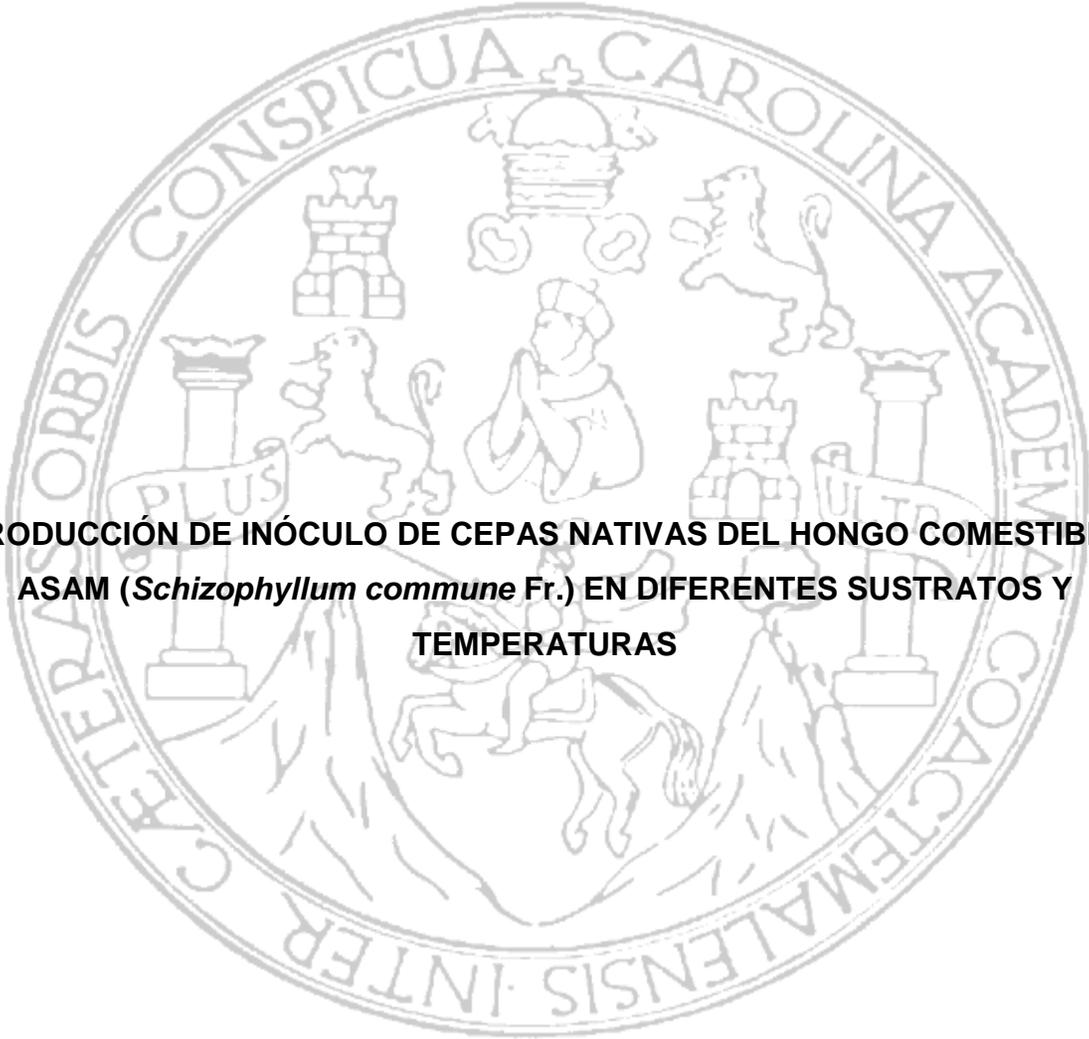


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



PRODUCCIÓN DE INÓCULO DE CEPAS NATIVAS DEL HONGO COMESTIBLE
ASAM (*Schizophyllum commune* Fr.) EN DIFERENTES SUSTRATOS Y
TEMPERATURAS

WENDY ALEJANDRA CHAMALÉ CONTRERAS
QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2009

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



**PRODUCCIÓN DE INÓCULO DE CEPAS NATIVAS DEL HONGO COMESTIBLE
ASAM (*Schizophyllum commune* Fr.) EN DIFERENTES SUSTRATOS Y
TEMPERATURAS**

Proyecto de Investigación

Presentado por
WENDY ALEJANDRA CHAMALÉ CONTRERAS

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

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cobar Pinto, PhD.

Decano

Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto

Secretario

Licda. Lillian Raquel Irving Antillon

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 haber iluminado todos los momentos de la trayectoria de mi carrera, brindándome vida, salud y deseos de superarme, aun en momentos difíciles.

MIS PADRES, Luvia Contreras y Daniel Chamalé, por ser los pilares sobre los que se ha cimentado mi formación personal, orientando mis pasos con sus enseñanzas y consejos.

A MI HIJA, Karla Alejandra con amor, por ser la motivación de mi vida y que este logro sea un estímulo para su futuro.

A MIS HERMANOS, Brenda Azucena, José Daniel, Pablo Daniel y Luvia Argentina, por el respaldo que siempre me han brindado, con sus consejos, ejemplo y oraciones que fueron de mucho valor, y los que ahora me permiten disfrutar con ustedes este logro alcanzado.

A MIS ABUELOS, para quienes hoy son mis Ángeles guardianes, por su amor siempre incondicional los llevaré en mi corazón.

A MIS COMPAÑEROS, Pedro Pablo, Pablo, Carlos y Yesenia.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la bendición de culminar una etapa más en la vida, siendo la fuente inagotable de luz y sabiduría al guiar mis pasos por este camino protegiéndome siempre para poder llegar al final.

A mis padres, Luvia Contreras y Daniel Chamalé; por su amor, sabios consejos, apoyo incondicional y brindarme lo necesario para que hoy concluya una etapa más de mi formación.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, especialmente a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por ser el centro que me formó e instruyó para desarrollarme como profesional.

A mis asesores de investigación, Licda. María del Carmen Bran y Lic. Osberth Morales; maestros que me brindaron conocimientos, apoyo y amistad durante la elaboración y presentación de este trabajo.

Al Departamento de Microbiología General de la Escuela de Química Biológica, por su ayuda y compañerismo todo el tiempo en el que hemos trabajado juntos, en especial a Robert, Any, Sheny, Olguita, Doña Cony, Charlie y Don Fili.

A mis compañeros de promoción, Pedro Pablo, Pablo, Carlos y Yesenia, por su amistad, apoyo y por todos los buenos momentos que compartimos en el transcurso de la carrera y que hoy forman parte de mi vida.

A la Familia Huitz Guzmán por su apoyo.

A todas las personas que de una u otra forma hicieron posible la realización del presente trabajo.

Índice

I. Ámbito de la Investigación.....	1
II. Resumen.....	2
III. Introducción.....	3
IV. Antecedentes	
A. Los hongos.....	4
B. Los hongos comestibles.....	4
C. Cultivo de hongos comestibles.....	4
D. <i>Schizophyllum commune</i> Fr.....	6
1. Características macro y microscópicas del basidiocarpo.....	7
2. Habitat y distribución.....	7
3. Etnomicología.....	8
4. Características miceliares	
a. Características coloniales.....	8
b. Características hifales.....	8
5. Ciclo de vida.....	9
6. Propiedades medicinales.....	9
7. Estudios bioquímicos.....	9
8. Cultivo de <i>S. commune</i>	10
a. Crecimiento en medios de cultivo.....	10
E. Producción de inóculo (semilla).....	10
1. Sustratos para la producción de inóculo	11
a. Sorgo	11
b. Trigo.....	13
c. Cebada.....	14
d. Arroz.....	15
2. Preparación del inóculo primario	15
a. Preparación de los granos... ..	16
b. Esterilización	16
c. Inoculación con cultivo miceliar crecido en agar.....	16

3. Incubación.....	17
V. Justificación.....	18
VI. Objetivos.....	19
VII. Hipótesis.....	20
VIII. Materiales y métodos.....	21
IX. Resultados.....	23
X. Discusión de resultados.....	28
XI. Conclusiones.....	31
XII. Recomendaciones.....	32
XIII. Referencias	33
XIV. Anexos	39

I. Ámbito de la Investigación (Ubicación del Proyecto Macro)

A. Título del proyecto macro:

Caracterización y producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas del hongo comestible Asam (*Schizophyllum commune* Fr.)

B. Coordinador del proyecto: Licda. María del Carmen Bran González.

C. Título del proyecto del estudiante:

Producción de inóculo de cepas nativas del hongo comestible Asam (*Schizophyllum commune* Fr.) en diferentes sustratos y temperaturas

D. Asesor del proyecto: Lic. Osberth Isaac Morales Esquivel.

E. Ubicación dentro del proyecto macro:

Evaluación de la producción de inóculo de *Schizophyllum commune* en diferentes sustratos (maicillo, trigo, cebada y arroz), a diferentes temperaturas (18 y 26°C).

F. Duración del proyecto: 6 meses, (febrero a julio de 2008)

G. Unidad académica responsable: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

H. Centro de investigación: Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas - IIQB-

I. Financiamiento:

- Universidad de San Carlos de Guatemala: PROYECTO PUIDI 6.49 Dirección General de investigación, Programa Universitario de Investigación en Desarrollo Industrial –PUIDI- (línea de investigación: procesos innovadores de producción industrial).
- Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

II. Resumen

Schizophyllum commune, es un hongo comestible que se desarrolla sobre la madera de ramas o troncos en descomposición. Es objeto de consumo y venta en las regiones de Petén, Alta Verapaz, Baja Verapaz, Izabal, El Quiché, Sacatepéquez, Huehuetenango y Chimaltenango, en donde se le conoce con los nombres de Asam, Isem, Esem o bien como xikin kuk y xikin che'.

Actualmente en Guatemala, gracias al financiamiento otorgado por La Universidad de San Carlos de Guatemala, se ha documentado ya la etnomicología relacionada con esta especie, la cual se ha identificado taxonómicamente y se ha establecido el comportamiento de varias cepas nativas sobre medios de cultivo *in vitro*.

Por tal motivo, una vez descritas y documentadas las características miceliares como lo son color, textura, micelio aéreo, presencia de exudado y olor, se procedió en este estudio a evaluar la producción de inóculo, determinando el mejor sustrato como vehículo y la temperatura donde las cepas presentaron un mejor crecimiento en el menor tiempo de incubación. Para ello, se tomaron granos de sorgo, trigo, cebada y arroz, colocando 200g en peso húmedo en bolsas de plástico las que se esterilizaron por 45min a 121°C. Estos fueron inoculados con 1cm² de micelio cultivado en PDA de cada una de las cepas de *S. commune* y se incubaron en oscuridad tanto a 26°C como a 18°C, revisando la colonización de cada bolsa cada 5 días, hasta que el micelio cubrió completamente los granos, realizándose 20 repeticiones por cada cepa analizada.

Al respecto, se determinó que el sustrato donde se obtuvieron los menores tiempos de producción de inóculo fue el trigo, seguido del sorgo, cebada y arroz, tanto a 18°C como 26°C, observándose diferencia significativa ($p < 0.001$) solamente entre el primero respecto a los demás.

Las cepas con menores tiempos de producción fueron la 108.2001 y la 52.2003, en granos de trigo a 26°C de temperatura de incubación, presentando diferencia significativa con las demás ($p < 0.001$). Por tal razón, estos aislamientos se consideran promisorios para la producción de inóculo utilizable en la producción de cuerpos fructíferos a nivel de comunidades rurales.

III. Introducción

Guatemala es un país con una gran biodiversidad, donde se desarrollan diversas especies de hongos comestibles, siendo más de 100 especies que se consumen tradicionalmente y que son utilizadas principalmente por las diferentes comunidades que habitan el territorio nacional.

Una de las especies que es conocida, apreciada y, de gran popularidad en el país es *Schizophyllum commune*, también conocido como Asam, Isem, Esem o bien como xikin kuk y xikin che', ya que se consume y vende en grandes cantidades en los mercados de municipios de los departamentos de Alta Verapaz, Petén, Huehuetenango y así como Chimaltenango.

S. commune puede ser cultivado, utilizando para ello, la gran cantidad de residuos de madera que genera la industria maderera en el país. Por tal razón, se hizo necesario estudiar su cultivo, para que a partir del conocimiento generado, se puedan crear alternativas que provean fuentes alimenticias y económicas que contribuyan al desarrollo de las comunidades campesinas, mediante el cultivo de hongos comestibles sobre desechos agrícolas y forestales.

Actualmente en Guatemala, gracias al financiamiento otorgado por la Universidad de San Carlos de Guatemala a la Unidad de Biodiversidad, Tecnología y Aprovechamiento de los Hongos, del Departamento de Microbiología, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, se conoce ya su importancia como hongo comestible de uso tradicional y además, se ha logrado el aislamiento y caracterización de diferentes cepas.

Aún cuando dichos estudios han proporcionado importante información básica, se hizo necesario evaluar las cepas en cuanto a la producción de inóculo o semilla, el cual se utilizará para cultivar y producir basidiomas de *S. commune*.

La producción de inóculo fue probada sobre diferentes tipos de granos, con el fin de encontrar el adecuado que sirva como sustrato para la elaboración de inóculo primario (semilla), con el que posteriormente se pueda efectuar la producción de cuerpos fructíferos en comunidades rurales del país.

IV. Antecedentes

A. Los hongos:

Los hongos forman un grupo taxonómico diferente a las plantas y animales, al cual se le denomina Reino Fungi. Se diferencian del resto de los organismos vivos, en su estructura microscópica a base de hifas, en su carácter perenne y en sus procesos de reproducción a través de esporas sexuales y asexuales (1, 2). La clasificación actual de este reino, se basa en las relaciones evolutivas de los grupos de organismos correspondientes a linajes monofiléticos y se incluyen en cuatro *Phyla*: *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota* y *Basidiomycota* (1, 3).

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

Se ha estimado que podrían existir 1,5 millones de especies en este reino (5, 6) y, de ellas, aproximadamente 140,000 producen cuerpos fructíferos de tamaño y estructura suficiente para ser consideradas macrohongos, muchas de las cuales se cultivan o se recolectan para alimento (7).

B. Los hongos comestibles:

La comestibilidad de los hongos es conocida por los humanos desde tiempos inmemorables. 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 (7).

C. Cultivo de hongos comestibles

Actualmente en el mundo, se han estudiado para fines de cultivo, alrededor de 200 especies, de las cuales aproximadamente 60 se cultivan comercialmente y cerca de 10 se cultivan a escala industrial. Las 10 especies más populares a nivel mundial

son: *Agaricus bisporus/bitorquis*, *Auricularia* spp., *Flammulina velutipes*, *Grifola frondosa*, *Hypsizygus marmoreu*, *Lentinula edodes*, *Pholiota nameko*, *Pleurotus* spp., *Tremella fuciformis* y *Volvariella volvacea*. En años recientes se cultivan también varias nuevas especies de hongos comestibles, entre ellos, *Agrocybe aegerita*, *A. cylindraceae*, *Cantharellus cibarius*, *Dictyophora indusiata*, *Hericium erinaceus*, *Lepista nuda*, *Pleurotus citrinopileatus* y *Stropharia rugoso-anulata*, (7).

El cultivo de hongos se ha popularizado en todo el mundo. En 1999, la producción mundial de hongos cultivados fue estimada en más de 7 millones de toneladas. La producción mundial de hongos se ha incrementado durante las últimas dos décadas, de 1.2 millones de toneladas en 1981 a 6.2 en 1997, siendo China el más grande productor, consumidor y exportador de hongos (7).

Argentina fue el primer país que en la década de los 50 produjo entre 1000 a 1200 toneladas anuales en los últimos 3 años. Aunque la producción aumentó notablemente en el quinquenio 1985-1990 pesando de 700 a 1200 toneladas. Algunos estudios muy recientes del mercado argentino indican que es posible elevar esta producción a prácticamente el doble de la actual con un consumo asegurado. Como se ha indicado anteriormente en todo el mundo se observa un explosivo avance del consumo de hongos comestibles (11).

En México y particularmente en Chiapas, el cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr) Kumm., se visualiza como una alternativa para la solución, al menos parcial, de problemas como la falta de alimento y la contaminación ambiental por desechos orgánicos de origen agroindustrial (12).

El cultivo de hongos con fines comerciales ha sido poco explotado en Guatemala. En 1977 se produjo *Agaricus bisporus* (Champiñón) en pequeña escala. En la década de los setentas esta actividad se estableció en escala comercial. La producción de *Agaricus* en Guatemala, oscila alrededor de las 68,504 kg/año, el 70% de esta producción se consume en el país y el 30% se exporta a El Salvador y Honduras (13).

En 1984 se estableció en el país el cultivo de *Lentinula edodes* (Shiitake), usando aserrín de encino (*Quercus*) como sustrato. Se calcula que se producen

34,020kg/año, de los cuales se exporta el 80% y solamente el 20% se comercializa en Guatemala (13).

La producción comercial de *Pleurotus* dio inicio en 1986, calculándose la producción en 29,580kg/año. La mayor parte de la producción se consume en Guatemala (90%) y una pequeña proporción (10%) se exporta a El Salvador y Honduras (13). Es importante mencionar que las cepas cultivadas son de origen extranjero y no cepas guatemaltecas.

Sobre el cultivo de cepas nativas de hongos, se han realizado estudios sobre la producción *in vitro* de cuerpos fructíferos de una cepa guatemalteca de *Auricularia* aff. *fuscosuccinea* proveniente de una finca del municipio de San Rafael Pie de la Cuesta, San Marcos (12). De igual forma, se han efectuado estudios sobre la fisiología del crecimiento miceliar de cepas guatemaltecas y extranjeras de *Agrocybe aegerita* (14, 15).

A través de las fases desarrolladas del proyecto Hongos Comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula (años 2001 a 2004), se han aislado más de 40 cepas de hongos comestibles nativos, entre las cuales se cuentan varias especies de los géneros *Agrocybe*, *Auricularia*, *Lactarius*, *Lepista*, *Neolentinus*, *Pleurotus*, *Polyporus*, *Schizophyllum*, *Suillus*, entre otras. Se ha logrado producir cuerpos fructíferos de 12 cepas, entre *Neolentinus* y *Pleurotus*, determinándose que varias cepas de *Pleurotus* poseen eficiencias biológicas (EB) significativas cuando se cultivan sobre diferentes sustratos (9, 16)

Del mismo modo, varias especies de *Pleurotus* (*P. djamor*, *P. ostreatus* y *P. levis*), han sido cultivadas a nivel artesanal en 205 módulos ubicados en el occidente del país, logrando una producción alrededor de 1,200 libras en el año 2005 (17).

E. *Schizophyllum commune* Fr.

El género *Schizophyllum* habitualmente se ha incluido en el orden de los Agaricales, debido a que la ontogénesis de sus láminas tiene una peculiar homología con las láminas de este orden. Sin embargo, también posee afinidades con los Aphyllophorales (18).

Actualmente es clasificado en el phylum Basidiomycota, clase Basidiomycetes, subclase Agaricomycetidae, orden Agaricales, familia *Schizophyllaceae*, género *Schizophyllum* (19).

1. Características macro y microscópicas del basidiocarpo

El píleo puede medir de 0.4 a 2.5 cm de largo por 0.7 a 3.0 cm de ancho; la forma característica es de una concha, espatulado a semicircular. En su superficie está cubierto por pelos finos y suaves de color blanco a gris-rosáceo. Contexto de 0.1 a 0.3 cm de ancho, gris rosáceo. Con olor y sabor no distintivos. El himenio esta 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.

Los cuerpos fructíferos se pueden presentar con un estípite pequeño de 0.3 a 0.8 cm de longitud y 0.3 a 0.5 cm de ancho y las mismas características de textura de la superficie del píleo. Esporada blanca (20).

Las esporas miden de 3.0 a 5.0 por 1.0 a 2.0 μm , cilíndricas a ovaladas, hialinas y lisas. Los basidios miden de 15.0 a 22.0 por 4.0 a 5.0 μm , hialinos, cilíndricos, con la base angosta (2).

2. Hábitat y distribución

Los hongos de este género crecen únicamente sobre madera, ya sea en ramas o troncos en descomposición. Siendo capaz de sobrevivir en época seca, en madera expuesta al sol (20).

Su distribución es amplia, en todo el mundo (20). En Guatemala ha sido encontrado en las regiones de Flores y Parque Nacional Tikal (Petén) (21, 22). Se ha reportado también en Cobán, San Pedro Carchá, San Juan Chamelco y Tactic (Alta Verapaz) (10, 21, 23). Biotopo del Quetzal (Baja Verapaz); Playa Dorada, Lago de Izabal; La Esmeralda Río Dulce y Biotopo Chocón Machacas Livingston (Izabal), Chichicastenango (El Quiché) (23, 24); Chipotón, Sumpango y Antigua Guatemala, (Sacatepéquez) (25). Jacaltenango y San Mateo Ixtatán (Huehuetenango) (10); Tecpán (Chimaltenango) (26) y en San Juan Sacatepéquez (Guatemala) (27, 28).

La amplia distribución de este hongo, puede indicar la capacidad de dispersión de esporas a largas distancias, entre poblaciones intercontinentales. Muestreos 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/m²/h (29).

3. Etnomicología

En Guatemala, se encuentra a la venta en grandes cantidades en el mercado de Cobán y municipios cercanos, es conocido como Asam en el idioma Q'eqchi'. Al igual que en Cobán, este hongo también se vende en los mercados de Petén (21).

Se ha reportado su consumo también en Tactic (Alta Verapaz), donde se conoce como Isem en idioma Poqomchi'. 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 (9, 21, 26).

4. Características miceliares

a. Características coloniales: Crecimiento moderadamente rápido, cubriendo completamente las cajas de petri en 3 semanas (2.0 cm/semana), cuando se incubaba 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, 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 (30).

b. Características hifales: Zona de avance con hifas hialinas, septadas-nodosas, de pared delgada, ramificadas, de 2.0 a 4.0 µm de diámetro. Micelio superficial y sumergido con hifas hialinas, septadas-nodosas, de pared delgada, ramificadas, de 1.5 a 9.0 µm de diámetro (30).

5. 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 (32).

6. 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 o sonifilano ((1→3)-β-D-glucano con ramificaciones (1→6)-β-D-glucosil), el cual se utiliza ampliamente para el tratamiento de cáncer cervical (7, 33-35).

7. 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-β-galactopiranosil-D-manopiranososa, provocaron la síntesis significativa de ambas enzimas. El xilano aislado de madera de abedul, xilosa, y β-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* (36).

8. Cultivo de *S. commune*

S. commune no se ha cultivado a nivel mundial para la producción de cuerpos fructíferos con fines comestibles, únicamente se ha cultivado para estudios genéticos y bioquímicos (7).

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% (37, 38).

E. Producción de inóculo (semilla)

El termino inóculo o semilla se refiere al micelio del hongo utilizado para inocular un substrato dado. Es el material empleado para sembrar cuando se cultivan hongos (39).

Hay dos tipos de inóculo, primario y secundario. El inóculo primario, proviene directamente del micelio del hongo cultivado sobre un medio a base de agar, esto significa que para su preparación, el substrato empleado se inocula con un trozo de agar. El substrato para producir semilla secundaria, por el contrario, es inoculado con un inóculo primario en crecimiento activo. Muy frecuentemente, el substrato utilizado para preparar los primarios son granos, mientras que para los secundarios se utilizan desechos agrícolas (39).

La preparación de inóculo es un factor crítico en la producción de hongos, ya que requiere un área equipada y personal con un entrenamiento formal. De manera general, la obtención de inóculo es una de las principales etapas en el cultivo de hongos comestibles, ya que representa el desarrollo masivo del micelio. En el mejor de los casos, debe realizarse en laboratorios bien equipados, con personal altamente capacitado, por lo que se considera una actividad compleja y una de las principales etapas del proceso para la obtención de fructificaciones de calidad comercial (40).

1. Sustratos para la producción de inóculo

Comúnmente se utilizan granos de cereales para preparar inóculo primario, dentro de ellos se puede mencionar: trigo, centeno, mijo, arroz, y sorgo, entre otros. Estos granos deben estar libres de fungicidas. Se debe usar granos frescos y, en la medida de lo posible, de alta calidad, porque los granos viejos contienen esporas de bacterias y hongos que obligan al productor a incrementar el tiempo de esterilización para matar los microorganismos contaminantes (40, 41).

El sustrato es un tipo de material en el cual crecen los hongos. En este caso, sustituye al sustrato natural en cuanto a su nutrición, retención de humedad y nutrientes, además de permitir la oxigenación del micelio.

Las características que debe poseer el sustrato son:

- Retener la humedad, pero además debe facilitar la salida del exceso de agua.
- Ser liviano.
- Abundante, fácil de conseguir y transportar.
- Inerte.
- De bajo costo.
- Permitir la aireación.
- Las partículas deben tener un tamaño no inferior a 0.2mm y no superior a 7mm.

Pueden emplearse muchos materiales para la producción del inóculo, utilizando la vegetación natural, productos de agricultura y silvicultura. De esa manera, se pueden utilizar granos de maíz, trigo, sorgo, avena, cebada, así como los residuos de los cultivos de arroz y frijol (42).

Los hongos tienen requerimientos importantes y específicos, ya que éstos determinan su buen desarrollo y producción, al nutrirse de materia orgánica (43).

a. Sorgo:

Los *sorgos* (*Sorghum* spp) son un género de unas 20 especies de gramíneas oriundas de las regiones tropicales y subtropicales de África oriental. Se cultivan en su zona de origen, Europa, América y Asia como cereal para consumo humano, animal, en la producción de forrajes y para la elaboración de bebidas alcohólicas. Su resistencia a

la sequía y el calor lo hace un cultivo importante en regiones áridas y es uno de los cultivos alimentarios más importantes del mundo (44, 45).

El sorgo tiene un hábito y una fisiología vegetal (metabolismo de las "C-4") similar al del maíz (*Zea mays*), aunque con un sistema radicular más extenso y ramificado, de características fibrosas y hasta 1.2m de profundidad. El tallo es cilíndrico, de 1 a 3m de altura, con una inflorescencia terminal en forma de espiga compuesta por flores bisexuales. El grano es una cariósipide de alrededor de 4mm de diámetro (44, 45).

El almidón es la principal forma de almacenaje de carbohidratos en el sorgo. El almidón del sorgo consiste en amilopectina, un polímero de cadena ramificada de la glucosa y de amilosa, un polímero de cadena lineal (44, 45).

El segundo gran componente de los granos de sorgo es la proteína. Los factores tanto genéticos como ambientales antes analizados repercuten en el contenido de la proteína del sorgo (44, 45).

El contenido de grasa cruda del sorgo es del 3%, que es superior al del trigo y arroz pero inferior al del maíz. Las capas de germen y aleurona son los principales determinantes de la fracción de lípidos (44, 45).

El sorgo es en general rico en vitamina B. Algunas variedades de endospermo amarillo de sorgo contienen beta-caroteno, se han aislado los carotenoides de sorgo y los han separado para identificarlos como gluteína, y beta-caroteno, es probable que sea limitada la importancia de las variedades de sorgo de endospermo amarillo como fuente alimentaria de vitamina A (44, 45).

En el grano de sorgo también se han encontrado cantidades detectables de otras vitaminas liposolubles, a saber, D, E y K. El sorgo tal como se consume comúnmente no es una fuente de vitamina C. Al germinar, se sintetiza una cierta cantidad de vitamina C en el grano y al fermentar se produce un ulterior aumento del contenido de vitamina (43, 44).

Entre las vitaminas B, las concentraciones de tiamina, riboflavina y niacina que hay en el sorgo son comparables a las del maíz. Se han observado amplias variaciones en los valores señalados de niacina de 9.16 mg por 100 g del sorgo. El sorgo etiópico con alto índice de lisina tiene también un contenido muy elevado de niacina (44, 45).

Otras vitaminas B presentes en el sorgo en cantidades notables por 100 g son la vitamina B6 (0.5 mg), la folacina (0.02 mg), el ácido pantoténico (1.25 mg) y la biotina (0.042 mg) (44, 45).

Este sustrato se ha utilizado con éxito en la preparación de inóculo primario y secundario de cepas de *Pleurotus* (39).

Específicamente, se utilizó para la elaboración del inóculo de tres cepas del *Pleurotus ostreatus*, una de México (IE-170), una de Grecia (P60) y una de Cuba (IE172). En este caso los granos inoculados se incubaron a 28 °C en oscuridad, obteniéndose el crecimiento de las cepas en alrededor de tres semanas (46).

También se utilizaron para preparar inóculo primario y secundario de una cepa mexicana de *P. djamor* (UADY-19). Los granos se hidrataron por 24 horas y se cocieron por 10 minutos para después esterilizarlas a 121°C durante 20 minutos. Una vez enfriadas las semillas se inocularon con las cepas y se incubaron a 28 °C durante 17 días, observándose la colonización completa de las mismas en ese período (47).

Asimismo, se empleó para producir el inóculo de una cepa mexicana de *P. djamor* (UADY-19), donde los granos hidratados se pre cocieron durante diez minutos a 80 °C y se esterilizaron a 121°C por 15 min. Una vez enfriados se inocularon con la cepa y se incubaron en oscuridad a 28°C hasta que el micelio cubrió todas las semillas (7 días) (48).

De la misma forma, fue utilizado para la producción de inóculo de tres cepas del género *Pleurotus*: dos de *P. pulmonarius* (IBUG-4 y CS-1) y una de *P. ostreatus* (IBUG-8); los granos fueron previamente humedecidos y esterilizados a 121 °C dentro de frascos de vidrio de un litro de capacidad, los cuales fueron colocados en el área de incubación para permitir el crecimiento y colonización del micelio (49).

b. Trigo

El trigo es el cereal producido en forma más extensa en el mundo. La mayor parte del trigo se destina a consumo humano; por lo tanto, su aporte a la ingesta calórica es significativo, particularmente en las Américas y el Medio Oriente (50).

El procesamiento del trigo entero a harina de trigo generalmente se concentra en unos pocos molinos grandes. La harina producida se usa para fabricar pan, galletas,

pastas y otros productos. Debido a su amplia distribución geográfica, aceptación, estabilidad y versatilidad, la harina de trigo es un vehículo apropiado para suministrar micronutrientes a la humanidad (51).

La composición química promedio del grano de trigo es de 12% de humedad, 13% de proteína, 69% de carbohidratos solubles, 2.5% de fibra, 1.8% de lípidos y 1.7% de sustancias minerales. Aproximadamente del 13% de la proteína total, el 10% esta conformado por albúmina, globulina y proteosa.

En su estado natural, el trigo es una buena fuente de vitaminas B1 (tiamina), B2 (riboflavina), niacina, B6 (piridoxina), E, hierro y zinc (50).

Este grano se utilizó para la elaboración de inóculo de diez cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus* (INIREB-20, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 29, 31 y 32), esterilizando aproximadamente 300g en frascos de boca ancha dentro de un autoclave a 121°C, durante 15 minutos, los cuales fueron inoculados con cada una de las cepas y se incubaron a 28-30°C, quedando colonizados luego de 2 a 3 semanas (52).

Asimismo, fue utilizado para la producción de dos cepas de *Pleurotus ostreatus*, (INIREB-8 e INIREB-20), esterilizando 200g aproximadamente por 30 minutos a 121°C, en frascos de boca ancha. Luego fueron inoculados con las cepas y se incubaron hasta que el micelio cubrió todos los granos (53).

También se empleó para producir el inóculo de una cepa mexicana de *Pleurotus pulmonarius* (IE-4), donde los granos se humedecieron en un 50% y se esterilizaron 1 hora a 121°C en frascos de vidrio de boca ancha; posteriormente se inocularon con la cepa y se incubaron a 29°C, obteniéndose el inóculo en dos semanas (54).

c. Cebada

La cebada es el cuarto cereal más importante en el mundo después del trigo, el arroz y el maíz. La cebada como todos los cereales es deficiente en determinados aminoácidos esenciales como son lisina, histidina, metionina, treonina y triptófano (51).

La cebada contiene 3.5% de lisina, 3.2% de treonina, 1.5% de triptófano y 6.6% de leucina, mientras que la caseína contiene 6.4% de lisina, 5.0% de treonina, 1.6% de triptófano y 8.8% de leucina (43). La cebada en comparación con la proteína ideal

(lisina 5.5%, treonina 4.0%, triptófano 1.0% y leucina 7.0%) posee mayor cantidad de triptófano, es deficiente en lisina, baja en treonina y leucina (55).

No existe información publicada del uso de cebada como vehículo para la producción de inóculo.

d. Arroz

Se conoce por arroz a los granos maduros procedentes de las variedades del cereal *Oryza sativa L.*, de la familia de las gramíneas. Por lo menos un tercio de la humanidad come arroz como alimento principal, esto se debe a que es un alimento muy rico en nutrientes (56).

El arroz tiene las características naturales propias de los cereales: vitaminas, hidratos de carbono, proteínas, fósforo, magnesio, etc., por no mencionar la fibra alimentaria, que ayuda a reducir el riesgo de cáncer de colon y de mama y mejora la calidad de la microflora intestinal (56).

El contenido de proteínas del arroz, si bien es limitado, es superior al de otros cereales, contiene ocho aminoácidos esenciales y es una fuente importante de minerales y vitaminas. El arroz contiene naturalmente apreciables cantidades de tiamina, riboflavina y niacina, así como fósforo, hierro (que facilita el transporte de oxígeno en la sangre y puede prevenir la aparición de anemias) y potasio. El arroz no contiene colesterol ni gluten, su contenido en sodio es bajo (56).

Este sustrato ha sido utilizado para producir semilla de una cepa híbrida de *Pleurotus ostreatus x P. ostreatus var. Florida* (ICIDCA-184), con la cual se prepararon 20 bolsas de polietileno transparentes con 1 kg de sustrato (peso húmedo) y se inocularon con la cepa a razón de 8 % (p/p), posteriormente se incubaron a temperatura que osciló entre 25-28 °C en horas de la noche y 30-32 °C por el día, obteniéndose el inóculo en tres semanas (57).

2. Preparación del inóculo primario:

El inóculo primario es usado para sembrar los inóculos secundarios, los cuales serán empleados como inóculo del sustrato que producirá fructificaciones

cosechables. Se inocula con un trozo de agar con micelio proveniente de un cultivo en caja de petri (39).

a. Preparación de los granos

Para preparar la semilla madre, los granos se lavan abundantemente y después se dejan en remojo por al menos 24 horas. Al día siguiente, las semillas se lavan nuevamente y se distribuyen sobre hojas de papel periódico para eliminar el exceso de humedad. Este proceso toma alrededor de dos a tres horas. La humedad óptima para los granos es alrededor de 50% (39).

Esta parte del proceso es muy crítica. Su ejecución evita granos demasiado secos o muy húmedos que afecten el crecimiento miceliar. Si los granos quedan muy secos, el crecimiento será muy lento. Si quedan muy húmedos, el crecimiento se detendrá por el exceso de agua (39).

Una vez que los granos tienen la humedad adecuada, se colocan en bolsas de polietileno como recipientes, llenando a menos de $\frac{3}{4}$ de su volumen o con aproximadamente 200 gramos (39).

b. Esterilización

Las bolsas llenas, se esterilizan en el autoclave a 121°C a 15 libras/pulg² de presión. El tiempo de esterilización dependerá de la capacidad del autoclave. Así, los recipientes de más de 25 lbs de capacidad deben emplear más de una hora de esterilización. Una vez esterilizadas, las bolsas se enfrían a temperatura ambiente antes de ser inoculadas (39).

c. Inoculación con cultivo miceliar crecido en agar:

La inoculación se hace bajo completa asepsia, de manera similar a como se prepara el cultivo. Este paso puede hacerse de preferencia dentro de una campana de flujo laminar, observando todas las precauciones de asepsia para evitar contaminaciones (39).

Se debe usar bata de laboratorio, lavarse las manos con alcohol al 70% y utilizar mascarilla para proteger el material de cualquier contaminación (39).

El micelio a inocular, proviene de una caja de petri, por lo cual para extraerlo es necesario usar bisturí o asa en espátula para cortar el agar en pequeños cuadros o trozos, para transferirlos a los granos estériles (39).

El siguiente paso, es descompactar los granos estériles dentro de la bolsa de polietileno, y luego, dejar caer trozos de micelio sobre la superficie. Por último, mezclar los granos, a manera de dejar el micelio en el área central de la bolsa, cerrar la bolsa e incubar.

3. Incubación:

Las bolsas con el grano inoculado, se incuban a temperatura ambiente, sin moverlos por cierto periodo de tiempo, según el tamaño de las bolsas, hasta que el micelio blanco haya cubierto completamente todos los granos. Algunos productores de inóculo agitan las bolsas inoculadas cada tres o cuatro días para distribuir los granos y permitir una rápida ramificación del micelio en crecimiento (39).

Los granos sin agitar pueden ser totalmente colonizados por el micelio en 2-4 semanas después de la inoculación. A partir de entonces estarán listos para sembrarse en el substrato definitivo (39).

V. Justificación

En Guatemala, existe una gran variedad de hongos comestibles, dentro de los cuales se encuentra *Schizophyllum commune*, especie que se comercializa en mercados populares de distintas regiones del país, para utilizarse como alimento.

Debido al consumo tradicional de este hongo en el país y dada su naturaleza saprobia, las cepas nativas de *S. commune* pueden ser aprovechadas para la producción artesanal de cuerpos fructíferos, como una fuente alterna de alimento, así como para el desarrollo económico de comunidades rurales, por medio de su cultivo a nivel de campo.

Actualmente, la Unidad de Biodiversidad, Tecnología y Aprovechamiento de los Hongos, del Departamento de Microbiología, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, ha realizado el aislamiento de cepas nativas de este hongo a partir de especímenes provenientes de las localidades donde se comercializa y se utiliza como alimento. El estudio de estas cepas es de importancia, ya que pueden ser utilizadas para la producción de cuerpos fructíferos en comunidades campesinas, los cuales pueden utilizarse tanto para el autoconsumo como para la venta.

Previo a la producción de cuerpos fructíferos, se hace indispensable la producción del inóculo, comparando diferentes sustratos como vehículos (trigo, cebada, arroz y sorgo), con el fin de encontrar el adecuado que sirva como inóculo primario (semilla), con el que posteriormente se pueda efectuar la producción de cuerpos fructíferos en comunidades rurales del país.

VI. Objetivos

1. General

Establecer el comportamiento de cepas nativas de *Schizophyllum commune* en cuanto a la producción de inóculo, utilizando diferentes sustratos utilizados como vehículo y a diferentes temperaturas.

2. Específico

Comparar la producción de inóculo sobre diferentes sustratos (sorgo, cebada, trigo y arroz) y temperaturas (18 y 26°C), a través de la determinación del tiempo de colonización micelial.

VII. Hipótesis

De los sustratos utilizados, el sorgo es que presenta menor tiempo de colonización con las cepas de *Schizophyllum commune* para la producción de inóculo, a 26°C.

VIII. Materiales y métodos

A. Revitalización de las cepas:

Las cepas que se utilizaron pertenecen al cepario de hongos saprobios y micorrícicos, del Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica; Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). Las cepas utilizadas se muestran en la tabla 1:

Tabla 1. Procedencia y registros de las cepas

Procedencia	Registro en el cepario
Jacaltenango, Huehuetenango	52.2003
Tactic, Alta Verapaz	46.2002
Tecpán, Chimaltenango	296.2002
Carchá, Alta Verapaz	108.2001
Poptún, Petén	30.2007

B. Producción de inóculo

El procedimiento se realizó de acuerdo con lo recomendado por Mata, G., *et al*, (2001).

- Se hidrataron los sustratos de granos de trigo, sorgo, cebada y arroz, por 24 horas, hasta que alcanzaron el 80% de humedad aproximadamente.
- Se colocaron los sustratos individualmente en bolsas de polipapel con 200 gramos en peso húmedo y luego se esterilizaron por 45 minutos a 121°C.
- Del micelio de cada una de las cepas en medio de cultivo, se cortaron porciones de aproximadamente 1.0 cm².
- Se inocularon los sustratos con 1 fragmento de agar con micelio, de cada una de las cepas (20 repeticiones por sustrato y cepa).
- Se identificaron las bolsas con referencia, nombre de la cepa, fecha de inoculación, sustrato, temperatura de incubación y número de repetición.
- Se incubaron los sustratos a temperaturas de 18 y 26°C.

- Se observó el crecimiento del micelio sobre el sustrato cada 5 días, hasta la colonización completa de los sustratos utilizando para el reporte de las observaciones una tabla de registro (Anexo 1).
- La colonización completa se evidenció mediante el compactamiento del sustrato y el recubrimiento del mismo con el micelio de cada una de las cepas.

C. Base de datos

- Se elaboró una base de datos en el programa Excel[®], colocando los datos de colonización de los sustratos de cada una de las repeticiones, en forma vertical. Las columnas se identificaron de la siguiente manera: sustrato, temperatura, tiempo de colonización.

D. Diseño

El diseño general de la investigación se presentó de acuerdo con el objetivo enunciado:

- Diseño factorial: 5 x 4 x 2
 - 5 cepas: Jacaltenango, Huehuetenango (52.2003); Tactic, Alta Verapaz (46.2002); Tecpán, Chimaltenango (296.2002); Carcha, Alta Verapaz (108.2001); y Poptún, Petén (30.2007).
 - 4 vehículos: sorgo, cebada, trigo y arroz.
 - 2 temperaturas: 18 y 26°C.
- Réplicas: 20 (para un total de 800 datos).

E. Análisis de la información

Se efectuó análisis de varianza y prueba de intervalos múltiples de Duncan ($\alpha = 0.05$), para evidenciar las diferencias significativas en función del tiempo de colonización de las cepas en los vehículos y en las 2 temperaturas. El análisis se realizó con el programa estadístico SPSS 16.0[®]. Además se elaboraron gráficas de interacción.

IX. Resultados

En este estudio se evaluó el tiempo de producción de inóculo de cinco cepas de *S. commune*, considerando que el menor tiempo de colonización obtenido sobre un determinado sustrato, es el más adecuado para producir inóculo de una cepa en particular.

El menor tiempo de producción del inóculo para la cepa 108.2001 a 26°C y 18°C, se obtuvo en trigo, seguido del arroz, sorgo y cebada. Para la cepa 52.2003 a 26°C, los menores tiempos de colonización se obtuvieron en el trigo y la cebada, seguidos por el sorgo y el arroz. Para la misma cepa a 18°C, el inóculo fue producido en menor tiempo en trigo, seguido del sorgo, arroz y cebada (Tabla 2, Anexos 2).

Respecto a la cepa 296.2002 a 26°C, el menor tiempo de producción del inóculo se obtuvo en cebada y trigo, seguidos del sorgo y el arroz. Para esta cepa a 18°C, el menor tiempo de colonización se presentó en trigo, seguido de cebada y sorgo, y por último en arroz (Tabla 2, Anexo 2).

Para la cepa 30.2007 a 26°C, el menor tiempo de producción del inóculo se observó tanto en cebada, como en arroz y sorgo, en tanto que en trigo se obtuvo en mayor tiempo. Esta misma cepa a 18°C, presentó menor tiempo de colonización en trigo, seguido del arroz y sorgo, y por último cebada (Tabla 2, Anexo 3).

Para la cepa 46.2002 incubada a 26°C, el menor tiempo de colonización del inóculo se obtuvo en arroz, seguido por el sorgo, el trigo y la cebada. Esta cepa a 18°C, produjo el inóculo en menor tiempo en trigo, seguido por el arroz, el sorgo y la cebada (Tabla 2, Anexo 3).

Tabla 2. Tiempo de colonización de las cepas de *S. commune*, para la producción de inóculo sobre diferentes sustratos a 26 y 18°C.

Cepa	Sustratos	Tiempo de colonización (días) ¹	
		26°C	18°C
108.2001	Trigo	10.40 ± 0.82	14.00 ± 1.77
	Arroz	11.62 ± 0.84	15.25 ± 2.53
	Sorgo	12.00 ± 0.00	17.10 ± 0.44
	Cebada	12.00 ± 0.00	17.35 ± 1.72
52.2003	Trigo	10.30 ± 0.73	13.10 ± 1.02
	Cebada	10.60 ± 0.94	21.00 ± 2.53
	Sorgo	11.40 ± 1.42	16.65 ± 1.22
	Arroz	12.30 ± 0.73	19.65 ± 2.71
296.2002	Cebada	11.40 ± 0.94	19.15 ± 3.73
	Trigo	11.90 ± 1.21	16.55 ± 1.82
	Sorgo	12.50 ± 0.89	19.80 ± 1.50
	Arroz	12.55 ± 1.70	23.10 ± 3.30
30.2007	Cebada	12.20 ± 1.28	27.95 ± 1.57
	Arroz	12.60 ± 0.94	24.00 ± 2.77
	Sorgo	12.85 ± 1.35	24.30 ± 0.73
	Trigo	13.75 ± 1.68	20.50 ± 0.88
46.2002	Arroz	12.40 ± 0.82	23.25 ± 3.46
	Sorgo	13.10 ± 2.29	24.00 ± 0.00
	Trigo	13.50 ± 0.89	19.90 ± 1.37
	Cebada	14.70 ± 1.13	27.70 ± 1.92

¹Tiempo de colonización calculado a partir de la media de 20 repeticiones.

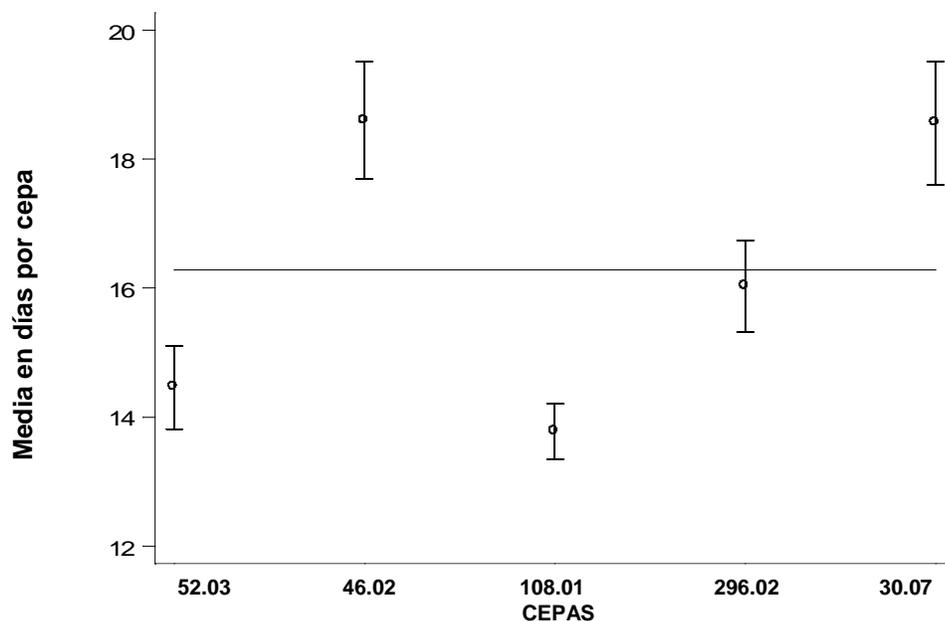
De manera general, el análisis de varianza demostró que existe diferencia significativa entre los días necesarios para la colonización micelar, al comparar las temperaturas de incubación, cepas y sustratos ($p < 0.00001$). También hay interacciones significativas entre temperatura de incubación y cepa, temperatura y sustrato, cepa y sustrato, así como entre temperatura, cepa y sustrato ($p < 0.00001$).

En este sentido, sin importar la cepa y sustrato, se demostró que a 26°C, el tiempo de colonización micelar de todos los sustratos fue significativamente menor, con respecto a los obtenidos a 18°C ($p < 0.0001$), pero sin diferencia entre los sustratos a la misma temperatura.

Con respecto al tiempo de colonización micelial alcanzado por cada una de las cepas, la prueba de intervalos múltiples de Duncan indicó que, estadísticamente (unificando sustrato y temperatura de incubación), los aislamientos 108.2001 y 52.2003 tuvieron un crecimiento más rápido, lo que se tradujo en menor tiempo de producción de inóculo, en comparación con las cepas 30.2007 ($p < 0.00001$), 46.2002 ($p < 0.00001$) y 296.2002 ($p = 0.02$), y, esta última, tiene crecimiento significativamente menor que las cepas 30.2007 ($p < 0.00001$) y 46.2002 ($p < 0.00001$) (Gráfica 1).

Por lo tanto, las cepas 108.2001 y 52.2003 son las que crecen más rápido, las más lentas son las cepas 30.2007 y la 46.2002. La cepa 296.2002 tiene un comportamiento intermedio.

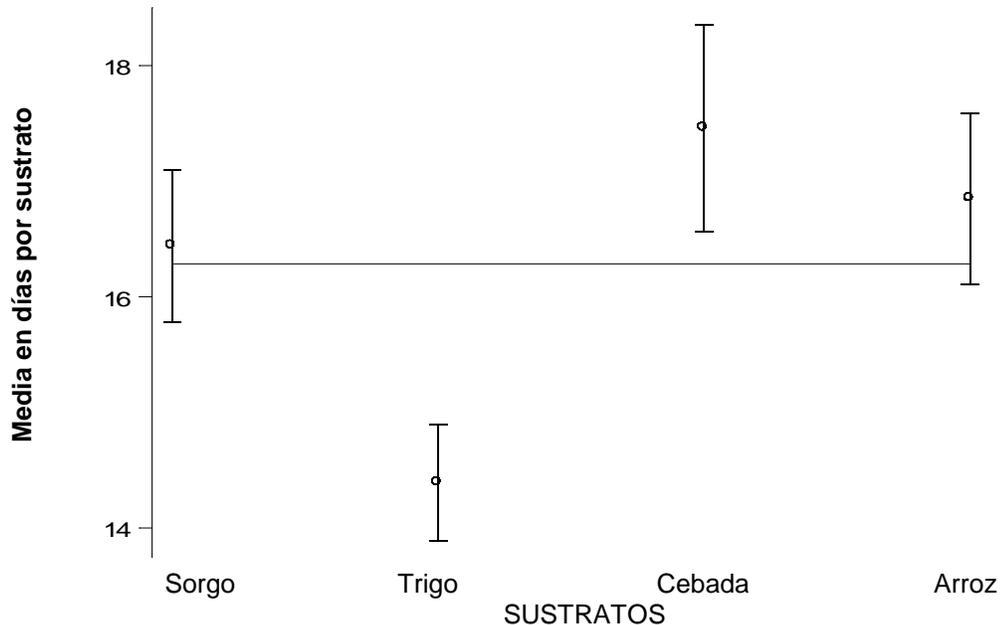
Gráfica 1. Comparación de las cepas de *S. commune*, en cuanto al tiempo de producción de inóculo.



Por otra parte, al relacionar el tiempo de colonización en cada uno de los sustratos (sin importar la temperatura de incubación y la cepa) se observó que los menores tiempos de producción del inóculo se obtuvieron en los granos de trigo, seguido por el sorgo, el arroz y la cebada. Estadísticamente con la prueba de Duncan,

solo el trigo presentó un tiempo de crecimiento significativamente menor a los granos del sorgo ($p=0.001$), arroz ($p<0.0001$) y cebada ($p<0.0001$) (Gráfica 2).

Gráfica 2. Comparación de los diferentes sustratos evaluados, en cuanto al tiempo de producción de inóculo.



Se evidenció que aunque el trigo es el que presenta menor tiempo de colonización, es el factor temperatura el que más ejerce su influencia sobre el crecimiento, independientemente del sustrato.

Al comparar la influencia de la temperatura sobre el comportamiento de cada una de las cepas (unificando los sustratos), se evidenció que las cepas 52.2003, 108.2001 y 296.2002 incubadas a 26°C, no mostraron diferencia entre ellas con la prueba de Duncan, pero presentaron crecimiento significativamente menor a los demás ($p<0.0001$).

Por otra parte, la interacción entre los sustratos y temperatura (unificando las cepas), mostró que los sustratos sorgo, trigo, cebada y arroz incubados a 26°C, presentaron un crecimiento significativamente menor a los demás ($p<0.0001$) y no

diferencia entre ellos, con la prueba de Duncan. Asimismo, se evidencia que aunque el trigo es el que presenta menor tiempo, es la temperatura la que más ejerce su influencia sobre el crecimiento independientemente del sustrato.

En cuanto a la comparación de la interacción entre la cepa y los sustratos evaluados, se demostró que las cepas 52.2003 y 108.2001 inoculadas en trigo, presentaron crecimiento significativamente menor a los demás ($p < 0.01$) y no diferencia entre ellas, con la prueba de Duncan.

Es de hacer notar que estos análisis confirman que el trigo es el grano colonizado más rápidamente por las cepas y, de ellas la 52.2003 108.2001 son las mejores. Se confirma además, que la cebada es el sustrato en el que menor crecimiento se observa y además, las cepas 46.2002 y 30.2007 crecen más lentamente.

Finalmente, la mejor combinación observada fue la conformada por la cepa 52.2003 al colonizar los granos de trigo y cebada a 26°C de temperatura de incubación. Asimismo, la cepa 108.2001 con los granos de trigo. Estas combinaciones presentaron diferencia significativa con relación a los demás tratamientos ($p < 0.01$).

En conclusión, la mejor combinación para la producción de inóculo en menor tiempo, es cultivar las cepas 52.2003 y 108.2001 en trigo, a 26°C de temperatura de incubación (Anexo 4).

X. Discusión

Respecto a la producción de inóculo, se considera como el mejor sustrato aquel que es colonizado por una cepa determinada, en el menor tiempo, ya que una prolongación en el tiempo de incubación promueve la contaminación y alarga los ciclos de cultivo (58).

Para la producción de inóculo de las cepas, con respecto a las temperaturas de incubación, se observó que a 26°C se obtuvo un menor tiempo de crecimiento con respecto a los resultados observados a 18°C. El descenso de la temperatura reduce el crecimiento micelial debido a que ésta, influye disminuyendo el metabolismo del hongo y en la fluidez de los lípidos de la membrana celular (7). La sensibilidad a la temperatura no solo varía entre cepas, sino también para una misma cepa, según su etapa de desarrollo. Así, es posible y aún frecuente que un hongo tenga una temperatura óptima de germinación y que ésta sea diferente de su temperatura óptima de crecimiento micelial o de su temperatura óptima de fructificación (39).

El hecho que las cepas evaluadas hayan tenido diferencias en el tiempo de colonización, puede indicar que los requerimientos nutricionales de las cepas varían según los nutrientes presentes en los sustratos evaluados. Así, la utilización óptima de un sustrato varía si otros nutrientes o factores de crecimiento (temperatura, pH) se encuentran en condiciones subóptimas (39).

Con relación a los sustratos, el único grano en el que la producción de inóculo presentó un tiempo de crecimiento significativamente menor fue el trigo. Esta observación podría ser explicada en base a que, se ha reportado que la cantidad de tiamina es el único factor limitante en el crecimiento del micelio dicariótico de *S. commune* (59) y, en este caso, el trigo es el que mayor cantidad contiene comparado con los granos evaluados (Anexo 5).

Por otra parte, este grano es también el más rico en nitrógeno. En la literatura se ha indicado que para el adecuado crecimiento micelial de *S. commune*, se requiere además de tiamina, nitrógeno y carbohidratos, puesto que se acumulan en el micelio vegetativo, previo a la formación de los cuerpos fructíferos (60).

Es probable que la combinación, principalmente del contenido de tiamina y nitrógeno, permitieran que la mayoría de las cepas produjera el inóculo en el menor tiempo.

Caso similar ocurrió con el sorgo, ya que presenta después del trigo, las mayores concentraciones de tiamina. Por lo tanto, se correlaciona con lo observado en los tiempos de producción de inóculo observados en este estudio.

Los granos de cebada, ocuparon el tercer lugar en tiempo de producción del inóculo y, en cuanto a cantidades de tiamina, la contiene en menores cantidades que los anteriores. En consecuencia, puede decirse que, en este caso, la tiamina es el principal factor que limita el crecimiento del micelio vegetativo de *S. commune* en este grano, tal y como se indicó anteriormente (60), independientemente de la cantidad de nitrógeno, el cual no limita el crecimiento, sin embargo, es necesario para el desarrollo del micelio vegetativo (60).

Adicionalmente, este hecho se corrobora con lo observado en arroz, ya que este grano posee la menor cantidad de tiamina y nitrógeno de todos los sustratos evaluados y presentó los tiempos más prolongados de la producción de inóculo.

Con base a lo discutido anteriormente, puede decirse que, en este estudio, el principal factor que influyó en la disminución del tiempo para la producción de inóculo fue la cantidad de tiamina presente en los sustratos (Anexo 8).

Por otra parte la cantidad de carbohidratos no influye directamente en el crecimiento vegetativo de *S. commune*, ya que de los sustratos evaluados el que menor cantidad contiene es el trigo, y el que más posee es el arroz, contrario al patrón de tiempos de producción observados en la presente investigación.

Comparativamente, la producción de inóculo en granos de trigo, ha sido exitosa en otras especies, tales como *N. lepidus*, *N. ponderosus*, *P. ostreatus* y *P. pulmonarius*, permitiendo su producción en grandes cantidades (52, 53, 61, 62). Estos estudios apoyan el hecho de que en las cepas 108.2001 y 52.2003 a 26°C y todas a 18°C, hayan colonizado en menor tiempo los granos de trigo, por lo para estas cepas, se recomienda producir el inóculo en este grano.

Por otra parte, cabe mencionar que el precio del trigo es superior al precio del sorgo y arroz, de manera que se aumentarían los costos de producción del inóculo sobre este grano.

Acerca de la producción del inóculo en granos de cebada, no se encontró ninguna referencia que indique la utilización de este sustrato para tal fin, por lo que no se puede establecer comparación alguna. Por tal razón, entre los aportes de este estudio se puede mencionar que la cebada es un buen sustrato para la producción de inóculo de las cepas 296.2002 y 30.2007 a 26°C, sin embargo, el precio de este grano es también elevado y similar al del trigo.

Existe poca información referente al uso de los granos de arroz para la producción de inóculo, solamente se ha indicado que la cepa híbrida de *P. ostreatus* x *P. ostreatus* var. *florida* (ICIDCA-184) necesitó tres semanas para desarrollar el inóculo sobre este grano (57). El haber obtenido el inóculo de la cepa 46.2002 de *S. commune* en arroz en 12.4 días a 26°C, es indicativo de que es posible producir inóculo de varias especies de hongos comestibles sobre granos de arroz.

Los tiempos de producción del inóculo de *S. commune* utilizando trigo, fueron similares a los reportados para las cepas de *P. djamor*, *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* en granos de sorgo, ya que estas lograron la producción en un lapso de una a tres semanas en condiciones de oscuridad (47-49, 63).

En este estudio, el comportamiento general de las cepas a 26°C y 18°C en cuanto a la preferencia de colonización miceliar, mostró que el menor tiempo de producción de inóculo (en orden ascendente) se presentó en los granos de trigo, sorgo, arroz y cebada.

La producción de inóculo de *S. commune* lograda con éxito en los granos evaluados, permitirá que la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la Unidad de Investigación, se constituya como proveedor del inóculo o semilla certificada para los productores de hongos que deseen cultivarlo con fines de producción de cuerpos fructíferos, ya que los productores confían en el productor de semilla y en la calidad de la misma.

En ningún caso el menor tiempo de colonización fue obtenido en sorgo para las temperaturas evaluadas, descartando la hipótesis referente al inóculo.

XI. Conclusiones

- A. Se estableció el comportamiento de cinco cepas nativas de *S. commune* en los sustratos de trigo, sorgo, cebada y arroz, a las temperaturas de 18 y 26°C.
- B. Se observó el menor tiempo de colonización miceliar para todas las cepas evaluadas, en los granos de trigo incubados a 26°C,
- C. Las cepas 108.2001 y 52.2003 presentaron menores tiempos de colonización miceliar en granos de trigo a 26°C.

XII. Recomendaciones

- A. Recolectar más cepas nativas de *Schizophyllum* para ampliar los estudios de este género.
- B. Realizar más estudios sobre la producción de inóculo en otros sustratos, tales como aserrines y granos, para documentar el comportamiento de las cepas nativas sobre ellos.
- C. Dado que la producción de inóculo de *S. commune* ha sido lograda, se recomienda realizar estudios sobre la fructificación del mismo, evaluando la eficiencia biológica de las cepas, así como la tasa de producción.
- D. Determinar la cantidad de tiamina presente en los sustratos y evaluar su efecto en el desarrollo micelial de las cepas de *S. commune*.

XIII. Referencias

1. Alexopoulos C. Introductory Mycology. 4^a. Ed. USA: John Wiley & Sons Inc 1996. 896p.
2. Guzmán G. Los hongos del Edén, Quintana Roo; Introducción a la microbiota tropical de México. México: Instituto de Ecología, 2003. 316p.
3. Guarro J., Gené J., Stchigel A. Developments in fungal taxonomy. Clin Microbiol Rev 1999; 12(3): 454-500.
4. Mueller G. *et al.* Biodiversity of fungi. Inventory and monitoring methods. USA: Elsevier Academic Press, 2004. 777p.
5. Hawksworth, D. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. Mycol Res 1991; 95(6): 641-655.
6. Hawksworth, D. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. Mycol Res 2001; 05 (12): 1422-1432.
7. Chang S., Miles P. Mushrooms cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. 2nd. ed. USA: CRC Press, 2004. 451p.
8. Bran M. *et al.* Hongos Comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula. (Fase II). Informe Técnico Final. Dirección General de Investigación. 2002.
9. 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. 2003a; 1(1): 2-24.
10. 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. 2003b; 58p.
11. Deschamps, J. Producción y comercialización de hongos comestibles. Buenos Aires, Argentina: Orientación Gráfica Editora. S.R.L, 2003. 210p.

12. Guillen-Navarro, G., Márquez-Rocha, F., y Sánchez-Vásquez, J. Producción de biomasa y enzimas ligninolíticas por *Pleurotus ostreatus* en cultivo sumergido. Rev Iberoam Micol 1998; 15:302-306.
13. De León, R. Cultivation of edible and medicinal mushrooms in Guatemala, Central America. Micol Apl Int 2003; 15(1): 31-35.
14. Lau Bonilla, D. Factores que afectan el crecimiento micelial y la degradación del sustrato por *Agrocybe aegerita*. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de Graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2001. 56p.
15. Vallejo R. Análisis Químico de la paja de cebada sin y con suplemento para el cultivo de *Agrocybe aegerita*. (Tesis de Graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2002. 48p.
16. 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.
17. Bran M. *et al.* Producción de inóculo de cepas nativas para estimular el cultivo de hongos comestibles en comunidades campesinas, como alternativa de autoconsumo y comercialización. Informe Técnico Final. Dirección General de Investigación. USAC. 2005.
18. Singer R. The Agaricals in modern taxonomy. 3th. ed. Alemania: J. Cramer GmbH, 1975. 912p.
19. Hawksworth, D., *et al.* Ainsworth & Bisby's, dictionary of the fungi. 8th ed. United Kingdom: CAB International, 1995. 616p.
20. Mata M. Macrohongos de Costa Rica. Costa Rica: Editorial INBio. Vols.2, Vol.1. 1999. 253p.
21. Sommerkamp Y. Hongos comestibles en los mercados de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación. Guatemala. 1990. 77p.
22. 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. 75p.

23. Sommerkamp, Y., Guzmán, G. Hongos de Guatemala, II. Especies depositadas en el Herbario de la Universidad de San Carlos de Guatemala. *Rev Mex Mic* 1990; 6: 179-197.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. Sharp, A. Some fungi common to the highlands of México and Guatemala and eastern United States. *Mycologia* 1948; 40: 499-502.
28. Argueta J. 1983. 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). 86p.
29. 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.
30. 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.
31. Labarère 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, Editorial Limusa. 2002; 294p.
32. Clark T., Anderson J. Dikaryons of the basidiomycete fungus *Schizophyllum commune*: Evolution in long-term culture. *Genetics* 2004; 167:1663-1675.
33. May G., Adams T. The importance of fungi to man. *Genome Res* 1997; 7:1041-1044.

34. Takeda K., Okumura K. CAM and NK Cells. *Eviden Compl Altern Med* 2004;1 (1): 17-27.
35. Lindequist, U., *et al.* The pharmacological potential of mushrooms. *Eviden Compl Altern Med* 2005; 2 (3): 285–299.
36. Haltrich D., Sebesta B., y Steiner W. Induction of xilanase and cellulase in *Schizophyllum commune*. En: *Enzymatic Degradation of Insoluble Carbohydrates*. Saddler J., Pender M. eds. Washintong, USA: American Chemical Society. 1995. 374p.
37. Nobles, M. Identification of cultures of wood-inhabiting Hymenomycetes. *Can J Bot* 1965; 43: 1097-1139.
38. 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, 1999. 16p.
39. Royse, D. y Sanchez, J. La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. México: Editorial Limusa, S.A. 2001. 294p. (p. 141-155).
40. Royse, D. J. Specialty mushrooms and their cultivation. *Hort Rev* 1997; 19:59-97.
41. Statemets, P y Chilton, J. *The Mushroom Cultivator*. Agarikon Press Washington, USA. 1983.
42. Cruz G. N. Experiencia profesional generada en el Sistema de Producción Integral de Traspatio del Colegio de Postgraduados. Montecillo. Texcoco, Edo. De México. México. 2004.
43. Morcillo M, Sánchez M. Cultivo de setas y desarrollo rural en Nicaragua. *Micología Forestal & Aplicada*. Rbla Arnau 6 Vilanova i la Geltrú 08800 Barcelona. Spain. 2000.
44. Pastrana, M. *Catalogo de Propiedades Nutrimentales, Nutraceuticas y Medicinales del Sorgo*. Secretaría de Desarrollo Rural del Estado de Puebla. 2007.
45. Zeledon, H., *et.al.* *Guía técnica del Sorgo*. Ministerio de Agricultura y Ganaderia. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. El Salvador, 2007. 38p.
46. Gaitán, R., Salmones, D., Cultivo y Selección de Cepas de *Pleurotus* spp. con alto rendimiento. *Rev Mex Mic* 1996; 12: 107-110

47. Cetz, G., Ancona, L. y Belmar, R., Cultivo de *Pleurotus djamor* en rastrojo de calabaza. Rev Mex Mic 2000; 16: 41-43.
48. López, E., Ancona, L., y Medina, S., Cultivo de *Pleurotus djamor* en condiciones de laboratorio y en una casa rural tropical. Rev Mex Mic 2005; 21:93-97
49. Rodríguez, R., *et.al.* Perspectivas de producción de hongos comestibles (*Pleurotus* spp.) en la región noroeste del estado de Nuevo León. *scientia-CUCBA* 2006; 8(2):163—169.
50. FAO. Wheat in Human Nutrition y Thomas B. 1968. Nutritional - physiological views in processing cereal products. *Vegetables* 1970;15:360.
51. Callejo, G. M. J. Industrias de cereales y derivados. Ediciones Mundi – Prensa. Madrid. 2002. pp. 21-23, 25-36,169-175.
52. Martínez, D., Morales, P. y Sobal, M., Cultivo de Diversas cepas Mexicanas de *Pleurotus ostreatus* sobre pulpa de café y paja de cebada. Rev Mex Mic 1988; 4: 153-160
53. Carrera, D., Soto, C. y Guzmán, G., Cultivo de *Pleurotus ostreatus* en pulpa de café con paja como substrato. Rev Mex Mic 1985; 1: 101-108.
54. Bernabé, T., *et.al.* Cultivo de *Pleurotus pulmonarius* sobre diversos subproductos agrícolas de Guerrero. Rev Mex Mic 2004; 18: 77-80.
55. Snehil, K. and Sudesh, J. Biological evaluation of protein quality of barley. *Food chemistry*. Vol. 61. 1998; No. 1/2. pp. 37-38.
56. "Composition of Foods". Agriculture Hand Book N°8. Servicio de Investigación Agrícola de U.S.A.; "The Chemical Composition of Rice" (USA-RICE COUNCIL).
57. Cruz, L., *et.al.* Inoculación de *Pleurotus ostreatus* (8 % p/p) y su influencia sobre algunos indicadores químicos en una mezcla de residuos fibrosos de la industria azucarera. Instituto de Investigaciones Agropecuarias Jorge Dimitrov, Bayamo, Granma, Cuba. Disponible en: <http://www.reduc.edu.cu/147/04/2/14704212.pdf>. Fecha de consulta: 04 de Julio de 2008.
58. Stamets, M., *et.al.* Growing gourmet and medicinal mushrooms. Ten Speed Press & Mycomedia. Olympia, WA. USA. 554p. p. 90, 113.
59. Raper, J. and Krongelb, G. Genetic and environmental aspects of fruiting in *Shizophyllum commune* Fr. *Mycologia*, Vol. 50, 1958; 707-740.

60. Niederpruem, D. & Wessels, J. Cytodifferentiation and morphogenesis in *Schizophyllum commune*. *Bacteriol Rev* 1969; 33 (4): 505-535.
61. Palacios, A. Investigación sobre la potencialidad de cultivo de dos cepas silvestres de *Neolentinus lepideus* y *N. ponderosus*. En: Memorias del VII Congreso Nacional de Micología, Querétaro, México. 2000. p. 53-54.
62. Palacios, A. Evaluación de un filtro de fibra sintética para el intercambio de gases en el desarrollo de *Neolentinus lepideus* (Fr.:Fr) Fr. en viruta de *Pinus* spp pasteurizada, en condiciones rústicas. En: Memorias del VII Congreso Nacional de Micología, Querétaro, México. 2000. p. 54-55.
63. Cayetano, M. y Bernabé, T. Cultivo de *Pleurotus* sobre residuos de las cosechas de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y plátano (*Musa paradisiaca*). *Rev Mex Mic* 2008;26: 57-60.
64. Menchú, M., Méndez, H. y Lemus, J. Tabla de composición de alimentos de Centro America. Primera Sección. Prosalud (Novi Mundi) Guatemala. 2000. pp. 29, 31-32.

XIV. Anexos

Anexo 1. Caracterización y producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas del hongo comestible Asam (*Schizophyllum commune* Fr.)
VELOCIDAD DE CRECIMIENTO MICELIAR

Cepa: _____ Sustrato: _____ Tº: _____ Fecha de inicio: _____ Fecha de finalización: _____

Fecha										
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
12										
13										
14										
15										
16										
17										
18										
19										
20										

- Negativo (No hay crecimiento), + Escaso, ++ Regular cantidad, +++ Abundante, ++++ Muy Abundante

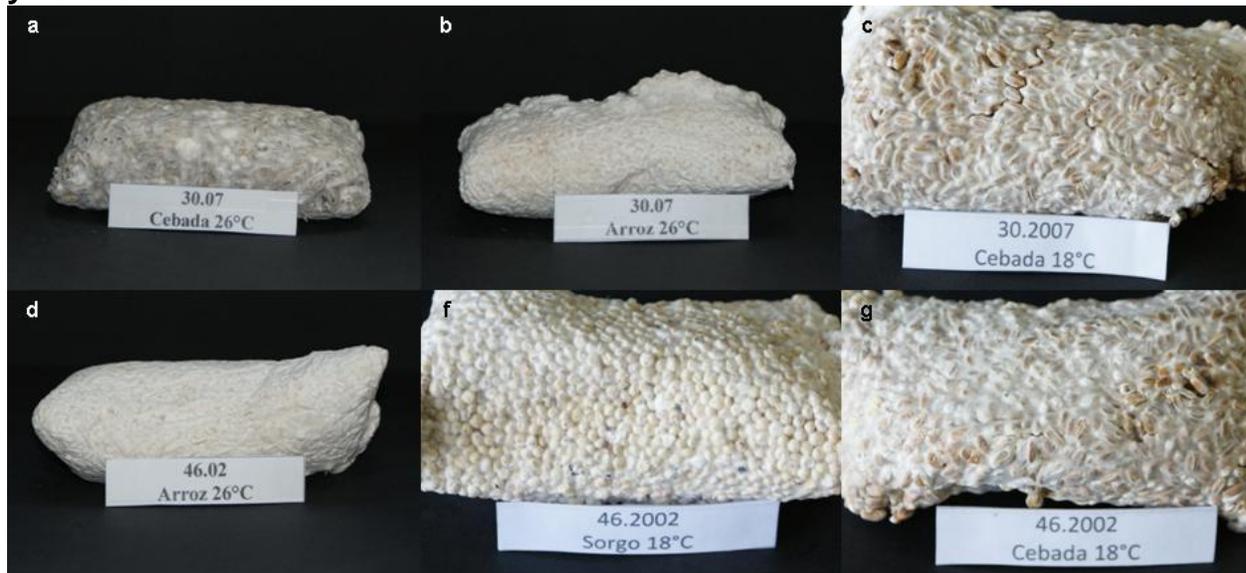
Características:

Anexo 2. Fotografías de la producción de inóculo de las cepas *S. commune* 108.2001, 52.2003 y 296.2002.



a. Colonización del micelio en arroz a 26°C, nótese la completa colonización de los granos. b. El inóculo en granos de trigo a 18°C, se produjo en menor tiempo. c. Inóculo en granos de cebada a 18°C, en el cual el inóculo se produjo en mayor tiempo. d. Granos de trigo a 26°C, donde La colonización se produjo en menor tiempo. e. Inóculo a 26°C en arroz, nótese la completa colonización del grano. f. Inóculo a 18°C en sorgo. g. Inóculo a 26°C en granos de trigo. h. Colonización miceliar a 26°C en cebada. i. Inóculo a 18°C en cebada. Obsérvese la diferencia en la colonización a las diferentes temperaturas.

Anexo 3. Fotografías de la producción de inóculo de la cepa *S. commune* 30.2007 y 46.2002.



a. El inóculo a 26°C en granos de cebada. b. Inóculo a 26°C en arroz, nótese la completa colonización sobre dicho vehículo. c. El inóculo a 18°C en cebada, no logró la colonización completa de los granos. d. Inóculo a 26°C en granos de arroz, obsérvese la completa colonización. e. Inóculo a 26°C en sorgo. f. Inóculo a 18°C en cebada.

Anexo 4. Análisis de varianza para un diseño factorial 2x4x5

Anova dia temperat cepa sustrato temperat*cepa temperat*sustrato cepa*sustrato.
> ratio temperatura*cepa*sustrato, cat(temperatura, cepa, sustrato)

Number of obs = 800 R-squared = 0.9013
Root MSE = 1.68324 Adj R-squared = 0.8962

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob > F
Model	19660.855	39	504.124487	177.93	0.0000
Temperatura	12371.645	1	12371.645	4366.53	0.0000
Cepa	3228.4925	4	807.123125	284.87	0.0000
Sustrato	1059.505	3	353.168333	124.65	0.0000
Temperat*cepa	1311.4925	4	327.873125	115.72	0.0000
Temperat*sustrato	781.145	3	260.381667	91.90	0.0000
Cepa*sustrato	609.2075	12	50.7672917	17.92	0.0000
Temperat*cepa*sustrato	299.3675	12	24.9472917	8.81	0.0000
Residual	2153.30	760	2.83328947		
Total	21814.155	799	27.301821		

Anexo 5. Tabla de composición de los alimentos en 100 g de porción comestible (64)

Grano	Tiamina mg	Proteínas g	Carbohidratos g
Trigo	0.43	10.2	72.1
Sorgo	0.41	8.8	76.3
Cebada	0.38	9.7	75.4
Arroz	0.07	6.6	79.3

Fuente: Menchú, M., Méndez, H. y Lemus, J. Tabla de composición de alimentos de Centro America. Primera Sección. Guatemala. 2000. pp. 29, 31-32.