

I. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN
(UBICACIÓN DENTRO 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. Nombre del Coordinador del proyecto:

Licda. María del Carmen Bran González

C. Título del proyecto del estudiante:

“Producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas del hongo comestible Asam (*Shizophyllum commune* Fr.)”

D. Nombre del asesor:

Lic. Osberth Isaac Morales Esquivel

E. Ubicación dentro del Proyecto Macro:

Evaluar la producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas del hongo comestible *S. commune*, sobre diferentes sustratos.

F. Duración del proyecto:

Seis meses

G. Unidad académica responsable:

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

H. Centro de investigación:

Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas -IIQB-

I. Financiamiento:

- PROYECTO PUIDI 6.49, Dirección General de Investigación, Programa Universitario de Investigación en Desarrollo Industrial - PUIDI - (Línea de investigación: procesos innovadores de producción industrial).
- Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

II. RESUMEN

S. commune es un hongo comestible muy apreciado en Guatemala, que se consume y se comercializa en grandes cantidades en diferentes regiones del país como lo son Alta Verapaz, Baja Verapaz, Petén, Izabal, Sacatepéquez, Huehuetenango, Chimaltenango, lugares en los que se le conoce con los nombres de Asam, Isem, Esem o bien como Xikin kuk y Xikin che'.

Para la producción de cuerpos fructíferos en comunidades campesinas, esta especie saprobia puede ser cultivada sobre distintos sustratos, como una alternativa alimenticia, económica y así como por su potencial medicinal.

Actualmente, gracias al financiamiento otorgado por la Universidad de San Carlos de Guatemala, ha sido posible la identificación taxonómica y se ha documentado la etnomicología relacionada con esta especie. También se ha establecido el comportamiento de varias cepas nativas en medios de cultivo *in vitro*, y se ha determinado el sustrato más apropiado para utilizarse como vehículo para la producción de inóculo (1,2).

En consecuencia, en este estudio se evaluó la producción de cuerpos fructíferos de cinco cepas nativas sobre diferentes sustratos a través de la cuantificación de la eficiencia biológica y el tamaño de los píleos.

Para ello se utilizaron cuatro sustratos diferentes: S1. Aserrín de pino (*Pinus spp*) (85%), harina de trigo (10%), harina de avena (4%) y CaCO_3 (1%), S2. Caña de maíz picada en fragmentos de 2.0 a 3.0 (50%), pulpa de café seca (50%), Ca(OH)_2 al 2% (para humedecer los sustratos hasta alcanzar el 70% de humedad), S3. Caña de maíz picada en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%), Olote de maíz picado en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%) desinfectado por inmersión en agua alcalina y S4. Caña de maíz picada en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%), Olote de maíz picado en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%) esterilizado en autoclave. Los sustratos fueron inoculados al 5 % con inóculo y se incubaron a temperatura ambiente hasta que el micelio cubrió el sustrato. Los sustratos se trasladaron a un módulo de fructificación en donde se colocaron en un área con iluminación natural difusa y ventilación. De cada sustrato se realizaron 10 repeticiones.

De las cinco cepas estudiadas, ninguna produjo cuerpos fructíferos en los sustratos S2 y S3. Por otra parte, el análisis estadístico mostró que la eficiencia biológica (EB) alcanzada por la cepa 52.03 en el sustrato S4 fue significativamente mejor con respecto a la alcanzada por las cepas 108.1 ($p=0.005$), 46.02 ($p=0.004$) y 30.07 ($p<0.00001$) cultivadas en el sustrato S1.

Asimismo, al unificar las eficiencias biológicas obtenidas en todas las cepas, el sustrato S4 presentó la mayor EB comparada con el sustrato S1, siendo estadísticamente significativo ($p < 0.05$). La cepa 52.03 fue la única que desarrolló píleos con diámetros entre 1 a más de 4.0 cm, tanto en el sustrato S1 como en el S4, mientras que las cepas 108.01, 46.02 y 30.07 presentaron píleos entre 1 y 4.0 centímetros observándose el mayor porcentaje de estos entre 1 y 2.0 centímetros.

Finalmente, se considera que el sustrato S4 es promisorio para la producción de cuerpos fructíferos a nivel de comunidades rurales por lo cual se recomienda su uso.

III. INTRODUCCIÓN

Guatemala posee una gran diversidad de hongos comestibles, dentro de los cuales se encuentra *Schizophyllum commune* conocido popularmente con el nombre de Asam, el cual es utilizado por personas de las comunidades etnolingüísticas Q'eqchi', Itza', Poqomchi', Popti', Chuj y Kaqchikel. En estas comunidades se consume y se comercializa en grandes cantidades, principalmente en los departamentos de Alta Verapaz y Petén. En México en las regiones tropicales de municipios de los estados de Oaxaca, Veracruz y Tabasco, tiene un alto valor cultural y comercialmente se vende en mercados de las localidades (3-5).

Como especie saprobia y degradadora de madera, posee características que hacen factible su cultivo sobre residuos que generan las actividades madereras y agrícolas del país. Mediante su cultivo, se estaría dando uso no solo a la diversidad fúngica nativa, sino que también se utilizarían parte de los residuos para producir cuerpos fructíferos comestibles, con lo que se crearían alternativas alimenticias y económicas que contribuirían al desarrollo de las comunidades campesinas.

Actualmente, gracias al financiamiento otorgado por la Universidad de San Carlos de Guatemala a la Unidad de Biodiversidad, Tecnología y Aprovechamiento de Hongos de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, se conoce el uso tradicional y el gran aprecio que se tiene por *S. commune* así como, se han aislado a nivel de laboratorio varias cepas nativas. Sin embargo, la producción de cuerpos fructíferos no ha sido aún estudiada, pese a la demanda que posee para consumo y comercialización en las diversas comunidades.

Por tal motivo, es necesario estudiar las cepas nativas para evaluar la producción de cuerpos fructíferos sobre diferentes sustratos, midiendo la eficiencia biológica y el tamaño de los píleos y así generar una tecnología, que en el futuro pueda ser transferida a comunidades campesinas, como una alternativa alimenticia y comercial.

IV. ANTECEDENTES

A. Generalidades

Los hongos están entre los organismos más importantes en el mundo, no únicamente por las funciones vitales que desempeñan en los ecosistemas, sino que también debido a su influencia sobre humanos y las actividades relacionadas a estos. Los hongos son esenciales para algunas actividades cruciales como la descomposición de materia orgánica, así como en el ciclo y transporte de nutrientes (6).

Los hongos son organismos heterótrofos que pueden encontrarse en la mayoría de ambientes. Poseen talos filamentosos encerrados en la pared celular, son no móviles, se reproducen de forma sexual y asexual por medio de esporas y se encuentran conformados dentro de un reino independiente llamado Fungi (6).

Durante la última década los micólogos han hecho progreso en cuanto a la clasificación filogenética basada en análisis de ADN. Los hongos monofiléticamente han sido clasificados en cuatro Phyla: *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Basidiomycota*, y *Ascomycota* (6).

Para el año 2,000 se estimaba que el número de especies descritas era de alrededor de 74,000, aunque se ha llegado a considerar que la cantidad de las existentes en todo el mundo es de por lo menos 1.5 millones. De este número, se estima que 140,000 producen cuerpos fructíferos de tamaño y estructura en cuanto a que reúnen las características como para ser considerados macrohongos (6).

B. Hongos comestibles

De las 140,000 especies de macrohongos que se estima que existen, se considera que el 50% poseen varios grados de comestibilidad y por lo menos, más de 3,000 especies de 31 géneros se consideran las principales comestibles. A la fecha, únicamente 200 especies se han cultivado de forma experimental, 100 son económicamente cultivables, aproximadamente 60 son cultivados comercialmente y alrededor de 10 se cultivan a escala industrial en varios países (7).

Los estudios sobre hongos comestibles en Guatemala son muy escasos; sin embargo, hasta el año 2,003 se habían registrado un total de 70 especies de hongos utilizadas como comestibles en el país. Los hongos mas conocidos y apreciados son: el complejo *Amanita caesarea*, *Cantharellus cibarius*, *Lactarius deliciosus* y *Lactarius indigo* (8).

1. Propiedades nutricionales

El valor nutritivo de los hongos se centra en su contenido mineral y vitamínico, similar al de las hortalizas comunes. Pueden ser consumidos ya sea por ser apetitosos o por su valor nutricional. Su apetecibilidad puede ser juzgada por el color, textura, sabor y gusto en el paladar. Los hongos han recibido mucha atención en décadas recientes debido a que constituyen una buena fuente de comida deliciosa con altas propiedades nutricionales, su valor proteico los sitúa entre los vegetales y las carnes, incluso se encuentran aún por encima de la leche de origen animal. 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. Contienen una porción sustancial de tiamina, riboflavina, niacina, de vitamina B₂ y poseen un alto contenido proteico en peso seco, además son bajos en calorías, carbohidratos y grasas (7,8).

C. Cultivo de hongos comestibles

Una gran variedad de fuentes indican que desde tiempos muy antiguos los humanos han utilizado los hongos colectados en la naturaleza como alimento. Se estima que el primer cultivo intencional de hongos se realizó hace aproximadamente 1,400 años. La primera especie cultivada fue *Auricularia auricula*, la segunda fue *Flammulina velutipes* cultivada 200 a 300 años después y la tercera fue *Lentinula edodes*. El gran incremento en el número de especies que se empezaron a cultivar en los años ochenta y noventa corresponde a la dramática aceleración en la producción total de hongos cultivados mundialmente (7).

El uso extenso de técnicas mecanizadas de cultivo para la producción de hongos en grandes cantidades para alimento, así como también muchas otras actividades de agricultura a gran escala, es un fenómeno del siglo XX (7).

Durante la última década, alrededor de 15 exquisitas y exóticas especies se han considerado con un gran potencial para su cultivo: *Pleurotus nebrondensis*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus citrinopileatus*, *Coprinus comatus*, *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea*, *Agrocybe chaxinggu*, *Hypsizygus marmoreus*, *Grifola frondosa*, *Clitocybe maxima*, *Dyctiophora indusiata*, *Pholiota adiposa*, *Lentinula giganteus*, *Oudemansiella radicata* y *Tricholoma radicata*. Todas ellas se cultivan comercialmente a varias escalas en China, Taiwán y Japón (7).

1. Producción mundial de hongos

La producción mundial de hongos comestibles se ha incrementado más de 14 veces en 30 años, desde 350,000 Toneladas (Ton) en 1,965 hasta cerca de 4.909,000 Ton en 1994. La mayor parte de este incremento ocurrió durante los últimos 15 años, en los cuales también se observó un considerable cambio en los géneros cultivados. En 1,979 la producción del champiñón común, *Agaricus bisporus*, representaba más del 70% de la oferta mundial. En 1,994 solamente el 38 % de dicha producción correspondía a *A. bisporus* (9).

Dentro de las especies más cultivadas a nivel mundial se encuentran: *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus* spp, *Auricularia* spp, *Volvariella volvacea*, *Flammulina velutipes*, *Tremella fuciformis*, *Hypsizygus marmoreus*, *Pholiota nameko*, *Grifota frondosa*, entre otros (9).

2. Cultivo de hongos en Guatemala

El cultivo de hongos en Guatemala se inició con *A. bisporus* hacia finales de la década de los años cincuenta. Sin embargo, fue durante la década de los años setenta cuando esta práctica se estableció a escala comercial y hubo disponibilidad de los mismos en los supermercados. En el año de 1,977 se estableció la primera granja para el cultivo de *A. bisporus* y más adelante se establecieron otras cuatro compañías dedicadas a su cultivo. En el año de 1984 se inició otra compañía en el cultivo de *L. edodes* (Shiitake) llegando a tener una producción de cerca de 37,000 kg por aquella época. En la actualidad existe otra compañía que produce cerca de 34,024 kg al año de Shiitake. La mayoría de los hongos producidos es exportada (80%), mientras que una pequeña proporción es comercializada en Guatemala (20%) (10).

Durante el año 2005, se logró el cultivo de cerca de 1,200 libras de producto entre varias especies de *Pleurotus* (*P. djamor*, *P. ostreatus* y *P. levis*) obtenido de forma artesanal en 205 módulos ubicados en el occidente del país (11).

Así mismo el siguiente año se logró obtener tres cruzas mejoradas de dos cepas nativas de *P. djamor* y dos de *P. ostreatus*, con respecto a su crecimiento micelial y eficiencia biológica sobre sustrato de olote de maíz, cruzas consideradas promisorias para ser cultivadas en comunidades rurales (12)

3. Importancia del cultivo de hongos comestibles

Debido al constante incremento de la población mundial en el siglo XXI, la cantidad de comida y los niveles de servicios médicos disponibles para cada individuo, especialmente

aquellos que viven en los países con poco desarrollo, probablemente seguirán experimentando una disminución. La contaminación ambiental también se convertirá en un problema mucho mas serio. Sin embargo, el mundo tiene una inmensa cantidad de recurso en forma de biomasa, que se puede generar a partir de materiales lignocelulósicos, los cuales pueden ser sostenibles (7).

Si estos materiales se utilizan adecuadamente, como por ejemplo, la paja de cereal y pulpa de café, a través del cultivo de hongos comestibles, podrían llevar a un crecimiento económico. Luego de la cosecha de hongos, el sustrato utilizado puede usarse como alimento para animales, para el cultivo de lombrices o pueden utilizarse como fertilizante. En un esquema amplio, todos los desechos pueden ser utilizados. Este es el concepto de cero emisiones o productividad total (7).

D. Sustratos para la producción de hongos comestibles

Décadas atrás, se realizaron estudios a partir de los cuales se concluyó que la mayoría de los nutrientes requeridos para el crecimiento miceliar y el desarrollo de los hongos se obtenían a partir de lignina, celulosa, hemicelulosa y proteínas. Estos estudios establecieron las bases para la investigación de la preparación de compost, tomando en cuenta las propiedades químicas y físicas, cultivos mixtos y procedimientos de fermentación para el crecimiento de los hongos. Por lo tanto, la investigación sobre requerimientos nutricionales para el cultivo de hongos utilizando diferentes métodos puede ser de valor tanto científico como comercial. Un mejor entendimiento sobre la biología de los hongos ha llevado con frecuencia a optimizar los procedimientos de cultivo comercial (7).

El cultivo para la producción de cuerpos fructíferos, comprende las actividades de preparación del sustrato, desinfección , pasteurización o esterilización, siembra, incubación, fructificación y cosecha. No está demás recalcar que mientras más cuidado se tenga al realizar estas actividades, mejores serán los rendimientos obtenidos, sobre todo cuando se piensa en un cultivo intensivo, porque en él suelen presentarse problemas derivados del volumen de producción, los que son propios del proceso y del monocultivo (13).

1. Preparación

La preparación del sustrato para el cultivo de hongos comestibles se ha venido abordando desde muy diversos métodos en la no muy larga historia de esta especialidad. La elección de cualquiera de los métodos utilizados suele estar relacionada, en principio, con los fines de la actividad, bien sean comerciales o científicos como es el caso de esta

investigación. Algunos materiales procedentes de ciertas agroindustrias (pulpa de café, bagazo de maguey) necesitan ser fermentados previamente para homogeneizarlos, estabilizarlos y en definitiva, hacerlos más manejables. En cambio, otros materiales (cascarillas de semillas, harinas) pueden ser directamente utilizados tras el suministro sin necesidad de modificarlos físicamente. Otros debido a su tamaño necesitan ser procesados de forma que se obtengan partículas adecuadas que permitan mantener un equilibrio en las tres fases que conforman el cultivo; sólida, líquida y gaseosa en todo el sustrato. Un tamaño de partículas de 2-5 cm y un contenido de humedad en torno al 70-75% son los valores más citados y los que proporcionan la mejor estabilidad entre las tres fases comentadas (13).

2. Desinfección y pasteurización

No permitir la contaminación del sustrato que se desea utilizar es una parte importante del cultivo. La presencia de bacterias que compiten por el sustrato y la presencia de hongos indeseables provocan una pérdida de nutrientes así como también limitan el crecimiento y fructificación del hongo, además de reducir la cantidad cosechada y su calidad, por ello se ha hecho uso de diferentes metodologías para preparar el sustrato, dentro de las que se puede mencionar pasteurización con vapor, inmersión en agua caliente, composteo, esterilización química y desinfección por inmersión alcalina (13).

La pasteurización es uno de los procedimientos más usados y de los primeros en utilizarse con fines comerciales. Este procedimiento consiste en someter el sustrato a un tratamiento térmico aerobio con ayuda de vapor para lo que se necesita de una cámara, se debe de colocar el sustrato, en un espesor de hasta 60 cm, dentro de un recipiente cerrado que tenga el fondo perforado. Después se introduce en la parte alta de la caja una mezcla de vapor y aire a presión hasta que el sustrato alcanza una temperatura de 65°C, manteniéndola durante una hora. Pasado este tiempo se suprime el vapor y se deja la ventilación para que el sustrato se enfríe. Dentro de sus desventajas se tiene que no provee una protección natural del sustrato contra la contaminación fúngica (13).

a. Composteo

La fermentación aerobia es un procedimiento de preparación de sustrato que complementa en el sistema de pasteurización simple. Refuerza la escasa protección que posee frente a las contaminaciones sin necesidad de recurrir al uso de fungicidas. La base de protección biológica del sustrato está en la conducción adecuada de una fermentación bacteriana tras la pasteurización. La acción preservadora de este método contra los mohos se

desarrolla en el sustrato como consecuencia de la actividad de las bacterias termófilas, las cuales consumen carbohidratos disponibles y producen además, antibióticos contra tales mohos (13).

Utilizando este tipo de metodología, Martínez-Carrera y colaboradores evaluaron la eficiencia biológica a diferentes tiempos de fermentación con las cepas de *P. ostreatus* INIREB-8 y 20 para producir basidiomas. Para el efecto, la pulpa de café se mezcló con paja de cebada en una relación 2:1 en base al peso seco, formando una pila piramidal de 1 m de altura y cubriéndolas con un plástico para evitar la pérdida de agua. Para el cultivo del hongo, se tomaron muestras a los cinco, diez y veinte días de fermentación, incluyendo la pulpa de café fresca. El sustrato se pasteurizó e inoculó. Las bolsas con la pulpa de café inoculada, se mantuvieron en obscuridad durante el desarrollo del micelio y a la luz indirecta del sol durante la fructificación de los hongos. La eficiencia biológica más alta se obtuvo con la cepa INIREB 8, alcanzando 102.68% en el sustrato de 5 días de fermentación. Después de 10 días de fermentación del sustrato, la eficiencia biológica del hongo disminuyó, hasta ser nula en el sustrato con 20 días de fermentación (14).

Así también, Martínez-Carrera junto a otro grupo de colaboradores realizó un estudio con diez cepas mexicanas de *P. ostreatus* (INIREB 20, 21, 23,24, 25, 26, 27, 29, 31, 32) aisladas a partir de cuerpos fructíferos silvestres de la región de Xalapa, Veracruz México. Los sustratos utilizados para la producción de los basidiomas fueron pulpa de café y paja de cebada. La pulpa de café se fermentó en las pilas piramidales durante 5 días. Por otro lado, la paja de cebada se hidrató sumergiéndola en agua durante 24 hrs. Ambos sustratos se pasteurizaron independientemente, a más o menos 70°C, durante 15 minutos. Una vez escurrido y enfriado se depositó en bolsas de plástico de 50 por 70 cm, inoculándolo en forma homogénea con el micelio de *P. ostreatus* previamente elaborado. Las bolsas de plástico se llenaron con aproximadamente 9 Kg de pulpa de café y 7 Kg de paja de cebada en peso húmedo. Las bolsas se hicieron por triplicado por cada cepa y se cerraron para evitar su contaminación y/o deshidratación, haciéndoles orificios para favorecer el intercambio gaseoso. Las mayores eficiencias biológicas obtenidas se registraron con la cepa INIREB-21 (138.13%) en la pulpa de café y con la cepa INIREB-26 (96.04%) en paja de cebada. El tiempo para producir los primeros primordios de fructificación y para el desarrollo completo de los cuerpos fructíferos, fue menor en paja de cebada que en pulpa de café (15).

En otro estudio, Soto y colaboradores evaluaron el crecimiento y la producción de una cepa de *P. ostreatus* (INIREB-8) sobre bagazo de maguey tequilero (*Agave tequilana*) fermentado y mezclado con paja de trigo (*Triticum aestivum*). El bagazo del maguey

tequilero se fermentó aeróbicamente por un período de cinco días, con la finalidad de favorecer el establecimiento de la microbiota que eliminará el exceso de azúcares residuales presentes en este desecho y evitar así la contaminación por mohos. La paja de trigo se obtuvo de la región de los Altos, Jalisco México y fue cortada en segmentos de aproximadamente 5 cm de longitud y puesta a remojar por espacio de más o menos 15 horas, período durante el cual alcanzó una humedad del 75%. El bagazo de maguey ya fermentado y la paja húmeda se mezclaron en una proporción de 3:1, con base en el peso húmedo de ambos. Una vez hecha la mezcla, se pasteurizó en agua a 70°C durante 30 min. Posteriormente se enfrió hasta que alcanzó una temperatura de 30°C y se procedió a su inoculación con una cepa de *P. ostreatus* (INIREB-8) en una relación de 3%, en 7 Kg de peso húmedo del sustrato. Los resultados mostraron una eficiencia biológica alta de hasta 96.4% (16).

Villa-Cruz y colaboradores llevaron a cabo otro estudio haciendo uso de una mezcla que contenía pulpa de café y rastrojo, sumergiéndolos por separado, realizando tres pruebas: solución A (CaCO_3 al 2 %), solución B (solución de Benomyl 1000 ppm.) y C (agua). La humedad fue ajustada al 65%, luego los sustratos fueron colocados en pilas de fermentación conformadas por una capa de rastrojo y una de pulpa de café, cuidando que estas fueran de 60 cm. de alto y que contuvieran 100 Kg en peso fresco, luego fueron cubiertas con un plástico negro para evitar la pérdida de humedad y favorecer la fermentación. Las pilas fueron fermentadas por espacio de 5, 7 y 9 días. Las muestras de los sustratos fermentados fueron inoculados directamente con un cepa de *P. ostreatus* (CP-50), e incubados para su crecimiento. El micelio del hongo colonizó completamente el sustrato fermentado en siete días y luego de la fructificación y cosecha, las eficiencias biológicas fueron del 70-72%. Este método puede ser usado en lugar del proceso de pasteurización en el cultivo del hongo ostra (17).

b. Esterilización

El proceso de esterilización provee de un sustrato libre de otros microorganismos que compitan por los nutrientes con la especie comestible que se desee cultivar. Se han hecho estudios para demostrar su eficiencia como el realizado con una cepa asiática de *L. edodes* (IE-40) en viruta de madera de *Carpinus caroliniana* mezclada con cascarilla de arroz y semilla de mijo blanco, en proporciones del 70, 20 y 10%. Para ello, se colocaron 800 g de mezcla húmeda en bolsas de polipapel de 25 x 35 cm, las cuales se esterilizaron a 15 lb de presión durante 60 min. El experimento se realizó por quintuplicado. Cada bolsa se inoculó con cinco taquetes, los cuales se distribuyeron en la superficie del sustrato. Las bolsas fueron

cerradas con un tapón de algodón previamente esterilizado. La incubación se realizó en condiciones de laboratorio a 22-25°C. Una vez colonizado completamente el sustrato, se retiró la bolsa de polipapel y se le dio el siguiente tratamiento para inducir la fructificación: se sumergió en agua durante 24 hrs. después se escurrió y se mantuvo el mismo tiempo a 5°C, finalmente se colocó en condiciones ambientales. Este tratamiento se repitió cinco veces para estimular la fructificación. Las bolsas produjeron 4 a 5 cosechas de hongos durante seis meses después de la inoculación y la eficiencia biológica promedio fue de 87.5% (18).

Estudios realizados por Castillejos-Puon y colaboradores, permitieron evaluar la eficiencia biológica y características de los cuerpos fructíferos frescos de 5 cepas silvestres de *Auricularia fuscosuccinea* (ECS-0201, 0203, 0207, 0208, 0209, 0210) nativas del Soconusco, Chiapas, México. Para la fructificación se utilizó olote de maíz previamente triturado, hasta un tamaño de partícula de 2 cm, adicionados de 3% de hojas de *Leucaena*. Se tomaron porciones de un kilogramo, que fueron colocadas dentro de bolsas de polipapel de 25 x 32 cm y esterilizadas en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Posteriormente, para la siembra, el contenido de cada bolsa fue mezclada asépticamente en cepas alternas con doscientos gramos de inóculo y colocados en otra bolsa del mismo material. Cada bolsa así preparada se incubó durante 20 días a 28-30°C. Después de que el micelio cubrió el sustrato, se retiró la bolsa de polipapel, se sumergió el sustrato en agua a temperatura ambiente y se incubó a 26-28° C y 85-95% de humedad relativa. Después de 7-13 días aparecieron los primeros cuerpos fructíferos, los cuales se fueron cosechando cuando alcanzaba su máximo diámetro y una coloración vinácea. El sustrato se mantuvo en incubación y se cosechó hasta que ya no fue posible obtener más fructificaciones. Las cepas estudiadas presentaron valores de eficiencia biológica y de tasa de producción, entre 32.8-20.43% y 0.17-0.34, respectivamente, sin que se demostrara diferencia estadística entre ellas (19)

También se evaluó la producción de basidiomas de la cepa de *P. ostreatus* (BAFC-120), aislada a partir de especímenes silvestres recolectados en el Parque Nacional Lanin, Argentina, se utilizó una mezcla de aserrín (*Salix* sp.) (70%), harina de trigo (10%) harina de avena (4%) y CaCO₃ (1%) introducida en bolsas de polipropileno y autoclaveadas a 120°C por 2 horas. Se obtuvieron los cuerpos fructíferos, sin embargo no se cuantificó la eficiencia biológica, debido a que los basidiomas se utilizaron para ensayos de compatibilidad interespecífica (20).

c. Pasteurización por inmersión en agua caliente

El tratamiento con agua caliente permite eliminar grandes cantidades de materiales solubles que favorecen el desarrollo de microorganismos contaminantes. Se somete a un remojo en agua caliente y limpia, a 70-80°C durante 15 minutos. Se debe realizar un par de lavados o aclarados más, con agua caliente, hasta que los líquidos terminen saliendo claros. Su desventaja es que a la vez puede eliminar nutrientes perjudicando el desarrollo del hongo (13).

En el 2003, Valencia del Toro y colaboradores realizaron un estudio en el que se evaluó la producción de basidiomas de cepas de *Pleurotus* spp. (INI8, P15, IB67, IE136, ECS127G Y POROS) en sustrato estéril y pasteurizado. En el caso de la pasteurización, el sustrato fue sumergido en agua a temperatura de ebullición durante 2 horas, a continuación se drenó y se dejó enfriar para después empacarlo en bolsas de plástico con 500 g de sustrato húmedo. Con los resultados se calculó la eficiencia biológica obteniéndose valores de entre 36.7 y 102.1 % para el sustrato que fue esterilizado, y valores de entre 17.7 y 74.4 % para el sustrato sometido a pasteurización, determinándose que el tratamiento térmico del sustrato juega un papel importante sobre la biodisponibilidad y la degradación por parte del hongo, lo cual también depende de la cepa utilizada (21).

En el estudio realizado por Bernabé-González y colaboradores, se determinó la eficiencia biológica en la producción de basidiomas de las cepas de *Pleurotus pulmonaris* (IE-4) sobre diversos subproductos agrícolas, obteniéndose valores de entre 49.89 y 163.79 %. Los sustratos se pasteurizaron sumergiéndolos en agua a 80°C durante 1 hora. Posteriormente, se colocaron en bolsas de polietileno mezclados con el inóculo a razón de 4% con base en el peso húmedo de los sustratos (22).

d. Inmersión en agua alcalina

Se ha sugerido que utilizando un medio básico, se evita el paso de la esterilización o la pasteurización. Ajustando los valores de pH aún sin compostear, es posible alcanzar valores de eficiencia biológica de cerca del 80% hasta en dos cosechas. Aunque no hay estimaciones exactas con respecto a la diferencia en el costo de pasteurización por calor comparado con la desinfección con agua alcalina, es claro que el costo es mucho más bajo debido a que no requiere gasto de energía (23).

En el estado de Chiapas, México, personas que se dedican al cultivo de hongos comestibles preparan el sustrato por simple remojo en agua alcalina por determinado periodo

de tiempo. Este método ha dado resultado al inhibir el crecimiento de bacterias y hongos que puedan competir por el sustrato, sin afectar el crecimiento del hongo comestible (14).

En el municipio de Tenejapa, Chiapas, México, se encuentran 53 módulos de cultivo manejados por mujeres indígenas quienes se dedican a la producción rural de *P. ostreatus*. Los subproductos más ampliamente utilizados por ellas para la conformación de sustrato son: olote, rastrojo de maíz y cascabillo de café, los cuales reciben un tratamiento de inmersión alcalina ($\text{pH } 10.9 \pm 0.2$), durante 24 a 48 horas, utilizando una concentración de cal comercial de hasta el 2%, previo a la inoculación. La eficiencia biológica promedio estimada es de 67.7% (24).

3. Siembra

La siembra se refiere a la mezcla homogénea, en condiciones de asepsia, del inóculo o semilla con el sustrato. Normalmente el micelio se desarrolla sobre granos de diferentes cereales, los cuales previamente acondicionados y esterilizados serán quienes nutran al hongo en sus primeros estados del desarrollo. Para una siembra eficiente debe tomarse en cuenta, además de la cepa y del sustrato, el estado fisiológico del organismo, la tasa de inoculación y una higiene rigurosa (13,15).

Todos los materiales y útiles empleados en la siembra deben estar bien limpios, lo mismo que manos y ropas. Una contaminación en este momento tiene generalmente consecuencias muy graves. En estudios efectuados por Martínez-Carrera y colaboradores, se realizó el inóculo del sustrato de forma homogénea con el micelio previamente preparado. Asimismo, Bernabé-González y colaboradores al evaluar el cultivo de *Pleurotus pulmonaris* sobre varios sustratos, realizaron la mezcla con el inóculo a razón de 4% con base en el peso húmedo. Castillejos-Puon y colaboradores en la evaluación de cepas de *Auricularia fuscosuccinea*, mezclaron asépticamente el contenido de cada bolsa de sustrato en capas alternas con 200 g de inóculo (19, 22, 25).

4. Incubación

La incubación es la etapa que permite la colonización del sustrato por el hongo, de preferencia a temperatura y humedad óptimas y en la oscuridad. Este proceso transcurre durante aproximadamente 15 días. Si todo va bien, la semilla comienza a desarrollarse inmediatamente después de la siembra. Durante esta etapa, se debe proporcionar al hongo una temperatura constante y acorde con sus requerimientos para que la colonización se lleve a cabo con la tasa de crecimiento más alta posible. Durante la incubación, cuatro o cinco días

después de haber realizado la siembra es necesario realizar perforaciones en la bolsa de polietileno para facilitar el intercambio con aire fresco. En estudios realizados por Martínez y colaboradores, las bolsas con el sustrato ya inoculado se mantuvieron en oscuridad durante el desarrollo del micelio y a la luz indirecta (13,25,26).

5. Fructificación

Después de la incubación, cuando el micelio ha colonizado el sustrato de tal manera que ya no se distingue el aspecto ni la coloración del sustrato inicial, sino que al contrario éste se ve como una masa compacta de superficie homogénea color blanca, se deben realizar ciertos ajustes ambientales para inducir al micelio a formar cuerpos fructíferos. Para esta fase se debe contar con una sala o ambiente dedicado exclusivamente para este fin, la sala debe ser un área amplia donde se deben mantener condiciones controladas de humedad, tanto del sustrato como del aire, temperatura, ventilación, así como de la iluminación. La fructificación se puede llevar a cabo en un área con condiciones controladas o cuando las condiciones lo permiten a la intemperie (13,27).

b. Fructificación bajo condiciones controladas

Para llevar a cabo la fructificación con estas condiciones, es necesario contar con una sala que provea de humedad, ventilación, temperatura e iluminación estables. La fructificación puede llevarse a cabo en la misma sala utilizada para el crecimiento vegetativo (incubación) solo si es posible suministrar las condiciones de humedad, temperatura, luz y ventilación que requiere el hongo en esta etapa (13).

b. Fructificación a la intemperie

En algunas temporadas del año, cuando las condiciones ambientales lo permiten, es posible acondicionar un lugar para hacer fructificar los hongos en la intemperie. El lugar puede acondicionarse dentro de una cueva o en lugares arbolados como un bosque o una huerta. Para ello, se requiere que el lugar escogido mantenga condiciones estables. Los pasos iniciales respecto de la preparación del inóculo, preparación del sustrato e incubación no varían con respecto al método de cultivo en invernadero, sólo se prescinde de la sala de fructificación ya que los pasteles (sustrato colonizado) se ponen a fructificar directamente a la intemperie, en el lugar escogido ya condicionado de antemano (13).

6. Temperatura

La temperatura de fructificación varía con la especie, generalmente se observa que la temperatura óptima de fructificación es ligeramente más baja que la óptima de crecimiento micelial. Es de hacer notar que la observancia de una temperatura adecuada para el desarrollo del hongo incide directamente en el rendimiento obtenido. En el caso de *Agaricus bisporus* la temperatura debe mantenerse de 15 a 17°C, y es necesario tener presente que las enfermedades y parásitos, como la mole, la tela y los nematodos se desarrollan más aprisa a temperaturas más altas. Las grandes fluctuaciones de temperatura deben evitarse, porque pueden influir negativamente sobre la calidad y además porque aumentan considerablemente los riesgos de manchas bacterianas (13,25).

7. Humedad

La humedad relativa es un factor sumamente importante en el desarrollo de un hongo. Es siempre recomendable guiarse por un higrómetro o por un higrómetrografo para saber cuando es necesario humedecer el ambiente. Una humedad inferior al 80% será negativa para la formación de los basidiomas. En un estudio realizado por Gaitán-Hernández, usando cepas de *P. eryngii*, una vez que el micelio cubrió el sustrato, fue trasladado a un cuarto de producción con condiciones favorables de fructificación. La humedad relativa se mantuvo entre 85 y 90% obteniéndose cuerpos fructíferos con características propias de la especie (13,28).

8. Riego

Esta actividad generalmente es dirigida en cierta forma por el conocimiento, la experiencia y la sensibilidad del operario. Generalmente es necesario aplicar riegos en el cuarto de fructificación en algunas horas del día para aumentar la humedad y evitar que el sustrato se reseque. Los riegos pueden hacerse, según la necesidad, como pulverizaciones hacia el ambiente o directamente hacia el sustrato. No es conveniente regar inmediatamente antes de la cosecha, esto favorece el deterioro y la aparición de manchas bacterianas, conviene aportar cantidades pequeñas de agua en varios riegos e intentar de este modo mantener el nivel apropiado de humedad (13,25).

9. Ventilación

La renovación de aire en la sala de fructificación debe ser constante, los gases procedentes de la respiración, especialmente el CO₂ permanecen en el recinto y su acumulación puede afectar sensiblemente el desarrollo de los cultivos, por lo que es necesario encontrar un

equilibrio que permita un desarrollo adecuado de los cuerpos fructíferos. La forma que comúnmente se utiliza para eliminar este problema es la de la ventilación forzada de los ambientes. Para ello, se puede disponer de ventiladores, extractores, ductos, una chimenea o combinaciones de éstos. Al respecto, Niederpruem demostró convincentemente el efecto inhibitorio del dióxido de carbono sobre la producción de cuerpos fructíferos de *S. commune*, colocando placas inoculadas con micelio en desecadores conteniendo KOH para absorber el CO₂. Con esto se logró que el hidróxido mantuviera un baja concentración de dióxido de carbono en la atmósfera, permitiendo la fructificación del micelio dicariótico, observando que una concentración de CO₂ del 5% evita completamente el desarrollo de los primordios (7,13,26).

10. Luz

La luz del día suele ser suficiente para obtener buenas fructificaciones y no se ha demostrado que iluminar más tiempo permita mejor rendimiento. En estudios realizados por Bromberg y Schwalb, se demostró que *S. commune* requiere de luz para la formación de los primordios y también para los estadios tempranos del desarrollo de los cuerpos fructíferos (7,13).

11. La cosecha

En condiciones normales, dos o tres días después de haber puesto los pasteles bajo las condiciones ambientales necesarias para inducir la fructificación empiezan a aparecer los primordios. De cuatro a seis días después, dichos primordios se han desarrollado normalmente, cubren la totalidad de la superficie del pastel y están en madurez comercial, listos para ser cosechados. La cosecha consiste en tomar con cuidado por el píleo los basidiomas para poder separarlos del sustrato. Este procedimiento es un trabajo rutinario, que al realizarlo todos los días, se adquiere cierto grado de destreza y se debe de realizar cuidadosamente con el fin de evitar la aparición de manchas por lesiones (13,25).

F. *Schizophyllum commune* Fr.

Desde el punto de vista taxonómico, la mayoría de los autores modernos consideran a este género en los Aphylophorales por la estructura hifal del contexto, en vez de acomodarlo en los Agaricales (29).

En la actualidad *S. commune* se clasifica en el Phylum Basidiomycota, clase Basidiomycetes, Subclase Agaricomycetidae, Orden Agaricales, Familia *Schizophyllaceae* (30).

1. Características

Hongo muy común que se encuentra sobre, troncos, ramas, postes y barandales en donde forma conjuntos de muchas fructificaciones. Se caracteriza por su textura coriácea, por la forma de repisas redondas y delgadas, frecuentemente lobuladas, con el borde doblado hacia adentro, hirsutas, blanquecinas a grises o gris-violáceo en la cara superior y sobre todo por tener las láminas de la cara inferior divididas longitudinalmente en dos. Dichas láminas son de color rosa a café-rojizo pálido, con los bordes hirsutos y blanquecinos. Al microscopio se define por tener hifas hialinas de paredes gruesas y delgadas, estas últimas con fíbulas y por sus esporas cilíndricas y hialinas (31).

Los basidios son de 15-22 x 4-5 μm , hialinos cilíndricos, con la base angosta. Las esporas son de 3-5 x 1-2 μm , cilíndrico-ovaladas, hialinas y lisas, láminas con radio desde el punto de unión, bien espaciadas, de color blanco grisáceo. Los bordes se encuentran enrollados en climas secos. Generalmente no hay pie o este es muy pequeño. Tiene muchos sinónimos, más de 15 debido a la alta variabilidad morfológica que presenta y la gran distribución en todos los trópicos del mundo (29,32).

2. Distribución

La distribución de este hongo es mundial. En el caso del territorio nacional ha sido localizado en diferentes departamentos, entre ellos Petén, Alta Verapaz, Baja Verapaz, Izabal, Sacatepéquez, Huehuetenango, Chimaltenango lo que puede dar una idea de su amplia distribución dentro del país. De acuerdo a las primeras observaciones realizadas, se cree que la amplia distribución de este hongo, se debe a la capacidad de dispersión de esporas a largas distancias. Según muestreos de aire realizados en el caribe, las esporas de *S. commune* se encuentran en abundancia y poseen un radio de sedimentación que se estima en unas 18 esporas/m²/h (3,33-38).

3. Etnomicología

S. commune es muy empleado en Guatemala, se vende en grandes cantidades en el mercado de Cobán y municipios aledaños, donde se le conoce como “Asam” en el idioma Q’eqchi’. También se ha reportado la comercialización de este hongo en los mercados de Petén. Los habitantes de esta región indican que es llevado a los mercados por 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: “Xikin che” (37).

También se tienen reportes de su consumo 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 (3,6).

S. commune frecuentemente es comercializado a lo largo de la costa del Golfo de México. Entre los chinantecos *S. commune* se puede preparar de diversas maneras: en salsa verde, revuelto con huevo, envuelto en hoja de maíz, en caldo mezclado con achiote, chile, orégano, acuyo y masa licuada; en mole; con ajo y mantequilla; en salsa de chile guajillo; en pilte (calentar los hongos en el comal y envolverlos en una hoja de plátano). También tiene un alto valor cultural en otros mercados de la región tropical de México (Oaxaca, Veracruz y Tabasco), dada su abundancia de venta, la preferencia de los consumidores y la elaboración de la comida tradicional denominada "mone" (7,8,36).

4. Estudios sobre el cultivo de *S. commune* para la producción de basidiomas

No se tiene conocimiento de publicaciones que traten sobre la producción de basidiomas de *S. commune*, para consumo humano, solamente se conoce respecto a algunos factores que afectan la formación de cuerpos fructíferos *in vitro*.

Al respecto, se determinó que la luz con longitudes de onda comprendidas entre 320 a 525 nm, inducen la producción de cuerpos fructíferos *in vitro*. Asimismo, la diferenciación reproductiva de este hongo requiere de dos pasos secuenciales: por un lado la formación de agregados de masas celulares y por otro la subsecuente diferenciación de los cuerpos fructíferos. Los dos pasos son fotosensibles y la luz acelera la formación de los agregados celulares y una corta exposición a la luz, induce a la formación de células dicarióticas no agregadas a formar cuerpos fructíferos maduros en condiciones de obscuridad (39,40).

También se ha propuesto que la mezcla de aire-CO₂ (95:5), restringe severamente el proceso de fructificación cuando esta condición se aplica durante la conjugación o antes de la formación de los primordios del cuerpo fructífero. En consecuencia, se presume que el CO₂ juega un rol importante en la regulación de la formación de cuerpos fructíferos en *S. commune* (41).

Algunas fuentes individuales de carbono y nitrógeno pueden afectar en la fructificación dicariótica de *S. commune*. Así, la presencia de acetato, citrato, KNO₂, y L-lisina inhiben la formación de los cuerpos fructíferos (42).

V. JUSTIFICACIÓN

La población mundial continúa en incremento constante y con ella la demanda de servicios y alimento, lo cual ocasiona que en los países con menos desarrollo disminuya aún más el nivel y calidad de vida de las personas ya que no es posible suplir las necesidades básicas. Sin embargo, el mundo tiene una inmensa cantidad de recurso de biomasa en forma de lignocelulosa, que al igual que la energía solar es sostenible (7).

Algunos hongos comestibles, dada su naturaleza saprobia, tienen la capacidad de convertir los sustratos lignocelulósicos en cuerpos fructíferos, los cuales mediante su cultivo a nivel artesanal o industrial pueden ser utilizados con fines comestibles, medicinales o farmacéuticos.

En Guatemala, donde un alto porcentaje de la población se dedica a la agricultura y carece de una nutrición adecuada, el cultivo de especies nativas sobre desechos agrícolas y forestales es una buena alternativa para la producción de alimento, pues los hongos comestibles poseen la capacidad de convertir estos desechos en una fuente de proteína barata y saludable, permitiendo además, la utilización de los subproductos del cultivo, como fertilizante o forraje para animales (7, 11).

Una de las especies que pueden ser utilizadas para tal fin, es *S. commune*, hongo comestible que se emplea en varias regiones del país, donde es comercializado en los mercados populares (32).

Actualmente, gracias a estudios financiados por la Universidad de San Carlos de Guatemala, ha sido posible el aislamiento de cepas nativas de esta especie, procedentes de aquellas localidades donde se comercializa y se utiliza como alimento.

Por tal razón, se hace necesario determinar la productividad de dichas cepas sobre diferentes sustratos, utilizando para ello, diferentes desechos agrícolas y forestales que se producen en el país, con el fin de generar una tecnología que luego pueda ser aplicada para el cultivo en comunidades del interior de la República.

VI. OBJETIVOS

A. General:

Evaluar la productividad de cinco cepas nativas de *S. commune* sobre cuatro diferentes sustratos.

B. Específico:

Evaluar la producción de cuerpos fructíferos de cinco cepas nativas de *S. commune* mediante la cuantificación de la eficiencia biológica y el diámetro de los píleos.

VII. HIPÓTESIS

Las eficiencia biológica de las cepas de *Schizophyllum commune* será mayor en al menos uno de los sustratos S2, S3 y S4 al compararlos con el sustrato S1.

VIII. MATERIALES Y METODOS

A. Revitalización de las cepas de *Schizophyllum commune*:

- 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), y fueron las siguientes:

Tabla 1. Procedencia y registros de las cepas

Procedencia	Registro en el cepario
Jacaltenango, Huehuetenango	52.03
Tactic, Alta Verapaz	46.02
Tecpán, Chimaltenango	296.02
Cobán, Alta Verapaz	108.01
Poptún, Petén	30.07

- Estas se revitalizaron, sembrándolas en agar EMA y PDA e incubándolas a 26°C, por 20 días.

B. Preparación e inoculación de los sustratos

Se utilizaron cuatro de los métodos tradicionales para el cultivo de hongos comestibles:

- Sustrato 1:** Aserrín de pino (*Pinus* spp) (85%), harina de trigo (10%), harina de avena (4%) y CaCO₃ (1%) esterilizado por 60 minutos a 121° C (20).
- Sustrato 2:** Caña de maíz picada en fragmentos de 2.0 a 3.0 (50%), pulpa de café seca (50%), CaCO₃ al 2% (para humedecer los sustratos hasta alcanzar el 70% de humedad). Se composteó los materiales por 7 a 9 días en pilas de 1 metro de largo, ancho y altura, tapados con nylon negro y con homogeneizaciones diarias (15).
- Sustrato 3:** Caña de maíz picada en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%), Olote de maíz picado en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%): se sumergió los sustratos en una suspensión de Ca(OH)₂ al 2%, por 48 horas (21).
- Sustrato 4:** Caña de maíz picada en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%), Olote de maíz picado en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%): esterilizado por 40 minutos a 121° C.
- Para cada sustrato se prepararon 1000 g de la mezcla por repetición (10 repeticiones por cepa).

- Se midió el porcentaje de humedad y en base a este se calculó el peso seco.
- Una vez inoculados, se les colocó un respiradero de gasa previamente esterilizado para favorecer la aireación.
- Se incubó a temperatura ambiente, hasta que el micelio cubrió el sustrato.
- Se trasladaron los sustratos al módulo de producción cerrado y exclusivo para el cultivo de hongos comestibles, facilitados por la Asociación AFDISAL (Tecpán, Chimaltenango).

C. Producción de inóculo

El procedimiento se realizó de acuerdo con lo recomendado por Mata, G., *et al* (43).

- Se hidrató los sustratos de granos de trigo, sorgo, cebada y arroz, por 24 horas, alcanzando aproximadamente el 80% de humedad.
- Se colocaron los sustratos individualmente en bolsas de polipapel con 200 gramos en peso húmedo y se esterilizaron por 45 minutos a 121°C.
- De cada una de las cepas, se cortaron porciones de aproximadamente 1.0 cm² del micelio crecido en el medio de cultivo,
- Se inocularon los sustratos con 5 fragmentos de agar con micelio, de cada una de las cepas.
- Se identificaron las bolsas con referencia, nombre de la cepa, fecha de inoculación, sustrato, temperatura de incubación y número de repetición, y se incubaron a temperaturas de 18 y 26°C.
- Se observó el crecimiento del micelio sobre el sustrato cada 5 días, hasta que se observó la colonización completa de los sustratos.

D. Evaluación de la producción de cuerpos fructíferos a nivel de planta piloto

Los módulos de producción que se utilizaron para esta fase, fueron facilitados por la Asociación AFDISAL, en un módulo de producción cerrado y exclusivo para el cultivo de hongos comestibles. Se realizaron visitas semanales, para efectuar la supervisión de los cultivos en fase de fructificación.

- Se colocaron los sustratos en un área de producción con iluminación natural difusa y ventilación para favorecer la fructificación.
- Los parámetros medioambientales que se registraron durante los meses de producción fueron la temperatura y humedad.

- Posteriormente se procedió a cosechar los cuerpos fructíferos y a pesarlos. El resultado fue expresado en gramos.
- Se evaluó la productividad expresada en términos de eficiencia biológica (EB), la cual se determinó expresando en porcentaje la relación entre peso fresco de las fructificaciones de los hongos producidos y el peso seco del sustrato (%EB= (peso fresco de los cuerpos fructíferos/peso seco de los sustratos) x100).
- Se elaboró una base de datos en el programa EXCEL, ordenando los datos en forma vertical, incluyendo los siguientes parámetros en cada columna: cepa (c/u de las 5 cepas), sustrato (1, 2, 3 y 4), eficiencia biológica (%).
- Se importó la base de datos elaborada previamente, al programa estadístico SPSS 15.0, para su análisis estadístico.
- Se elaboraron gráficos de interacción, para la productividad expresada en porcentaje de eficiencia biológica de cada una de las cepas.
- Se contó el número y se midió el tamaño de las fructificaciones obtenidas, clasificándolos según el diámetro del píleo; grupo 1(G1)<2.0cm, grupo 2 (G2) entre 2.0 y 4.0 cm y grupo 3 (G3), >4.0 cm.

E. Diseño

Diseño factorial: 5 x 4 (5 cepas, 4 sustratos).

- 5 cepas:
Jacaltenango, Huehuetenango (52.03); Tactic, Alta Verapaz (46.02); Tecpán, Chimaltenango (296.02); Cobán, Alta Verapaz (108.01); y Poptún, Petén (30.07).
- 4 sustratos:
Sustrato 1 (S1): Aserrín de pino (*Pinus spp*) (85%), harina de trigo (10%), harina de avena (4%) y CaCO₃ (1%).
Sustrato 2: Caña de maíz picada en fragmentos de 2.0 a 3.0 (50%), pulpa de café seca (50%), Ca(OH)₂ al 2% (para humedecer los sustratos hasta alcanzar el 70% de humedad).
Sustrato 3: Caña de maíz picada en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%), Olote de maíz picado en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%).
Sustrato 4: Caña de maíz picada en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%), Olote de maíz picado en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%).

Réplicas: 10 para hacer un total de 200.

F. Análisis de la información

Se realizó un análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de Duncan (Alpha= 0.05), para evidenciar las diferencias significativas en función de la eficiencia biológica obtenida para cada una de las cepas en los diferentes sustratos. Los diámetros en los píleos clasificados en los grupos G1 al 3, se analizaron por medio de la prueba de chi cuadrado (x^2). Además se elaboraron gráficas de interacción.

IX. RESULTADOS

La productividad en los sustratos 2 y 3 (S2 y S3) no pudo ser evaluada debido a que no se observó colonización micelial y consecuentemente fructificación en los mencionados sustratos. En el caso de los sustratos S1 y S4 el tiempo de colonización fue de 47 y 28 días, respectivamente.

Los parámetros ambientales determinados en los módulos de fructificación durante la fase experimental mostraron que la temperatura osciló entre 19-24°C y la humedad varió entre 30-60%.

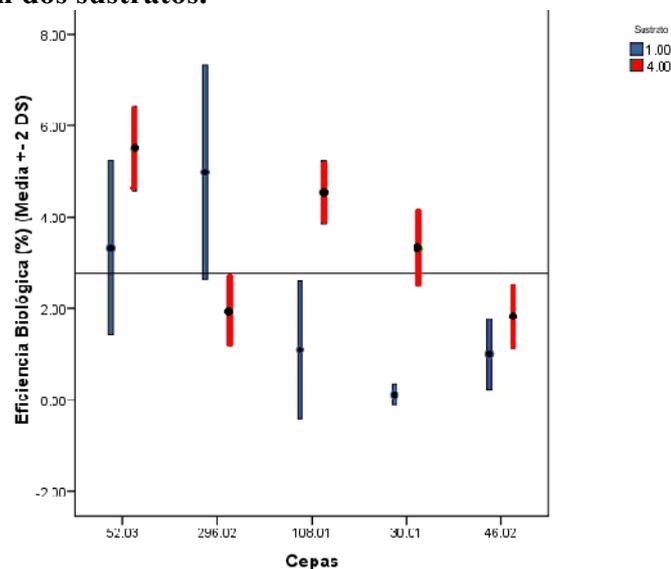
La cepa 296.02 obtuvo un valor de EB alto en el sustrato S1 (4.98 %), mientras que en el sustrato S4 el valor fue bajo (1.95%). En el caso de la cepa 52.03, los valores fueron altos en ambos sustratos (3.32 % en el S1 y 5.50 % en el S4) siendo estas dos cepas las que alcanzaron los valores de EB mas alto (Tabla 1, Gráfica 1).

Tabla 1. Productividad de las cepas de *Schizophyllum commune* (EB)

Sustrato	Cepa	%EB \pm DS ¹	T (días) ²
S1	296.02	4.98 \pm 3.01	47
	52.03	3.32 \pm 3.01	47
	108.01	1.09 \pm 2.39	47
	46.02	0.99 \pm 1.23	47
	30.07	0.11 \pm 0.34	47
S4	52.03	5.50 \pm 1.47	28
	108.01	4.54 \pm 1.09	28
	30.07	3.30 \pm 1.29	28
	296.02	1.95 \pm 1.19	28
	46.02	1.83 \pm 1.09	28

1. Porcentaje de eficiencia biológica \pm la desviación estándar.
2. Tiempo transcurrido desde la siembra hasta la cosecha de los basidiomas.

Gráfica 1. Comparación de los valores de las eficiencias biológicas obtenidas por las cepas de *S. commune* en dos sustratos.



El análisis estadístico entre cepas con respecto a la EB mostró diferencia significativa entre ellas ($p < 0.00001$). De igual forma al unificar los valores de EB obtenidos por cada cepa en ambos sustratos, el valor obtenido por la cepa 52.03 fue significativamente mayor que al de la cepa 30.07 ($p = 0.014$) y de la cepa 46.02 ($p = 0.004$). Asimismo, se encontró diferencia con las cepas 108.01 y 296.02

En el caso de los sustratos se evidenció una diferencia significativa en base a las EB ($p = 0.0010$), y al unificar los valores obtenidos en todas las cepas, el sustrato S4 presentó la mayor eficiencia biológica comparada con el sustrato S1 (Anexo 1).

Por otra parte, al evaluar la interacción entre las cepas y los sustratos evaluados, se evidenció diferencia significativa ($p < 0.00001$). De esta forma, la eficiencia biológica alcanzada por la cepa 52.03 en el sustrato S4 fue estadísticamente diferente a las alcanzadas por las cepas 108.01 ($p = 0.005$), 46.02 ($p = 0.004$) y 30.07 ($p < 0.0001$) cultivadas en el sustrato S1. Asimismo la cepa 296.02 en el sustrato S1 fue estadísticamente diferente que la cepas 108.01 ($p = 0.028$), 46.02 ($p = 0.021$) y 30.07 ($p = 0.001$) cultivadas también en el sustrato S1. Por otra parte la cepa 108.01 en el sustrato S4 fue estadísticamente diferente que la cepa 30.07 en el sustrato S1 ($p = 0.005$) (Tabla 2, Anexo 2).

Tabla 2. Valores de P prueba de Duncan combinación de tratamientos cepa-sustrato

Cepa	Sustrato	EB ¹	Cepa	Sustrato	Significancia
52.03	S4	>	30.07	S1	P=0.014
52.03	S4	>	108.0	S1	P = 0.005
52.03	S4	>	46.02	S1	P = 0.004
52.03	S4	>	30.07	S1	P < 0.0001
296.02	S1	>	108.0	S1	P = 0.028
296.02	S1	>	46.02	S1	P = 0.021
296.02	S1	>	30.07	S1	P = 0.001
108.01	S4	>	30.07	S1	P = 0.005

1. Eficiencia Biológica.

Respecto a los tamaños de los púleos obtenidos, la cepa 52.03 fue la única en la que se obtuvo de los tres grupos de tamaños de púleos en ambos sustratos, no obstante el mayor porcentaje de estos se observó dentro del grupo G1 (Tabla 3).

En todas las cepas se obtuvieron de los grupos G1 y G2, observándose el mayor porcentaje de los mismos en el grupo G1 en ambos sustratos (Tabla 3).

Tabla 3. Productividad de las cepas de *Schizophyllum commune* con relación al tamaño de píleo

Sustrato	Cepa	Peso (g) ¹	Producción de basidiomas con respecto a tamaño de píleos ²		
			G1 (<2.0 cm)	G2 (2.0-4.0 cm)	G3 (>4.0 cm)
S1	296.02	155.2	70.9 %	29.1 %	----
	52.03	103.5	66.8 %	27.2 %	6.0 %
	108.01	34.0	59.4 %	40.6 %	----
	46.02	31.1	78.1 %	21.9 %	----
	30.07	3.4	52.9 %	47.1 %	----
S4	52.03	163.9	84.6 %	13.4 %	2.0 %
	108.01	135.2	92.4 %	7.6 %	----
	30.07	58.0	89.3 %	10.7 %	----
	296.02	58.0	89.3 %	10.7 %	----
	46.02	54.5	84.8 %	15.2 %	----

1. Peso total de las fructificaciones. 2. Porcentaje calculado a partir del peso total de las fructificaciones.

X.DISCUSIÓN

S. commune es una especie cosmopolita y es capaz de crecer en una gran cantidad de sustratos, incluso en madera expuesta al sol, sin embargo, en este estudio no se logró la colonización y fructificación en los sustratos S2 y S3.

En el caso del sustrato S2, este se sometió a un proceso de composteo con la finalidad de degradar la celulosa y hemicelulosa presentes en la pulpa de café, esto con el fin de proveer al micelio de nutrientes fácilmente disponibles (44). El pH al final de este proceso fue de 9 ± 1 . De igual forma, el sustrato S3 (olote y rastrojo de maíz) fue desinfectado por el método de inmersión alcalina al 2%, alcanzando valores de pH 12 ± 1 al momento de inocularlo con el hongo. El hecho que ambos sustratos no fueron colonizados por las cepas de *S. commune* puede sugerir que este hongo no es capaz de tolerar pH alcalinos. Se sabe que esta especie crece mejor en valores de pH entre 5 – 7, ya que valores más alcalinos afectan la degradación de lignina (45-47). Esta observación se reafirma por el hecho que se obtuvo crecimiento en el sustrato S4, el cual estaba constituido por los mismos materiales que el sustrato S3 pero con pH diferente (7.0 ± 1) y en el sustrato S2 que contenía caña de maíz, el cual si fue degradado por el hongo en el sustrato S4.

Debido a las observaciones anteriores, desafortunadamente los métodos que elevan el pH como método de desinfección o degradación de los sustratos, no pueden ser utilizados para la producción de cuerpos fructíferos de *S. commune*. Sin embargo, estos métodos han sido de eficientes para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* (17, 23, 25) y *P. pulmonarius* (48).

En cuanto a la productividad en los otros dos sustratos se observó una diferencia de 19 días entre la cosecha obtenida en el sustrato S4, respecto el sustrato S1. Esta diferencia en tiempo puede deberse a que en *S. commune* la actividad de degradación de lignina es baja y lenta (a pesar que produce las enzimas lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa y laccasa) comparado con otros hongos comestibles cultivados como *Flammulina velutipes* y *Lentinula edodes*, por lo que la degradación del sustrato S1 (viruta de pino constituida por 73.4% de lignina y 27.3% de celulosa) fue degradada más lentamente que el sustrato S4 (49).

La utilización más rápida del sustrato S4 evidenciada por la colonización más rápida del micelio de *S. commune*, se debió probablemente a que este hongo es un potente productor de las enzimas celulasa, β -glucosidasa y xilanasa, las cuales tienen una alta capacidad para degradar celulosa (50). La gran capacidad celulolítica de este hongo influyó en la eficiente degradación del olote y el rastrojo de maíz, los cuales están constituidos en su mayor proporción por celulosa (47). Esta mayor eficiencia de degradación de la celulosa comparada

con la lignina se relacionó directamente con la productividad, ya que cuatro de las cinco cepas evaluadas (con excepción de la 296.02), mostraron eficiencias biológicas mayores en el sustrato S4, al compararlas con el sustrato S1. El micelio de *S. commune* utiliza los carbohidratos intracelulares para el inicio de la formación de los primordios, sin embargo para la expansión de los píleos se necesita una externa fuente de carbono (50), la cual en este caso, es proporcionada por la degradación de la celulosa contenida en el olote y el rastrojo de maíz.

Cabe también mencionar que a pesar que *S. commune* es un hongo degradador de madera, no se obtuvieron los resultados esperados respecto a la productividad en el sustrato S1, ya que no se observó colonización completa y la eficiencia biológica fue menor a la obtenida en el sustrato S4. Esto quizá se deba a que en la naturaleza *S. commune* se encuentra colonizando madera en estado de descomposición y el sustrato S1, utilizado en esta investigación no fue sometido a la técnica de composteo, con el cual se hubiera logrado la degradación de la lignina y la celulosa a nutrientes de menor complejidad.

Por otra parte, la capacidad degradativa de la cepa *S. commune* 296.02 fue diferente con relación a las otras cepas estudiadas, ya que mientras estas obtuvieron valores más altos de EB en el sustrato S4, la cepa en mención lo obtuvo en el sustrato S1. Esta observación sugiere que esta cepa posee una mayor capacidad lignolítica y que las demás cepas, poseen una mayor capacidad celulolítica.

Además de las eficiencias biológicas, se evaluó la producción de cuerpos fructíferos mediante el diámetro de los píleos, ya que este factor permitió evaluar tanto el peso de los cuerpos fructíferos producidos como el tamaño de los mismos. En este caso se observó que únicamente la cepa 52.03 produjo píleos mayores a 4 centímetros de diámetro, y el resto entre 0 y 4 en los sustratos S1 y S4. Esta observación podría indicar diferencias genéticas entre las cepas. Por otra parte, el diámetro de los píleos producidos en este estudio, se encuentra dentro del rango reportado en la naturaleza, el cual va de 0.7 a 3.0 cm (29,51).

El hecho de que se hayan encontrado cuatro cepas con capacidad celulolítica y una con capacidad lignolítica, abre la posibilidad de que estas cepas puedan ser capaces de producir cuerpos fructíferos tanto en desechos agrícolas, como el rastrojo y olote, así como en desechos forestales, como es el caso de la viruta de pino; ya que mediante su cultivo a nivel artesanal o industrial pueden ser utilizadas con fines comestibles, económicos y medicinales.

Adicionalmente, debido a que la mayoría de las cepas presentaron mayores valores de EB en el sustrato S4 (con excepción de la cepa *S. commune* 296.02) el cual está conformado por dos materiales relativamente abundantes y de bajo costo, se considera efectivo para el

cultivo de las cepas de *S. commune* estudiadas y además hace aún más factible el cultivo de este hongo en condiciones artesanales.

XI. CONCLUSIONES

- A. Las cepas evaluadas, con excepción de la cepa 296.02, obtuvieron eficiencias biológicas mayores en el sustrato S4.
- B. Las cinco cepas evaluadas de *S. commune* produjeron cuerpos fructíferos en los sustratos S1 y S4 y no los produjeron en los sustratos S2 y S3.
- C. Únicamente la cepa 52.03 produjo píleos mayores de 4.0 cm, en tanto que todas las cepas produjeron píleos entre 1 y 4.0 cm.

XII. RECOMENDACIONES

- A. Evaluar la colonización y fructificación de *S. commune* aplicando la técnica de composteo en el sustrato S1 con el fin de aumentar la eficiencia biológica.

- B. Evaluar la técnica de pasteurización sin utilizar el tratamiento previo con agua alcalina y de esta forma no elevar el pH en el sustrato.

XIII. ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza de la eficiencia biológica de las cepas de *S. commune* evaluadas sobre los sustratos S1 y S4.

Fuente	Suma de cuadrados	Df	Cuadrado de las medias	F	Significancia
Modelo	306.81327	9	34.0903633	9.00	0.00001
cepa	123.068454	4	30.7671135	8.12	0.00001
sustrato	43.7979228	1	43.7979228	11.57	0.0010
cepa*sustrato	139.946893	4	34.9867233	9.24	0.00001
Residual	340.812038	90	3.78680043		
Total	647.625308	99	6.54166978		

Anexo 2. Medias y Desviaciones estándar de EB

CEPA	SUSTRATO 1		SUSTRATO 2		TOTAL	
	Media	DS	Media	DS	Media	DS
52.03	3.324	3.0172217	5.5	1.4788	4.412	2.5679125
108.01	1.092	2.396719	4.536	1.0955486	2.814	2.5319649
46.02	0.99400001	1.2349017	1.828	1.0935041	1.411	1.2131816
30.07	0.109	0.34468828	3.309	1.2948226	1.709	1.8828643
296.02	4.983	3.7017804	1.947	1.1890056	3.465	3.0961665
TOTAL	2.1004	2.9688388	3.424	1.8732336	2.7622	2.5576688

XIV. REFERENCIAS

1. Huitz P. crecimiento miceliar y caracterización macro y microscópica de cepas nativas del hongo comestible Asam (*Schizophyllum commune* Fr.), Universidad de San Carlos de Guatemala (Trabajo de graduación en la modalidad de proyecto de investigación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 2009. 58p.
2. Chamalé W. producción de inóculo de cepas nativas del hongo comestible Asam (*Schizophyllum commune* Fr.) en diferentes sustratos y temperaturas, Universidad de San Carlos de Guatemala (Trabajo de graduación en la modalidad de proyecto de investigación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 2009. 47p.
3. 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.
4. Ruan Soto F., Garibay-Orijel R., Cifuentes J. Conocimiento micológico tradicional en la planicie costera del Golfo de México. *Rev Mex Mic* 2004; 19:57-70.
5. Ruán-Soto F. *et al.* Process and dynamics of traditional selling wild edible mushrooms in tropical Mexico. *J Ethnobiol Ethnomed* 2006; 2(3):46-59.
6. Muller G., *et al.* Biodiversity of fungi, inventory and monitoring methods. USA: Elsevier Academia Press, 2004. 777p.
7. Chang S., Miles P.. Mushrooms cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. 2ed. USA: CRC Press 2004. 451p.
8. Bran M. *et al.* Contribución al conocimiento de los hongos comestibles de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de C.C.Q.Q. y Farmacia. Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas. *Revista Científica*. 2003; 1(1):2-24.
9. 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., Rose D. México: Editorial Limusa, 2002. 294p.
10. De León R. Cultivation of edible and medicinal mushrooms in Guatemala, Central America *Micol Apl Int* 2003; 15(1): 31-35.
11. 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. Universidad de San Carlos de Guatemala. 2005. 28p.

12. Bran M. *et al.* Mejoramiento genético y producción de inoculo de cepas nativas de *Pleurotus* spp. Informe Técnico Final. Dirección General de Investigación, Universidad de San Carlos de Guatemala. 2006. 44p.
13. Sánchez J., Royse D. La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. Ed. Limusa, México: 2002. 294p
14. Martínez D., Soto C., Guzmán G. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* en pulpa de café con paja como substrato. *Rev Mex Mic* 1985; 1:101-108.
15. Martínez-Carrera D., Morales P., 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.
16. Soto C., Guzmán D., Rodríguez O. Cultivo del hongo comestible *P. ostreatus* sobre bagazo de maguey tequilero fermentado y mezclado con paja de trigo. *Rev Mex Mic* 1989; 5:97-101.
17. Villa-Cruz, V., *et al.* Fermentation of a mixture of cornocobs and coffee pulp for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *Micol Neotrop Apl* 1999; 12:67-74.
18. Mata G., Salmenes D., Guzmán G. Cultivo de Shittake Japonés, *Lentinus*. *Rev Mex Mic*. 1990; 6:245-251.
19. Castillejos-Puon V., Sánchez J., Huerta G. Evaluación de cepas del hongo comestible *Auricularia fuscocucinea* nativas del Soconusco, Chiapas, México. *Rev Mex Mic* 1996; 12:23-30.
20. Lechner B. *et al.* Presence of *Pleurotus ostreatus* in Patagonia, Argentina. *Rev Iberoam Micol* 2002; 19:111-114.
21. Valencia del Toro G. *et al.* Producción de cepas coloridas de *Pleurotus* spp. en sustrato estéril y pasteurizado. *Rev Mex Mic* 2003; 17:1-5.
22. Bernabe-González T. *et al.* Cultivo de *Pleurotus pulmonarius* sobre diversos subproductos agrícolas de Guerrero, México. *Rev Mex Mic* 2004; 18: 77-80.
23. Contreras E. *et al.* Soaking of substrate in alkaline water as a pretreatment for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *J Hort Scien Biotech* 2004; 79(2):234-240.
24. De León-Monzón J., Sánchez J., Nahed-Toral J. El Cultivo de *Pleurotus ostreatus* en los Altos de Chiapas, México. *Rev Mex Mic* 2004; 18:31-38.
25. Vedder P. Cultivo moderno del champiñon. España: Ediciones mundi prensa, 1996. 369p.
26. Deschamps J. Producción y comercialización de hongos comestibles. Argentina: Orientación gráfica editora, 1999. 210p.

27. Sociedad de productores orgánicos de la selva lacandona. Producción de hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus*), en la zona norte de la selva Lacandona, Municipio de Ocosingo, Chiapas. Propuesta de proyecto. Chiapas, México, 2004. 16p.
28. Gaitán-Hernández R. Evaluación *in vitro* del hongo comestible *Pleurotus eryngii*: Efecto de diferentes suplementos orgánicos en el crecimiento micelial y producción de cuerpos frutíferos. Rev Mex Mic 2005; 21: 77-84
29. Guzmán G. Los hongos del Edén, Quintana Roo; Introducción a la micobiota tropical de México. México: Instituto de Ecología, 2003. 316p
30. Hawksworth D., *et al.* Ainsworth & Bisby's, dictionary of the fungi. 8ed. United Kingdom: CAB Internacional, 1995. 616p.
31. Chacón S. *et al.* Guía ilustrada de los hongos del Jardín Botánico Francisco Javier Clavijero de Xalapa, Veracruz y áreas circunvecinas. México: Instituto de Ecología, 1995. 142p.
32. Arora D. Mushrooms Demystified. 2ed. USA: Ten Speed Press Berkeley, 1986. 959 p.
33. 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.
34. Sommerkamp Y. Hongos comestibles en los mercados de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación (DIGI). 1990. 77p.
35. 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.
36. 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
37. Argueta J. Estudio de los macromicetos de la Ciudad de Guatemala, Mixto y San Juan Sacatepéquez. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1983. 86p.
38. Rizzo E. Estudio taxonómico de la micobiota del Parque Arqueológica Tikal. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1999. 75p.
39. Perkins J., Gordon S. Morphogenesis in *Schizophyllum commune*, II. Effects of monochromatic light. Plant Physiol 1969; 44:1712-1716.

40. Perkins J. Morphogenesis in *Schizophyllum commune*. I. Effects of white light. *Plant Physiol* 1969; 44:1706-1711.
41. Niederpreuem D. Role of carbon dioxide in the control of fruiting of *Schizophyllum commune*. *J Bacteriol* 1963; 85:1300-1308.
42. Niederpreuem D. Nutritional studies of development in *Schizophyllum commune*. *J Bacteriol* 1964; 88:1721-1729.
43. Mata G. Selection of strains of *Lentinula edodes* and *Lentinula boryana* adapted for efficient mycelial growth on wheat straw. *Rev Iberoam Micol* 2001; 18: 118-122.
44. Sánchez, J. 2001. Crecimiento y fructificación. En: *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* Ed. LIMUSA, S. A. México. 294p. p59
45. Desrochers M., Jurasek L., Paice M. G. High production of β -Glucosidase in *Schizophyllum commune*: isolation of the enzyme and Effect of the Culture Filtrate on Cellulose Hidrolysis. *Appl Environ Microbiol* 1981; 41 (1):222-228.
46. Pedraza L. *et al.* Producción de Bioetanol: Pretratamiento del Maíz procesos de Separación I. Universidad Iberoamericana México D.F. 2008. 37p.
47. Manual del Cultivador de Hongos 2. Cultivo de Shiitake (Mushroom Growers' Handbook2. (Shittake Cultivation Vol. 2, ISSN 1739-1377), autorizada por Mushworld Organization (Seul, Corea, www.mushworld.com) 2007.
48. Bernabé-González, T., Cayetano-Catarino, M. Cultivation of *Pleurotus pulmonarius* on substrates treated by immersion in alkaline water in Guerrero, México. *Micol Apl Int* 2009; 21(1): 19-23.
49. Boyle D, Kropp B., Reid I. Solubiliazation and Mineralization of Lignin by White Rot Fungi. *Appl. Envirom. Microbiol*, 1992; 58(10):3217-3224.
50. Niederpruem, D., Wessels, J. 1969. Cytodifferentiation and morphogenesis in *Schizophyllum commune*. *Bact Rev* 33 (4): 505-535.
51. Mata M. 1999. Macrohongos de Costa Rica. Costa Rica: Editorial INBio. Vols.2, Vol 1. 253p.