manera se comporta en cada medio (43).

En este estudio se evidenció la existencia de una relación directa entre el porcentaje de glucosa presente en los medios de cultivo evaluados y el crecimiento micelial y producción de biomasa, ya que el medio ASD fue el más apropiado para el crecimiento de la cepa evaluada. Este medio contiene el mayor porcentaje de glucosa de todos los medios evaluados (4%), además 1% de peptona, componentes que se han reportado indispensables para el crecimiento de *S. commune* (45). En el medio PDA, que contiene la mitad del porcentaje de glucosa que el medio anterior (2%), así como extracto de papa (0.4%), se observó un crecimiento moderado de la cepa. Así mismo, en el medio AEM que no contiene glucosa, sino solamente 3% de extracto de malta (constituido por maltosa) y un porcentaje bajo de peptona de soya (0.3%), se obtuvo el menor crecimiento y producción de biomasa (46,47).

Con respecto a las características macroscópicas de las colonias, el desarrollo de micelio algodonoso de color blanco, concordó con lo reportado para aislamientos de *S. commune* procedentes de Canadá y Costa Rica (12,48), con excepción de la producción de exudado a 26°C, lo cual puede ser una característica propia de las cepas guatemaltecas y que además usualmente indica la producción de metabolitos secundarios, como en el caso de *Pleurotus*, *Lentinula*, *Ganoderma*, *Grifola*, *Volvariella* y *Flammulina* (49). Estos metabolitos incluyen varias sustancias bioactivas con efectos inmunomoduladores, tales como polisacáridos, lectinas, triterpenoides y proteínas con efecto inmunomodulador (4).

En cuanto a las características microscópicas, las hifas presentaron las medidas reportadas en la literatura, incluyendo las proyecciones de las paredes hifales propias de *S. commune* y que sirven como principal carácter para su identificación (48).

Las clamidosporas observadas en el medio ASD y AEM son estructuras de resistencia. En este caso, su formación podría representar la escasez de nutrientes que se presenta después de la fase logarítmica de crecimiento durante la cual son utilizados para la producción de micelio, ya que las observaciones microscópicas se llevaron a cabo cuando el hongo había alcanzado su crecimiento máximo en la caja de petri. Por otra parte, no se han reportado esta característica en estudios con cepas de *S. commune*, sin embargo, se han observado clamidosporas en cultivos jóvenes (3 días) de *Volvariella volvacea*, sin que se haya determinado la causa del desarrollo de las mismas en el micelio (4).

Con respecto a la temperatura de incubación para la producción de inóculo, se observó la misma tendencia que en el crecimiento miceliar, ya que a 26°C el inóculo se desarrolló en menor tiempo. En cuanto a los vehículos utilizados para este propósito, el maicillo fue el que presentó los menores tiempos de producción a ambas temperaturas, esto se debe a que el maicillo posee un 69.5% de almidón, mientras que el trigo un 67%, y, dado que el micelio dicariótico de *S. commune* produce una glucoamilasa ( $\alpha$ -1,4-glucoamiloglucanoglucosidasa), entre mayor sea el contenido de almidón, teóricamente el hongo se desarrollará mejor (50-54). En el caso del arroz, a pesar de poseer un 82% de almidón, presentó los tiempos más prolongados para producir el inóculo, esto

debido a que contiene también el aminoácido lisina (0.37%), el cual ha sido reportado como un inhibidor del desarrollo de micelio de *S. commune* (47).

Respecto a la producción de cuerpos fructíferos, se conoce que *Schizophyllum commune* es un hongo degradador de madera y produce basidiomas sobre madera en descomposición. Al respecto, la producción de cuerpos fructíferos pudo estar influida por el contenido de lignina en el tipo de madera utilizada, así como por la suplementación con una fuente de nitrógeno (salvado de arroz), ya que la mayor eficiencia biológica y tasa de producción se obtuvo en el sustrato con mayor porcentaje de lignina (viruta de ciprés) suplementado con un 10% de salvado de arroz. El porcentaje de lignina de la viruta de ciprés es de 32.4%, mientras que en el aserrín y viruta de pino es de 25.7%, y en el salvado de arroz (13.11%) (55-56). Por otra parte, el salvado de arroz contiene tiamina (12-24  $\mu\text{g/g}$ ), la cual ha sido reportada como factor importante para el crecimiento de este hongo y debido a su contenido de proteínas (12-15.6%), es una fuente rica en nitrógeno, que ha sido identificado como factor importante en la formación de píleos (57,58).

*S. commune* produce enzimas ligninolíticas (lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa y lacasa) (55), por lo que al combinarse un sustrato con un porcentaje mayor de lignina, como en el caso de la viruta de ciprés, adicionado con una fuente de nitrógeno y tiamina (salvado de arroz), el hongo posee una mayor cantidad de nutrientes, lo que a su vez genera una mayor cantidad de cuerpos fructíferos producidos, lo cual se traduce en valores también mayores de eficiencia biológica. Esta observación se ve reforzada por el hecho que haya existido diferencia significativa entre la eficiencia biológica obtenida en este sustrato, comparado con la aserrín de pino con salvado de arroz al 10%, la viruta de pino con salvado de arroz al 10% y el salvado de arroz.

Por otra parte, existió una aparente contradicción en los resultados obtenidos, ya que en el salvado de arroz solo (sin ninguna combinación con madera), que posee el porcentaje más bajo de lignina de los sustratos evaluados, produjo una eficiencia biológica superior a la obtenida en los sustratos de aserrín y viruta de pino suplementados con salvado de arroz al 10%. Esto a la vez sugiere que pudieran existir otros factores (no evaluados en la presente investigación) que influyen en la producción de cuerpos fructíferos por parte de la cepa en estudio.

Otro factor que pudo incidir en los resultados obtenidos, fue el porcentaje de celulosa presente en los sustratos, en los cuales, el porcentaje fue mayor en la viruta y aserrín de pino (60.48%), comparado con la viruta de ciprés (56.07%) y el salvado de arroz (12.8%) (56). Para la degradación de celulosa, *S. commune* produce celulasas ( $\beta$ -glucosidasa, endoglucanasa y celobiohidrolasa) y además xilanasa (29,57), sin embargo, los resultados sugieren que la cantidad de celulosa no influyó la producción de cuerpos fructíferos, ya que los dos sustratos con el mayor porcentaje de celulosa, obtuvieron los menores valores de eficiencia biológica (58).

De acuerdo con las observaciones anteriores, se puede inferir que la cantidad de lignina presente en el sustrato fue importante, pero lo fue aún más la presencia de tiamina y proteína, ya que si bien el aserrín y viruta de pino poseen más cantidad de lignina que el salvado de arroz, pareció no influenciar en la producción de cuerpos fructíferos, ya que tampoco se observó diferencia significativa entre la eficiencia biológica obtenida en los sustratos mencionados. Por otra parte, la cantidad de celulosa presente en los sustratos, no repercutió en los resultados obtenidos.

Adicionalmente, se puede sugerir que la cepa estudiada es más eficiente en degradar lignina que celulosa, por lo que debe realizarse un estudio de evaluación de producción de enzimas por dicha cepa.

A pesar de que se *S. commune* es considerado un hongo degradador de la madera, no se obtuvo resultados satisfactorios para fines de productividad, ya que los sustratos no fueron completamente colonizados por el hongo y los porcentajes de eficiencia biológica y tasa de producción fueron muy bajos, comparados con los que se obtienen con otros hongos comestibles como *Pleurotus*, en el que la eficiencia biológica en algunos casos supera el 100% (44,59-61). Esto puede deberse a que en la naturaleza este hongo coloniza madera en descomposición y los sustratos utilizados para este estudio no fueron sometidos a un proceso de composteo previo en el cual la lignina y la celulosa fueran degradadas a nutrientes menos complejos.

Finalmente, el color de los cuerpos fructíferos obtenidos fue diferente en cada uno de los sustratos evaluados. Sin embargo, toda la gama de colores observada se ha reportado en la literatura (2, 5, 9), de manera que en estudios posteriores debe estudiarse la influencia del sustrato en el color de los cuerpos fructíferos, así como en su consistencia, sabor y tamaño.

## X. CONCLUSIONES

1. Se observó que la cepa de *Schizophyllum commune* 52.2003 se desarrolló de manera más eficiente en medios que contenían un mayor porcentaje de glucosa y a una temperatura de 26°C.
2. El maicillo incubado a 26°C fue el sustrato en donde se produjo en menor tiempo inóculo de la cepa *S. commune* 52.2003.
3. El sustrato en donde se obtuvo la mayor eficiencia biológica y tasa de producción de cuerpos fructíferos de *S. commune* 52.2003 fue la viruta de ciprés suplementada con salvado de arroz al 10%.

## XI. RECOMENDACIONES

1. Evaluar el crecimiento micelial y producción de biomasa en otros medios de cultivo con mayores porcentajes de glucosa y peptona.
2. Para fines de productividad, utilizar cultivos de esta cepa que no hayan alcanzado su máximo crecimiento en los medios que contienen 4% de glucosa o extracto de malta, para evitar el desarrollo de clamidosporas.
3. Evaluar la producción de inóculo en otros vehículos con altos contenidos de almidón, con el fin de obtener menores tiempos de producción.
4. Utilizar maderas que hayan sido sometidas a un proceso de composteo para evaluar el comportamiento de la cepa *S. commune* 52.2003 bajo esas condiciones.
5. En las pruebas de fructificación, evaluar otras posibles fuentes de nitrógeno y tiamina que puedan ser utilizadas como suplementos en los sustratos.
6. Realizar pruebas de producción de enzimas lignocelulolíticas por parte de esta cepa.



## XII. REFERENCIAS

1. Mueller G. *et al.* Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods. Elsevier Academic Press. USA. 2004. 777p. (p.1)
2. Guzmán G. Los Hongos del Edén Quintana Roo; Introducción a la micobiota tropical de México. México: Instituto de Ecología, 2003. 316p. (p.9)
3. Alexopoulos C. Introductory micology. 4<sup>a</sup>. ed. USA: John Wiley & Sons Inc. 1996. 896p. (p.62).
4. Chang S., Miles P. Mushrooms cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. 2a. ed. USA: CRC Press, 2,004. 451p. (p.13-114,135,139,203)
5. Mata M. *et al.* Macrohongos de Costa Rica. Costa Rica: INBio. Vols. 2, Vol 2, 2003. 240p. (p.11-13).
6. Huerta G. Generalidades sobre los hongos, con énfasis en los basidiomicetos. En: La Biología y el Cultivo de *Pleurotus* spp. Sánchez J., Royse D. eds. México: Limusa. 2002. 294p. (p. 45-46).
7. Quimio T., Chang S. Technical guidelines for mushroom growing in the tropics. Italia: FAO, 1990. (p. 91-93).
8. De León R. Cultivation of edible and medicinal mushrooms in Guatemala, Central America. *Micol Apl Int* 2003; 15(1): 31-35.
9. Singer R. The Agaricals in modern taxonomy. 3<sup>a</sup>. ed. Alemania: Strauß & Cramer GmbH, 1975. 912p. (p.801).

10. Indexfungorum, Clasificación taxonómica *Schizophyllum commune*. CABI Bioscience Databases Information Page. 2004. 30 de junio del 2,004 <<http://www.indexfungorum/names/fundic.asp>>
11. Mata M. Macrohongos de Costa Rica. Costa Rica: INBio. 1999. Vols.2, Vol 1. 253p. (p.214-215).
12. Carranza J., Ruiz-Boyer A. Cultural studies on some genera of basidiomycetes (Basidiomycota) from Costa Rica. Harvard Papers in Botany 2001; 6 (1): 57-81.
13. Labarere J., Bois F. La conservación y el uso de los recursos genéticos de *Pleurotus* spp. En: La Biología y el Cultivo de *Pleurotus* spp. Sánchez J., Royse D. eds. México: Limusa. 2002. 294p. (p.91).
14. Clark T., Anderson J. Dikaryons of the basidiomycete fungus *Schizophyllum commune*: Evolution in long-term culture. Genetics 2004; 167:1663-1675.
15. Sommerkamp Y. Hongos Comestibles en los Mercados de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación. Guatemala, 1990. 77p. (p.44).
16. Rizzo E. Estudio taxonómico de la mycobiota del parque arqueológico Tikal. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1999.
17. Sommerkamp, Y., G. Guzmán. Hongos de Guatemala, II. Especies depositadas en el Herbario de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Rev Mex Mic 1990; 6: 179-197.

18. Bran M. *et al.* Hongos comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula. (Fase IV). Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación (DIGI). Informe de Avance 2004. Guatemala. 2004. 60p.
19. Bran M. *et al.* Contribución al conocimiento de los hongos comestibles de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas. Revista Científica. Guatemala. 2003. Vol.1 No.1. 24p.
20. Sommerkamp Y. Estudio de los macromicetos del Biotopo Universitario “Lic. Mario Dary Rivera” para la conservación del Quetzal. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1985. 92p.
21. Herrera K. Estudio etnomicológico en la región de Chipotón Sacatepéquez. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1991. 92p.
22. Bran M. *et al.* Hongos comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula. (Fase III). Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación (DIGI). Informe técnico final 2003. Guatemala. 2003. 58p. (p.13-16).
23. Morales O. Estudio etnomicológico de la Cabecera Municipal de Tecpán Guatemala, Chimaltenango. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2001. 92p.
24. Argueta J. Estudio de los macromicetos de la ciudad de Guatemala, Mixco y San Juan Sacatepéquez. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1983. 86p.

25. Sharp, A. 1948. Some fungi common to the highlands of México and Guatemala and eastern United States. *Mycologia* 40: 499-502.
26. James T., Vilgalys R. Abundance and diversity of *Schizophyllum commune* spore clouds in the Caribbean detected by selective sampling. *Mol Ecol* 2001; 10: 471-479.
27. Takeda K., Okumura K. CAM and NK Cells. *eCAM* 2004; 1(1): 17-27.
28. May G., Adams T. The Importance of Fungi to Man. *Genome Res* 1997; 7:1041-1044.
29. Haltrich D., Sebesta B. Steiner W. Induction of xylanase and cellulase in *Schizophyllum commune*. En: *Enzymatic degradation of insoluble carbohydrates*. Saddler J., Pender M. eds. Washintong, USA: American Chemical Society 1995; 374p. (p. 305-317).
30. Croan S., Kim Y. Carporogenesis and basidiosporogenesis by *Flammulina velutipes*, *Schizophyllum commune* and *Trametes versicolor* *in vitro*. U.S.A.: U.S. Department of Agriculture. 16p.
31. Klingman A. A basidiomycete probably causing onychomycosis. *J Investig Dermatol.*1950, 14:67-70.
32. Batista A., Maia J., Sigler R. Basidioneuromycosis on man. *An Soc Pernambuco*, 1955. 13:52-60.
33. Kamei K. *et al.* Allergic bronchopulmonary mycosis caused by the basidiomycetous fungus *Schizophyllum commune*. *Clin Infect Dis* 1994, 18:305-309.
34. Amitani R. *et al.* Bronchial mucoid impaction due to the monokaryotic mycelium of *Schizophyllum commune*. *Clin Infect Dis* 1996, 22:146-148.

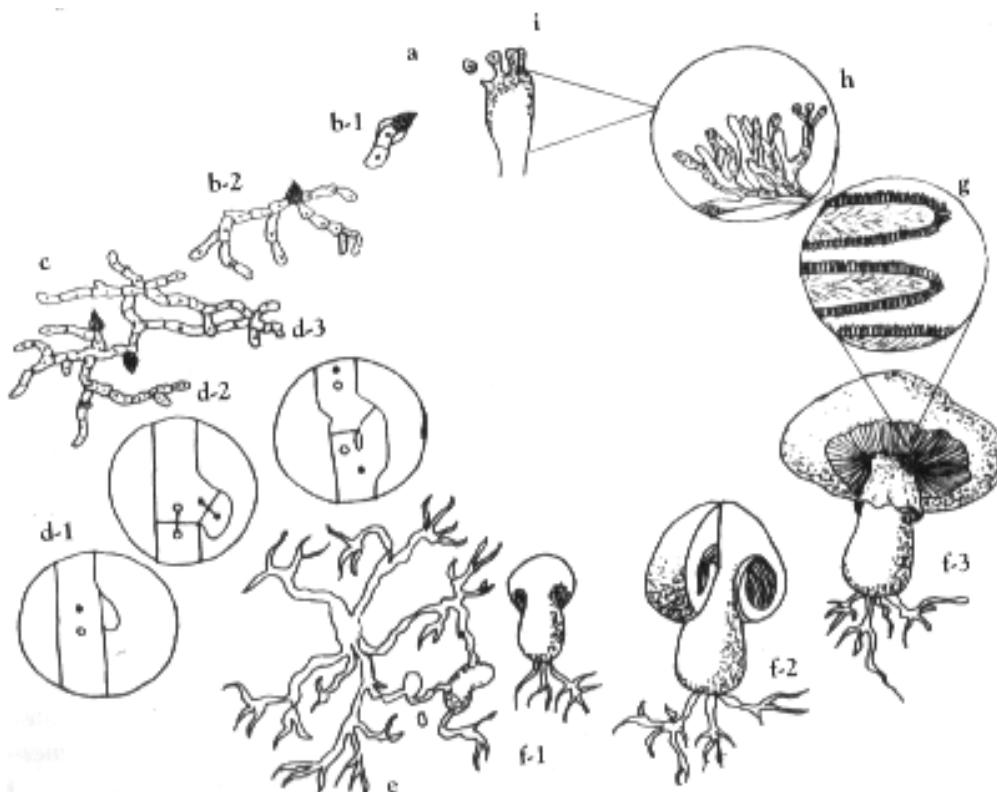
35. Cifferi R., Batista A., Campos S. Isolation of *Schizophyllum commune* from a sputum. *Atti Ist Bot Lab Crittogam Univ Pavia*. 1956, 14:3-5.
36. Sigler L. *et al.* Diagnostic difficulties caused by nonclamped *Schizophyllum commune* isolate. *J Clin Microbiol*. 1995, 33:1979-1983.
37. Restrepo A. *et al.* Ulceration of the palate caused by a basidiomycete *Schizophyllum commune*. *Sabourodia*. 1973, 9:201-204.
38. Ribs J. Padhye A. Good C. Brain abcess caused by *Schizophyllum commune*; an emerging basidiomycete pathogen. *J Clin Microbiol*. 1996, 34:1628-1632.
39. Buzina W. *et al.* Development of molecular methods for identification of *Schizophyllum commune* from clinical samples. *J Clin Microbiol*. 2001, 39:2391-2396.
40. Guzmán G. Observaciones sobre la ecología de los hongos, en especial de los macromicetos. En: Méndez R., López-Martínez R., Hernández F. *Actualidades de Micología Médica*, Facultad de Medicina, UNAM, México D. F. 2002.
41. Mier T., Toriello C., Ulloa M. Hongos microscópicos saprobios y parásitos: métodos de laboratorio México: Instituto de Biología UNAM, 2002. 90p (p.34-35).
42. Quimio T. Preparación de la semilla. En: *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* Sánchez J., Royse D. eds. México: Limusa. 2002. 294p. (p.141-155).
43. Sánchez J., Royse D. El Cultivo de *Pleurotus spp.* En: *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* Sánchez J., Royse D. eds. México: Limusa. 2002. 294p. (p.59, 132, 187-201).
44. Salmones D, *et al.* Estudios sobre el género *Pleurotus*, VIII. Interacción entre crecimiento micelial y productividad. *Rev Iberoam Micol* 1997; 14: 173-176.

45. Niederpruem D., Wessels, J. Cytodifferentiation and morphogenesis in *Schizophyllum commune*. *Bacteriol Rev* 1969; 33 (4): 505-535.
46. *Microbiology Manual*. Merck. 2000. 407p. (154,191,202).
47. Niederpruem D., Hobbs H., Henry L. Nutritional Studies of Development in *Schizophyllum commune*. *J Bacteriol* 1964; 88 (6): 1721-1729.
48. Nobles, M. Identification of cultures of wood-inhabiting Hymenomycetes. *Can J Botany* 1965; 43: 1097-1139.
49. Stamets, P. *Growing gourmet and medicinal mushrooms*. USA: Ten Speed Press. 1993. 554p. (p.126).
50. Schwalb, M. Developmental regulation of amilase activity during fruiting of *Schizophyllum commune*. *J Bacteriol* 1971; 108 (3): 1205-1209.
51. Anónimo. El sorgo y el mijo en la nutrición humana. Colección FAO: Alimentación y nutrición N°27. Roma 1995. Disponible en: <http://www.fao.org:80/docrep/t0818s/T0818S00.HTM>. Fecha de consulta: 3 de febrero del 2009.
52. McCance, A. *et al.* The chemical composition of wheat and rye and flours derived therefrom. *Biochem J* 1945; 39 (3): 213-222.
53. Pluske J. Consecuencias de la variación en la composición química del trigo para cerdos destetados. 2003. Disponible en: <http://www.3tres3.com/opinion/ficha.php?id=724>. Fecha de consulta: 3 de febrero del 2009.
54. Muzafarov, D. Mazhidov, K. Chemical composition of husked and polished rice. *Chem Nat Comp* 1997; 33 (5): 601.

55. Boyle, D. *et al.* Solubilization and mineralization of lignin by white rot fungi. *Appl Environ Microbiol* 1992; 58 (10): 3217-3224.
56. Viger, J. *et al.* Manual de ingeniería básica para la prevención y extinción de incendios forestales. España: Mundi Prensa Libros. 2004. 414p. (p.405).
57. Luh, B. Rice: Production. 2<sup>a</sup> ed. Alemania: Springer. 1991. 413p (p.313).
58. Desrochers, M., *et al.* High production of  $\beta$ -glucosidase in *Schizophyllum commune*: Isolation of the enzyme and effect of the culture filtrate on cellulose hydrolysis. *Apl Environmen Microbiol* 1981; 41 (1): 222-228.
59. Salmones D, *et al.* Estudios sobre el género *Pleurotus*, V. Producción a nivel planta piloto de ocho cepas adscritas a cinco taxa. *Rev Iberoam Micol* 1995; 12: 108-110.
60. Salmones, D. *et al.* Entrecruzamiento y evaluación de la producción de las variedades de *Pleurotus djamor* (Fr.) Boedijn. *Rev Mex Mic* 2004; 18: 21-26.
61. Vogel, F., Salmones, D. Análisis comparativo de cepas de *Pleurotus* spp, cultivadas en una planta comercial. *Rev Iberoam Micol* 2000; 17:138-141.

### XIII. ANEXOS

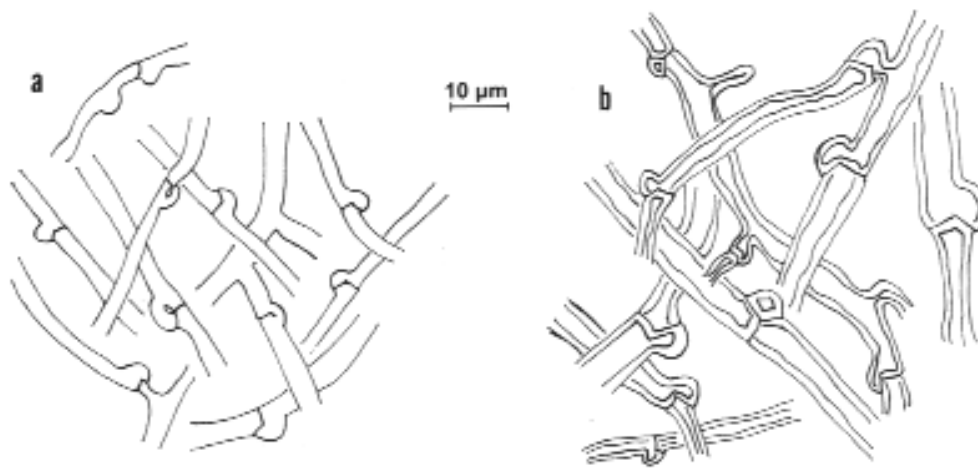
**Anexo 1. Ciclo de vida en hongos comestibles. a.** Basidiospora. **b.** Germinación y formación del micelio homocarión. **c.** Fusión de dos micelios homocariones compatibles. **d.** Formación del micelio dicarión. **e.** Formación de primordios. **f.** Desarrollo del carpóforo. **g.** Himenio. **h.** Formación de los basidios. **i.** Basidios diferenciados y basidiosporas.



Fuente: Huerta G. Generalidades Sobre los Hongos, con Énfasis en los Basidiomicetos. En: La Biología y el Cultivo de *Pleurotus* spp. Sánchez J., Royse D. eds. México, Editorial Limusa. 2002. 294p. (p. 45-46).

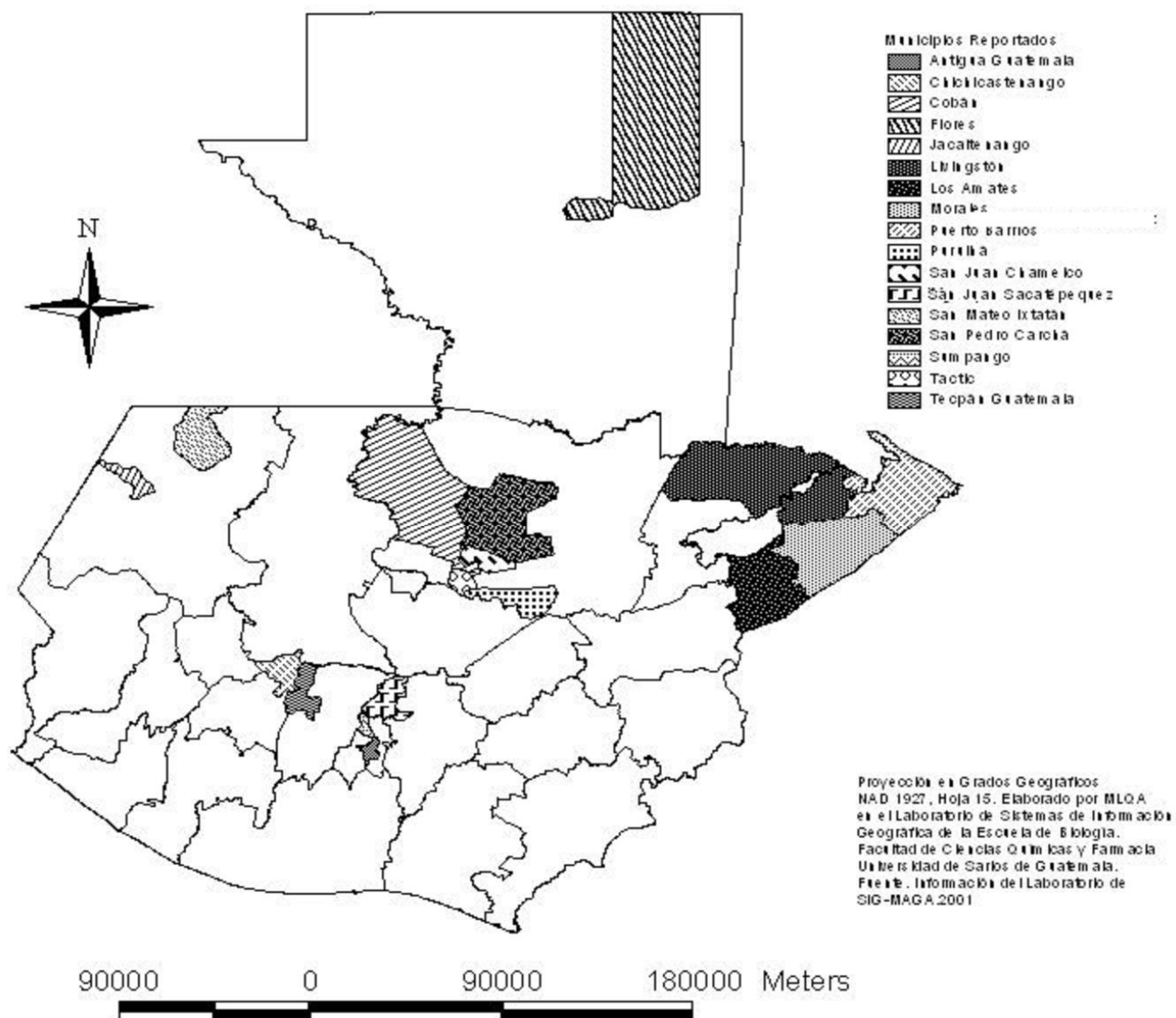


**Anexo 2. Cultivo de *Schizophyllum commune*.** a. Hifas septadas-nodosas de la zona de avance.  
b. hifas septadas-nodosas de la zona del micelio superficial y sumergido.



Fuente: Carranza J., Ruiz-Boyer A. Cultural studies on some genera of basidiomycetes (Basidiomycota) from Costa Rica. Harvard Papers in Botany 2001; 6 (1): 57-81.

### Anexo 3 Mapa de Distribución de *Schizophyllum commune* en Guatemala



#### Anexo 4. Cuerpos Fructíferos Anormales de *Schizophyllum commune*

Nombre de la mutación	Control Genético	Descripción
<b>Retorcido o nodoso</b>	Un gen recesivo	Deforme, enrollado
<b>Coliflor</b>	Poligénico	Semejante a una coliflor en miniatura, masa amorfa con himenio en superficies expuestas.
<b>Medusoide</b>	Poligénico	Cuerpos fructíferos largos como estípites en forma de estacas.
<b>Coraloide</b>	Un gen dominante	A semejan corales en miniatura.
<b>Oreja de insecto</b>	Un gen dominante	Cuerpos fructíferos numerosos, pero pequeños

Fuente: Chang S., Miles P. Mushrooms Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Enviromental Impact. 2a. ed. USA: CRC Press, 2,004. 451p. (p.139).