

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

Determinación de las características de cultivo *in vitro* y producción de inóculo de una cepa guatemalteca de *Pleurotus albidus* (Berk.) Pegler.



Ferdiner Ulises González Ortíz

QUÍMICO BIÓLOGO

Guatemala, abril de 2016

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

Determinación de las características de cultivo *in vitro* y producción de inóculo de una cepa guatemalteca de *Pleurotus albidus* (Berk.) Pegler.

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

PRESENTADO POR
Ferdiner Ulises González Ortíz

PARA OPTAR AL TÍTULO DE
QUÍMICO BIÓLOGO

Guatemala, abril de 2016

JUNTA DIRECTIVA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	Decano
Licda. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M.A.	Secretaria
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	Vocal I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Michael Javier Mó Leal	Vocal IV
Br. Blanqui Eunice Flores De León	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A DIOS Y A LA VIRGEN

Por darme la fuerza, la sabiduría y la perseverancia para culminar esta meta.

A MIS PADRES Y HERMANO

Por su gran amor, apoyo y comprensión. Los pilares de mi formación.

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA, en especial a la Unidad de Biotecnología y Aprovechamiento de Hongos (BioTAH) y Al departamento de Microbiología.

Por el conocimiento brindado y enseñanzas en mi formación académica y profesional.

A la Licda. María Del Carmen Bran, Lic. Roberto Cáceres, MSc. Osberth Morales, M.A. María Eugenia Paredes, MSc. Alba Marina Valdés de García y Dr. Jorge Luis de León.

Por su indispensable apoyo, asesoría y orientación para el desarrollo de esta investigación.

ÍNDICE

	Pág.
I. Resumen	1
II. Ámbito de la investigación (Ubicación en el Proyecto Macro)	2
III. Antecedentes	4
A. Generalidades de los hongos	4
B. Ciclo de vida de los hongos basidiomicetes	5
C. Los hongos comestibles	5
D. Importancia del cultivo de hongos comestibles	6
1. Alimentación humana	6
2. Alimentación de ganado	7
3. Estudios pre clínicos y clínicos	7
E. Cultivo de hongos comestibles	9
F. Cultivo de <i>Pleurotus</i> spp en Guatemala	10
G. Fases del cultivo de <i>Pleurotus</i> spp	12
1. Cultivo de tejido	12
2. Desarrollo del micelio	12
a. Medios de cultivo	12
b. Características del inóculo primario	13
3. Sustrato para la fructificación	13
4. Desarrollo de los cuerpos fructíferos	14
H. <i>P. albidus</i> (Berk.) Pegler.	15
1. Características morfológicas	15
a. Características macroscópicas	15
b. Características microscópicas	15
2. Características miceliares	16
3. Hábitat y distribución	16
4. Etnomicología	18
5. Requerimientos para el cultivo	18
a. Crecimiento micelial	18
b. Producción de inóculo	18
c. Producción de cuerpos fructíferos	19
6. Estudios de investigación sobre <i>P. albidus</i> en Guatemala	20
IV. Justificación	22
V. Objetivos	23
VI. Hipótesis	24
VII. Materiales y métodos	25
VIII. Resultados	34
IX. Discusión de resultados	44
X. Conclusiones	54
XI. Recomendaciones	55
XII. Referencias bibliográficas	56
XIII. Anexos	72

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

CUADROS

		Página
Cuadro 1	Crecimiento micelial de <i>P. albidus</i> 107.01 en tres medios de cultivo a dos temperaturas al día 12 de incubación.	35
Cuadro 2	Efecto del pH sobre el diámetro de crecimiento micelial de <i>P. albidus</i> 107.01 en APD a 26°C al día 16 de incubación.	39
Cuadro 3	Características microscópicas más relevantes de <i>P. albidus</i> 107.2001 al final del período de incubación en PDA a 26°C y diferentes pH.	41
Cuadro 4	Producción de inóculo de <i>P. albidus</i> 107.01 en tres sustratos a 26°C.	43

FIGURAS

Figura 1	Efecto de la temperatura y medio de cultivo sobre el diámetro de crecimiento micelial de <i>P. albidus</i> 107.2001.	35
Figura 2	Análisis de conglomerados de las características macroscópicas de <i>P. albidus</i> 107.2001.	36
Figura 3	Características macroscópicas de <i>P. albidus</i> 107.2001 en diferentes medios y temperaturas.	37
Figura 4	Análisis de conglomerados de las características microscópicas de <i>P. albidus</i> 107.2001.	38
Figura 5	Características microscópicas de <i>P. albidus</i> 107.2001 en coloración de azul de lactofenol.	38
Figura 6	Efecto del pH sobre el diámetro de crecimiento micelial de <i>P. albidus</i> 107.2001.	40
Figura 7	Características macroscópicas y microscópicas de <i>P. albidus</i> 107.2001 en diferentes pH.	41
Figura 8	Establecimiento del mayor diámetro de crecimiento micelial de <i>P. albidus</i> 107.2001 en tres sustratos a 26°C.	42
Figura 9	Producción de inóculo de la cepa <i>P. albidus</i> 107.2001.	43

I. RESUMEN

En la presente investigación se estudió una cepa nativa de *Pleurotus albidus* (107.2001) y se evaluó su crecimiento *in vitro* en tres medios de cultivo (agar papa dextrosa -APD-, agar extracto de malta -AEM- y agar sabouraud dextrosa -ASD-), a dos temperaturas (18 y 26°C) y en una escala de pH (5, 7, 9 y 11). También se determinó la producción de inóculo en granos de trigo, cebada y sorgo a 26°C.

Se estableció que el medio de cultivo más adecuado para el crecimiento micelial de la cepa fue APD incubado a 26°C. La cepa en todos los medios a esta temperatura exhibió colonias con densidad regular a abundante, crecimiento zonado, micelio aéreo y exudado abundante, pigmentación amarilla y naranja en el reverso de la colonia. Microscópicamente se reportó regular cantidad de fíbulas, ausencia de clamidoconidios y diámetro de las hifas entre 2 y 3 µm en la mayoría de repeticiones.

Se encontró que el mejor pH de los evaluados en APD a 26°C fue 7, en el cual se presentaron colonias con micelio blanco, textura irregular, densidad escasa a regular y crecimiento aéreo regular en la periferia de la colonia, crecimiento de tipo rastroso con margen fimbriado y presencia de exudado en el reverso de algunas repeticiones. Microscópicamente se observaron hifas de de 1 y 2 µm de diámetro, fíbulas y clamidoconidios en regular cantidad en la mayoría de repeticiones.

En relación a la producción de inóculo la cepa presentó mayor velocidad de colonización en los granos de trigo con un RER de 5.65 mm/día.

Se recomienda el cultivo de *P. albidus* 107.2001 en APD a pH 7 y una temperatura de 26°C para la producción de biomasa, así como granos de trigo para la producción de inóculo. Los resultados de esta investigación servirán como base para la evaluación posterior de la producción de cuerpos fructíferos en condiciones artesanales en el área rural del país.

II. AMBITO DE LA INVESTIGACIÓN (UBICACIÓN EN EL PROYECTO MACRO)

La importancia de los hongos saprobios radica en que contribuyen a mantener y completar el reciclaje orgánico, las cadenas tróficas y formar asociaciones simbióticas con plantas y otros organismos, sin embargo un beneficio alternativo para el ser humano ha sido su uso como complemento alimenticio, terapéutico y preventivo (Boa, 2005). Son recolectados, vendidos y consumidos en más de 85 países y su contribución a la alimentación es importante debido a que los hongos comestibles incluyen los elementos esenciales en la dieta de los seres humanos (Fernández, 2004).

Guatemala posee una gran diversidad de hongos comestibles entre las cuales se encuentra *Pleurotus* sp que crece en forma silvestre en varias regiones de Guatemala, tales como Tactic, Alta Verapaz; Chichicastenango, Quiché; Santa María de Jesús, Sacatepéquez; Mixco y Ciudad de Guatemala. Dentro de las especies de este hongo se encuentra *P. albidus* la cual es utilizada y muy apreciada como alimento en San Mateo Ixtatán, Huehuetenango, donde es conocida como saqitaj (hierba blanca) en el idioma Chuj, en Tecpán Guatemala, Chimaltenango, se conoce como saqtub´ (pecho blanco) en idioma Kaqchikel, creciendo en grupos numerosos sobre troncos podridos de canac y aliso (Bran et al., 2001).

Al respecto *P. albidus* como especie saprobia y degradadora puede ser cultivada en subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales, por lo que al estudiar y sistematizar su cultivo se estaría dando uso a la diversidad fúngica nativa para crear alternativas alimenticias, medicinales y económicas que contribuyan al desarrollo de las comunidades campesinas, como estrategia sostenible de reutilización de los recursos naturales y como parte integral de los sistemas culturales.

Trabajos realizados anteriormente en Guatemala (Bran et al., 2001; Bran, Morales, Cáceres y Flores, 2003; Bran et al., 2004; Pérez, 2006 y Batz, 2010) identificaron y describieron la especie por medio de la caracterización del crecimiento micelial, la

producción de inóculo y estudio en diferentes sustratos como respuesta a la demanda que este hongo posee como comestible. El presente estudio amplió los conocimientos que se tienen sobre el mismo.

Por lo tanto el presente Investigación formó parte del Proyecto Macro: “Cultivo de cepas guatemaltecas de hongos comestibles de especies de *Pleurotus*, caracterización *in vitro* y producción de cuerpos fructíferos”, que a su vez pertenece a la línea de investigación “Hongos comestibles en Guatemala: Diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula”.

Dicha investigación se realizó con el financiamiento de la Unidad de Biodiversidad, Tecnología y Aprovechamiento de Hongos (BioTAH), que pertenece a la Escuela de Química Biológica en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Esta Unidad también sirvió como lugar de trabajo para la realización de la investigación.

III. ANTECEDENTES

A. Generalidades de los hongos

Los hongos descienden de un ancestro compartido con los animales, constituyendo un linaje importante Eucariota que iguala en número a los animales y plantas superiores. Este grupo incluye a los mohos, levaduras, hongos poliporales, royas, saprobios y parásitos de seres vivos (Blackwell, 2011). Kirk, Cannon, Minter & Stalpers (2008), en el diccionario de los hongos han documentado que las especies conocidas se han triplicado en el período comprendido desde la primera edición en 1943 (38,000 especies descritas), hasta la decima edición publicada en 2008, que equivale a un incremento de más de 60,000 especies descritas en 65 años, en donde los ascomicetes y basidiomicetes comprenden la gran mayoría de la diversidad de los hongos.

La secuenciación de ADN y los análisis filogenéticos proporcionan en la actualidad una multitud de nuevos caracteres para la separación de los especímenes que todavía se encuentran dentro de un grupo polifilético o parafilético. Es así como Blackwell (2011), define 10 Phyla como miembros filogenéticos del Reino de los hongos, siendo estos: *Chytridiomycota* (706 especies), *Monoblepharidiomycota* (26 especies), *Neocallimastigomycota* (20 especies), *Blastocalidiomycota* (179 especies), *Microsporidia* (1300 especies), *Zigomycota 1* (327 especies), *Zigomycota 2* (744 especies), *Entomophthorales* (277 especies), *Glomeromycota* (169 especies), *Ascomycota* (64,163 especies), y *Basidiomycota* (31,515 especies). Dentro de este último se encuentran los hongos que poseen cuerpos filamentosos (micelio) con carbohidratos distintivos en la pared celular y talos cigóticos haploides como resultado de la meiosis.

Chang & Miles (2004) así como Smith y Smith (2007), convergen en que los basidiomicetes saprobios juegan un papel importante; ya que todos los ecosistemas dependen de la habilidad fúngica para la degradación de la materia orgánica (hojarasca seca, humus, arboles en descomposición, suelo de bosques) y el reciclaje de los elementos, obteniendo como resultado el retorno del carbono, hidrógeno, nitrógeno y minerales al

ecosistema en forma elemental para los requerimientos de plantas, insectos y otros organismos, siendo la descomposición el proceso clave de éste reciclado ya que libera la energía fijada por la fotosíntesis, CO₂ y agua.

B. Ciclo de vida de los hongos basidiomicetes

El ciclo vital según Prescott, Harvey y Klein (2000), inicia con la germinación de una basidiospora para producir micelio monocarión el cual crece y se expande rápidamente por el suelo (micelio primario). Cuando éste se encuentra con otro monocarión de un tipo de apareamiento opuesto, los dos se fusionan para iniciar un nuevo micelio secundario o dicarión. En el micelio dicarión, cada célula contiene dos núcleos, uno de cada tipo de apareamiento. Posteriormente, una masa sólida de hifas formará un primordio que luego desarrollara un píleo (micelio terciario), el cual dependiendo del género, puede contener un himenio con láminas, tubos terminados en poros, pliegues o dientes, cada una de las cuales esta revestida de basidios. Los dos núcleos de la punta de cada basidio se fusionan en un solo núcleo para formar un cigoto diploide que inmediatamente experimenta meiosis para formar cuatro núcleos haploides. Estos evolucionan hasta desarrollar basidiosporas, que son liberadas cuando están maduras (Anexo A).

C. Los hongos comestibles

Según Ruíz (2008), el significado los hongos para el ser humano inicia desde que este era recolector nómada y se alimentaba de los productos que encontraba en el camino; aprendiendo a distinguir los especímenes comestibles de los venenosos. Ahora en tiempos modernos se consumen los cuerpos fructíferos de los hongos obtenidos en condiciones silvestres como medicina tradicional, en ritos ceremoniales o en forma alimenticia. Sierra, López & Eiroa (2002), resaltaron avances en el conocimiento científico y tecnológico, los cuales han sido incorporados a estas actividades naturales y tradicionales, siendo el resultado, el cultivo de hongos comestibles el cual es previsible en todo el mundo. También promueven una visión a corto plazo en la que dicha actividad continuará incrementándose debido a la relativa facilidad de producción; ya que representa la producción de alimento

humano de alta calidad nutritiva con propiedades medicinales, suplementos dietéticos, principios activos, enzimas y metabolitos con un amplio potencial de utilización en tecnología alimentaria y medicina preventiva.

D. Importancia de los hongos comestibles

1. Alimentación humana

Ciappini, Gatty y López (2004), determinaron la composición y características nutricionales de *P. ostreatus* cultivado sobre diversos sustratos (paja de trigo y tronco de álamo). En sus resultados no se observan diferencias significativas en cuanto a la composición del carpóforo, ya que el contenido de agua fue el mismo para los carpóforos obtenidos en ambos sustratos (90.13 g/100 g de hongo fresco), también fueron muy bajos en grasa (0.12 g/100g hongo) y ricos en fibra dietética (1.55 g/100 g de hongo fresco). Sin embargo los carpóforos de la paja de trigo contenían un porcentaje más alto en fibras solubles (1.32g) y proteínas (2.42 g) que los cultivados en tronco de álamo. Esto es atribuible a que el contenido de proteína es directamente proporcional al contenido de nitrógeno del sustrato.

Gaitán, Salmones, Pérez y Mata (2006), indicaron que especies de *Pleurotus* con base en peso seco, contienen normalmente 19 a 35% de proteínas, comparados con 7.3 % en el arroz y 9.4 % en el maíz. Por lo tanto, en términos de proteína cruda, los hongos están en un rango por debajo de la carne animal, pero muy por encima de la mayoría de los otros alimentos incluyendo la leche (Anexo B). Además, la proteína de los hongos contiene los nueve aminoácidos esenciales requeridos por el cuerpo humano (Gaitán et al., 2006) (Anexo C).

En un estudio realizado por Montoya y Restrepo (2006), en la Industria Licorera de Caldas-Colombia se determinó la capacidad de síntesis de proteína utilizando especies de *Pleurotus*, las cuales fructificaron sobre los residuos de uva pasa y algarrobo. Se demostró un incremento de síntesis de nitrógeno (proteína) sobre el material orgánico residual, siendo para *P. sajor-caju* de 72.5%, para *P. ostreatus* de 77.9%, y para *P. pulmonarius* de 78.5%,

partiendo de un sustrato con un promedio de nitrógeno de 0.38% y una proteína bruta de 2.37%.

2. Alimentación de ganado

Después de cultivar los hongos en rastrojo de maíz Labarere y Bois (2001), analizaron los contenidos de hemicelulosa, celulosa y lignina, los cuales se redujeron en un 80%; con el incremento de proteínas y mayor retención de nutrientes líquidos y agua comparado con el sustrato original. Soto-Velazco, Sarratos, Ruiz y García (2005), realizaron un análisis proximal y de aminoácidos en los residuos de cosecha de *P. pulmonarius* y *P. columbinus* con la finalidad de conocer la composición de nutrientes y su empleo en la alimentación de ganado. Los residuos presentaron cantidades de proteína entre 14.14% y 8.98%. Así mismo se encontró la presencia de 8 aminoácidos esenciales entre los que se puede mencionar la isoleucina, leucina, lisina y metionina.

3. Estudios pre clínicos y clínicos

Llauradó, Morris, Albear, Castan y Bermúdez (2011), definieron el nutracéutico de hongos como un extracto del carpóforo o del micelio, refinado hasta cierto grado, el cual se obtiene por diferentes vías biotecnológicas de fermentación. Estos se pueden consumir en varias formas farmacéuticas como tabletas y cápsulas de cuerpos fructíferos secados y pulverizados, polvo de cuerpos fructíferos cultivados y sus extractos (obtenidos por decocción o fracción alcohólica) solos o combinados, preparaciones farmacéuticas derivadas de la biomasa obtenida por cultivo sumergido en bioreactores. La función de los componentes activos en la dieta suplementaria tiene aplicaciones terapéuticas y preventivas.

Dentro de las aplicaciones terapéuticas Lorenzana (2009), detalló las propiedades inmunomoduladoras del hongo *Grifola frondosa*, el cual promueve actividad antiproliferativa en los estudios *in vitro* sobre linfocitos extraídos a partir de sangre venosa humana, siendo el de mayor actividad el extracto etanólico sobre su par acuoso, demostrándose que dicho efecto es directamente proporcional a la concentración.

A la vista del hallazgo que demuestra que las enzimas de los hongos son capaces de prevenir el estrés oxidativo, así como prevenir el crecimiento celular de varias enfermedades Calabrese, Cornelius, Cambria y Toscano (2009), investigaron los contenidos enzimáticos y protéicos de muestras de hongos comestibles. Estos estudios revelaron actividad de superóxido dismutasa (SOD) en la biomasa de *Polyporus umbellatus* y en *Agaricus blazei*. Sin embargo, también se encontró actividad de SOD en *Hericius erinaceus* y *P. ostreatus* en un menor nivel. Esta terapéutica utilizando enzimas antioxidantes y citoprotectoras presentes en varios hongos comestibles previenen y limitan las consecuencias del deterioro asociadas a los oxidantes.

En otra línea de investigación Valencia, Aguilar, Cuadros, Garín y Duran (2009), documentaron propiedades antimicrobianas en los hongos del género *Pleurotus*. Evaluaron la actividad antibacteriana a través de la determinación de los halos de inhibición de extractos etanólicos de los cuerpos fructíferos de cepas híbridas de *Pleurotus* spp sobre bacterias gram positivo y gram negativo, dando como resultado mayores halos de inhibición en *Yersinia enterocolitica* y menores halos en *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*.

Guzmán, Zúñiga, Santafe, Torres y Angulo (2009), promovieron estudios de investigación sobre enfermedades metabólicas y hereditarias estableciendo que los hongos del género *Pleurotus* poseen fracciones de los polisacáridos: (1→3)-β-D-Glucano, heteroglucanos, xiloglucanos, arabinogalactanos, manogalactanos los cuales promueven actividad antitumoral, antiviral y hepatoprotectora. Los glucanos promueven una actividad en las Natural Killer (NK) y en complemento con el sistema inmunomodulador, poseen actividad hipoglicémica, efectos antitrombóticos, reducción de la inflamación y la concentración de lípidos en la sangre.

Lo anterior respalda la investigación de Ramírez (2009), que documentó la obtención de lovastatina a partir de carpóforos de *P. ostreatus*; la lovastatina es sintetizada por este hongo y actúa inhibiendo a la enzima 3-hidroxiacetilglutaril-Coenzima A (HMG-CoA) reductasa, la cual se requiere para la síntesis de colesterol, de aquí sus efectos hipocolesterolemiantes reportados. A partir de esta sustancia y su mecanismo de acción, se ha dado la pauta para la obtención de nuevos fármacos hipocolesterolemiantes del grupo de las estatinas.

E. El cultivo de hongos comestibles

El cultivo de hongos comestibles constituye un verdadero sistema de producción-consumo según lo referido por Fernández (2004), quien describe la gran relevancia social, económica y ecológica, asociada a la necesidad de desarrollar fuentes no convencionales de alimentos y de optimizar los recursos disponibles. Las habilidades de los basidiomicetes saprobios se han aprovechado a través de los años para la implementación del cultivo artesanal y sistemático; asegurando la conservación, desarrollo, utilización y producción de estos tanto a nivel de laboratorio, como a pequeña, mediana y gran escala. Won-Sik (2005), refirió que lo anterior ha llevado al estudio de las características básicas de cada especie a través del estudio de los ciclos de vida *in vivo* para mejorar los factores de reproducción tomando en cuenta características de cultivo *in vitro*, características morfológicas, métodos y técnicas de cultivo, valor nutricional, resistencia a plagas y enfermedades, Eficiencia Biológica (EB) y vida de anaquel.

Stamets (1993), indicó que la producción comercial de hongos comestibles se llevaba a cabo en el Sureste de Asia, Europa y Mesoamérica, registrando un incremento de producción entre los años 1994 a 1997 de 0.2 a 0.8%, en relación a la producción mundial de los diferentes continentes. En 1997 el Shittake (*Lentinula edodes*) y las especies de *Pleurotus* sobrepasaron la producción del champiñón (*A. bisporus*), incrementándose en un 32% en el período de 1995 al 2001, con un valor de mercado de más de 167,000,000 de dólares al año y la creación de 34,000 empleos en esta actividad.

En un estudio estadístico efectuado por Chang & Miles (2004), establecieron el creciente interés sobre el cultivo de estos hongos, señalando que en 1997 se produjeron 2,000,000 de toneladas métricas (TM) de *A. bisporus* en más de cien ciudades del mundo, así como 180,000 TM de *Volvariella volvacea* entre Vietnam, China, Taiwan, Tailandia e Indonesia; 485.6 TM de *Auricularia* spp entre China, Taiwan y Tailandia y 875.6 TM de *Pleurotus* spp con un rápido incremento en la producción de este hongo.

Mientras tanto en Latinoamérica Boa (2005) y Royse (2003), convergen en que los países que más producción alcanzaron de 1995 a 2001 fueron México (58.6%), Chile

(17.6%) y Brasil (10.6%), cubriendo casi el 86.8% de la producción total de hongos comestibles en esa región.

García, Quintero y López (2004), resaltaron la gran potencialidad que presenta el cultivo de hongos comestibles en Guatemala, dada su riqueza micológica, la amplia gama de microclimas existentes y la arraigada tradición micófaga del guatemalteco. Esto es sustentado por las investigaciones científicas y tecnológicas realizadas por Bran et al. (2001-2005), las cuales contribuyeron a que en nuestro país se cultiven de modo artesanal las especies más representativas de la diversidad fúngica; siendo esta actividad una fuente potencial para autoconsumo y comercialización en las diversas comunidades campesinas, como una alternativa alimenticia, comercial y de desarrollo económico.

F. Cultivo de *Pleurotus* spp en Guatemala

De León, Guzmán y Martínez-Carrera (1988), documentaron el inicio de la producción comercial de hongos hacia 1986, planteando pruebas piloto y utilizando paja de trigo y pulpa de café como sustrato. En 1998 la producción anual estimada (peso fresco) de *Pleurotus* spp en Guatemala fue de 22.0 toneladas, obteniendo el 0.57% en relación a otros países de América. De León (1999), describió el establecimiento del cultivo de *P. eryngii* sobre aserrín de árbol de caucho y mazorca de maíz, comercializándose solamente en los mercados comunales. Para el año 2000 la producción total de hongos comestibles en Guatemala se estimó en 132,104 kg por año, incluyendo *A. bitorquis* y *A. bisporus* (51.9%), *Pleurotus* sp (22.4%) y *L. edodes* (25.7%).

A las puertas del nuevo milenio el cultivo de hortalizas se vio afectado por plagas, variación en la temperatura y temporales lluviosos en el Norte y Occidente del país. Rojas (2004), en la justificación de su trabajo de investigación sostiene que dichos cambios climáticos impidieron el crecimiento de estos productos, lo cual provocó problemas de oferta y demanda que obligaron al productor a obtener un mínimo de ganancias con el riesgo de no recuperar la inversión. A raíz de este problema, se promovió la alternativa de producción de alimento por medio de los estudios de Bran et al. (2002-2005), que enfatizaron en el manejo sostenible de los recursos naturales de cada región, visualizando

el cultivo de las especies de *Pleurotus* (y otros basidiomicetes saprobios y micorrícicos) como una alternativa de producción, autoconsumo y comercialización.

La mayor contribución para la producción de hongos comestibles se realizó en el año 2005, cuando la Universidad de San Carlos de Guatemala en un estudio de investigación cofinanciado por la Dirección General de Investigación (DIGI) a través de la Unidad de Biodiversidad, Tecnología y Aprovechamiento de Hongos (BioTAH), en los meses de febrero a agosto, capacitaron a 245 personas de diferentes localidades coordinados en asociaciones o grupos comunitarios (en el Norte y Occidente del país), utilizando inóculo preparado a partir de cepas de *P. albidus* (107.2001), *P. ostreatus* (152.2005) y *P. djamor* (144.2004 y 70.2003). Se produjeron cuerpos fructíferos de forma artesanal en 87 módulos de producción empleando desechos de la actividad agrícola, (olote de maíz en 90.2% de los módulos y pulpa de café mas olote de maíz en un 5.2%), produciendo un total de 3,200 libras de cuerpos fructíferos de *Pleurotus*, la mayoría de las cuales (2,037 libras) se comercializaron obteniendo un ingreso neto de Q. 39,223.00 en ventas (Bran et al., 2005).

De León (2010), reportó los resultados para cada comunidad en el Occidente del país, de una forma significativa, ya que para el año 2007 *A. bisporus* obtuvo un 60.6% de producción, *Pleurotus* sp 35.4% y *L. endodes* el 4.0%. Aproximadamente el 70% de dicha producción se distribuye en Guatemala, mientras que el 30% se exporta a El Salvador y Honduras, encontrándose a la venta en mercados comunales, restaurantes y en supermercados. Las investigaciones y programas de Guatemala que han contribuido al estudio y cultivo de especies de *Pleurotus* desde el año 2004 se detallan en el anexo D.

Los estudios realizados en Guatemala de 1983 a 2010 sobre el cultivo de especies de *Pleurotus* a distintos niveles (experimental, pequeña y mediana escala) se centran en los sustratos y tratamientos previos ensayados, así como los porcentajes de Eficiencia Biológica los cuales se presentan en el Anexo E.

G. Fases del cultivo de *Pleurotus* spp

1. Cultivo de tejido

Wilkinson y Royse (2001), describieron esta técnica como una de las formas más simples de obtener cultivo micelial. Este deber de ser obtenido de un cuerpo fructífero colectado libre de contaminantes visibles y de la más alta calidad en cuanto al tamaño, color, forma y cualquier otra característica deseada. Un trozo de carpóforo (micelio interno) puede ser cultivado en un medio líquido o base de agar y este asumirá un crecimiento vegetativo.

Pulido y Arias (2009), evaluaron las vinazas tequileras como sustrato para crecimiento vegetativo de especies de *Pleurotus* y *Lentinula*. Concluyeron que las vinazas tequileras estandarizadas al 10% pueden ser utilizadas como sustrato, ya que las cepas de *Pleurotus* obtuvieron una mayor velocidad que las cepas de *Lentinula*. Estas cepas crecieron hasta un 40%, pero se determinó que el crecimiento fue inversamente proporcional a la concentración de vinazas en el medio de cultivo.

Rodríguez y Arias (2010), realizaron una modificación al determinar el efecto de la adición de una fuente de carbono a las vinazas tequileras sobre la producción de *P. ostreatus*. Concluyeron que la mejor fuente de carbono fue el almidón, con una producción de hasta 135 mg/matraz en el medio de cultivo con 20 g/L.

2. Desarrollo del micelio

a. Medios de cultivo

Sánchez (2001), indica que en esta etapa lo más importante es la tasa de crecimiento (elongación radial), la cual es una característica de cada hongo ya que sirve para hacer comparaciones entre medios de cultivo, cepas, condiciones físicas y bioquímicas; como la modificación del pH, adición de nutrientes y elementos traza.

Wilkinson y Royse (2001), reportaron un crecimiento diferente cuando se utilizaban varios medios de cultivo, fundamentando que estos varían en la formulación de extractos y

azúcares. Indicaron que de un medio a otro puede variar la morfología, color, tasa de crecimiento, presencia de estructuras de resistencia y pigmentación. Por tal razón se hacen estudios básicos de caracterización morfológica macro y microscópica, así como caracterización micelial y de conservación para documentar cómo se comporta la cepa en cada medio y cual se adapta mejor para su crecimiento.

b. Características del inóculo primario

Respecto a la semilla primaria, Quimio (2001), refirió que proviene directamente de la reproducción del micelio del hongo que creció sobre un medio a base de agar. Para esta actividad se utilizan granos como trigo, mijo, sorgo, centeno, cebada, arroz y maíz, en donde el factor más importante es el tamaño de la semilla, ya que un tamaño adecuado puede contribuir a disminuir los ciclos de reproducción y el tiempo de incubación. Además refiere que es fundamental tener un antecedente sobre la disponibilidad, costo y facilidad de manejo de los granos y cereales a utilizar.

López-Ramírez (2007), comparó técnicas generales para la obtención de micelio a partir de cuatro fuentes principales (una cepa, esporada, esporas en dilución y un micelio madre). Concluyendo que la técnica más efectiva es el micelio madre; ya que este micelio está activado, es decir creciendo vigorosamente en un sustrato, el cual se adapta rápidamente al nuevo sustrato presentando un desarrollo óptimo.

3. Sustrato para la fructificación

Muez y Pardo (2001), definen a los sustratos como subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales los cuales son empleados para la fructificación de diferentes hongos, entre ellos, especies de *Pleurotus* cultivados a distintos niveles (experimental, pequeña y mediana escala).

Poppe (2005), en una revisión bibliográfica enumeró aproximadamente 200 tipos de residuos disponibles para el cultivo del hongo ostra. La mayoría de estos con una proporción C:N entre 20 - 30 y un pH entre 5-7.5, con lo cual cada productor de hongos puede hacer su elección, sola o combinada, del mejor sustrato para diferentes especies de

Pleurotus. Granados (2007), aclaró que a cada uno de estos sustratos, para el cultivo artesanal, se les realiza un tratamiento preliminar utilizando diversos métodos, siendo estos relacionados con los fines de cada actividad. Para fines comerciales, se puede elegir procedimientos sencillos y económicos de índole manual o casero (reducción del tamaño de partículas, tratamiento con agua caliente, agua alcalina, lavado, cocimiento, pasteurización y compostaje).

4. Desarrollo de los cuerpos fructíferos

Sánchez y Royse (2001), enumeraron una serie de cambios físicos y bioquímicos para tal desarrollo, siendo estos: cambios abruptos de temperatura, humedad (aire y sustrato), concentración de gases (O₂ y CO₂), luz (composición, tiempo y exposición) y reserva de nutrientes (relación C:N, formas y contenido de carbono y nitrógeno).

Según Gaitán et al. (2006), con estas condiciones los primordios requieren en promedio una semana para llegar a ser hongos adultos, que estarán listos para cosecharse cuando el carpóforo se observe compacto, turgente, no flácido y antes de que sus orillas se enrollen hacia arriba. La primera cosecha puede durar entre 1 a 3 días, posteriormente habrá un tiempo de receso de una a dos semanas para que se produzca el siguiente corte, durante el cual es importante mantener las condiciones físicas y bioquímicas ya mencionadas.

Por lo tanto, se puede estimar la capacidad de una cepa para producir cuerpos fructíferos en sustratos por medio de la Eficiencia Biológica (EB), en donde el peso fresco de las fructificaciones (uno o varios cultivos consecutivos) se divide entre el peso seco del sustrato, multiplicado por 100 (Chang & Miles, 1989). Así Garzón y Cuervo (2008), produjeron *P. ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos y compararon diferentes sustratos (mezcla de café con bagazo de caña de azúcar o con tallo de maíz), donde se obtuvo una EB que varió entre el 4.0 y el 48%. La productividad estuvo entre 0.715 y 0.905 kg de hongos frescos por cada 100 kg de sustrato seco al día, mientras que en los demás sustratos se obtuvieron productividades que variaron entre 0.324 kg y 0.494 kg de hongos frescos por cada 100 kg de sustrato seco al día.

H. *Pleurotus albidus* (Berk.) Pegler (1983).

Se clasifica de la siguiente manera *P. albidus*: Reino Fungi, Phylum Basidiomycota, Clase Agaricomycetes, Subclase Agaricomycetidae, Orden Agaricales, Familia *Pleurotaceae*. Sinónimos (Anexo F).

1. Características morfológicas

a. Características macroscópicas

Respecto a estas características Bran et al. (2003), lo describieron con un píleo: de 40 a 76 mm de diámetro, plano convexo a infundibuliforme, centro deprimido, superficie cerosa, color blanco, con zonas amarillentas 4^{2/A*} en ejemplares húmedos, margen estriado, borde incurvado a levantado, levemente ondulado, cutícula desprendible con contexto blanco bajo ella. Contexto de hasta 10 mm de grosor, color blanco, consistencia esponjosa correosa. Olor afrutado, sabor a hongo, con un retrogusto ligeramente metálico. Himenio: con láminas decurrentes, juntas, anchas, borde entero, frágiles, color amarillento 5^{1/A*}. Lamélulas atenuadas, borde ondulado, anastomosadas en la base, que pueden unirse por el extremo. Estípite: de hasta 55 mm de longitud, 10 a 17 mm de diámetro en el ápice y de 7 a 12 mm de diámetro en la base, excéntrico a lateral, algunas veces central, cilíndrico, con la base atenuada, superficie tomentosa en el ápice y parte media, pubescente a hirsuta en la base, color blanco, con líneas que se continúan de las láminas a lo largo del estípite. Contexto lleno, carnoso, color blanco. Algunos ejemplares pueden presentar escrobículos distribuidos irregularmente.

b. Características microscópicas

Bran et al. (2003), realizaron mediciones de las esporas, siendo estas: 7 a 11 x 4 a 5 µm, cilíndricas a elipsoides, hialinas.

* Esta nomenclatura corresponde a los colores de la Guía de Kornerup, A. & Wanscher, J. (1989). Methuen handbook of colour. (3rd Ed). London (UK): Methuen.

2. Características miceliales

En APD Pérez (2006), describe la colonia de color blanco, textura algodonosa, densidad regular y micelio aéreo presente; hifas hialinas de paredes gruesas con fíbulas. En el medio de cultivo de Nobles, Wright & Albertó (2004), caracterizaron la colonia con crecimiento radial, margen irregular, festoneado a regular, micelio que cubre la caja de Petri en 3 a 4 semanas y olor a almendras. Al estereóscopo se denotan extensiones gruesas que dan un aspecto plumoso, zonas blanquecinas y algodonosas cerca del inóculo. En ocasiones puede producir gotas de exudado de color naranja principalmente en el centro y cerca del inóculo cuando las cajas de Petri son cubiertas por completo.

Nobles (1964), describe las hifas que conforman la colonia con micelio hialino y de paredes delgadas, nódulos en los septos, fíbulas de 2.0 a 4.6 μm de diámetro. En el centro de la colonia, hifas anchas y menos ramificadas de 1.5 a 4.7 μm de diámetro, además el número de ramificaciones aumenta cuando la colonia es antigua, con hifas de 2.0 a 4.7 μm de diámetro (Anexo G).

3. Hábitat y distribución

La especie ha sido documentada en México (Moreno y Bautista, 2006); Guatemala (Bran et al., 2001); Trinidad & Tobago, Costa Rica, Panamá, Colombia (Soto, Mariscal y Hernández, 2011); Brasil (Pontes, Batista & Santos, 2004); Argentina (Lechner, Wright & Albertó, 2004); y las Islas del Pacífico (Cooper & Research, 2011).

Bran et al. (2001), describieron por primera vez esta especie en Guatemala creciendo en grupos numerosos sobre troncos podridos de canac (*Chirantodendron pentadactylon*) y *Alnus* sp. Así mismo se demostró el interés y aprecio que tiene esta especie por su comestibilidad en San Mateo Ixtatán, Huehuetenango y Tecpán Guatemala, Chimaltenango.

En Brasil, Pontes et al. (2004), documentaron el hallazgo de *P. albidus* entre 16 nuevos registros de hongos para el estado de Amapá, en las zonas de la región biológica Sucuriju y los Grandes Lagos.

En Argentina, Lechner, Wright & Albertó (2004), indicaron que la primera cita de esta especie fue de Spegazzini entre 1880 y 1881, bajo el nombre de *Panus laciniatocrenatus* Speg. Posteriormente se cambió a *P. albidus*, que es como se conoce en la actualidad. Su distribución geográfica indica que se encuentra en el noreste y centro de Argentina, en troncos de *Salix* sp, *S. humboldtiana*, *Platanus* sp, *Populus* sp y *Ulmus* sp, en los lugares más representativos del país tales como Costa del Este, Monte Grande, la Sierra San Javier, Parque de Aconquija, Departamento de Tafi, Río de los Sosas, Parque Pereyra, entre otros.

Moreno y Bautista (2006), registraron esta especie la cual se conoce como “hongo blanco patón”. Este se encuentra predominante en el bosque mesófilo de montaña y bosque tropical mediano subperennifolio en la región noreste del estado de Hidalgo en los municipios de Tlanchinol y Huejutla. Se ha observado en un hábitat gregario, en grupos numerosos de más de 500 fructificaciones sobre troncos podridos de diversos árboles particularmente *Heliocarpus donnell-smithii* Rose (jonote) y ocasionalmente sobre *Lippia umbrellata* Kunth (tabaquillo).

Soto, Mariscal y Hernández, (2011), realizaron el primer registro taxonómico de *P. albidus* recolectado en bosques de Manizales, Caldas-Colombia con la colaboración del Dr. Gastón Guzmán.

En el año 2011, la Global Biodiversity Information Facility (GBIF) en una revisión de literatura enumeró la existencia de 2,771 nombres aplicados al *Phyla Basidiomycota* de las islas del pacífico, documentándose *Lentinus calvescens* Berk. (Anexo F) sinónimo de *P. albidus* (Berk.) Pegler, en la Isla Papúa Nueva Guinea (Cooper & Research, 2011).

4. Etnomicología

En relación a la riqueza tradicional guatemalteca, Morales, Bran y Cáceres (2010), recopilaron los nombres comunes que se aplican a *P. albidus*, siendo estos: saqitaj “hierba blanca” en el Idioma Chuj, en San Mateo Ixtatán, Huehuetenango y como Sactub’ “pecho blanco” en el idioma Kaqchikel en Tecpán Guatemala, Chimaltenango. En México, Moreno y Bautista (2006, indicaron que se le conoce como hongo blanco patón, hongo blanco de chaca y hongo de jonote.

5. Requerimientos para el cultivo

a. Crecimiento micelial

En Argentina, Lechener & Albertó (2011), indicaron que *P. albidus* crece en fase vegetativa (crecimiento radial) en el medio de cultivo de Nobles (agar extracto de malta modificado) a una temperatura optima de incubación de 25°C, aunque se conoce de la existencia de cepas que ha crecido a 18°C y otras a 30°C. Pérez (2006) y Batz (2010), refirieron crecimiento en APD (agar papa dextrosa), AEM (agar extracto de malta), ASD (agar sabouraud dextrosa) y a temperaturas de incubación de 18 y 26°C.

b. Producción de inóculo

En los estudios de investigación realizados por Bran et al. (2004) y Batz (2010), para reproducción masiva de micelio de *P. albidus*, establecieron la utilización de sorgo o maicillo; a partir de la fase lineal que permanecía en el medio a base de agar.

Dentro de las características nutricionales del maicillo se menciona que contiene 10.4 gramos (g) de proteína, 3.1 g de ácidos grasos, 1.6 g de cenizas, 2.0 g de fibra cruda, 70.7 g de carbohidratos, 25 miligramos (mg) de calcio, 5.4 g de hierro y 4.3 mg de niacina (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal, 2012).

En Argentina, Lechener & Albertó (2011), utilizaron granos de trigo hervidos y tratados con CaCO₃ (1% p/p). Los cuales poseen un alto potencial para la elaboración de inóculo. Ya que cuando hierven, se expanden y la cubierta es el primer nutriente para el hongo, seguido del contenido del grano.

Zuñiga (2007), detalló la composición nutricional que poseen 100 g de maicillo, siendo esta: 12.6 g de proteína, 1.54 g de lípidos, 1.57 g de cenizas y 12.2 g de fibra dietética y 62.4 g de almidón. Con relación a los minerales, contiene Magnesio 126.0 mg, Potasio 363.0 mg, Fosforo 288.0 mg, Hierro 3.88 mg y Selenio 71 microgramos (µg). También contiene 38 µg de folato total, 5.46 mg de niacina, 9.0 Unidades Internacionales (UI) de vitamina A, 1.01 mg de vitamina E y 1.90 µg de vitamina K. además, posee un perfil lipídico de 0.27 g de ácidos saturados, 0.20 g de ácidos insaturados y 0.63 g de poliinsaturados.

Zuñiga (2007), también documentó la composición nutricional de otros granos y cereales como cebada, linaza, arroz, maíz y centeno. Sin embargo se carece de datos sobre el uso de estos en *P. albidus*, donde puede ser oportuna la estandarización de la eficiencia de producción de inóculo primario en otros vehículos con diferentes composiciones de macro y micronutrientes para la reproducción masiva de micelio.

c. Producción de cuerpos fructíferos

Para *P. albidus*, Batz (2010), describió la utilización de olote y rastrojo de maíz con un tratamiento de desinfección en agua alcalina con 1.5% de cal y 36 horas de tiempo de inmersión, obteniendo en este tratamiento una mayor EB (48.20%) y una tasa de producción de (1.10) respectivamente. Lechener & Albertó (2011), probaron como sustratos aserrín de *Salix* sp, paja de trigo suplementada con harina de trigo y harina de avena. La mayor EB se obtuvo en paja de trigo suplementada (171.3%).

Para *P. albidus*, Lechener & Albertó (2011), concluyeron que un fotoperiodo de 9 horas de luz y 15 horas de oscuridad, paralelamente con una disminución de la temperatura de 20 a 18°C es óptimo para el desarrollo. También reportaron niveles óptimos de humedad

para los sustratos utilizados los cuales se encuentran entre 75 y 85%. Este contenido óptimo de humedad en base a los resultados de Sánchez (2001), dependen no solo de la especie que se cultiva sino del sustrato utilizado, ya que estos poseen una retención de agua diferente y esto hace que la humedad óptima para el crecimiento lo sea también.

Lechener & Albertó (2011), también indicaron que la humedad del aire se debe mantener entre 80 y 90%. Esto se logra al humedecer las paredes, los pisos de las salas y al realizar riego por aspersion (tipo neblina) durante 5 minutos cada 3 horas. El riego directo debe de ser suave, sin mucha presión en forma de gotas muy pequeñas para no dañar los primordios o la superficie del sustrato.

6. Estudios de investigación sobre *P. albidus* en Guatemala

Bran et al. (2001), reportó que en territorio guatemalteco *P. albidus* es fácilmente diferenciable ya que posee un basidiocarpo de color blanco y se desarrolla solamente en zonas altas donde predomina anualmente el clima frio como San Mateo Ixtatán, Huehuetenango.

Con relación a estudios sobre su potencial de cultivo, se ha reportado crecimiento en medios APD, ASD y AEM. La mayor tasa de crecimiento micelial se ha reportado en AEM a 18°C y mayor biomasa en medio APD a 18°C (Pérez, 2006).

Así mismo para la producción de cuerpos fructíferos Bran et al. (2004), capacitaron en el cultivo artesanal de especies de *Pleurotus* a 28 comunidades campesinas, donde la cepa más utilizada fue *P. albidus*, del cual se produjo 145.5 lb de inóculo al emplear maicillo como vehículo de propagación masiva. Bran et al. (2005), también transfirieron conocimientos científicos y técnicos a las comunidades campesinas, mediante actividades y programas, los cuales en condiciones artesanales, permitieron la producción de cuerpos fructíferos de hongos comestibles. La mayor cantidad producida correspondió a las cepas de *P. ostreatus*, seguida de *P. albidus* con un total de 3,200 lb, la mayoría de las cuales 2,037 lb se comercializaron.

Por otro lado, Batz (2010), realizó un estudio sobre la productividad de especies de *Pleurotus* a través de la producción de cuerpos fructíferos en sustratos desinfectados por

inmersión en agua alcalina a diferentes concentraciones de cal y diferentes tiempos de inmersión. Se determinó que la mayor EB de *P. albidus* (48.20%) se obtuvo con 1.5% de cal y 36 horas de inmersión. Los valores de pH del sustrato (olote de maíz) oscilaron entre 10.15 y 11.90.

IV. JUSTIFICACIÓN

En Guatemala existe amplio conocimiento de hongos comestibles, los cuales son consumidos principalmente por la población del área rural del altiplano del país. Guatemala alberga una cantidad considerable de hongos que crecen en diferentes ecosistemas acogidos por los diferentes biomas. Se han registrado hasta el año 2006, 83 especies de hongos comestibles y algunos de estos poseen la factibilidad de ser cultivados, entre ellos el género *Pleurotus*, que tiene varias especies de importancia económica en el país, siendo una de ellas *P. albidus*, especie muy apreciada por su comestibilidad en San Mateo Ixtatán, Huehuetenango y en Tecpán Guatemala, Chimaltenango (Bran et al., 2001).

Como especie saprobia y degradadora puede ser cultivada sobre residuos que se generan en las actividades agrícolas, agroindustriales y forestales que se llevan a cabo en el país, por lo que al estudiar y sistematizar su cultivo se estaría dando uso a la diversidad fúngica nativa, para crear alternativas alimenticias, medicinales y económicas que contribuyan al desarrollo de las comunidades campesinas como parte integral de los sistemas naturales y como estrategia sostenible de los recursos naturales (Bran et al., 2001).

En Guatemala se conoce ya el uso tradicional y el aprecio que se tiene hacia *P. albidus* (Bran et al., 2001; Bran et al., 2003, 2004; Pérez, 2006 y Batz, 2010). Sin embargo para la demanda que este hongo posee como comestible ha sido estudiado muy poco en cuanto a su potencial de producción de cuerpos fructíferos, por lo que se hace necesario ampliar los conocimientos que se tienen del mismo en cuanto a sus características de crecimiento en cultivo *in vitro*, y producción de inóculo para lograr producir con eficacia los cuerpos fructíferos antes mencionados.

Por lo anterior se hizo necesario establecer las condiciones adecuadas para el cultivo *in vitro* de una cepa guatemalteca de *P. albidus*, donde se evaluaron las características de crecimiento en diferentes medios de cultivo, temperatura y pH. Asimismo comparar la eficiencia de producción de inóculo primario en granos y cereales para la reproducción masiva de micelio y la posterior producción de cuerpos fructíferos que puedan ser útiles no solo para el autoconsumo sino también para orientar a las comunidades campesinas en la producción de este hongo.

V. OBJETIVOS

A. General:

1. Establecer las características de cultivo y producción de inóculo de *P. albidus*, como una alternativa alimenticia, comercial y de desarrollo económico para las comunidades campesinas.

B. Específicos:

1. Establecer el medio de cultivo (APD, AEM, ASD) y la temperatura de incubación (18° y 26° C) donde la cepa presente mayor crecimiento micelial.
2. Describir las características morfológicas macro y microscópicas de la cepa en los diferentes medios de cultivo y temperaturas a evaluar.
3. Determinar el pH (5, 7, 9 y 11) donde la cepa de *P. albidus* presente el mayor crecimiento micelial en un medio de cultivo y a una temperatura.
4. Describir las características morfológicas macro y microscópicas de la cepa en diferentes pH, en un medio de cultivo y a una temperatura de incubación.
5. Evaluar la producción de inóculo sobre diferentes sustratos como vehículo (sorgo, trigo y cebada), a través de la determinación de la tasa de extensión radial (RER).

VI. HIPOTESIS

1. La cepa de *P. albidus* 107.2001 evidencia mayor crecimiento en una combinación de variables (un medio de cultivo, pH y temperatura) a evaluar.
2. La cepa de *P. albidus* 107.2001 evidencia mayor tasa de extensión radial en al menos un sustrato a evaluar.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de trabajo

- Cepas de hongos del género *Pleurotus* spp aisladas en Guatemala.

B. Muestra

- Cepa *P. albidus* 107.2001
- Cepa control *P. ostreatus* O 152 – El Colegio de la Frontera Sur – ECOSUR, Tapachula-Chiapas, México.

C. Recursos

- **Institucionales**
 - Cepario de Hongos Saprobios y Micorrícicos del Departamento de Microbiología de la Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
 - Laboratorios de Microbiología, Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
 - Unidad de Biodiversidad Tecnología y Aprovechamiento de Hongos (BioTAH).
- **Humanos**
 - (Investigador) Br. Ferdiner Ulises González Ortíz
 - Licda. María del Carmen Bran González (Asesora)
 - Lic. Roberto Cáceres Staackmann (Asesor)

D. Materiales

- **Medios de cultivo**
 - Agar Sabouraud Dextrosado (ASD)
 - Agar Papa Dextrosa (APD)

- Agar Extracto de Malta (AEM)

- **Reactivos**
 - Azul de lactofenol al 3 %
 - NaOH 1N
 - HCl 1N

- **Sustratos**
 - Granos de trigo
 - Granos de sorgo
 - Granos de cebada

- **Equipo**
 - Balanza semianalítica
 - Balanza analítica
 - Cabina bacteriológica de seguridad tipo II
 - Incinerador
 - Autoclave
 - Incubadoras a 18°C y 26°C
 - Estufa
 - Agitadores magnéticos
 - Asas forma de espátula y en forma de L
 - Estereoscopio
 - Microscopio
 - Potenciómetro

- **Cristalería**
 - Probetas graduadas de 150, 250 y 1000 mL
 - Erlenmeyer de 500 y 1000 mL
 - Pipetas de 1 a 10 mL
 - Tubos de ensayo con rosca

- Portaobjetos y cubreobjetos
- Pipetas Pasteur
- Pipeteador

- **Otros**
 - Papel aluminio
 - Papel Parafilm ®
 - Mayordomo
 - Aceite de inmersión
 - Agua desmineralizada estéril
 - Algodón
 - Cajas de Petri de poliestireno estériles desechables de 100 x 15 mm.
 - Alcohol al 70%
 - Bata
 - Cofia
 - Mascarilla
 - Tijeras
 - Marcador
 - Regla (medida el mm)

E. Métodos

1. Revitalización de la cepas *P. albidus* y cepa control de *P. ostreatus*

Las cepas que se revitalizaron están depositadas en el Cepario de Hongos Saprobios y Micorrícicos del Departamento de Microbiología de la Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Las que se utilizaron son las siguientes: *P. albidus* 107.2001 (San Mateo Ixtatán, Municipio de Huehuetenango) y *P. ostreatus* O 152 (El Colegio de la Frontera Sur – ECOSUR, Tapachula-Chiapas, México).

El procedimiento:

- Las cepas preservadas se revitalizaron sembrándolas en ASD e incubadas a 26°C por 15 días.
- Se establecieron las condiciones de dicarición del hongo, a través de la observación de fíbulas en montajes húmedos con azul de lactofenol.
- Se resembraron en ASD para la propagación de micelio.

2. Determinación del crecimiento radial de las colonias

Según Stamets (1993); Sánchez et al. (2000) y Mier et al. (2002).

- Se prepararon los medios de cultivo Agar Papa Dextrosa (APD), Agar Sabouraud Dextrosa (ASD) y Agar extracto de Malta (AEM) y se les tomó el pH inicial, el cual se determinó entre 5.5 y 5.8.
- Se esterilizaron en autoclave a 121°C y 15 Lb/pul², APD y ASD por 15 minutos y AEM por 10 minutos.
- A partir de un cultivo joven se inocularon 40 repeticiones en cada uno de los medios con un fragmento de 5.0 mm de diámetro, colocado en el centro de la placa con la cepa *P. albidus* 107.2001 y 40 repeticiones para la cepa *P. ostreatus* O 152 ECOSUR*.
- Se identificaron las cajas de Petri conteniendo los medios de cultivo, con referencia, nombre de la cepa, fecha de inoculación, medio, temperatura de incubación y número de caja.
- Se sellaron las cajas inoculadas con papel Parafilm ® para evitar su deshidratación.
- Se incubaron 20 repeticiones para cada tratamiento a 18°C y 26°C.
- Se anotó el diámetro alcanzado por las colonias cada 3 días, mediante la medición del diámetro de la colonia en dos planos perpendiculares, los cuales se sumaron y se dividieron entre 2, para obtener el diámetro promedio (mm). Esto se realizó a cada una de las cajas inoculadas.

* La cepa de *P. ostreatus* O 152 solamente se utilizó como control de calidad de los medios de cultivo, no con la finalidad de comparación.

- En el experimento se presentó un punto de corte en el tiempo, definido como aquel que fuere necesario para que al menos una de las replicas llenara la caja de Petri ®.
- Se elaboró una base de datos en el programa EXCEL® ordenando los datos en forma vertical, incluyendo los parámetros evaluados.
- Se importó la base de datos elaborada previamente al programa SPSS 16.0®, para su análisis.
- Se estimó la media del diámetro de las colonias (mm) en el programa SPSS 16.0®.
- Se elaboraron gráficas de tipo barras de error, para observar el crecimiento de la cepa.

3. Determinación de las características morfológicas macro y microscópicas.

Se observó las características morfológicas macro y microscópicas según lo recomendado por Nobles (1965).

- Para llevar a cabo la caracterización macroscópica de las colonias de la cepa de *P. albidus* se utilizó un estereoscopio.
- Se observó el color del anverso y reverso, textura, consistencia, presencia de exudado, forma, olor y micelio aéreo en cada una de las repeticiones y medios evaluados.
- Para la descripción microscópica del micelio, se realizó preparaciones con azul de lactofenol y se observaron en 400 y 1000 aumentos (del centro, medio y extremo de las colonias). Se anotaron las características hifales, diámetro (μm), septos, nódulos, ramificaciones, presencia de fíbulas, clamidoconidios y otras estructuras que se presentaron (Anexo H).

4. Determinación del diámetro de las colonias de *P. albidus* 107.2001 a diferentes pH.

El procedimiento se realizó de acuerdo con lo recomendado por Mier et al. (2002); Stamets (1993) y Gaitán-Hernández (2008).

- Se prepararon cuatro lotes del medio de cultivo donde la cepa presentó mayor crecimiento en la evaluación anterior (APD).

- Se determinó con potenciómetro el pH de los cuatro lotes de APD y se ajustó cada uno a un pH determinado (pH 5, 7, 9 y 11).
- Se esterilizaron por 15 minutos a 121°C a 15 libras/pul² de presión.
- Se inocularon 20 cajas de APD y pH ajustado con un fragmento de 5.0 mm de diámetro de la cepa revitalizada de *P. albidus*.
- Se identificaron las cajas de Petri® que contiene APD, con referencia, nombre de la cepa, fecha de inoculación, pH, temperatura de incubación y número de repetición.
- Se sellaron las cajas inoculadas con papel Parafilm ® para evitar su deshidratación.
- Se incubaron las cajas APD con diferentes pH evaluados a la temperatura donde alcancen mayor crecimiento micelial durante un período de 15 días.
- Se anotó el diámetro alcanzado por las colonias cada 3 días, mediante la medición del mismo en dos planos perpendiculares, los cuales se sumaron y se dividieron entre 2, para obtener el diámetro promedio (mm). Esto se realizó a cada una de las repeticiones a evaluar.
- En el experimento se presentó un punto de corte en el tiempo, definido como aquel que fuere necesario para que al menos una de las replicas llenara la caja de Petri ®.
- Se elaboró una base de datos en el programa EXCEL® ordenando los datos en forma vertical, incluyendo los parámetros evaluados.
- Se importó la base de datos elaborada previamente al programa SPSS 16.0®, para su análisis.
- Se estimó la media del diámetro de las colonias (mm) en el programa SPSS 16.0®.
- Se elaboraron graficas de tipo barras de error, para observar el crecimiento de la cepa.

5. Producción de inóculo

Según la metodología de Coello-Castillo et al. (2009).

- Se hidrataron los sustratos de granos de trigo, sorgo y cebada, por 18 horas, hasta alcanzar aproximadamente el 80% de humedad.

- Los sustratos (sorgo, trigo y cebada) se suplementaron con 1 % p/p de CaCO₃ y se pesaron individualmente en bolsas de polipapel, 25 gramos en peso húmedo y se esterilizaron a 121°C y 15 lb/p², por 1 hora.
- Posteriormente se colocaron individualmente en cajas de Petri de poliestireno (100 x 15 mm) estériles.
- Seguidamente se inocularon 20 repeticiones de cada sustrato con 1 fragmento de 5.0 mm de diámetro del micelio de la cepa *P. albidus* inoculado en APD.
- Se incubaron a la temperatura en donde se presentó mayor diámetro de crecimiento radial.
- Se anotó el diámetro alcanzado por las colonias cada 3 días, mediante la medición del diámetro de la colonia en dos planos perpendiculares, los cuales se sumaron y se dividieron entre 2, para obtener el diámetro promedio (mm). Esto se realizó a cada una de las mediciones a evaluar.
- En el experimento se presentó un punto de corte en el tiempo, definido como aquel que fuere necesario para que al menos una de las replicas llenara la caja de Petri ®.
- Se estimó la Tasa de Extensión Radial (RER): $RER = \frac{X2 - X1}{T2 - T1}$ (mm/días), donde **X1** es el diámetro inicial de la colonia en mm, **X2** el diámetro final, **T1** el tiempo inicial en días y **T2** el tiempo final de incubación.
- Se elaboró una base de datos en el programa EXCEL® y se trasladó al programa estadístico SPSS 16.0® para estimar la media y desviación estándar de los valores RER.

6. Diseño Experimental

- **Fase 1: Evaluación del crecimiento micelial en diferentes medios y temperaturas.**
 - Dos factores
 - Medios: Tres niveles (ASD, AEM, APD).
 - Temperaturas: Dos niveles (18 y 26°C).
 - Réplicas: 20 repeticiones
 - Respuesta a medir: Crecimiento micelial en milímetros (mm)

- **Fase 2: Efecto del pH sobre el diámetro de crecimiento micelial.**
 - Tres factores
 - pH: cuatro niveles (5, 7, 9 y 11).
 - Temperatura: un nivel (26°C).
 - Medios: un nivel (APD)
 - Replicas: 20 repeticiones
 - Respuesta a medir: Crecimiento micelial en milímetros.

- **Fase 3: Evaluación de sustratos para la producción de inóculo.**
 - Dos factores
 - Sustratos: tres niveles (trigo, sorgo y cebada).
 - Temperatura: un nivel (26°C).
 - Replicas: 20 repeticiones
 - Respuesta a medir: tasa de crecimiento radial (RER) en mm/día.

- **Análisis estadístico**
 - Se realizó un Análisis de Varianza para un diseño factorial y se evaluó si existía diferencia significativa ($\alpha=0.05$) para cada uno de los factores (niveles) y si existía interacciones entre ellos.
 - Luego se realizó la prueba de intervalos múltiples de Duncan ($\alpha=0.05$), para determinar la mejor combinación en relación al crecimiento micelial.

- **Evaluación de las características morfológicas macro y microscópicas.**
 - Se analizaron descriptivamente los hallazgos (variables cualitativas), para los diferentes tratamientos obtenidos en el diseño original.
 - Se elaboró una base de datos en el programa EXCEL ® y se trasladó al programa estadístico SPSS 16.0 ® para aplicar un Análisis de Cluster.
 - Las relaciones entre las variables y los tratamientos se representaron por medio de un dendograma y el coeficiente de conglomeración.
 - Finalmente se realizó un Anova entre los Cluster con las variables utilizadas en el análisis.

- **Evaluación de los sustratos a utilizar**

- Se realizó un diseño totalmente al azar con tres tratamientos (diferentes sustratos) con 20 replicas.
- Se estimó la Tasa de Extensión Radial (RER): $RER = \frac{X2 - X1}{T2 - T1}$ (mm/días), donde **X1** es el diámetro inicial de la colonia en mm, **X2** el diámetro final, **T1** el tiempo inicial en días y **T2** el tiempo final de incubación. Se elaboró una base de datos en el programa EXCEL® y se trasladó al programa estadístico SPSS 16.0® para estimar la media y desviación estándar de los valores RER.
- El análisis se obtuvo por medio de un Andeva de una vía en donde existió diferencia significativa entre los sustratos. Posteriormente se realizó una prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher a cola derecha ($\alpha=0.05$).

VIII. RESULTADOS

A. Establecimiento del mejor medio de cultivo y temperatura.

Respecto al crecimiento micelial de *P. albidus* 107.01 en diferentes medios de cultivo y temperaturas evaluados, se determinó que los mayores diámetros de crecimiento micelial se observaron a 26°C en APD (85.0 ± 0.00 mm) y AEM (83.52 ± 1.00 mm), sin existir diferencia significativa ($p > 0.05$) entre ambos tratamientos (Anexo M). En ASD fue de (59.55 ± 3.15 mm), el cual presentó diferencia significativa ($p < 0.05$) en relación a los dos tratamientos anteriores (Cuadro 1 y figura 1).

A 18°C el mayor diámetro de crecimiento micelial se presentó en AEM (79.85 ± 1.90 mm). En APD y ASD fue de 51.70 ± 4.25 mm y 50.67 ± 3.19 mm, respectivamente, sin evidenciar diferencia significativa ($p > 0.05$) entre estos dos últimos tratamientos (Cuadro 1 y figura 1).

Al comparar los seis tratamientos, se documentó que la mejor tasa de crecimiento micelial se observó a 26°C en APD (7.08 mm/día), seguido de AEM (6.96 mm/día). La más baja a esta misma temperatura se observó en ASD (4.96 mm/día). A 18°C la tasa de crecimiento micelial más alta fue para AEM (6.65 mm/día), seguido de APD (4.30 mm/día). La más baja se presentó en ASD (4.22 mm/día) a la misma temperatura (Cuadro 1 y anexo H).

Por lo que se concluye que el mejor medio de cultivo y temperatura para la cepa de *P. albidus* 107.01 es el medio APD incubado a 26°C.

Cuadro 1. Crecimiento micelial de *P. albidus* 107.2001 en tres medios de cultivo a dos temperaturas al día 12 de incubación.

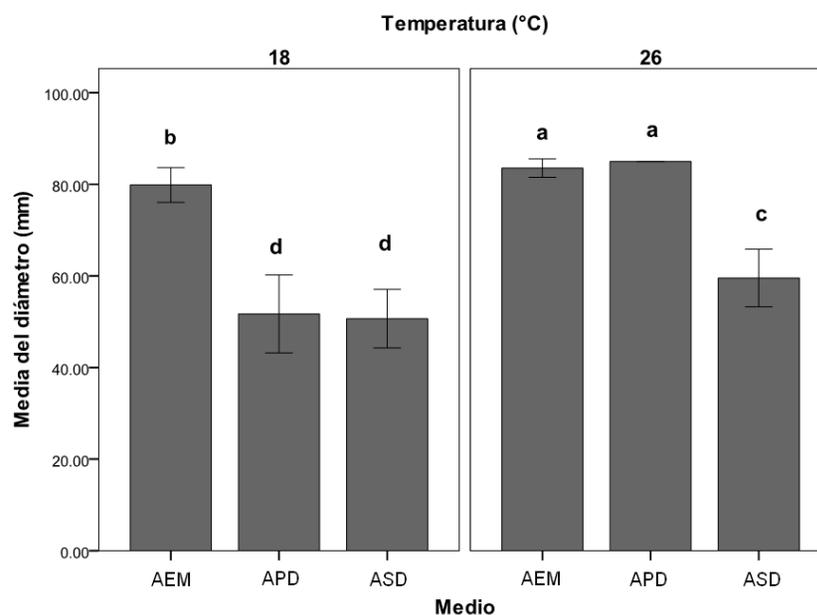
Temperatura °C	Medio ²	Diámetro de las colonias ³ (mm)	Tasa de crecimiento micelial (mm/día)	
18	AEM	79.85 ± 1.90	6.65	b ¹
	APD	51.70 ± 4.25	4.30	d
	ASD	50.67 ± 3.19	4.22	d
26	AEM	83.52 ± 1.00	6.96	a
	APD	85.00 ± 0.00	7.08	a
	ASD	59.55 ± 3.15	4.96	c

¹ Diferentes letras en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa de acuerdo a la prueba de intervalos múltiples de Duncan ($\alpha=0.05$) en relación al diámetro de las colonias.

² Medio: AEM: Agar Extracto de Malta, APD: Agar Papa Dextrosa, ASD: Agar Sabouraud Dextrosa.

³ El valor de la media se obtuvo de 20 repeticiones y se indica ± la desviación estándar.

Figura 1. Efecto de la temperatura y medio de cultivo sobre el diámetro de crecimiento micelial de *P. albidus* 107.2001.

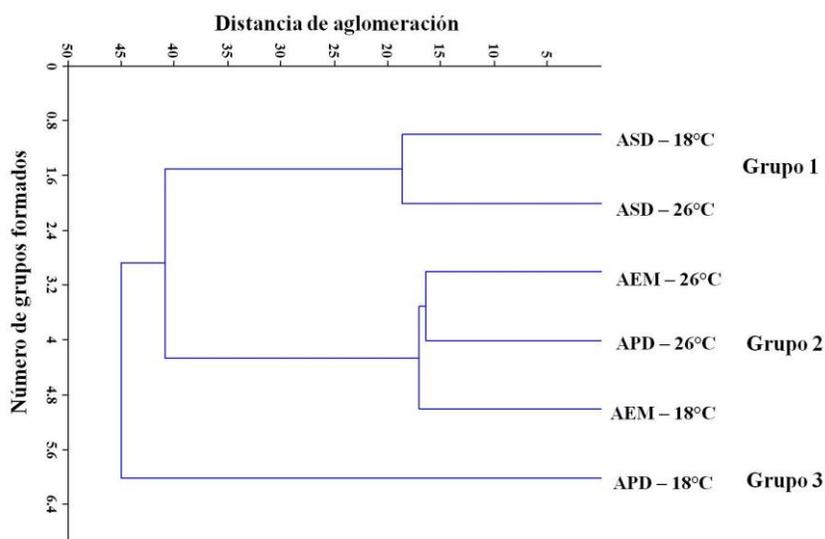


Las barras de error representan la media del diámetro de crecimiento micelial (mm) al día 12 de incubación establecido como punto de corte ± la desviación estándar. Letras distintas representan diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

B. Características macro y microscópicas de *P. albidus* 107.2001 en medios de cultivo y temperaturas evaluadas.

Con relación a las características macroscópicas, el análisis de conglomerados unificó los seis tratamientos en tres grupos. El primero formado por ASD a 18 y 26°C (grupo I), presentó similitud por densidad abundante, textura algodonosa, agregaciones hifales en regular y abundante cantidad, crecimiento aéreo escaso, además de la presencia de un exudado translucido. El grupo II, presentó dos subgrupos, el primero integrado por (AEM y APD a 26°C), exhibieron en común densidad regular, colonias con crecimiento zonado, crecimiento aéreo abundante a medida que se aleja del centro de la colonia, exudado abundante en el centro de la colonia (exudado amarillo, naranja o ambos), así como pigmentación amarilla y naranja en el reverso de la colonia. El segundo subgrupo compuesto por AEM a 18°C se caracteriza por no presentar exudado en la mayoría de las repeticiones, ni pigmentación amarilla y naranja en el reverso de la colonia. El caso de APD a 18°C (grupo III) reportó textura irregular, exudado ausente, densidad y crecimiento aéreo escaso en la mayoría de las repeticiones. Todas las repeticiones sin importar el tratamiento presentaban un olor característico a almendras. (Figura 2 y 3, anexo K).

Figura 2. Análisis de conglomerados de las características macroscópicas de *P. albidus* 107.2001.



Línea horizontal describe la distancia de aglomeración. La línea vertical describe el número de tratamientos formados y unificados en tres grupos.

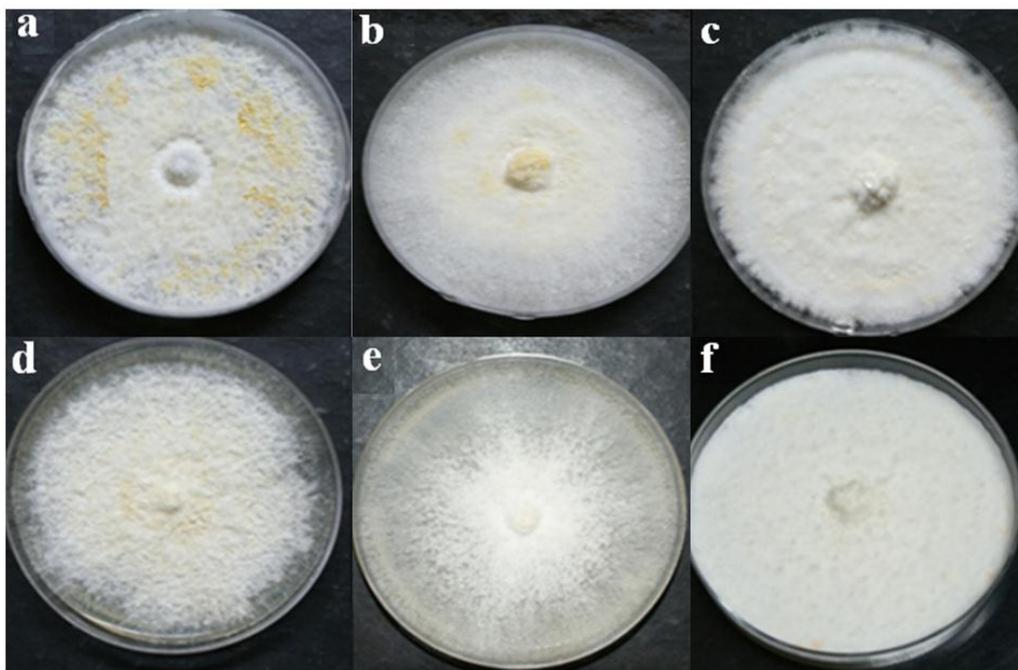
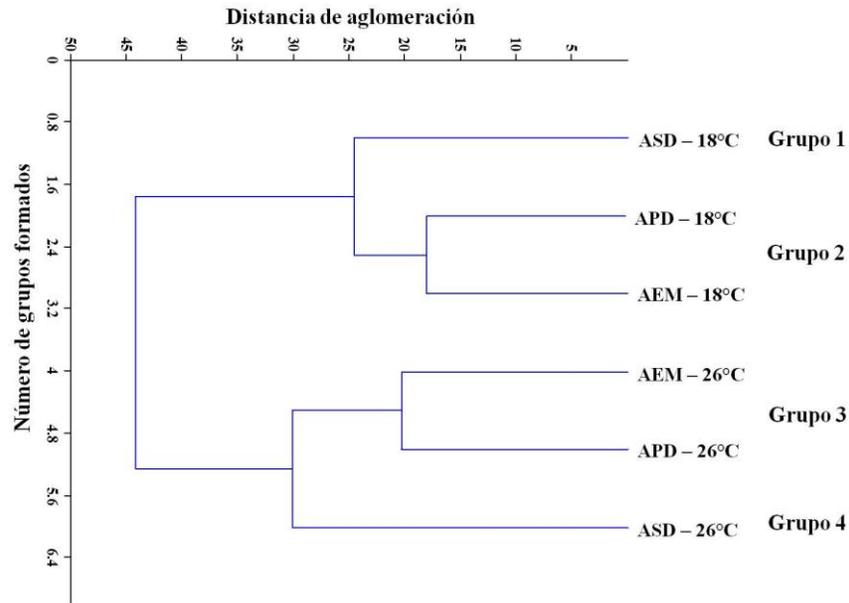


Figura 3. Características macroscópicas de *P. albidus* 107.2001 en diferentes medios y temperaturas.

a-c. Colonias algodonosas en los medios de cultivo APD, AEM y ASD a 26°C. d-f. Colonias algodonosas en los medios de cultivo APD, AEM y ASD a 18°C.

En relación a las características microscópicas el análisis de conglomerados asoció a los seis tratamientos en cuatro grupos. El grupo I, ASD a 26°C presentó abundante cantidad de fíbulas e hifas de 3 y 4 μm de diámetro con pared gruesa. Las clamidoconidios se presentaron en escasa cantidad y en algunas repeticiones. El grupo II, (AEM y APD a 18°C) presentó similitud en relación a la cantidad de fíbulas (de escasa a regular), presencia de clamidoconidios en abundante cantidad y diámetro de las hifas entre 1 y 2 μm con pared delgada. AEM y APD a 26°C (grupo III) mostró una menor distancia de aglomeración al poseer regular cantidad de fíbulas, ausencia de clamidoconidios (en comparación con el grupo anterior) y diámetro de las hifas entre 2 y 3 μm en la mayoría de repeticiones; en algunas repeticiones con hifas de hasta 4 μm de diámetro. El grupo IV formado por ASD a 18°C presentó características únicas en relación a los diámetros de las hifas (menor o igual a 1 μm de diámetro) (Figura 4 y 5, anexo L).

Figura 4. Análisis de conglomerados de las características microscópicas de *P. albidus* 107.2001.



Línea horizontal describe la distancia de aglomeración. La línea vertical describe el número de tratamientos formados y unificados en cuatro grupos.

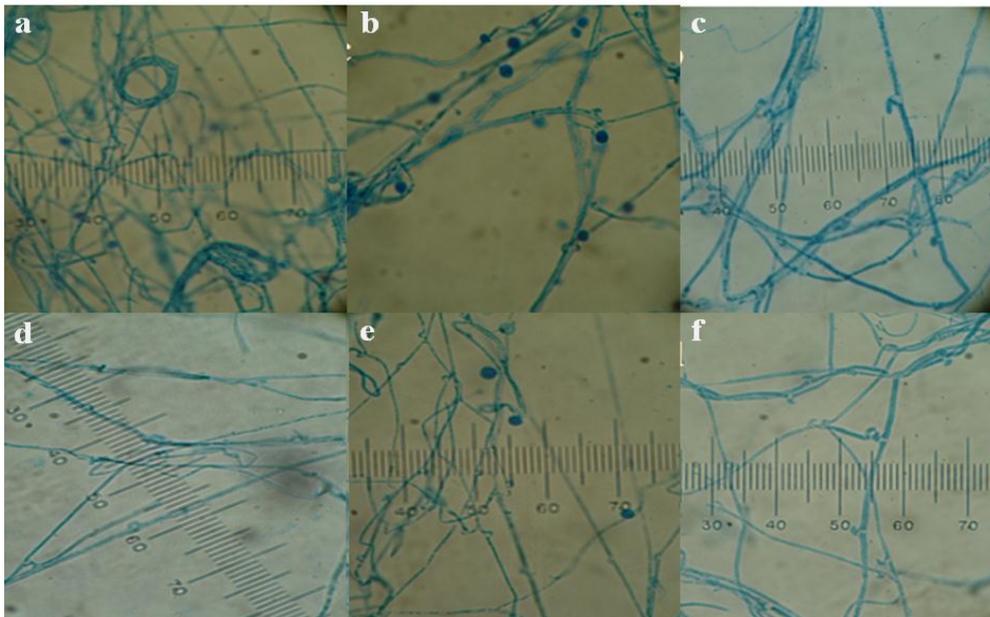


Figura 5. Características microscópicas de *P. albidus* 107.2001 en coloración de azul de lactofenol.

a. Agregaciones hifales en ASD a 18°C. b. Presencia de clamidoconidios en APD a 18°C. c. Formación de fíbulas en APD a 26°C. d. Hifas de hasta 1µm de diámetro en APD a 18°C. e. Presencia de clamidoconidios en AEM a 18°C. f. Formación de fíbulas en AEM a 26°C. Aumento 1000.

C. Evaluación de APD con diferentes pH incubado a 26°C.

En relación al efecto del pH en el crecimiento de *P. albidus* 107.2001 en APD a 26°C se observó que el mayor diámetro de crecimiento micelial se obtuvo a pH 7 (81.92±1.98 mm), seguido de pH 9 (77.10±1.79 mm), con diferencia significativa ($p<0.05$) entre ambos tratamientos (Anexo N). El menor diámetro se observó en pH 5 (69.25±3.76 mm) sin existir diferencia significativa ($p>0.05$) con el pH 11 (71.30±4.54 mm), (Cuadro 2, figura 6 y anexo I).

Al comparar los cuatro tratamientos se determinó que la mayor tasa de crecimiento micelial se obtuvo en pH 7 (5.12 mm/día), seguido de pH 9 (4.81 mm/día). La tasa más baja se presentó en pH 5 (4.32 mm/día), seguido del pH 11 (4.45 mm/día) (Cuadro 2).

Por lo que se concluye que el mejor pH de crecimiento micelial en el medio APD es 7, incubado a 26°C.

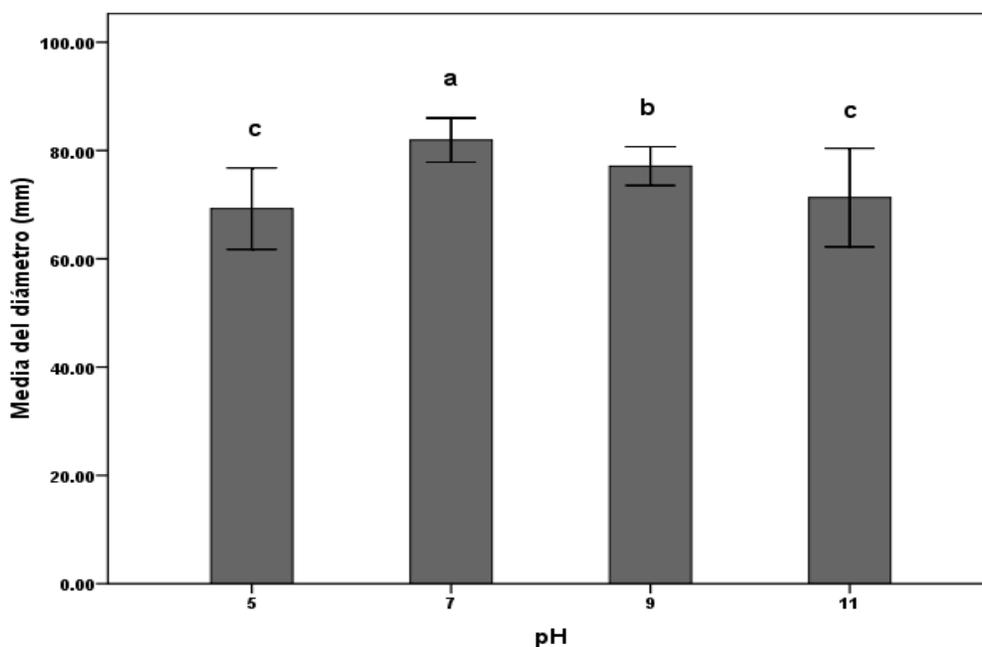
Cuadro 2. Efecto del pH sobre el diámetro de crecimiento micelial de *P. albidus* 107.2001 en APD a 26°C al día 16 de incubación.

Tratamiento (pH)	Diámetro de las colonias ¹ (mm)	Tasa de crecimiento micelial (mm/día)	
5	69.25 ± 3.76	4.32	c ²
7	81.92 ± 1.98	5.12	a
9	77.10 ± 1.79	4.81	b
11	71.30 ± 4.54	4.45	c

¹ El valor de la media se obtuvo con 20 repeticiones y se indica ± la desviación estándar.

² Diferentes letras en la columna indican diferencia estadísticamente significativa de acuerdo a la prueba de intervalos múltiples de Duncan ($\alpha=0.05$).

Figura 6. Efecto del pH sobre el diámetro de crecimiento micelial de *P. albidus* 107.2001.



Las barras de error representan la media del diámetro de crecimiento micelial (mm) al día 16 de incubación como punto de corte \pm la desviación estándar. Letras distintas representan diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

D. Características macro y microscópicas de *P. albidus* 107.2001 en APD a diferentes pH e incubado a 26°C.

P. albidus 107.01 exhibió en los pH 5, 7 y 9 micelio de color blanco, textura irregular, densidad escasa a regular y crecimiento aéreo regular en la periferia de la colonia, así como crecimiento de tipo rastrero con margen fimbriado; presencia de exudado amarillo o naranja en el reverso de algunas repeticiones. A pH 11 se documentó micelio de color blanco el cual presentaba extensiones irregulares de micelio, margen fimbriado, densidad escasa y crecimiento aéreo escaso. Todas las repeticiones de los tratamientos presentaban un olor característico a almendras (Figura 7).

Respecto a las características microscópicas de la cepa estudiada a pH 5 y 11 se documentaron hifas de menos de 1 μm de diámetro con pared delgada, fíbulas en escasa

cantidad y clamidoconidios en abundante cantidad. A pH 7 y 9 se observaron hifas de 1 y 2 μm de diámetro con pared delgada, fíbulas en regular cantidad y clamidoconidios en regular cantidad (Figura 7 y cuadro 3).

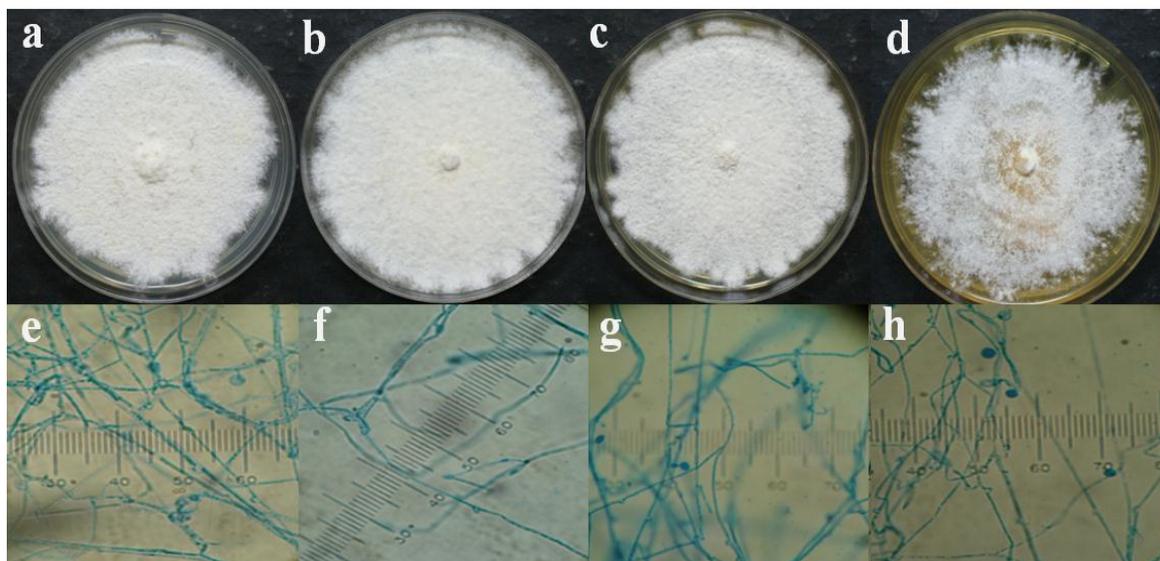


Figura 7. Características macroscópicas y microscópicas de *P. albidus* 107.2001 en diferentes pH.

a-d. Características macroscópicas de *P. albidus* 107.01 en pH 5, 7, 9 y 11. e-h. Características microscópicas en azul de lactofenol de *P. albidus* 107.01 en pH 5, 7, 9 y 11. Aumento 1000.

Cuadro 3. Características microscópicas más relevantes de *P. albidus* 107.2001 al final del período de incubación en PDA a 26°C y diferentes pH.

Características microscópicas				
pH	Diámetro hifal (μm)	Fíbulas ¹	Pared ²	Clamidoconidios ³
5	< 1	ES	D	AB
7	1.0-2.0	R	D	R
9	1.0-2.0	R	D	R
11	< 1	ES	D	AB

1: ES = escasas. 1 y 3: R = regulares. 2: D = delgada. 3: AB = abundantes.

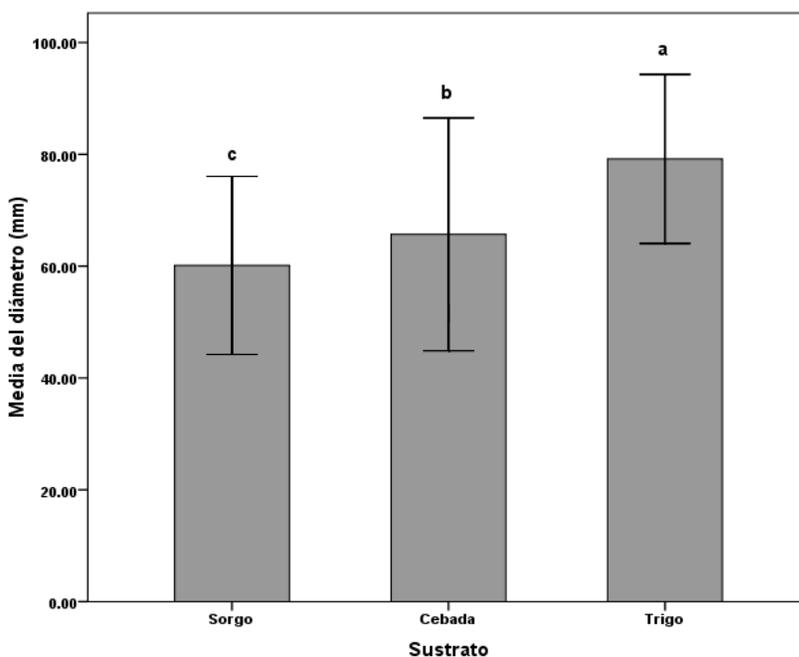
E. Evaluación de sustratos para producción de inóculo.

Con respecto a la producción de inóculo se determinó que la cepa *P. albidus* 107.2001 presentó la mayor tasa de extensión radial (RER) en los granos de trigo a razón de 5.65 mm/día, para la cebada y el sorgo se evidenció un RER de 4.69 mm/día y 4.29 mm/día, respectivamente (Figura 8 y cuadro 4).

Se determinó que el mayor diámetro micelial para dicha cepa a 26°C se observó en granos de trigo (79.17 ± 7.56 mm), seguido de cebada (65.70 ± 10.40 mm) y sorgo (60.15 ± 7.97 mm) (Figura 8, cuadro 4 y anexo J).

De acuerdo a la prueba de Fisher se estableció que existe diferencia significativa entre los tres tratamientos ($p < 0.05$) (Figura 8 y anexo O). Por lo que se concluye que los granos de trigo son los más adecuados para la producción de inóculo de la cepa estudiada a una temperatura de 26°C.

Figura 8. Establecimiento del mayor diámetro de crecimiento micelial de *P. albidus* 107.2001 en tres sustratos a 26°C.



Las barras de error representan la media del diámetro de crecimiento micelial (mm) al día 14 de incubación como punto de corte \pm la desviación estándar. Letras distintas representan diferencia estadísticamente significativa.

Cuadro 4. Producción de inóculo de *P. albidus* 107.2001 en tres sustratos a 26°C.

Inóculo	Diámetro de las colonias ¹ (mm)	RER ² (mm/día)	
Trigo	79.17 ± 7.56	5.65	a ³
Cebada	65.70 ± 10.40	4.69	b
Sorgo	60.15 ± 7.97	4.29	c

¹ El valor de la media se obtuvo con 20 repeticiones y se indica ± la desviación estándar.

² Tasa de extensión radial (mm/día).

³ Diferentes letras en la columna indican diferencia estadísticamente significativa de acuerdo a la prueba de intervalos múltiples de Duncan ($\alpha=0.05$).

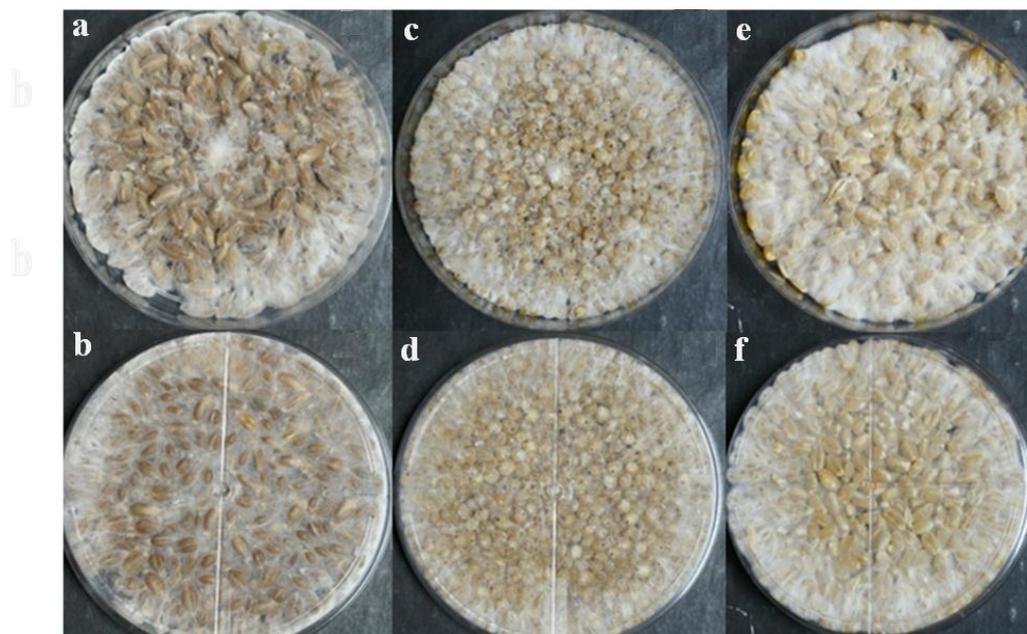


Figura 9. Producción de inóculo de la cepa *P. albidus* 107.2001.

a-e. Producción de inóculo de *P. albidus* 107.2001 en tres sustratos a 26°C. a-b. Colonización de los granos de cebada. c-d. Colonización de los granos de sorgo. e-f. Colonización de los granos de trigo.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Con relación al mejor medio de cultivo y temperatura de incubación se documentó que la cepa 107.2001 presentó el mayor diámetro de crecimiento micelial en medio APD (85.0 ± 0.00 mm) a 26°C en 12 días, sin embargo no existió diferencia significativa con AEM (83.52 ± 1.00 mm) a esta misma temperatura y tiempo de incubación (Cuadro 1 y figura 1). Estos resultados son similares a lo documentado por Carreño, Cappello, Gaytan, Cifuentes y Rosique (2009), quienes reportaron que *P. albidus* presentó la mayor velocidad de crecimiento micelial en medio APD entre ocho a nueve días a 26°C y en siete días a 30°C .

El mejor crecimiento en APD y AEM puede atribuirse a que el micelio necesita de un medio enriquecido para su desarrollo. Dichos medios de cultivo reúnen estas características, ya que APD contiene dextrosa así como extracto de papa rico en almidones; el medio AEM, extracto de malta y peptona de harina de soya, los cuales proveen nutrientes de calidad (Cultimed, 2008). Lo anterior puede indicar que la cepa puede asimilar con más eficiencia estos nutrientes, en contraste con lo documentado para ASD, en el cual la cepa evaluada presentó el menor diámetro micelial tanto a 18°C , como a 26°C (Figura 2, anexo H). Tanto APD como ASD poseen dextrosa, pero ASD no es una buena opción para el crecimiento de hongos macromicetos, ya que posee un complemento enzimático de caseína, el cual no es el adecuado para evaluar la tasa de crecimiento micelial debido a que es un concentrado proteico de origen animal. Lo anterior concuerda con lo documentado por Suárez y Hologuín (2011), quienes evaluaron cinética de crecimiento micelial en tres medios de cultivo, siendo el menos favorecedor para este fin ASD. Dichos investigadores comentan que ASD es un medio que es utilizado para el conteo de mohos y levaduras en el control microbiológico de alimentos y no para hongos de pudrición blanca.

Para otras especies del género *Pleurotus* se ha documentado el uso de APD y AEM como medios de utilización más frecuente. Esteban y Aguilar (2007), midieron la eficiencia de la velocidad de crecimiento de tres cepas de *P. ostreatus* en los medios antes mencionados, sin encontrar diferencia significativa entre ellos. Ríos, Hoyos & Mosquera

(2010), evaluaron la propagación de *P. ostreatus*, en un medio natural de extracto de papa suplementado con extracto de salvado de trigo (12.5 mm/día), comparado con APD comercial (11.2 mm/día), sin encontrar diferencia significativa entre ellos. Otros estudios han documentado el crecimiento de *P. albidus* en el medio de cultivo de Nobles, el que se utiliza una menor concentración de extracto de malta, a una temperatura óptima de incubación de 25°C de 15 a 19 días (Lechener & Albertó, 2011). Según Sánchez y Royse (2001), los nutrientes y la temperatura apropiados pueden influir en el metabolismo celular ya que favorecen el rápido crecimiento del micelio.

Por lo anterior se recomienda el uso de APD para producción de biomasa de *P. albidus* 107.2001 a 26°C, tomando en consideración que estos factores permiten disminuir los tiempos de producción (Sánchez y Royse, 2001). Cabe destacar que en la mayoría de estudios realizados con este tipo de macromicetos, APD es el medio mayormente utilizado para iniciar la reactivación de la cepa y su posterior producción de biomasa tanto en fermentaciones en estado líquido como, trabajos en cultivo artesanal y fermentación en sustrato sólido (Suárez y Hologuín, 2011). Estos resultados concuerdan con la metodología utilizada en Guatemala para el cultivo de *Pleurotus*, donde ha utilizado ampliamente el medio APD (Bran et al., 2001; Bran et al., 2003; Bran et al., 2004 y Bran et al., 2005) para el aislamiento y cultivo axénico de cepas, producción de biomasa, así como para la transferencia de tecnología por su bajo costo y fácil manejo a nivel de comunidades campesinas.

Es de hacer mención que Pérez (2006), en un estudio previo con *P. albidus* 107.2001 produjo una mayor biomasa en APD a 18°C, lo que contrasta con los resultados obtenidos con esta misma cepa en esta investigación, en el que se determinó que 26°C era la mejor temperatura de incubación. Cabe destacar que el ejemplar de donde se obtuvo el aislamiento inicial provenía del área de Cuchumatanes (Bran et al., 2001) donde las temperaturas son bajas, sin embargo existe la probabilidad de un cambio en relación a sus características en cuanto a requerimientos de temperatura por los múltiples pases y adaptación a nivel de laboratorio. El ensayo de aclimatación y producción, es una metodología empleada para la domesticación de cepas (nativas y no nativas) a nuevos

climas y medios de cultivo, por medio de un ámbito progresivo, hasta lograr un crecimiento de biomasa y basidiomas a temperatura ambiente (24 a 26°C) o en las condiciones deseadas con el fin de obtener los mejores resultados (Macaya-Lizano, 1987).

Con relación a las características macro y microscópicas, se aplicó un análisis de conglomerados en donde los medios de cultivo y las temperaturas se agruparon en respuesta a una similitud, el parecido, o la proximidad de determinadas características respecto a las demás entre los tratamientos que fueron agrupados (Figura 2, 4 y anexo I), (Pedroza y Dikovskiy, 2007).

Así en base a las características macroscópicas evaluadas se puede indicar que el grupo que más favorece el crecimiento micelial es el grupo I (ASD a 18° y 26°C), ya que posee características únicas en las repeticiones como densidad abundante, textura algodonosa, presencia de agregaciones hifales y crecimiento aéreo escaso, además de la presencia de un exudado translucido, aunque cabe destacar que obtuvo el mayor tiempo de colonización (19 días). El grupo II, (AEM Y APD a 26°C), comparte características como densidad regular, textura algodonosa, crecimiento zonado, micelio aéreo y exudado abundante (coloración amarilla, naranja o ambas) en el centro de la colonia. Estos resultados concuerdan con lo documentado por Pérez (2006) y Carreño et al. (2009), quienes describieron el crecimiento micelial *in vitro* de *P. albidus*, sin embargo no aplicaron el análisis de conglomerados lo que como se indicó, permite obtener inferencias más claras sobre los efectos de los medios y las temperaturas sobre el crecimiento de la cepas. El grupo III (APD a 18°C), es la combinación que menos favorece el crecimiento micelial por una textura ligeramente algodonosa, exudado ausente, densidad y crecimiento aéreo escaso en la mayoría de las repeticiones (Figura 2 y anexo I).

Microscópicamente el análisis de conglomerados realizó una separación de los tratamientos en base a la influencia de la temperatura (Figura 4 y 5). El grupo que más favoreció el crecimiento micelial fue el grupo I (ASD a 26°C), que presentó abundante cantidad de fíbulas y hifas de 3 y 4 µm de diámetro, aunque cabe destacar que obtuvo el mayor tiempo de colonización (19 días). El grupo III (APD y AEM a 26°C), documentó

regular cantidad de fíbulas, ausencia de clamidoconidios y diámetro de las hifas entre 2 y 3 μm de diámetro en la mayoría de repeticiones; en algunas repeticiones con hifas de hasta 4 μm de diámetro. El grupo II (AEM y APD a 18°C) y grupo IV (ASD a 18°C), fueron los que menos favorecieron el crecimiento micelial debido a la escasa cantidad de fíbulas, presencia de clamidoconidios en abundante cantidad y diámetro de las hifas de hifas de hasta 1 μm de diámetro (Figura 4 y anexo I).

Por lo que se concluye que a 18°C el crecimiento del micelio no fue el óptimo, ya que se evidenció el menor diámetro de las hifas y abundancia de clamidoconidios, las cuales se forman cuando las condiciones son adversas (Chang & Miles, 2004). Lo cual indica que temperaturas bajas no son adecuadas para el desarrollo de esta cepa, pues también se evidenció la disminución de las fíbulas (Anexo I). Estas estructuras son de importancia cuando una especie se estudia para fines de producción de cuerpos fructíferos, ya que es un indicativo del estado de dicarion del micelio y por ende de la capacidad que tiene el hongo de formar basidiomas (Sánchez y Royse, 2001).

Con relación al pH, se presentó crecimiento micelial en los cuatro niveles evaluados en APD a 26°C, sin embargo se determinó que el mayor diámetro de crecimiento micelial (81.92 ± 1.98 mm) y la mayor tasa de crecimiento micelial (5.12 mm/día) se presentó a pH 7 (Figura 6 y anexo H). Por lo anterior no se recomienda el uso de pH 5, 9 y 11 para producción de biomasa en APD. Según Sánchez y Royse (2001), el pH influye sobre el carácter iónico del medio, y por ende sobre las proteínas de membrana y sobre la actividad de las enzimas ligadas a la pared celular; es decir, afecta directamente el metabolismo micelial, pH extremos podrían ser desfavorables al metabolismo celular, que se podría reflejar en un micelio de menor calidad.

En general para el crecimiento micelial de algunas especies de *Pleurotus* se han citado rangos de pH entre 4 y 7, con un pH óptimo entre 4 y 6. Pero este valor suele variar entre especies y cepas (Sánchez y Royse, 2001). Para el caso de *P. albidus* no hay literatura que aporte un rango óptimo de pH para la producción de biomasa y cuerpos fructíferos. Para *P. ostreatus* se ha indicado que el pH de inicio de crecimiento en un sustrato no es el

mismo que el pH de producción de enzimas extracelulares, ni de la actividad de las mismas (Díaz, 2009). Por lo que se recomienda realizar estudios de los rangos de pH específico para cada fase del cultivo.

Un aspecto muy importante es el conocimiento previo sobre el pH del medio en el cual se recolectó el hongo. Yamanaka (2003), indica que un pH adecuado *in vitro* para un hongo saprobio o micorrícico se debe correlacionar con el pH del suelo o la madera en donde estos hongos fueron colectados, siendo un factor determinante para evaluar el crecimiento micelial en diferentes medios de cultivo y pH antes de la obtención de cuerpos fructíferos. En el presente trabajo no se cuenta con dicha información ya que la cepa de *P. albidus* 107.2001 almacenada en el Cepario de Hongos Saprobios y Micorrícicos, fue recolectada en el mercado de San Mateo Ixtatán, Huehuetenango (Bran et al., 2001).

Sobre la morfología colonial que exhibió la cepa en los pH evaluados, predominó un crecimiento lento y escaso de tipo rastrero (postrado en la superficie del medio de cultivo) con extensiones irregulares de micelio, margen fimbriado, densidad y crecimiento aéreo de regular a escaso. Se observaron pocas repeticiones con exudado en reverso y anverso (a pH 5 y 11), a pH 7 y 9 se documentaron gotas de exudado en el anverso y un color amarillo o naranja en el reverso, producto del exudado liberado (Anexo I). Lo que puede sugerir producción de metabolitos secundarios y presencia de enzimas extracelulares las cuales pueden ser estudiadas para su utilización en medicina y procesos de biodegradación (Sánchez y Royse, 2001).

Respecto a las características microscópicas de la cepa estudiada, a pH 7 y 9 se reportó una regular cantidad de fíbulas y a pH 5 y 11 una escasa cantidad (Cuadro 3 y figura 7). Como se indico antes, la evaluación de la presencia de fíbulas es importante ya que es un indicativo de la capacidad que tiene el hongo de formar basidiomas (Sánchez & Royse, 2001). Sin embargo el diámetro del micelio no fue el óptimo, ya que como se mencionó los pH extremos pudieron haber influido en el metabolismo micelial, pues microscópicamente presentaron hifas con diámetro menor de 1 y 2 μm , así como abundancia de clamidoconidios. Lo cual indica que dichas condiciones no son adecuadas

para el crecimiento de esta cepa (Anexo I), pues como se comentó las clamidoconidios se forman cuando las condiciones son adversas (Chang & Miles, 2004).

Cabe destacar que la cepa estudiada en el medio APD con un pH entre 5.6 y 5.8 finalizó su crecimiento en 12 días. Contrario a lo que sucedió en pH 7, que finalizó en 16 días (Anexo H). Por lo que se concluye que no es necesario modificar el pH del medio de cultivo APD para la producción de biomasa de *P. albidus* 107.01, ya que el tiempo de producción arriba del rango del medio prolonga el tiempo de producción de biomasa.

Sin embargo, en este estudio, es de hacer notar la tolerancia de *P. albidus* 107.01 a pH alcalinos, ya que puede ser un indicativo de su uso para la producción de cuerpos fructíferos en sustrato a nivel artesanal. Las cepas que son adaptadas a técnicas y sustratos locales son una alternativa para los productores, en donde el micelio no solo pueda crecer sino resistir al ataque de organismos antagonistas que contaminan y compiten por nutrientes (Barrales, 2013). Como técnicas de desinfección de sustratos para la producción de cuerpos fructíferos de especies de *Pleurotus* se ha documentado el uso de inmersión en agua alcalina (1.5% de cal y 36 horas de inmersión) con un 48% de EB (Batz, 2010), y también períodos cortos de fermentación (Castañeda de León y Lara-Leal, 2007) con un pH final entre 8 y 9, procedimientos que son eficientes, económicamente rentables, que aumentan la producción y se obtienen sustratos selectivos al inhibir la microbiota contaminante. Por lo anterior se recomienda efectuar estudios de crecimiento de *P. albidus* 107.2001 en los diferentes pH evaluados, incluyendo 12 y 14 a nivel de sustrato, para establecer la producción de cuerpos fructíferos.

Con relación a la producción de inóculo se obtuvo la mayor tasa de extensión radial (5.65 mm/día) en semillas de trigo en un tiempo de incubación de 14 días (Figura 8 y cuadro 4). Este resultado concuerda con lo descrito por Stamets & Chilton (1983), quienes indican que en granos de cereales como sustrato para la producción de inóculo, el micelio aumenta la biomasa de siete a 14 días después de la inoculación, período en donde el sustrato debe de estar totalmente colonizado con el micelio del hongo a producir. Es de hacer mención que después de este tiempo disminuye la tasa de crecimiento micelial por el envejecimiento de la cepa debido a cambios metabólicos del organismo, lo cual disminuye

la calidad del inóculo para la fructificación, por agotar los nutrientes disponibles y también la susceptibilidad a la contaminación por mohos y bacterias (Stamets & Chilton, 1983; Sanchez y Royse, 2001; Mata, Ortega y Pérez, 2011).

Lo anterior se puede explicar desde el contenido nutricional de los granos, los cuales tienen un contenido de coloides especialmente elevado y tienden a sufrir una imbibición considerable (Devlin, 1980). En este sentido el contenido de almidón en granos de trigo es de 77%, en cebada es de 58% y en sorgo de 72%. Sobre el contenido de amilosa, los granos de trigo contienen el 26%, la cebada 22% y el sorgo un 24% (FAO/OMS, 1997). La fracción proteica hidrosoluble de los granos es la albúmina, de la cual el trigo contiene un 14%, la cebada un 12% y el sorgo un 17% (FAO, 1995; Gil, 2010). Como ya se indicó los granos trigo reportaron la mayor tasa de extensión radial, lo cual se puede atribuir a la mejor distribución de nutrientes (proteínas y glúcidos), ya que se ha indicado que sustratos muy húmedos o muy secos no apoyan el crecimiento micelial, el cual será lento (Sánchez & Royse, 2001). Tinoco, Pickard & Vasquez-Duhalt (2001), argumentaron que un sustrato al alcance del micelio del hongo y una hidratación optima apoya una mejor tasa de crecimiento micelial y un micelio más vigoroso.

La hidratación de la semilla es un factor primordial, ya que durante esta fase se produce una intensa absorción de agua (imbibición) debido a una cantidad considerable de sustancias coloidales hidrófilas (proteínas, polipeptidos, celulosa, almidón) que poseen una gran atracción por el agua. La absorción de agua por la superficie de estos coloides es de importancia básica para el proceso de imbibición (Devlin, 1980). Este evento desencadena una secuencia de cambios metabólicos como respiración, síntesis proteica y la movilización de las reservas. Factores que tienen como objetivo la división y el alargamiento celular en el embrión que provocan la expansión de las cubiertas seminales, lo que incrementa la disponibilidad de los nutrientes (Azcón-Bieto & Talón 1993).

Cabe resaltar que el ensayo del pH y la evaluación de la humedad no se realizaron para los sustratos. Según Sánchez y Royse, (2001), cada sustrato tiene un pH y una capacidad de retención de agua diferente y esto hace que la velocidad optima de crecimiento de un hongo sea diferente, ya que el contenido de humedad no solo afecta la

disponibilidad de nutrientes en el sustrato sino también la disponibilidad de oxígeno, donde el agua ocupa espacios que pueden ser ocupados por el aire. Por ejemplo González et al. (s.f.), reportó para sus semillas un pH de 6.5 y una humedad entre 50 y 55%, lo que promovió un crecimiento estable y acceso a los nutrientes por parte del hongo. Suarez y Hologuín (2011), documentaron que el pH de los granos a evaluar no sobrepasara un pH de 5.5 recomendado por Stamets (2003).

Se ha indicado también que el tamaño de la partícula afecta el crecimiento micelial ya que se relaciona con la accesibilidad a los nutrientes, agua y oxígeno por parte del sistema micelial del hongo (Sánchez y Royse, 2001). Se ha reportado que el grano de trigo mide (7 a 8 mm), la cebada (7 a 10 mm) y el sorgo (4 a 5 mm) (FAO/OMS, 1997). En este estudio se encontró que en cebada y sorgo los tiempos de extensión radial fueron mayores, lo cual puede deberse a los tamaños de partícula muy pequeños como el sorgo, que probablemente dificultaron la aireación necesaria para la respiración y a los tamaños muy grandes como el de la cebada que quizás, serían inadecuados por la falta de compactación del sustrato y el acceso del hongo a los nutrientes (Sánchez y Royse, 2001).

Los resultados del presente trabajo concuerdan con lo documentado por Lechner & Albertó (2011), quienes utilizaron con éxito granos de trigo para producción de inóculo de *P. albidus* incubado a 25°C, sin embargo no se reporta el tiempo de incubación. Por otra parte la producción de inóculo en granos de trigo ha sido documentada con buenos resultados para otras especies de *Pleurotus* por Suárez y Hologuín (2011), quienes evaluaron a *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* en cinco granos, siendo el mejor de ellos el trigo; ya que reportó un alto porcentaje de colonización y un crecimiento rápido en tres semanas. Otro estudio que apoya estos resultados es el de Ríos et al. (2010), quienes utilizaron trigo hidratado en agua destilada durante una hora. *P. ostreatus* colonizó totalmente la semilla a los 20 días de incubación a 25°C.

Por lo anterior y de conformidad con los resultados del presente trabajo se recomienda utilizar granos de trigo para la producción de inóculo de *P. albidus* 107.2001 incubados a 26°C.

Una de las necesidades fundamentales en la industria del cultivo de los hongos comestibles es optimizar la calidad de inóculo para obtener una rápida y vigorosa colonización del sustrato. En la reducción del tiempo de incubación, el sustrato utilizado para la producción de inóculo juega un factor muy importante, ya que este debe de ser el adecuado para el crecimiento de un hongo, al contener todos los requerimientos nutritivos en cantidad suficiente para que éste sintetice sus metabolitos y tome la energía que requiere (Sánchez y Royse, 2001).

Según Savoie, Delpech, Billete & Mata (2000), la reducción del tiempo de incubación del inóculo (para cualquier hongo a cultivar) es una estrategia muy importante para evitar la aparición de organismos antagonistas sobre todo cuando el sustrato utilizado no será esterilizado, ya que por lo general los sustratos pasteurizados presentan problemas de contaminación por mohos del genero *Trichoderma* en los primeros días de incubación.

Para lograr lo anterior Morgado (2011), recomienda la utilización de tratamiento térmico por cocción del grano durante un tiempo determinado a efecto de hidratar y aumentar la disponibilidad de los nutrientes. Savoie et al. (2000), reportaron la adición de suplementos (turba de musgo y pulpa de café) en distintos porcentajes al inóculo. También se ha descrito como suplementos la utilización de polvo de madera de encino (Gaitán-Hernández, 2005), salvado de arroz y de trigo (Pathmashini, Arulnandhy & Wijeratnam, 2008). En general los suplementos no solo mejoran la resistencia del micelio de los hongos comestibles contra el ataque de organismos antagonistas al colonizar más rápidamente el inóculo (Savoie et al., 2000), sino también sirven para una pre adaptación del micelio al sustrato en el cual será cultivado, ya que se ha documentado que con el empleo de inóculo suplementado el tiempo de incubación del sustrato necesario para la formación de primordios disminuye (Mata, Ortega y Pérez, 2011).

De igual forma se ha reportado la adición de CaCO_3 y CaSO_4 que tienen la función de servir como tampones del inóculo (Stamets & Chilton, 1989) y evitar la aglutinación de los granos (Macaya-Lizano, 1988). Además la adición de minerales (Ca, Mg y K), cumplen una función de protección contra antagonistas (Sánchez y Royse, 2001).

Variaciones de dichas recomendaciones han sido descritas por investigadores como Pathmashini, Arulnandhy & Wijeratnam (2008), quienes adicionaron a sus granos (maíz, sorgo y arroz) CaCO_3 al 2% y MgSO_4 al 0.2%. Stanley (2010), utilizó 2/3 partes por separado de cada uno de los siguientes granos: maíz blanco, sorgo rojo, maíz de Guinea, maíz amarillo, mijo y trigo adicionando 5 g de CaCO_3 antes de ser esterilizados por autoclave. Thulasi, Danial-Thomas, Ravichandran & Madhusudhanan (2010), documentaron la utilización de 4% de CaCO_3 (40 mg/kg de sustrato) en los granos de arroz y sorgo. Narh, Obodai, Baka & Dzomeku (2011), describieron la adición de 3% p/p de CaCO_3 a sus granos de sorgo y combinaciones de sorgo y mijo. Caral-Dinesh, Vinay, Manasa, Vinothkumar & Ramesh (2013), sumergieron los granos de sorgo en agua caliente que contenía 120 g de CaSO_4 y 30 g CaCO_3 por 15 minutos.

Sin embargo es necesario hacer estudios adicionales con *P. albidus* 107.01 para la producción de inóculo con relación al grado de colonización microscópica de la semilla, el porcentaje de humedad, el tamaño de la partícula del sustrato empleado, evaluación del pH, así como la adición de reguladores de pH y suplementación orgánica.

X. CONCLUSIONES

1. El medio agar papa dextrosa (APD) es el más adecuado para el crecimiento micelial de la cepa *P. albidus* 107.2001, a una temperatura de incubación de 26°C.
2. El mejor grupo de características macroscópicas lo presentó el grupo I (ASD a 18 y 26°C) por presentar una densidad abundante, textura algodonosa, agregaciones hifales, micelio aéreo escaso y exudado abundante.
3. El mejor grupo de características microscópicas de exhibió el grupo IV (ASD a 26°C) por presentar abundante cantidad de fíbulas, ausencia de clamidoconidios y diámetro de las hifas entre 3 y 4 μm de diámetro.
4. La cepa estudiada presentó la mayor tasa de crecimiento micelial (5.12 mm/día) en medio APD modificado a pH 7 a una temperatura de incubación de 26°C.
5. *P. albidus* 107.2001 presentó en los diferentes pH evaluados colonias de color blanco, textura granulosa, densidad escasa y margen fimbriado, fíbulas en escasa cantidad y abundantes clamidoconidios.
6. Los granos de trigo son los más adecuados para la producción de inóculo de la cepa estudiada a una temperatura de incubación de 26°C por poseer el menor tiempo de incubación.

XI. RECOMENDACIONES

- 1.** Se recomienda la utilización de ASD a 26°C basado en las características macro y microscópicas. Combinación que le da mayor estabilidad y vigorosidad al crecimiento micelial a pasar de que posee el tiempo máximo de incubación, 19 días.
- 2.** Realizar estudios de los rangos de pH específico para producción de biomasa, inóculo y cuerpos fructíferos de *P. albidus*.
- 3.** No utilizar pH 5 y 11 ya que documentaron tiempos de incubación muy prolongados y podría afectar la viabilidad de esta cepa en particular.
- 4.** Evaluar la producción de crecimiento micelial en granos utilizando la metodología de cocción y suplementación con la adición de compuestos orgánicos e inorgánicos.
- 5.** Recolectar nuevas cepas de *Pleurotus albidus* para su domesticación y estudio en la producción de cuerpos fructíferos.
- 6.** Evaluar la producción de productos del metabolismo de la cepa, para su utilización en medicina y procesos de biodegradación.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aldana, A. (2000). Comparación de la eficiencia de producción de inóculo primario del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* Cepa ECS 0110, en cinco granos. (Tesis de Graduación). Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Ardón, C. (2004). Evaluación de pericarpio de jacaranda (*Jacaranda mimosaeifolia*) y pasto estrella africana (*Cynodon plectostachyus*), para el cultivo artesanal del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*, Ecosur-01112). (Tesis de Graduación). Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Batz, E. (2010). Producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas de *Pleurotus* en sustratos desinfectados por inmersión en agua alcalina. (Tesis de Graduación). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Barros, L., Baptista, P. & Ferreira, R. (2006). Influence of the culture medium and pH on the growth of saprobic and ectomycorrhizal mushroom mycelia. *Minerva Biotech Journal*, 18(4), 165-170.
- Barrales, J. M. (2013). Selección de cepas nativas de *Pleutorus opuntiae* y evaluación de su producción en sustratos fermentados. (Tesis de Licenciatura). Facultad de Ciencias Biológicas y agropecuarias, Universidad Veracruzana.
- Blackwell, M. (2011). The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species?. *American Journal of Botany*, 98(3), 426-438.
- Boa, E. (2005). *Los hongos comestibles, perspectiva global de su uso e importancia en la producción*. Roma: FAO.

- Bran, M., Morales, O., Flores R., Rodríguez, E., Salazar, J., Cáceres, R. y García, L. (2001). Hongos comestibles de Guatemala: diversidad cultivo y nomenclatura vernácula. Informe final técnico Fase I, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Dirección General de Investigación (DIGI), Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas (IIQB). Guatemala.
- Bran, M., Morales, M., Cáceres, R. y Flores, R. (2003). Contribución al conocimiento de los hongos comestibles de Guatemala. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*. Edición especial, 1(1), 5-24.
- Bran, M., Morales, O., Flores R., Rodríguez, E., Salazar, J., Cáceres, R., Andrade, C., Quezada, A. y Carranza, C. (2004). Hongos comestibles de Guatemala: diversidad cultivo y nomenclatura vernácula. Informe final técnico Fase IV, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Dirección General de Investigación (DIGI), Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas (IIQB). Guatemala.
- Bran, M., Morales, O., Álvarez, G., Flores, R., Cáceres, R., Mazariegos, R. y Quán L. (2005). Producción de inóculo de cepas nativas de hongos comestibles, para estimular el cultivo en comunidades campesinas, como alternativa de autoconsumo y comercialización. Informe técnico final. Dirección General de Investigación (DIGI). Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Camey, C. (2002). Comparación de la eficiencia de cinco métodos de desinfección como una alternativa la pasteurización del cultivo de *Pleurotus ostreatus* ECS 0112. (Tesis de Graduación). Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Calabrese, B., Cornelius, C., Cambria, M. y Toscano, M. (2009). La nutrición con hongos como objetivo para nuevas estrategias terapéuticas: relevancia de los enfoques

nutricionales y de la modulación antioxidante de tipo redox en la medicina anti envejecimiento. *Revista Clínica de Micología*, 2, 1-8.

Calderón, J. (2009). Determinación de la mejor etapa de aplicación de la fertilización nitrogenada en el sustrato caña de maíz (*Zea mays* L.) para producción del hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm (Cepa ECS-152). (Tesis de Graduación). Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.

Caral-Dinesh, R., Vinay, P., Manasa, P., Vinothkumar, D. & Ramesh Babu, N. G. (2013). Comparative study of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) cultivation by physical and chemical method of sterilization using two different substrates. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 4(9), 898-902.

Carreño, S., Cappello, S., Gaitán, R., Cifuentes, J. y Rosique, J. (2009). Caracterización del crecimiento micelial *in vitro* de *Pleurotus albidus* Berk Pegler 1983 y *Pleurotus djamor* Boedijin 1959, en Tabasco, México. *Revista de divulgación División académica de Ciencias Biológicas Universidad Juárez Autónoma de Tabasco*, 37(29), 37-46.

Castañeda de León, T. y Leal-Lara, H. (2007). Factores que influyen en la producción de sustratos selectivos para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. En: Sánchez, J.E., Martínez-Carrera, D., Mata, G. & Leal-Lara, H. (Eds). *El cultivo de setas Pleurotus spp. en México*. Tapachula, Chiapas El colegio de la frontera sur: Autor.

Ceballos, C. (2007). Evaluación de rastrojo de maíz (*Zea mays* L.) y hojarasca de roble (*Quercus peduncularis*) previo al cultivo artesanal del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus* Ecs 110). (Tesis de Graduación). Facultad de Agronomía. Universidad de San Carlos de Guatemala.

- Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (San Salvador). (2012). *Manual para la molienda de sorgo o maicillo, usando molinos CTI de discos*. San Salvador: Autor.
- Chafcharaf, R. (2010). *Estudio de métodos para el desarrollo de hongos ostra en Huehuetenango, en el Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales*. (Tesis de graduación). Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Chang, S. T. & Miles, P. G. (2004). *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and enviromental impact* (2nd ed.). USA: CRC Press.
- Ciappini, Ma., Gatti, B. y López, Ma. (2004). *Pleurotus ostreatus*, una opción en el menú. Estudio sobre las grigolas en la dieta diaria. *Revista Mexicana de Micología*, 12(7), 127-132.
- Cooper, J. & Research, L. (2011). A Pacific Island Nomenclator of Basidiomycete Names (excluding Rusts & Smuts). *Global Biodiversity Information Facility*.
- Coello-Castillo, M.M., Sánchez, J.E. & Royse, D.J. (2009). Production of *Agaricus bisporus* on substrates pre colonized by *Scytalidium thermophilum* and supplemented at casing with protein-rich supplements. *Bioresource Technology*, 100, 4488-4492.
- Cruz, D., López, E., Pascual L. y Battaglia, M. (2010). Guía técnica de la producción de hongos comestibles de la especie *Pleurotus ostreatus*. *Journal of Agriculture and Environment for International Development*, 104(3-4), 139-154.
- Cultimed. (2008). *Manual básico de microbiología*, recuperado de: <http://www.ictsl.net/downloads/microbiologia.pdf>
- Devlin, R. (1980). *Fisiología Vegetal*. Barcelona: Editorial Omega S. A.

- De León, R. (2003). Cultivation of edible and medicinal mushrooms in Guatemala, Central America. *Micología Aplicada Internacional*, 15(1), 31-35.
- De León, R. (2010). Producción comercial de *Pleurotus* spp y *Lentinula edodes* en Guatemala. En: Martínez, D., Curvetto, N., Sobal, M., Morales, P. y Mora, V. (Eds.). *Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y perspectivas en el siglo XXI*. (pp. 465-487). Puebla: Red Latinoamericana de hongos comestibles y medicinales: Producción, desarrollo y consumo. –COLPUS-UNS-CONACYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAM.
- De León, R., Guzmán, G. y Martínez-Carrera, D. (1988). Planta productora de hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus*) en Guatemala. *Revista Mexicana de Micología*, 4, 297-301.
- España, H. (2001). Evaluación de la utilización de fruto de cushin *Ignia micheliana* y frutos de hule *Hevea brasiliensis* para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. (Tesis de Graduación). Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Esteban, O. y Aguilar, C. (2007). Comparación de dos inóculos comerciales de *Pleurotus ostreatus* en el estado de México. En Sánchez, J. E., Martínez-Carrera, D., Mata, G. & Leal, H. (Eds). *El cultivo de setas Pleurotus spp en México*. (pp. 65-71). Tapachula, Chiapas: El Colegio de La Frontera Sur. ECOSUR.
- FAO/OMS. (1997). Gestión de riesgos e inocuidad de los alimentos. (Estudio FAO Alimentación y Nutrición – 65), Informe de la consulta mixta FAO/OMS, Roma, Italia: Autor.

- Fajardo, F. (2001). Producción de *Pleurotus ostreatus* ECS 0110 utilizando como sustratos los mantillos de *Quercus acatenangensis* (Encino); *Enterolobium cyclocarpum* (Conacaste); y *Liquidambar styraciflua* (Liquidambar). (Tesis de Graduación). Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Fernández, F. (2004). *Guía práctica de producción de setas*. Distrito Federal: Autor.
- France, A., Cañumir, J. y Cortez, M. (2000). Producción de hongos ostras. *Boletín del Centro de Investigaciones agropecuarias*, 23, 5-30.
- Franco, L. (1986). Valor nutritivo de la paja de trigo tratada con el hongo basidiomiceto “*Pleurotus sajor caju*” como fuente de alimento para ovinos. (Tesis de Graduación). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- García, D. (2000). Utilización de rastrojos de maíz (*Zea mays* L.) y cascarilla de arroz (*Oriza sativa* L.) como sustrato para el hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. (Tesis de Graduación). Facultad de Agronomía. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- García, E. (2011). El cultivo de hongos comestibles (*Pleurotus* spp). *Boletín del Proyecto A4N Agricultura para necesidades básicas*, 4, 5-7.
- García, M., Quintero, R., y López, A. (2004). *Biotecnología alimentaria*. Distrito Federal: Limusa S. A. de C. V.
- Gaitán-Hernández, R. (2005). Evaluación *in vitro* del hongo comestible *Pleurotus eryngii*: Efecto de diferentes suplementos orgánicos en el crecimiento micelial y producción de cuerpos fructíferos. *Revista Mexicana de Micología*, 21, 77-84.

- Gaitán, R., Salmones, D., Pérez, R. y Mata, G. (2006). *Manual práctico del cultivo de setas: aislamiento, siembra y producción*. Distrito Federal: Instituto de Ecología.
- Garzón, J. y Cuervo, J. (2008). Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. *NOVA-Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*, 6(10), 126-140.
- Girón, D. (2000). Cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* en subproductos ligninocelulósicos derivados de la agroindustria de la palma africana (*Elaeis guineensis* jacq). (Tesis de Graduación). Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Godoy, C. (1997). Cultivo de una cepa mexicana de *Pleurotus ostreatus* utilizando como sustrato aserrín de caoba y cedro, fibra de coco y olote de maíz. (Tesis de Graduación). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- González, N., et, al. (s.f.). Estudio de tres alternativas en la producción de semilla comercial de hongos comestibles en el INIFAT. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt”.
- Granados, E. (2007). El cultivo del hongo ostra. Programa de apoyo al desarrollo rural en Chichicastenango (PADERUCHI): Autor.
- Guillen, G., Márquez, F. y Sánchez, J. (1998). Producción de biomasa y enzimas ligninolíticas por *Pleurotus ostreatus* en cultivo sumergido [Versión electrónica]. *Revista Iberoamericana de Micología*, 15, 302-306.
- Guzmán, M., Zúñiga, N., Santafé, G., Torres, O. y Angulo, A. (2009). Actividad antioxidante y estudio químico de *Pleurotus djamor* recolectado en Córdoba. *Revista de la Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 7(2), 63-69.

Guzmán, G. (1997). Los nombres de los hongos y lo relacionado con ello en América Latina. Introducción a la Etnomicología aplicada de la región. A.C. Xalapa: CONABIO. Instituto de Ecología, Inecol: Autor.

Index Fungorum: Clasificación taxonómica disponible en <http://www.speciesfungorum.org/Names/SynSpecies.asp?RecordID=107176>

Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W. & Stalpers, J. A. (2008). *Dictionary of the Fungi*. (10th ed). CABI, Wallingford, UK.

Kues, U. & Liu, Y. (2000). fruiting body production in basidiomycetes. *Applied Microbiology in Technology*, 54(2), 141-152.

Labarere, J. y Bois, F. (2001). La conservación y el uso de los recursos genéticos de *Pleurotus* spp En J. Sánchez y D. Royse (Eds.) *La biología y el cultivo Pleurotus* spp (pp. 85-118). Distrito Federal: Ed. Limusa S. A. de C. V.

Lazo, G. (2001). Determinación de la eficiencia de rastrojo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) y la corona del fruto de piña (*Ananas comosus* (L.) y sus mezclas en el cultivo de la cepa ECS 0110 de *Pleurotus* (*Pleurotus ostreatus*). (Tesis de Graduación). Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.

López-Ramírez, A. (2007). Manual de producción de micelio de hongos comestibles. Instituto de Genética Forestal, Universidad Veracruzana: Autor.

Lorenzana, R. (2009). Determinación de la actividad inmunomoduladora de dos extractos de *Grifola frondosa* (Dicks.:Fr.) S.F. Gray, mediante un ensayo linfoproliferativo *in vitro*. (Tesis de Graduación). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

- Lechner, B. & Albertó, E. (2011). Search for new naturally occurring strains of *Pleurotus* to improve yields. *Pleurotus albidus* as a novel proposed species for mushroom production. *Revista Iberoamericana de Micología*, 28(4), 148–154.
- Lechner, B., Wright, J. & Alberto, E. (2004). The genus *Pleurotus* in Argentina. *Mycologia*, 96(4), 845-858.
- López, G. (2009). Producción del hongo comestible Saj Itah (*Pleurotus ostreatus*) en la cabecera Municipal de Concepción Huista, del Departamento de Huehuetenango. (Tesis de graduación). Facultad de Ciencias Económicas, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Llauradó, G., Morris, H., Albear, J., Castan, L. y Bermúdez, R. (2011). Plantas y hongos comestibles en la modulación del sistema inmune. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 30(4), 511-527.
- Lú-Chau, T. A. et, al. (2004). Effect of pH on the stability of *Pleurotus eryngii* versatile peroxidase during heterologous production in *Emericella nidulans*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 26(5), 287-293.
- Macaya-Lizano, A. V. (1988). Cultivo de *Pleurotus ostreatus* y especies afines (Fungi: Pleurotaceae) sobre medios naturales semi-estériles. *Revista de Biología Tropical*, 36(2A), 255-260.
- Mata, G., Ortega, C. y Pérez, R. (2011). Inóculo suplementado: evaluación de un método para optimizar la producción de inóculo para el cultivo de *Pleurotus* en pulpa de café. *Revista Mexicana de Micología*, 34, 53-61.

- Mendoza, A. (2001). Evaluación del efecto de la pulpa de café (*Coffea arabica* L.) sobre el rendimiento y eficiencia biológica de la cepa ESC – 0110 de *Pleurotus ostreatus* utilizando estopa de coco (*Coccus nucifera* L.) y estróbilos de pino (*Pinus* spp.) como sustratos. (Tesis de Graduación). Facultad de Agronomía. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Monterroso, O. (2009). Efecto de la suplementación de la caña de maíz (*Zea maíz* L.) con nitrato de amonio, nitrato de potasio y urea en el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* (Cepa ECS-152). (Tesis de Graduación). Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Montoya, S. y Restrepo G. (2006). Evaluación de la síntesis de proteína a partir del crecimiento vegetativo de *Pleurotus* sp. sobre residuos de algarrobo y uva pasa. *Revista científica de Caldas*, 26, 23-31.
- Morales, O., Bran, M y Caceres, R. (2010). Los hongos comestibles de uso tradicional en Guatemala. En: Martínez, D., Curvetto, N., Sobal, M., Morales, P. y Mora, V. (Eds.). *Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y perspectivas en el siglo XXI*. (pp. 437-464). Puebla: Red Latinoamericana de hongos comestibles y medicinales: Producción, desarrollo y consumo. –COLPUS-UNS-CONACYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAM.
- Moreno, A. y Bautista, E. (2006). El hongo blanco patón, *Pleurotus albidus*, en Hidalgo. Su primer registro en México [Versión electrónica]. *Revista Mexicana de Micología*, 22, 41-47.
- Morgado, A. (2011). Caracterización y selección de genotipos de cepas comerciales de "Setas" (*Pleurotus*), como acción estratégica para la producción rural en Cuyoaco, Puebla. (Tesis de Maestría en Ciencias). Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla, México.

- Muez, M. y Pardo, J. (2001). La preparación del sustrato En J. Sánchez y D. Royse (Eds.) *La biología y el cultivo Pleurotus spp* (pp. 159-184). Distrito Federal: Ed. Limusa S. A. de C. V.
- Mier, T., Toriello, C. y Ulloa, M. (2002). *Hongos microscópicos saprobios y parásitos: métodos de laboratorio*. Distrito Federal: Universidad Autónoma de México.
- Narh, D. L., Obodai, M., Baka, D. & Dzomeku, M. (2011). The efficacy of sorghum and millet grains in spawn production and carpophore formation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex. Fr) Kummer. *International Food Research Journal*, 18(3), 1143-1148.
- Nobles, M. (1964). Identification of cultures of wood-inhabiting hymenomyces. *Canadian Journal of Botany*, 43, 1097-1139.
- Orozco, C. (2000). Cultivo de *Pleurotus ostreatus* utilizando como sustratos rastrojo, zacate y tusa. (Tesis de Graduación). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Pardo, A., Perona, M. A. y Pardo, J. (2005). Utilización del raspón de uva en la elaboración de sustratos específicos para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Jaq. ex Fr.) Kummer. *Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del Champiñón (C.I.E.S.)*, 101(1), 59-69.
- Pathmashini, I., Arulnandhy V. & Wijeratnam, R. S. (2008). Cultivation Of Oyster Mushroom (*Pleurotus Ostreatus*) On Sawdust. *Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)*, 37(2), 177-182.
- Pedroza, H y Dicovskyi, L. (2007). Sistema con análisis estadístico SPSS. Instituto Nicaragüense de Tecnología agropecuaria: Autor.

- Pérez, B. J. (2006). Descripción de las características macroscópicas, de cultivo in vitro de cepas de *Pleurotus* aisladas en Guatemala. (Tesis de Graduación). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Pontes, H., Batista, L. y Santos, C. (2004). Fungos Macroscópicos e Uredinales da Costa do Amapá e Região de Lagos. *Boletim do Instituto de Botânica*, 12, 107-133.
- Poppe, J. (2005). Sustrato. En *el manual del cultivador de hongos I, parte II hongos ostra* (pp. 83-93). Bruselas: Mush World.
- Prescott, L. M., Harby, J. P., y Klein, D. A. (2000). *Microbiología*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana.
- Programa de Desarrollo económico desde lo Rural. (2010). Crecimiento para competir. Guatemala: Autor.
- Pulido, M. y Arias, J. (2009). Cultivo de hongos comestibles sobre vinazas tequileras en estado sólido. *Laboratorio de Biotecnología, Universidad de Guadalajara*, 3, 32-35.
- Ramírez, X. S. (2009). Alimentos funcionales, etnobotánica y nutrición. *Revista de Medicina y Nutrición*, 4(49), 787-791.
- Rios, M., Hoyos, J. y Mosquera, S. (2010). Evaluacion de los parametros productivos de la semilla de *Pleurotus ostreatus* propagada en diferentes medios de cultivo. *Ingenieria Agroindustrial*, 8(2), 86-94.
- Rodas, H. (2009). Evaluación de la eficiencia biológica de la granza de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y el pasto de jaraguá (*Hyparrhenia ruffa*) al ser utilizados como sustratos, en la planta productora artesanal de *Pleurotus ostreatus* ECS 110, en el municipio de San Pedro Pínula, Jalapa. (Tesis de Graduación). Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.

- Rodríguez, C. y Arias, A. (2010). Producción de biomasa de *Pleurotus ostreatus* en medios de cultivo líquido con vinazas tequileras y diferente fuente de carbono. *El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR)*, 15, 1-11.
- Rojas, E. (2004). Evaluación de la paja de trigo, *Triticum sativum*, broza de encino, *Quercus* sp. y rastrojo de maíz, *Zea mays*; para el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* bajo condiciones artesanales en San Rafael La Independencia. Huehuetenango. (Tesis de Graduación). Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Roussos y Perraud-Gaime I. (1996). *Fisiología y Bioquímica de los microorganismos utilizados en procesos de fermentación en medio sólido*. (pp. 341-348). (E. Galindo Ed.), Fronteras en Biotecnología y Bioingeniería., Cuernavaca, México.
- Royse, D. (2003). *Cultivation of oyster mushrooms*. USA: Penn State's College of Agricultural Sciences.
- Ruiz, J. (2008). *Viaje asombroso al mundo de los hongos*. Distrito Federal: FCE, SEP, CONACyT.
- Sánchez, J. y Royse, D. (2001). El cultivo de *Pleurotus* spp En J. Sánchez y D. Royse (Eds.) *La biología y el cultivo Pleurotus spp* (pp. 197-201). Distrito Federal: Ed. Limusa S. A. de C. V.
- Sánchez, J. (2001). Crecimiento y fructificación. En J. Sánchez y D. Royse (Eds.) *La biología y el cultivo Pleurotus spp* (pp. 59-66). Distrito Federal: Ed. Limusa S. A. de C. V.
- Sánchez, J., De León, R. y Huerta, G. (2000). Efecto del pH, temperatura, humedad y tipo de sustrato sobre el crecimiento micelial de *Ganoderma lucidum*. *Revista Mexicana de Micología*, 16, 37-40.

- Sánchez, M. (1994). Estudio fisiológico de la fase micelial de crecimiento de *Pleurotus ostreatus*. (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma Metropolitana-Itzapalapa. México.
- Savoie, J.M., Delpech, P., Billette, C. & Mata, G. (2000). Inoculum adaptation changes the outcome of the competition between *Lentinula edodes* and *Trichoderma* spp. during shiitake cultivation on pasteurized wheat straw. *Mushroom Science*, 15, 667-674.
- Sierra, J., López, T. y Eiroa, J. (2002). Lo que vd. Debe saber de: las setas cultivadas. *Sociedad Micológica Leonesa "San Jorge"*, 11, 3-80.
- Smith, T. y Smith, R. (2007). *Ecología*. (6ª. ed). Madrid: Pearson Educación S.A.
- Šnajdr, J. & Baldrian, P. (2007). Temperature affects the production, activity and stability of ligninolytic enzymes in *Pleurotus ostreatus* and *Trametes versicolor*. *Folia Microbioly*, 52(5), 498–502.
- Soto, A., Mariscal, J. y Hernández, S. (2011). Cuantificación por HPLC de cafeína y ergosterol en el hongo *Pleurotus albidus*. Simposio Internacional de Biofabricas: Vol. 5. Medellín: Universidad Nacional de Colombia.
- Soto-Velazco, C., Serratos, J., López, M. y García, P. (2005). Análisis proximal y de aminoácidos de los residuos de cosecha de *Pleurotus* spp. *Revista Mexicana de Micología*, 21, 49-53.
- Stamets, P. (1993). *Growing gourmet & medicinal mushrooms*. Hong Kong: Ten Speed Press.
- Stamets, P. & Chilton, J. S. (1983). *The mushroom cultivator. A practical guide to growing mushroom at home*. Olympia Washington, Agarikon Press.

- Stanley, H. O. (2010). Effect of substrates of spawn production on mycelial growth of oyster mushroom species. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(5), 817-820.
- Suárez, C. & Holguín, M. (2011). Evaluación de medios de cultivo sintéticos y cereales para la producción de semilla de setas comestibles. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 5(1), 130-140.
- Tarot, M. (2002). Evaluación del fruto de morro *Crescentia alata* y madera de pito *Erihtrina beteroana* U. utilizados en como sustratos en el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. (Tesis de Graduación). Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Thulasi, E. P., Thomas, P. D., Ravichandran, B. & Madhusudhanan K. (2010). Mycelial culture and spawn production of two oyster mushrooms, *Pleurotus florida* and *Pleurotus eous* on different substrates. *Indian Journal of Biotechnology*, 1, 39-42.
- Tinoco, R., Pickard, M. A. & Vazquez-Duhalt, R. (2001). Kinetic differences of purified laccases from six *Pleurotus ostreatus* strains. *Letters in Applied Microbiology*, 32, 331-335.
- Tuchan, O. (2004). Evaluación del efecto de la pulpa de café (*Coffea arabica*) en el incremento de la eficacia biológica de la cepa INIREB-8 de *Pleurotus ostreatus* utilizando cascara de cacao (*Theobroma cacao*) y bambú (*Bambusa vulgaris* var, *Striata*) como sustratos. (Tesis de Graduación). Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Valencia, G., Aguilar, L., Cuadros, A., Garín, M. y Duran, E. (2009). Efecto antibacteriano de extractos exanolicos de carpóforos de cepas híbridas de *Pleurotus* spp. Ponencia presentada en XIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería y VII Simposio Internacional de Producción de Alcoholes y Levaduras, Acapulco,

México.

Recuperado

de

http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AREA_VII/IOVIII-10.pdf

Wilkinson, V. y Royse, D. (2001). Una revisión de técnicas de mantenimiento de cepas, con énfasis a las que se adaptan a *Pleurotus* spp. En J. Sánchez y D. Royse (Eds.) *La biología y el cultivo Pleurotus* spp (pp. 127-139). Distrito Federal: Ed. Limusa S. A. de C. V.

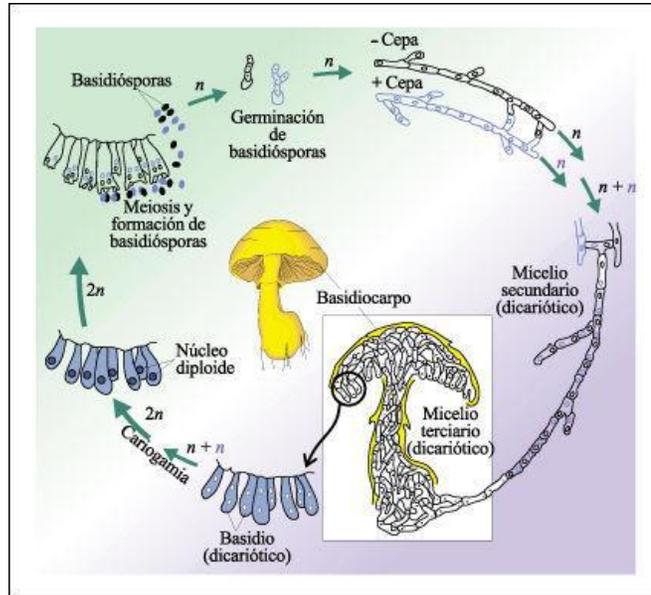
Won-Sik, K. (2005). Inóculo (Semilla o Spawn). En: *Anormalidades en los cuerpos fructíferos* (pp. 60-68). Corea: Mush World.

Yamanaka, T. (2003). The effect of pH on the growth of saprotrophic and ectomycorrhizal ammonia fungi *in vitro*. *Mycologia*, 95(4), 584-589.

Zuñiga, J. (2007). Trigo blanco, valor nutritivo y potencial. *Especial cereales*, 5, 26-29.

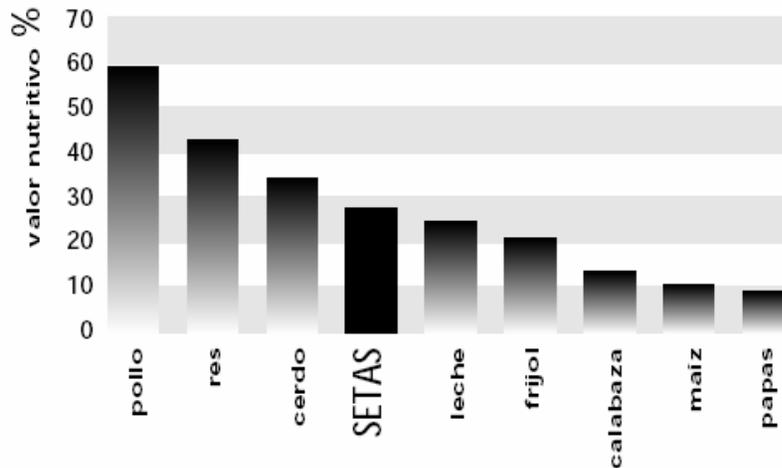
XIII. ANEXOS

Anexo A. Ciclo de vida de un hongo basidiomicete



Fuente: Curtis, H. & Barnes, S. (2006). *Biología*. (6ª. ed). Distrito Federal: Panamericana.

Anexo B. Valor nutricional del hongo seta (%) en comparación con otros alimentos.



Fuente: Gaitán, R., Salmenes, D., Pérez, R. & Mata, G. (2006). *Manual práctico del cultivo de setas: aislamiento, siembra y producción*. Distrito Federal: Instituto de Ecología, INECOL.

Anexo C. Composición de aminoácidos esenciales en hongos cultivados

Amino acidos	<i>Agaricus bisporus</i>	<i>Lentinula edodes</i>	<i>Pluurotus florida</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Pleurotus sajor-caju</i>	<i>Volvariella diplasia</i>	<i>Volvariella volvacia</i>	Huevo de gallina
Leucina	7.5	7.9	7.5	6.8	7.0	5.0	4.5	8.8
Isoleucina	4.5	4.9	5.2	4.2	4.4	7.8	3.4	6.6
Valina	2.5	3.7	6.9	5.1	5.3	9.7	5.4	7.3
Triptofano	2.0	nd	1.1	1.3	1.2	1.5	1.5	1.6
Lisina	9.1	3.9	9.9	4.5	5.7	6.1	7.1	6.4
Treonina	5.5	5.9	6.1	4.6	5.0	6.0	3.5	5.1
Fenilalanina	4.2	5.9	3.5	3.7	5.0	7.0	2.6	5.8
Metionina	0.9	1.9	3.0	1.5	1.8	1.2	1.1	3.1
Histidina	2.7	1.9	2.8	1.7	2.2	4.2	3.8	2.4
Total Aminoacidos esenciales	38.9	36.0	46.0	33.4	37.6	48.5	32.9	47.1

Nota: los datos son presentados en gramos de aminoácidos por 100 gramos de proteína consumida; nd: no determinado.

Fuente: Stamets, P. (1993). *Growing gourmet & medicinal mushrooms*. Hong Kong: Ten Speed Press.

Anexo D. Listado de asociaciones y programas de Guatemala que han contribuido al cultivo de especies de *Pleurotus*

Asociación/Programa	Ubicación	Referencia bibliográfica
Asociaciones de personas	San Rafael La Independencia, Huehuetenango	Rojas, 2004
Comunidades campesinas organizadas (CECI-AID)	Bulej, San Mateo Ixtatán, Huehuetenango	Bran et al., 2004
ADECAF	El Rancho, Todos Santos Cuchumatán	Bran et al., 2004
FUNDADESE	Chichicastenango, Quiché	Bran et al., 2004
INDICOOP-CEMABI	Chicuá I (Chichicastenango, Quiché)	Bran et al., 2004
ECOQUETZAL	San Juan Chamelco, Senahú, tucurú (Alta Verapaz)	Bran et al., 2004
ECOQUETZAL	Rocjá, Pomptilá (Cobán, Alta Verapaz)	Bran et al., 2004
CEPEDEM	Quetzaltenango	Bran et al., 2004
Fundación solar	San Juan La Laguna, Sololá	Bran et al., 2004
Grupo Tacaná	Tacaná, San Marcos	Bran et al., 2005
INDIS	San Pedro Carchá, Alta Verapaz	Bran et al., 2005
Talita Kumi		
ADIFE		
AFDISAL	Tecpán, Chimaltenango	Bran et al., 2005
Utz K'aslem		
COCODE	El Tejar, Chimaltenango	Bran et al., 2005
Grupo Santa Catarina	Santa Catarina Ixtahuacán, Sololá	Bran et al., 2005
APROPA	San Martín Sacatepéquez, Quetzaltenango	Bran <i>et al.</i> , 2005
Desarrollo Rural (PADERUCHI)	Chichicastenango	Granados, 2007
ASODCREN	Concepción Huista, Huehuetenango	López, 2009
Cooperativa Integral Agrícola El Bosque R.L.	San Pedro Pínula, Jalapa	Cano, 2009
Grupo de personas que iniciarían un negocio o que poseían un negocio de agricultura.	Jacaltenango, Huehuetenango	Chafcharaf, 2010
Visión Maya	San Andrés Sematebaj, Sololá	Programa de Desarrollo Económico desde lo Rural, 2010
Pequeños productores del café (ANACAFE)	(San Pedro Necta, La Libertad y Todos Santos Cuchumatán) Huehuetenango	Cruz, López, Pascual y Battaglia, 2010
Grupo de mujeres “El Esfuerzo”	Tecpán, Guatemala	García, 2011
Comunidad Tola	Tajumulco, San Marcos	García, 2011

Anexo E. Subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales de Guatemala, los cuales han sido empleados como sustratos para el cultivo de *Pleurotus* spp a distintos niveles (experimental y pequeña y mediana escala).

Espece(s)	Sustrato(s)	Tratamiento	Eficiencia Biológica %	Referencia bibliográfica
<i>P. flabellatus</i>	NE	NE	NE	De León et al., 1983
<i>P. sajor-caju</i>	Paja de trigo natural	Pasteurización	28.0	Franco, 1986
	Paja de trigo residual		10.0	Franco, 1986
<i>P. ostreatus</i>	Aserrín de caoba y cedro	Pasteurización	104.0	Godoy, 1997
	Fibra de coco		73.95	
	Olote de maíz		135.54	
<i>P. ostreatus</i>	Rastrojo	Esterilización	34.70	Orozco, 2000
	Zacate		42.20	
	Tusa		23.90	
<i>P. ostreatus</i>	Rastrojo de maíz (RM)	Fermentación y	83.35	García, 2000
	Cascarilla de arroz (CA)	pasteurización	86.11	
	RM + CA (2:1)		117.30	
	RM + CA (1:2)		105.01	
	RM + CA (1:1)		100.90	
	Pulpa de café (Cn)		105.52	
<i>P. ostreatus</i>	Raquis (R)	Fermentación	78.31	Girón, 2000
	Cuesco (C)	y	95.45	
	Fibra (F)	pasteurización	135.62	
	R + C		75.64	
	R + F		90.77	
	C + F		75.87	
	Pulpa de café (Cn)		144.57	
<i>P. ostreatus</i>	Sorgo* (control)	Esterilización	21-39	Aldana, 2000
	Maíz*		40-59	
	Trigo*		80-99	
	Arroz*		1-20	
	Cebada*		100	
<i>P. ostreatus</i>	Cushín (Igna)	Pasteurización	82.81	España, 2001
	Hule		86.91	
	Hule+Cushín (1:1)		100.06	
	Hule+Cushín (2:1)		115.87	
	Hule+Cushín (1:2)		103.95	
	Pulpa de café (Cn)		106.22	

Continuación Anexo E.

Especie(s)	Sustrato(s)	Tratamiento	Eficiencia Biológica %	Referencia bibliográfica
<i>P. ostreatus</i>	Encino	Fermentación	75.70	Fajardo, 2001
	Conacaste	y	10.00	
	Liquidámbar	pasteurización	10.00	
	Pulpa de café (Cn)		123.80	
<i>P. ostreatus</i>	Corona del fruto de piña (FP)	Pasteurización	103.17	Lazo, 2001
	Rastrojo de tomate (RT)		69.17	
	RT+FP 1:4		96.00	
	RT+FP 1:2		85.67	
	RT+FP 2:3		83.33	
	RT+FP 1:1		82.33	
	RT+FP 3:2		67.33	
	RT+FP 2:1		67.33	
	RT+FP 4:1		66.33	
	Pulpa de café (Cn)		135.00	
<i>P. ostreatus</i>	Estopa de coco (EC)	Fermentación	76.64	Mendoza, 2001
	Pino (P)	y		
	EC+Pul 9:1	pasteurización	37.94	
	EC+Pul 8:2		68.94	
	EC+Pul 7:3		57.20	
	EC+Pul 6:4		70.96	
	EC+Pul 5:5		97.87	
	P+Pul 9:1		99.30	
	P+Pul 8:2		46.36	
	P+Pul 7:3		49.07	
	P+Pul 6:4		72.32	
	P+Pul 5:5		77.69	
	Pulpa de café (Cn)		86.71	
			128.56	
	<i>P. ostreatus</i>	Fruto de morro (F)	Fermentación	
Aserrín de pito (A)		y	98.96	
F+A		pasteurización	76.39	
Pulpa de café (Cn)			103.54	

Continuación Anexo E.

Espece(s)	Sustrato(s)	Tratamiento	Eficiencia Biológica %	Referencia bibliográfica
<i>P. ostreatus</i>	Pulpa de café	Pasteurización (Cn)	155.89	Camey, 2002
		C11 25 ppm	0.00	
		C12 50 ppm	19.56	
		C13 75 ppm	0.00	
		C14 100 ppm	6.78	
		T1 10g/100 kg	0.00	
		T2 20g/100 kg	22.22	
		T3 30g/100 kg	0.00	
		T4 40g/100 kg	23.07	
		B1 20g/100 l	19.30	
		B2 40g/100 l	21.22	
		B3 60g/100 l	7.67	
		B4 80g/100 l	5.11	
		NaOH 0.5%	0.00	
		NaOH 1.0%	0.00	
		NaOH 1.5%	0.00	
		NaOH 2.0%	0.00	
		CaOH 0.5%	154.26	
		CaOH 1.0%	144.33	
		CaOH 1.5%	121.67	
CaOH 2.0%	104.11			
<i>Pleurotus</i> spp	Rastrojo de maíz	NE	NE	De León, 2003
	Paja de trigo			
<i>P. ostreatus</i>	Pulpa de café	Rastrojo de maíz (RM)	43.82	Rojas, 2004
		Broza de encino (BE)	30.06	
		Paja de trigo (PT)	63.32	
		PT+BE	91.07	
		RM+BE	79.16	
		PT+RM	56.55	
<i>P. ostreatus</i>	Pericarpio de jacaranda (J) Pasto de estrella africana (E) Pulpa de café (P)	Fermentación y pasteurización	67.80	Ardón, 2004
			107.40	
			147.87	
			83.75	
			103.08	
			138.04	
			103.33	

Continuación Anexo E.

Espece(s)	Sustrato(s)	Tratamiento	Eficiencia Biológica %	Referencia bibliográfica
<i>P. ostreatus</i>	Cascara de cacao (C)	Fermentación y	82.80	Tuchan, 2004
	Bambú (B)	pasteurización	90.34	
	Pulpa de café (P)		112.21	
	B-P (90:10)		104.35	
	B-P (60:40)		104.03	
	C-P (50:50)		102.50	
	C-P (70:30)		100.91	
	B-P (50:50)		100.38	
	C-P (60:40)		99.81	
	B-P (80:20)		97.30	
	B-P (70:30)		96.43	
	C-P (80:20)		92.45	
	C-P (90:10)		86.01	
	C-P-B		72.39	
<i>P. djamor</i> var. <i>roseus</i>	Pulpa de café	Esterilización	89.28	Bran, et al., 2004
	Pulpa de café	Inmersión en agua alcalina	61.14	
	Paja de trigo	Esterilización	17.98	
<i>P. djamor</i> var. <i>djamor</i>	Pulpa de café	Esterilización	67.14	
	Paja de trigo	Esterilización	NE	
	Paja de trigo	Inmersión en agua alcalina	60.38	
<i>P. ostreatus</i>	Pulpa de café	Esterilización	52.25	
	Paja de trigo	Esterilización	32.03	
<i>P. albidus</i>	Pulpa de café	Inmersión en agua alcalina	50.53	
	Paja de trigo	Inmersión en agua alcalina	47.32	
<i>P. ostreatus</i> <i>P. djamor</i> <i>P. albidus</i>	Olote de maíz picado	Esterilización	24.2	Bran, et al., 2005
			109.0	
			110.2	
<i>P. ostreatus</i>	Rastrojo de maíz	Pasteurización	113.28	Ceballos, 2007
	Hojarasca de roble		113.52	
	Pulpa de café (Cn)		148.21	

Continuación Anexo E.

Especie(s)	Sustrato(s)	Tratamiento	Eficiencia Biológica %	Referencia bibliográfica
<i>P. ostreatus</i>	Caña de maíz	Suplemento al momento de la hidratación	60.86	Calderón, 2009
		Suplemento a los 7 días después de la inoculación	101.18	
		Suplemento a los 14 días después de la inoculación	100.78	
		Suplemento al momento de la inoculación	113.62	
<i>P. ostreatus</i>	Pulpa de café (Cn)	No suplemento	101.02	Monterroso, 2009
	Caña de maíz	No suplemento	128.19	
		NH ₄ NO ₃ (0.50%)	98.51	
		NH ₄ NO ₃ (0.75%)	97.22	
		NH ₄ NO ₃ (1.00%)	87.02	
		NH ₄ NO ₃ (1.25%)	86.00	
		NH ₄ NO ₃ (1.50%)	80.18	
		KNO ₃ (0.50%)	99.16	
		KNO ₃ (0.75%)	100.05	
		KNO ₃ (1.00%)	105.25	
		KNO ₃ (1.25%)	111.66	
		KNO ₃ (1.50%)	113.39	
		Urea (0.50%)	100.84	
		Urea (0.75%)	101.39	
		Urea (1.00%)	107.11	
		Urea (1.25%)	114.22	
		Urea (1.50%)	121.38	
	Sin suplemento nitrogenado	100.44		
	Pulpa de café (Cn)	Sin suplemento nitrogenado	135.30	

Continuación Anexo E.

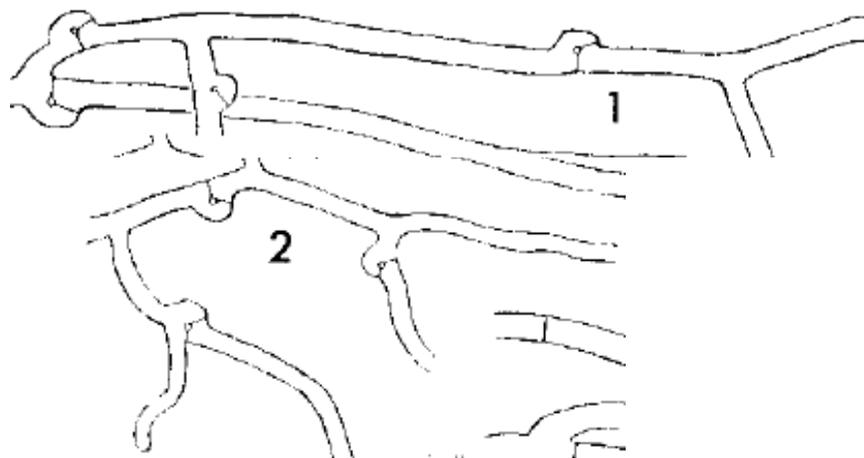
Especie(s)	Sustrato(s)	Tratamiento	Eficiencia Biológica %	Referencia bibliográfica
<i>P. ostreatus</i>	Granza de frijol	Esterilización	130.40	Rodas, 2009
	Pasto jaguará		115.0	
	Mezcla (1:1)		126.89	
	Pulpa de café (Cn)		139.51	
<i>P. albidus</i>	Mezcla Olote picado y rastrojo de maíz	CaOH (0.5%) 36 h/i	11.76	Batz, 2010
		CaOH (1.00%) 36 h/i	26.00	
		CaOH (1.50%) 36 h/i	48.20	
		CaOH (2.00%) 36 h/i	29.60	
		CaOH (0.50%) 12 h/i	41.60	
<i>P. ostreatus</i>	Mezcla Olote picado y rastrojo de maíz	CaOH (1.00%) 12 h/i	45.82	
		CaOH (1.50%) 12 h/i	35.82	
		CaOH (2.00%) 12 h/i	25.64	
		CaOH (2.00%) 12 h/i	25.64	
<i>P. ostreatus</i>	Olote de maíz (O) Pulpa de café (P) P+O (25:75) P+O (50:50) P+O (75:25)	Inmersión en agua alcalina	12.48	Cruz, López, Pascual y Battaglia, 2010
			5.08	
			43.48	
			41.00	
			7.51	

Anexo F. Sinónimos de *Pleurotus albidus* (Berk.) Pegler.

Sinónimo	Base de datos
<i>Agaricus jacksonii</i> . & Cooke	[as jacksoni], J. Linn. Soc., Bot. 15: 367 (1887) [1876]
<i>Agaricius laciniato-crenatus</i> (Speg.) Speg.	Anal. Soc. cient. Argent. 16(5): 247 (1883)
<i>Dendrosarcus jaksonii</i> (Berck. & Cooke) Kuntze	Revis. gen. pl. (Leipzig) 3(2): 464 (1898)
<i>Lentinus albidus</i> Berk.	J. Bot., Lond. 2: 633 (1843)
<i>Lentinus calvescens</i> Berk.	Hooker's J. Bot. Kew Gard. Misc. 8: 141 (1865)
<i>Panus crenatolobatus</i> Speg.	Anal. Soc. cient. Argent. 9(6): 282 (1880)
<i>Panus laciniato-crenatus</i> Speg.	Anal. Soc. cient. Argent. 9(4): 282 (1880)
<i>Pleurotus calvescens</i> (Berck.) Singer	Mycologia 48(6): 885 (1957) [1956]
<i>Pleurotus jacksonii</i> (Berck. & Cooke) Sacc.	[as jacksoni], Syll. fung. (Abellini 5: 353 (1887)
<i>Pleurotus laciniato-crenatus</i> (Speg.) Speg.	Bolnd Acad. Nac. Cienc. Cordoba 23: 381 (1919)
<i>Pocillaria albida</i> (Berck.) Kuntze.	Revis. gen. Pl. (Leipzig) 2: 865 (1981)
<i>Pocillaria calvescens</i> (Berck.) Kuntze.	Revis. gen. Pl. (Leipzig) 2: 865 (1981)
<i>Pocillaria laciniatocrenata</i> (Speg.) Kuntze.	Revis. gen. Pl. (Leipzig) 3(2): 506 (1898)

Fuente: Index fungorum

Anexo G. Características microscópicas de *P. albidus* (Nobles, 1965).



- 1) Hifas hialinas de paredes delgadas con fibulas; 2) Nódulos en los septos, ramificaciones hifales presentes y estructuras de resistencia (clamidoconidos) ausentes.

Fuente: Nobles, M. (1964). Identification of cultures of wood-inhabiting hymenomycetes. *Canadian Journal of Botany*, 43, 1097-1139.

Anexo H.

Cuadro 1. Tasa de crecimiento micelial (mm/día) de la cepa *P. albidus* 107.2001 en tres diferentes tratamientos y a dos diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Medio	Día	Media ^a /Desviación estándar
18.00	EMA	3	13.65±0.69
		5	24.50±0.92
		7	00.00±0.00
		10	65.57±2.40
		12	79.85±1.90
		14	85.00±0.00
	PDA	3	12.27±0.57
		5	19.50±0.96
		7	27.02±2.64
		10	43.40±5.45
		12	51.70±4.25
		14	62.97±3.54
		17	73.67±4.01
		19	80.90±4.41
		SAB	3
	5		14.20±0.88
	7		00.00±0.00
	10		40.65±3.48
	12		50.67±3.19
26.00	EMA	3	21.22±1.67
		5	37.62±2.93
		7	56.95±1.94
		10	78.12±2.02
		12	83.52±1.00
		14	85.00±0.00
	PDA	3	15.47±0.66
		5	36.54±2.78
		7	56.35±3.28
		10	72.75±2.02
		12	85.00±0.00
		14	85.00±0.00
	SAB	3	14.35±0.56
		5	23.72±1.54
		7	34.82±2.33
		10	50.32±2.16
		12	59.55±3.15
		14	69.62±4.88
		19	82.02±4.60
		19	85.00±0.00

Valores en negrita indican el día de punto de corte: tiempo necesario para que al menos una de las replicas llene la caja de Petri ®.

^a El valor de la media se obtuvo con 20 repeticiones.

Anexo I

Cuadro 2. Tasa de crecimiento micelial (mm/día) de la cepa 107.2001 en medio APD modificado a diferentes pH e incubado a 26°C al día 16 como punto de corte.

pH	Día	Media ^a /Desviación estándar
5	3	13.12±0.48
	5	21.00±1.37
	7	29.90±2.65
	10	42.42±2.89
	12	52.47±2.99
	14	59.27±3.12
	16	69.25±3.76
	19	74.30±3.38
	21	81.50±2.96
7	3	14.50±0.58
	5	25.02±1.42
	7	38.42±1.97
	10	56.57±1.88
	12	65.87±1.30
	14	72.92±1.41
	16	81.92±1.98
	19	85.00±0.00
	21	85.00±0.00
9	3	12.82±1.14
	5	22.75±2.45
	7	34.60±3.56
	10	51.27±2.96
	12	60.62±3.03
	14	67.95±2.71
	16	77.10±1.79
	19	82.77±1.56
	21	85.00±0.00
11	3	9.85±0.86
	5	16.55±1.81
	7	25.70±2.84
	10	40.67±4.14
	12	50.40±5.16
	14	59.50±5.18
	16	71.30±4.54
	19	77.12±3.58
	21	82.85±3.07

Valores en negrita indican el día de punto de corte: tiempo necesario para que al menos una de las replicas llene la caja de Petri ®.

^aEl valor de la media se obtuvo con 20 repeticiones.

Anexo J

Cuadro 3. Tasa de crecimiento micelial (mm/día) de la cepa *P. albidus* 107.2001 en tres sustratos diferentes a 26°C al día 14 como punto de corte.

Inóculo	Día	Media ^a /Desviación estándar
Cebada	3	8.72±1.52
	5	16.12±3.16
	7	25.92±5.64
	10	44.50±6.60
	12	55.60±8.17
	14	65.70±10.40
	17	75.67±9.92
	19	85.00±0.00
	Sorgo	3
5		13.00±2.37
7		21.32±3.27
10		35.50±4.63
12		45.17±7.30
14		60.15±7.97
17		75.82±6.00
19		85.00±0.00
Trigo		3
	5	16.80±3.74
	7	28.10±6.24
	10	50.82±11.08
	12	66.35±13.26
	14	79.17±7.56
	19	85.00±0.00

Valores en negrita indican el día de punto de corte: tiempo necesario para que al menos una de las replicas llene la caja de Petri ®.

^aEl valor de la media se obtuvo con 20 repeticiones.

Anexo K

Cuadro 1. Tabla dinámica con sumatoria de cada una de las características macroscópicas de todos los tratamientos.

Macroscopía	18°C			26°C		
	APD	AEM	ASD	APD	AEM	ASD
CB	20	20	20	20	20	20
TA	7	16	20	20	12	20
TI	0	20	4	13	20	6
TG	16	0	0	0	0	0
DE	20	2	0	0	0	0
DR	0	18	0	20	20	0
DA	0	0	20	0	0	20
ME	14	2	3	4	0	7
MR	6	15	13	11	20	9
MA	0	3	4	5	0	4
EA	4	3	10	19	19	4
EN	0	3	0	8	8	0
ET	0	0	8	0	0	10
ES	17	14	4	0	1	6
PA	0	0	0	0	0	0
PN	0	0	7	0	0	2
AE	0	0	0	0	0	0
AR	0	0	3	0	0	12
AA	0	0	17	0	0	8
RA	8	7	5	8	5	6
RN	4	0	3	4	4	2
RS	7	13	12	7	12	12

Simbología: CB: color blanco; TA: textura algodonosa; TI: textura irregular; TG: textura granulosa; DE: densidad escasa; DR: densidad regular; DA: densidad abundante; ME: micelio aéreo escasa cantidad; MR: micelio aéreo regular cantidad; MA: micelio aéreo abundante cantidad; EA: exudado amarillo; EN: exudado naranja; ET: exudado translucido; ES: ausencia de exudado; PA: pigmento amarillo; PN: pigmento naranja; AE: agregaciones hifales escasas; AR: agregaciones hifales regular cantidad; AA: agregaciones hifales abundante cantidad; RA: reverso de la colonia con pigmento amarillo; RN: reverso de la colonia con pigmento naranja; RS: reverso de la colonia sin pigmento.

Anexo M

Tabla 1. Prueba de intervalos múltiples de Duncan en el día 12 de crecimiento radial (punto de corte) ($\alpha=0.05$).

Tratamiento	N	Media de Diámetro (mm)			
		1	2	3	4
SAB 18°C	20	50.675 _d			
PDA 18°C	20	51.700 _d			
SAB 26°C	20		59.550 _c		
EMA 18°C	20			79.850 _b	
EMA 26°C	20				83.525 _a
PDA 26°C	20				85.000 _a
Sig. ^β		0.228	1.000	1.000	0.05

^βValor de probabilidad $\alpha=0.05$.

Anexo N

Tabla 2. Prueba de intervalos múltiples de Duncan en el día 16 de crecimiento radial a diferentes pH (punto de corte) ($\alpha=0.05$).

Tratamiento	N	Media de Diámetro (mm)		
		1	2	3
5	20	69.250 ^c		
11	20	71.300 ^c		
9	20		77.100 ^b	
7	20			81.921 ^a
Sig. ^β		0.052	1.000	1.000

^βValor de probabilidad $\alpha=0.05$

Anexo O

Tabla 3. Prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher a cola derecha al día 14 de crecimiento radial en tres diferentes sustratos (punto de corte) ($\alpha=0.05$).

Sustrato	Sustrato	Diferencia de medias	Desviación estándar	Sig. ^β
Cebada	Sorgo	5.550*	2.762	0.049
	Trigo	-13.475*	2.762	0.000
Sorgo	Cebada	-5.550*	2.762	0.049
	Trigo	-19.025*	2.762	0.000
Trigo	Cebada	13.475*	2.762	0.000
	Sorgo	19.025*	2.762	0.000

^β Valor de probabilidad $\alpha=0.05$.



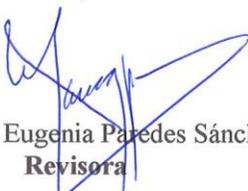
Ferdiner Ulises González Ortiz
Autor



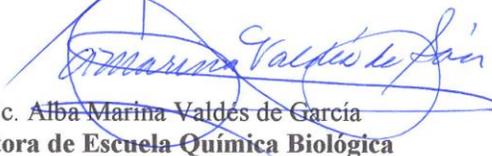
Licda. María del Carmen Bran González
Asesora



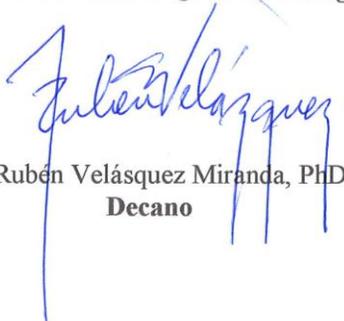
Lic. Roberto Cáceres Staackmann
Asesor



M.A. María Eugenia Paredes Sánchez
Revisora



MSc. Alba Marina Valdés de García
Directora de Escuela Química Biológica



Dr. Rubén Velásquez Miranda, PhD
Decano