

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



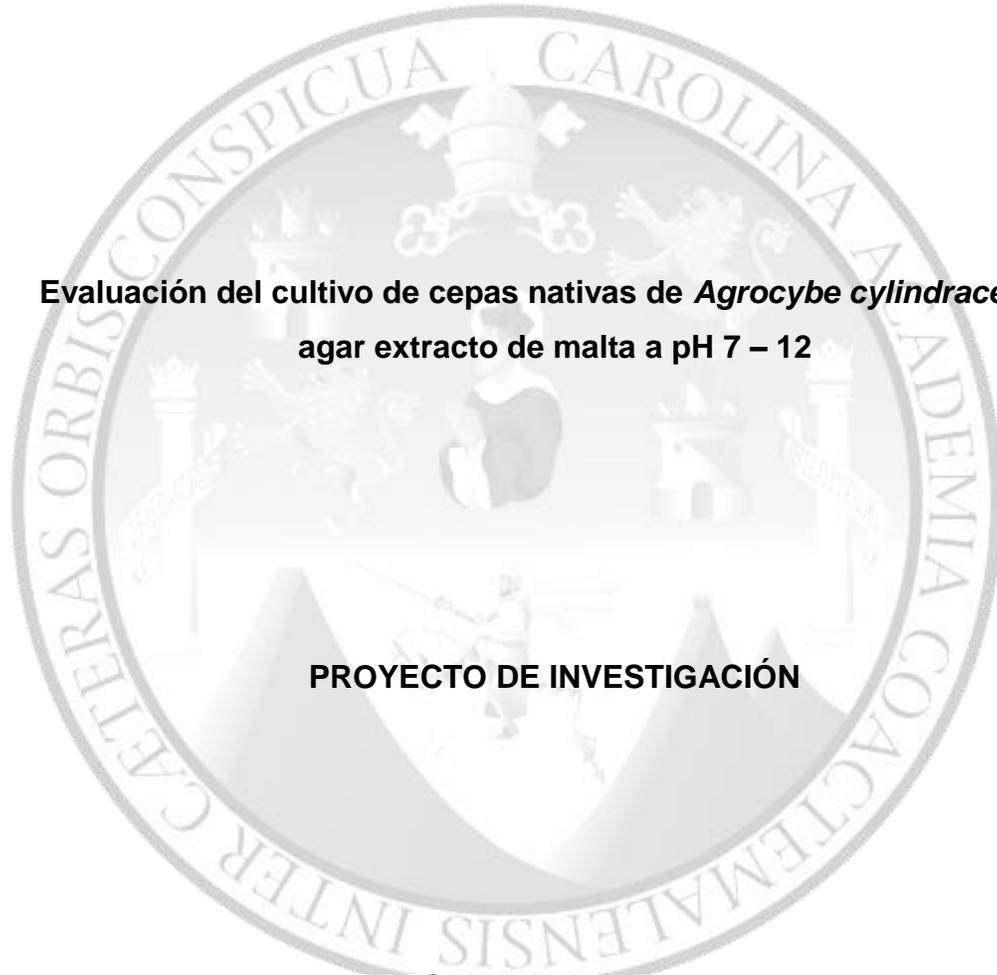
**Evaluación del cultivo de cepas nativas de *Agrocybe cylindracea* en  
agar extracto de malta a pH 7 - 12**

Lisbeth Nohemí Méndez Soto

Química Bióloga

Guatemala, Marzo 2017

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



**Evaluación del cultivo de cepas nativas de *Agrocybe cylindracea* en  
agar extracto de malta a pH 7 – 12**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**PRESENTADO POR**  
Lisbeth Nohemí Méndez Soto

**PARA OPTAR AL TÍTULO DE**  
QUÍMICA BIÓLOGA

Guatemala, Marzo 2017

## **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. Andreina Delia Irene López Hernández	Vocal IV
Br. Carol Andrea Betancourt Herrera	Vocal V

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A DIOS**

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

### **A MIS PADRES**

Por su amor, apoyo y comprensión.

### **A MI ESPOSO E HIJA**

Por todo su amor, comprensión y apoyo. Aunque pasamos momentos difíciles, siempre estuvieron apoyándome y brindándome todo su amor.

### **A MARÍA GONZÁLEZ Y LUIS MARTINEZ**

Por su amor, por creer en mí y por todo su apoyo durante toda mi carrera profesional.

### **A LICDA. MARÍA DEL CARMEN BRAN Y AL LIC. OSBERTH MORALES**

Por su asesoría, paciencia y amistad brindada durante la realización de esta investigación.

### **A LICDA. MARÍA EUGENIA PAREDES SÁNCHEZ Y A LICDA. ALBA MARINA VALDÉS DE GARCÍA**

Por su revisión durante la realización de esta investigación.

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

Por haber sido mi centro de formación académica y profesional.

## INDICE

<b>Contenido</b>	<b>Págs.</b>
I. RESUMEN.....	1
II. AMBITO DE LA INVESTIGACION .....	3
III. ANTECEDENTES.....	4
A. Generalidades .....	4
B. Hongos comestibles.....	5
C. Valor económico y ecológico .....	5
D. Valor nutricional .....	6
E. Cultivo de hongos comestibles .....	6
F. <i>Agrocybe cylindracea</i> (DC: Fr.) Maire. ....	7
1. Clasificación taxonómica.....	7
2. Morfología .....	7
3. Etnomicología .....	9
4. Cultivo de <i>A. cylindracea</i> .....	10
a) Medios de cultivos .....	10
b) Crecimiento micelial .....	10
c) Producción de inoculo y cuerpos fructíferos .....	11
d) Valor nutricional.....	11
IV. JUSTIFICACIÓN.....	12
V. OBJETIVOS .....	14
A. General.....	14
B. Específicos .....	14
VI. HIPOTESIS .....	15
VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
A. Universo de trabajo.....	16
B. Muestra.....	16
C. Recursos .....	16
1. Institucionales .....	16
2. Humanos.....	16
D. Materiales .....	17
1. Medios de cultivo.....	17
2. Reactivos .....	17
3. Equipo.....	17
4. Cristalería.....	17

5. Otros .....	18
E. Métodos.....	18
1. Revitalización de la cepa de <i>Agrocybe cylindracea</i> .....	18
2. Determinación del diámetro de las colonias de cada una de las cepas a diferentes pH.....	19
3. Determinación de las características morfológicas macro y microscópicas. ....	20
4. Diseño Experimental .....	20
VIII. RESULTADOS .....	22
IX. DISCUSION DE RESULTADOS.....	32
X. CONCLUSIONES.....	36
XI. RECOMENDACIONES.....	37
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	38

## INDICE DE FIGURAS

<b>Contenido</b>	<b>Págs.</b>
Figura 1. Crecimiento micelial de las cepas de <i>A. cylindracea</i> incubadas a 18°C durante 14 días a diferentes pH. ....	24
Figura 2. Interacción de las cepas y el diámetro de crecimiento micelial en el medio EMA a 18°C. ....	24
Figura 3. Efecto del pH sobre el diámetro del crecimiento micelial de las cepas de <i>A. cylindraceae</i> en EMA a 18°C .....	25
Figura 4. Análisis de conglomerados de las características macroscópicas de <i>A. cylindraceae</i> .....	26
Figura 5. a-f. Características macroscópicas de <i>A. cylindracea</i> 58.01. a. pH 7, b. pH 8, c. pH 9, d. pH 10, e. pH 11, f. pH 12. Colonias algodonosas en AEM a 18°C....	27
Figura 6. a-f. Características macroscópicas de <i>A. cylindracea</i> 59.01. a. pH 7, b. pH 8, c. pH 9, d. pH 10, e. pH 11, f. pH 12. Colonias algodonosas en AEM a 18°C. ...	27
Figura 7. a-f. Características macroscópicas de <i>A. cylindracea</i> 60.01. a. pH 7, b. pH 8, c. pH 9, d. pH 10, e. pH 11, f. pH 12. Colonias algodonosas en AEM a 18°C....	28
Figura 8. a-f. Características macroscópicas de <i>A. cylindracea</i> 638.08. a. pH 7, b. pH 8, c. pH 9, d. pH 10, e. pH 11, f. pH 12. Colonias algodonosas en AEM a 18°C. ...	28
Figura 9 Análisis de conglomerados de las características microscópicas de <i>A. cylindracea</i> .....	29

Figura 10. Características microscópicas en azul de lactofenol de *A. cylindracea*  
 58.01. a. pH 7, b. pH 8, c. pH 9, d. pH 10, e. pH 11, f. pH 12. Aumento 1000x .... 30

Figura 11. Características microscópicas en azul de lactofenol de *A. cylindracea*  
 59.01. a. pH 7, b. pH 8, c. pH 9, d. pH 10, e. pH 11, f. pH 12. Aumento 1000x. ... 30

Figura 12. Características microscópicas en azul de lactofenol de *A. cylindracea*  
 60.01. a. pH 7, b. pH 8, c. pH 9, d. pH 10, e. pH 11, f. pH 12. Aumento 1000x. ... 31

Figura 13. Características microscópicas en azul de lactofenol de *A. cylindracea*  
 638.08. a. pH 7, b. pH 8, c. pH 9, d. pH 10, e. pH 11, f. pH 12. Aumento 1000x. 31

## INDICE DE TABLAS

<b>Contenido</b>	<b>Págs.</b>
Tabla 1 Código y procedencia de las cepas.....	18
Tabla 2 Crecimiento micelial de las cepas de <i>A. cylindracea</i> en EMA a 18°C.....	23

## I. RESUMEN

En la presente investigación se estudiaron cuatro cepas nativas de *Agrocybe cylindracea* (58.01, 59.01, 60.01 y 638.08) en agar extracto de malta a 18°C y en una escala de pH (7, 8, 9, 10, 11 y 12).

Se determinó que la cepa 58.01 obtuvo los mayores diámetros de crecimiento a pH 7 y a pH 8 no existiendo diferencia significativa entre ellos ( $p = 0.005$ ). Las cepas 638.08 y 59.01 obtuvieron el mayor diámetro de crecimiento micelial a pH 7 existiendo diferencia significativa entre ellas ( $p > 0.005$ ). La cepa 60.01 presentó el mayor diámetro de crecimiento micelial a pH 8, sin embargo no existió diferencia significativa con respecto al pH 7. En general los menores diámetros de crecimiento micelial se presentaron a pH 11 y 12 en todas las cepas.

Con relación a las características macroscópicas, presentaron similitud en cuanto al color blanco y la textura algodonosa, así mismo al micelio aéreo en escasa cantidad, se puede observar que el crecimiento no fue igual en las 4 cepas estudiadas, ya que existe crecimiento zonado en la cepa 58.01 y 59.01 y crecimiento no zonado en la cepa 638.01 y 60.01. En las cepas 58.01 (pH 7,9 y 11) y a la 59.01 (pH 9, 10 y 11) que exhibieron en común el color blanco, la textura algodonosa, el micelio aéreo en regular cantidad y crecimiento zonado.

Con respecto a las características microscópicas las cuatro cepas a pH 7 y la cepa 60.01 a pH 8, las cuales presentaron hifas con diámetro de 1 - 2  $\mu\text{m}$ , fíbulas en abundante cantidad y clamidioconidios en escasa cantidad. En el grupo II las cepas 59.01 (pH 9,10) y la 58.01 (pH 10) mostraron similitud en cuanto al diámetro de las hifas (1 - 2  $\mu\text{m}$ ), a la cantidad de fíbulas (de escasa a regular), y a la presencia de clamidioconidios (de regular cantidad a abundantes). En el grupo III se agrupan todas las cepas (pH 8-12) con presencia de hifas de 1 - 2  $\mu\text{m}$  y de fíbulas escasas y clamidioconidios en abundante cantidad.

Se recomienda efectuar estudios de pH a nivel de sustrato dentro del rango alcalino para la producción de cuerpos fructíferos de *A. cylindracea*, que permitan sustentar una tecnología aplicable y así de esta manera contribuir al desarrollo de comunidades campesinas en Guatemala.

Aplicar la técnica de inmersión en agua alcalina para la desinfección de sustratos para la producción de basidiomas de *A. cylindracea* bajo condiciones artesanales.

## II. AMBITO DE LA INVESTIGACION

El basidiomicete saprobio *Agrocybe cylindracea* conocido popularmente en Guatemala como "Hongo del sauco", es una especie de reconocida comestibilidad en el país, así como en otras partes del mundo, además, se han encontrado extractos del hongo con propiedades anti-inflamatorias, antitumorales, inmunoestimulantes, anti-hipertensivos e hipoglucemiantes (Poucheret, Fons & Rapior, 2006).

En años anteriores, en Guatemala se aislaron y se estudiaron varias cepas nativas *in vitro*, utilizando diferentes medios de cultivo, temperaturas y rangos de pH (5.0, 5.5 y 6.0) (Reyes, 2011), así como la producción de inóculo y de cuerpos fructíferos en diferentes sustratos y tratamientos aplicando esterilización y pasteurización (Bran, Morales, Flores, Cáceres y Gurriarán, 2009), sin embargo aún se hizo necesario evaluar el comportamiento *in vitro* de las cepas a pH alcalino, a efecto de probar y aplicar en futuras investigaciones el tratamiento de desinfección por inmersión en agua alcalina a nivel de sustrato para la producción de cuerpos fructíferos; tomando en consideración que es una técnica accesible a nivel artesanal.

El presente Proyecto de Investigación forma parte del Proyecto Macro: "Cultivo de cepas guatemaltecas del hongo comestible Tyxol B'aqman (*Agrocybe cylindracea*(DC.: Fr) Maire): caracterización y producción de cuerpos fructíferos", que a su vez pertenece a la línea de investigación "Hongos comestibles en Guatemala: Diversidad, Cultivo y Nomenclatura Vernácula", con el aval de la Unidad de Biodiversidad, Tecnología y Aprovechamiento de Hongos (BioTAH), del departamento de Microbiología de la Escuela de Química Biológica en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

### III. ANTECEDENTES

#### A. Generalidades

Desde tiempos remotos los hongos han estado involucrados en la descomposición de la materia orgánica, procesos industriales de fermentación, producción comercial de medicamentos y en alimentación humana (Kûes, 2000). Según Eaton y Salomón (2000) en la naturaleza existen varias especies de hongos comestibles, la mayoría de las cuales tienen aplicaciones en la agroindustria. Desde el punto de vista biotecnológico el cultivo de hongos representa una industria económicamente importante que se ha expandido notablemente en las últimas décadas, alrededor de todo el mundo (Kûes, 2000).

La importancia de los hongos en la alimentación humana reside en su valor dietético (bajo contenido en carbohidratos y grasas), significativo contenido de proteínas (de 20-40% del peso seco) y vitaminas (vitamina B2, y vitamina D) que los coloca por arriba de la mayoría de vegetales, frutas y verduras. Adicionalmente resultan ser complementos deliciosos en las comidas por sus propiedades organolépticas (Tormo, 1996).

Los basidiomicetes incluyen especies venenosas como *Amanita phalloides* y especies fitoparásitas que causan pérdidas económicas en los cultivos agrícolas como las royas y los carbones. También especies importantes por su comestibilidad y relación simbiótica con plantas como el caso de *Amanita cesárea*; otras, por su valor nutritivo y características organolépticas como *Agaricus bisporus* (Eaton & Salomón, 2000).

## **B. Hongos comestibles**

El cultivo de setas se inició en China con *Auricularia auricula* (600 A.D), *Flammulina velutipes* (800 A.D) y *Lentinula edodes* (1000 A.D), los cuales se cultivaron sobre troncos de madera. El principal avance en el cultivo de hongos se generó en Francia en el año 1600, cuando *A. bisporus* se cultivó sobre un sustrato compostado. En el mundo occidental, *A. bisporus*, comúnmente conocido como champiñón o botón hoy en día es el hongo que se produce en mayor cantidad. En las últimas décadas, *L. edodes* y *Pleurotus spp.* se producen en Asia en grandes cantidades y se han exportado a los mercados occidentales (Chang & Miles, 2004).

En Guatemala se consumen alrededor de 84 especies de hongos comestibles entre los que se puede mencionar *A. cylindracea*, (Hosting & Vasquez.1998, Bran *et al.* 2009), *Neolentinus suffrutescens*, *N. ponderosus* (Bran Morales, Cáceres, y Flores 2003 a), *Pleurotus albidus*, *P. djamor var djamor* y *P. ostreatus*. (Bran, Morales, Cáceres 2012) y *Schizophyllum commune* ampliamente difundido en Guatemala (Bran, Morales, Cáceres y Flores 2008).

## **C. Valor económico y ecológico**

La organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO) reconoce a los hongos silvestres como una fuente valiosa de alimento, ya que constituyen una fuente de alto valor nutricional, que puede asociarse a beneficios en la salud. La colecta de hongos en épocas de crisis puede aportar un alimento valioso a la dieta de las personas que viven en comunidades cercanas a los bosques. Son una fuente de ingresos extra para los recolectores, sobre todo en los países en desarrollo. La obtención de tales ingresos constituye un incentivo para mantener los bosques en vez de talarlos para convertirlos en tierra de cultivo. Las especies de hongos asociadas a los árboles son beneficiosas para éstos, ya que favorecen su crecimiento y contribuyen a mantener la salud de los bosques (Boa, 2004).

#### **D. Valor nutricional**

Los hongos comestibles, poseen un alto contenido de proteínas y carbohidratos, moderada cantidad de fibra y cenizas y son bajos en grasas. Su valor energético también es bajo, pero proveen de una buena fuente de aminoácidos esenciales, vitaminas y minerales. Los hongos contienen una porción sustancial de tiamina, riboflavina, niacina y de vitamina B2. En 100 gramos de proteína cruda hay 32 a 48 gramos de nueve aminoácidos esenciales, de estos, la lisina es la más abundante y las cantidades de triptófano y metionina son bajas (Chang & Miles, 2004).

#### **E. Cultivo de hongos comestibles**

Las setas comestibles se han consumido en Guatemala desde la época precolombina. Sin embargo, el cultivo de hongos comenzó hasta el final de la década de 1950 con *A. bisporus*, el cual se estableció a escala comercial durante la década de 1970. El cultivo de *L. edodes* comenzó en 1979 en troncos de *Quercus* como sustrato y en 1991 con el uso de aserrín de roble (De León, 2003).

En estudios previos llevados a cabo en Guatemala se determinó que para la cepa *N. ponderosus* y *N. suffutescens* el mejor medio de cultivo para la producción de biomasa micelial fue agar extracto de malta (AEM) , mientras que para la producción de inóculo fue aserrín de pino para el primero y granos de trigo para el segundo (26°C). Debido a la aceptación de *S. commune* se determinó que los medios de cultivos *in vitro* más apropiados para la producción de micelio eran agar papa dextrosa (PDA) y AEM a una temperatura de 26°C (Bran et al 2012). Además al estudiar otros hongos se encontró que *L. nuda* presentó un mejor crecimiento en AEM tanto a 26°C como a 18°C para la producción, así mismo se estableció que el mejor sustrato para producción fue granos de trigo a las mismas temperaturas (Bran, Morales, Flores, Cáceres y Gurriarán, 2015).

## **F. *Agrocybe cylindracea* (DC: Fr.) Maire.**

*A. cylindracea* es un excelente hongo comestible, que por sus propiedades culinarias y olor agradable es muy apreciado. Este hongo es conocido mundialmente como *A. aegerita*, sin embargo, el nombre correcto es *A. cylindracea* (Uhart, Piscera & Albertó, 2008).

*A. cylindracea* es una especie de amplia distribución aunque poco frecuente en las latitudes del norte, sin embargo se ha registrado en todos los continentes. En particular, se pueden encontrar fácilmente en la región centro-este de Argentina, como grupos de basidiomas que crecen en árboles vivos o troncos muertos de varios géneros como el *Populus*, *Salix*, *Quercus*, *Ulmus*, *Acer*, *Robinia* y *Melia* (Uhart, et al., 2008).

### **1. Clasificación taxonómica** (Kirk, Camon, Monter & Stalper, 2008).

Reino	Fungi
Phylum	Basidiomycota
Clase	Agaricomycetes
Subclase	Agaricomycetidae
Orden	Agaricales
Familia	<i>Strophariaceae</i>
Genero	<i>Agrocybe</i>
Especie	<i>cylindraceae</i>

### **2. Morfología**

Las especies que pertenecen al género *Agrocybe* pueden distinguirse por la presencia o ausencia de velo, el cual en general, queda como un anillo, la presencia o ausencia de pleurocistidios, la presencia de un poro germinal en las basidiosporas y el hábitat. Generalmente, se encuentran cuatro esporas por

basidio. El tamaño del cuerpo fructífero del hongo generalmente varía dentro de las especies (Uhart & Albertó, 2007).

El píleo es convexo o plano, de 8-200 mm de ancho, de color marrón generalmente oscuro (marrón oscuro) en el centro y casi blanco (color marrón muy pálido) en el margen, el primordio es de color marrón oscuro. La superficie del píleo es lisa, y con el tiempo presenta ranuras o estriaciones en algunos especímenes, además usualmente es suave y sedosa y no higrófana, ni viscosa. Las láminas son blancas o gris claro y eventualmente toman una coloración marrón fuerte o marrón oscuro, son moderadamente anchas, estrechas, onduladas o rectas, de borde liso o crenado. El estípite es cilíndrico, sólido, de 10-150 x 2-25 mm, de color blanco a marrón muy pálido, con pequeñas escamas o filamentos. El velo forma un amplio y persistente anillo. El contexto es de color blanco, con olor agradable, afrutado y sabor excelente. Se le puede encontrar creciendo en grupos. La esporada tiene una coloración marrón fuerte (Uhart & Albertó, 2007).

Las esporas miden de (8-) 9-16 (-17) x 5-9 (-10)  $\mu\text{m}$ ,  $Q = 1.8$  ( $n=700$ ), son oblongas, lisas, algunas con gúttulas en el interior, pigmentadas (color miel o castaño marrón) con un pequeño poro germinal no truncado. Los basidios miden de (17- ) 22-46 x 5-8  $\mu\text{m}$ , con un extremo engrosado, pero ligeramente más delgados por el centro, poseen una pared delgada, hialina y contienen de 1-4 esporas. Presenta pleurocistidios de (18- ) 21-65 x (5- ) 7-17  $\mu\text{m}$ , anchas en el centro y atenuadas hacia los extremos, también puede presentar extremos engrosados, con puntas redondeadas o afiladas y alargadas, pared delgada. Los queilocistidios miden de 18-49 x (3-) 5-13  $\mu\text{m}$ , similares a los pleurocistidios o más pequeños pero con forma cilíndrica o lageniforme. Las hifas presentan conexiones en grapa o fíbulas. La trama del himenóforo es regular. El epicutis del píleo está formado por elementos vesiculares clavados y amplios en su base, más angostos a medida que se alejan de la base, de 14-42 x 6-25  $\mu\text{m}$ , y forman una capa himeniforme. Los pileocistidios miden de 17-55 x (5- ) 6-13  $\mu\text{m}$ , son mucronados y

ventricosos, algunas veces pueden presentar dos constricciones cerca del ápice o lageniforme y raramente son agudos. También presenta caulocistidios de 16-88 (-95) x 4-16  $\mu\text{m}$ , similares en forma a los queilocistidios, o pueden ser capitados o mucronados (Uhart & Albertó, 2007).

En diferentes colecciones se han observado muchas variaciones morfológicas macro y microscópicas de *A. cylindracea*. Dentro de las características macroscópicas, el color del píleo y la superficie son variables. En cuanto a las características microscópicas, varían en el número de esporas producidas por basidio, el tamaño de las basidiosporas y el tamaño de los cistidios, además, la caracterización molecular y morfogenética de los genes han revelado un polimorfismo genético extenso. Por todas estas razones se ha propuesto que *A. cylindracea* puede corresponder a más de una microespecie o alternativamente, puede ser una especie filomórfica cosmopolita (Uhart & Albertó, 2007).

### **3. Etnomicología**

*A. cylindracea* es un hongo comestible muy popular por su valor nutricional y sabor agradable al paladar, en otros países como en Italia se conoce con los nombres comunes de Piopparello y Pioppino. En Japón se nombra como Yanagi-Matsutake. En China, hongo del sur o Zhuzhuang–Tiantougu. En México se conoce como hongo de chopo, hongo negro del álamo y seta del chopo (Stamets, 1993). En Guatemala se consume en los municipios de San Juan Ostuncalco, Concepción Chiquirichapa, Cajolá y San Miguel Sigüilá en el departamento de Quetzaltenango, donde se conoce como Tx'yol B'aqman, Tx'yol te chib'j (idioma Mam) u hongo del saúco y se prepara en recado y en paches. También se consume en el municipio de Tecpán, Chimaltenango, donde se conoce como hongo del sauco o Rukoxil Tunay Che' (idioma Kaqchikel). Asimismo, se consume en aldeas del municipio de San Antonio Sacatepéquez, San Marcos, donde se le llama hongo del soico (Bran, et al, 2003 a, Bran, Morales, Cáceres y Flores, 2003 b).

Las personas de estos municipios lo recolectan al pie de los árboles de sauco viejos (*Sambucus* sp), durante los meses de mayo y junio (Bran, et al 2003 a, b).

#### **4. Cultivo de *A. cylindracea***

##### **a) Medios de cultivos**

Para el crecimiento micelial de *A. cylindracea*, Alam, Kim, Shim, Lee y Soo (2010) encontraron que los medios de cultivo más favorables para el crecimiento de *A. cylindracea* son agar papa dextrosa y hennerberg (PDAH). También se han recomendado agar malta, levadura y peptona (MYPA), agar papa dextrosa (PDA), agar papa dextrosa y levadura (PDYA), agar extracto de malta (EMA), agar harina de maíz y levadura (MMYA) y agar comida para perro (DFA) (Stamets, 1993; Uhart & Albertó, 2007).

##### **b) Crecimiento micelial**

En general las colonias presentan un crecimiento longitudinal y lineal, de aspecto algodonoso, usualmente con poco micelio aéreo, de color blanquecino al principio de su desarrollo y posteriormente muestran manchas de color café y/o marrón oscuro en agar extracto de malta (AEM). Algunas veces se forman primordios. Poseen un olor dulce, farináceo a veces no muy agradable (Uhart & Albertó, 2007).

En Guatemala al estudiar cinco cepas nativas de *A.cylindracea* donde se evaluó el crecimiento micelial *in vitro* se determinó que el mejor medio de cultivo fue AEM a una temperatura de 18°C (Bran, et al, 2009). Reyes (2011) al estudiar el efecto del pH sobre el crecimiento micelial a una temperatura de 18°C, encontró que este hongo puede crecer a pH ácidos (5, 5.5 y 6).

### **c) Producción de inóculo y cuerpos fructíferos**

Se cultiva principalmente sobre sustratos de bajo costo derivados de la agricultura, entre los que se puede mencionar: industria agroforestal, cebada, paja de trigo, cáscara de naranja, tallos de uva, cascarilla de arroz y aserrín de árboles de hoja ancha, así como en los tocones de álamo (Alam, et al., 2010).

Bran et al., (2009), al estudiar cinco cepas guatemaltecas de *A. cylindracea* determinaron que el mejor sustrato para producción de inóculo son los granos de trigo a 18 °C, así mismo al evaluar la producción de cuerpos fructíferos encontraron que el mejor sustrato era una mezcla de paja de trigo y harina de soya (Bran, Cáceres, Gurrirán, Morales y Flores, 2014).

### **d) Valor nutricional**

Según Manzi, Marconi, Aguzzi, & Pizzoferrato (2004), han reportado que en 100 gramos de hongos frescos la composición nutritiva de *A. cylindracea* es de 1% de grasas, 3.1 % de proteínas, 1.4% de cenizas y 12.9 % de carbohidratos.

Bran, et al., (2014), al determinar el análisis proximal de cuatro cepas nativas de *A. cylindracea*, concluyen que los contenidos de proteína, carbohidratos, fibra cruda y grasa de las cepas evaluadas están dentro de los parámetros generales para los hongos comestibles (Chang & Miles, 2004).

#### IV. JUSTIFICACIÓN

En Guatemala, debido a sequias y desastres naturales, muchas poblaciones pierden totalmente sus cosechas, lo cual resulta en un impacto económico que afecta su sobrevivencia y estilo de vida, por lo que se ven en la necesidad de buscar alternativas que puedan asegurar la alimentación de las familias (Ministerio de agricultura, 2011-2013).

Los hongos comestibles son una fuente alterna de alimentación, cuyo valor reside en su bajo contenido en carbohidratos y grasas, significativo contenido de proteínas (de 20-40% del peso seco) y vitaminas (vitamina B2, y vitamina D) que los coloca por arriba de la mayoría de vegetales, frutas y verduras. Adicionalmente resultan ser complementos deliciosos en las comidas por sus propiedades organolépticas (Tormo, 1996).

El cultivo de hongos comestibles además de aportar un alimento valioso a la dieta de las personas, constituye una fuente de ingresos extra para el desarrollo económico de las comunidades campesinas y urbanas, a través de su comercialización para desarrollo de la comunidad. La colecta de hongos en épocas de crisis puede aportar un alimento sano a la dieta de las personas que sirven en comunidades cercanas a los bosques.

*A. cylindracea* es un excelente hongo comestible, que por sus propiedades culinarias y olor agradable es muy apreciado, se cultiva principalmente sobre sustratos de bajo costo derivados de la agricultura, desechos forestales, así como cebada, paja de trigo, cáscara de naranja, tallos de uva, y cascarilla de arroz (Alam, et al., 2010).

Los estudios realizados en la Universidad de San Carlos de Guatemala, han permitido aislar cepas nativas de *A. cylindracea*, y se ha evaluado su crecimiento micelial en rangos de pH ácidos, sin embargo, se hizo necesario determinar el

comportamiento del hongo en medios de cultivo en rangos de pH neutros y alcalinos (7, 8 , 9 , 10 , 11, 12) los cuales servirán de base para poder aplicar el tratamiento por inmersión en agua alcalina de los sustratos para producción de cuerpos fructíferos, a fin de generar una tecnología propia accesible a las comunidades campesinas.

## V. OBJETIVOS

### A. General

1. Evaluar el crecimiento micelial de cuatro cepas nativas de *A. cylindracea* en pH 7 – 12 a través de la evaluación del diámetro de la colonia en agar extracto de malta.

### B. Específicos

1. Establecer el pH (7, 8, 9, 10, 11,12) en agar extracto de malta en el cual cuatro cepas nativas de *A. cylindracea* presenten el mayor crecimiento micelial.
2. Documentar las características morfológicas macro y microscópicas de las cepas en los diferentes pH (7, 8, 9, 10, 11,12) de estudio.

## VI. HIPOTESIS

El crecimiento micelial de *A. cylindracea* en los pH 7, 8, 9 10, 11 y 12 es mayor a 70 mm después de 12 días.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Universo de trabajo

- Cepas de hongos del género *A. cylindracea* aisladas en Guatemala.

### B. Muestra

Cepa	Procedencia
58.01	Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos
59.01	Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos
60.01	Aldea Escuachil, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos
638.08	Tecpán Guatemala, Chimaltenango

### C. Recursos

#### 1. Institucionales

- Cepario de Hongos Saprobios y Micorrícicos del Departamento de Microbiología de la Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC).
- Laboratorios de Microbiología, Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.
- Unidad de Biodiversidad Tecnología y Aprovechamiento de Hongos (BioTAH).

#### 2. Humanos

- (Investigadora) Br. Lisbeth Nohemi Méndez Soto
- Licda. María del Carmen Bran González (Asesora)
- Lic. Osberth Morales Ezquibel (Asesor)

## **D. Materiales**

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

- Agar Extracto de Malta (AEM)

### **2. Reactivos**

- Azul de lactofenol al 3 %
- NaOH 1N y HCl 1N

### **3. 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 óptico

### **4. Cristalería**

- Probetas graduadas de 150, 250 y 1000 mL
- Erlenmeyer de 500 y 1000 mL
- Cajas de Petri estériles desechables de 100 x 15 mm
- Pipetas de 1 a 10 mL
- Tubos de ensayo con rosca
- Portaobjetos y cubreobjetos
- Pipetas Pasteur
- Pipeteador

## 5. Otros

- Papel aluminio
- Papel Parafilm ®
- Toalla de papel secante
- Aceite de inmersión
- Agua desmineralizada estéril
- Algodón
- Cajas de Petri ®
- Alcohol al 70%
- Bata
- Cofia
- Mascarilla
- Tijeras
- Marcador indeleble
- Regla (medida en mm)

## E. Métodos

### 1. Revitalización de la cepa de *Agrocybe cylindracea*

Las cepas que se revitalizaron están depositadas en el Ceparario de Hongos Saprobios y Micorrícicos del Departamento de Microbiología de la Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Las cepas a utilizar se presentan en la tabla 1:

Tabla 1 Código y procedencia de las cepas

<b>Código de la cepa</b>	<b>Procedencia</b>
<b>58.01</b>	Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos
<b>59.01</b>	Aldea Vista Hermosa, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos
<b>60.01</b>	Aldea Escuaquil, San Antonio Sacatepéquez, San Marcos
<b>638.08</b>	Tecpán Guatemala, Chimaltenango

Procedimiento:

- Las cepas preservadas fueron revitalizadas sembrándolas en agar Agar extracto de malta (AEM) e incubándolas a 18°C por 15 días.
- Se establecieron las condiciones de dicarion del hongo, a través de la observación de fíbulas y montajes con azul de lactofenol.

## **2. Determinación del diámetro de las colonias de cada una de las cepas a diferentes pH.**

Se procedió de conformidad con lo establecido por Stamets, 1993; Sánchez, De León y Huerta, 2000; Mier, Toriello y Ulloa, 2002 y Gaitan –Hernandez, 2008:

- Se prepararon los medios de cultivo AEM y se les tomó el pH inicial, el cual estuvo entre 5.5 y 6.5 luego se ajustó a cada pH (7, 8, 9, 10, 11, 12) que se evaluó.
- Los medios se esterizaron en autoclave a 121°C y 15 Lb/pl<sup>2</sup> por 10 minutos.
- A partir de un cultivo joven se inocularon 20 repeticiones del medio con un fragmento de (5.0 mm) en el centro de la placa con cada una de las cepas de *A. cylindracea* (58.01, 59.01, 60.01 y 638.08).
- Se identificaron las cajas de Petri conteniendo el medio de cultivo, con referencia, nombre de la cepa, fecha de inoculación, nombre del medio, pH, temperatura de incubación y número de repetición.
- Se sellaron las cajas inoculadas con papel Parafilm ® para evitar su deshidratación.
- 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.
- 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 17.0®, para su análisis.
- Se elaboraron graficas de interacción, para observar el crecimiento de la cepa.
- Se estimó la media del diámetro de las colonias (mm) en el programa SPSS 17.0®.

### **3. Determinación de las características morfológicas macro y microscópicas.**

Se observaron 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 *A. cylindracea* se utilizó un estereoscopio.
- Se observó el color del anverso, reverso, textura, consistencia, presencia de exudado, forma, olor y micelio aéreo en cada una de las repeticiones y medios.
- Para la descripción microscópica del micelio, se realizaron preparaciones con azul de lactofenol en 400 y 1000 aumentos (del centro, medio y extremo de las colonias), para observar las características hifales, diámetro ( $\mu\text{m}$ ), septos, nódulos, ramificaciones, presencia de fíbulas, clamidoconidios.

### **4. Diseño Experimental**

Completamente al azar.

- **Análisis estadístico**

- Se realizó un Análisis de Varianza para un diseño factorial y se evaluó si existe diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ) para cada uno de los pH y cepas.
- Para establecer las diferencias específicas entre pH y cepas, se realizó la prueba de intervalos múltiples de Duncan ( $\alpha=0.05$ ), para obtener el valor de la probabilidad (p).

- **Evaluación de las características morfológicas macro y microscópicas.**
  - Se realizó un análisis de conglomerados para relacionar las similitudes y diferencias de las cepas en cuanto a las características macroscópicas y microscópicas, especificándose gráficamente la relación entre las mismas por medio de un dendograma (Programa Past®).

## VIII. RESULTADOS

### A. Determinación del mejor pH para el crecimiento micelial

Con respecto al crecimiento micelial de *A. cylindracea* se determinó que la cepa 58.01 obtuvo los mayores diámetros de crecimiento a pH 7 (48.95 mm  $\pm$  0.33 mm/día) y a pH 8 (47.87 mm  $\pm$  0.31 mm/día) sin existir diferencia significativa entre ellos ( $p=0.005$ ). Las cepas 638.08 y 59.01 obtuvieron el mayor diámetro de crecimiento micelial a pH 7 (45.61 mm  $\pm$  0.16 mm/día y 42.30 mm  $\pm$  0.23 mm/día, respectivamente) con diferencia significativa entre ellas ( $p>0.005$ ). La cepa 60.01 presentó el mayor diámetro de crecimiento micelial (43.46 mm  $\pm$  1.22 mm/día) a pH 8, sin embargo no existió diferencia significativa con respecto al pH 7 (40.98 mm  $\pm$  0.48 mm/día) (Tabla 2).

En general los menores diámetros de crecimiento micelial se presentaron a pH 11 y 12 en todas las cepas (Tabla 2).

Al comparar el crecimiento de las cepas en los diferentes pH evaluados, por medio de la prueba de intervalos múltiples de Duncan, se determinó que el diámetro de las colonias de la cepa 58.01 fue significativamente mayor ( $p>0.05$ ) que el observado en las demás cepas evaluadas (Figura 1).

Al comparar de forma general el diámetro de crecimiento micelial de las cepas de *A. cylindracea*, se determinó que la cepa 58.01 presentó el mayor diámetro (48.95 mm  $\pm$  0.33 mm/día) con diferencia estadísticamente significativa con respecto a las demás cepas evaluadas ( $p>0.05$ ). Las cepas 638.08 y 60.01 (45.61 mm  $\pm$  0.16 mm/día y 43.46 mm  $\pm$  1.22 mm/día, respectivamente) no presentaron diferencia estadísticamente significativa entre ellas. Por otra parte, la cepa que obtuvo el menor diámetro de crecimiento micelial fue 59.01 (42.30 mm  $\pm$  0.23 mm/día) (Figura 2).

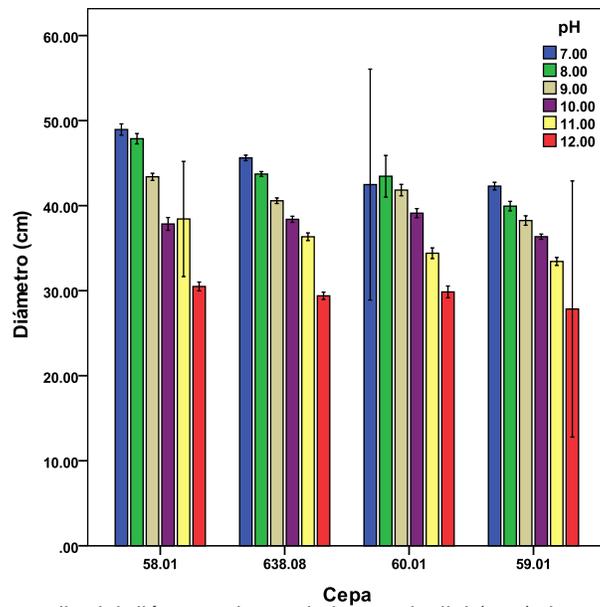
Tabla 2 Crecimiento micelial de las cepas de *A. cylindracea* en EMA a 18°C

Cepa	pH	Diámetro (mm)	Crecimiento Micelial (mm/día)	
58.01	<b>7</b>	<b>48.95 ± 0.33</b>	<b>4.08</b>	a
	8	47.87 ± 0.31	3.99	a
	9	43.39 ± 0.21	3.62	c
	10	37.85 ± 0.38	3.15	h
	11	38.43 ± 3.39	3.20	h
	12	30.50 ± 0.26	2.54	k
59.01	<b>7</b>	<b>42.30 ± 0.23</b>	<b>3.52</b>	c,d
	8	39.94 ± 0.28	3.33	f,g
	9	38.25 ± 0.28	3.19	h
	10	36.35 ± 0.15	3.03	i
	11	33.43 ± 0.23	2.79	j
	12	26.35 ± 0.84	2.20	l
60.01	7	40.98 ± 0.48	3.41	c,d
	<b>8</b>	<b>43.46 ± 1.22</b>	<b>3.62</b>	c
	9	41.83 ± 0.34	3.49	d,e
	10	39.12 ± 0.27	3.26	g,h
	11	34.40 ± 0.32	2.87	j
	12	29.85 ± 0.35	2.49	k
638.08	<b>7</b>	<b>45.61 ± 0.16</b>	<b>3.80</b>	b
	8	43.72 ± 0.14	3.64	c
	9	40.58 ± 0.16	3.38	e,f
	10	38.39 ± 0.18	3.20	h
	11	36.34 ± 0.23	3.03	i
	12	29.40 ± 0.21	2.45	k

<sup>1</sup> Se presenta el valor de la media ± la desviación estándar.

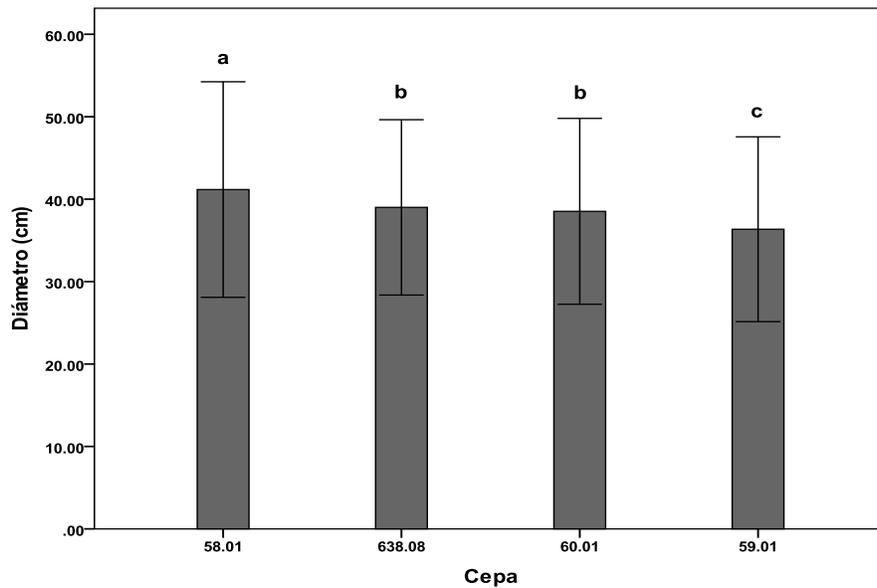
<sup>2</sup> Letras distintas en la columna indican diferencia estadísticamente significativa de acuerdo a la prueba de intervalos múltiples de Duncan ( $\alpha=0.05$ ).

**Figura 1. Crecimiento micelial de las cepas de *A. cylindracea* incubadas a 18°C durante 14 días a diferentes pH.**



Las barras representan la media del diámetro de crecimiento micelial (mm) después de 14 días de incubación. Las barras de error representan la desviación estándar de la media con intervalo de confianza de 95%.

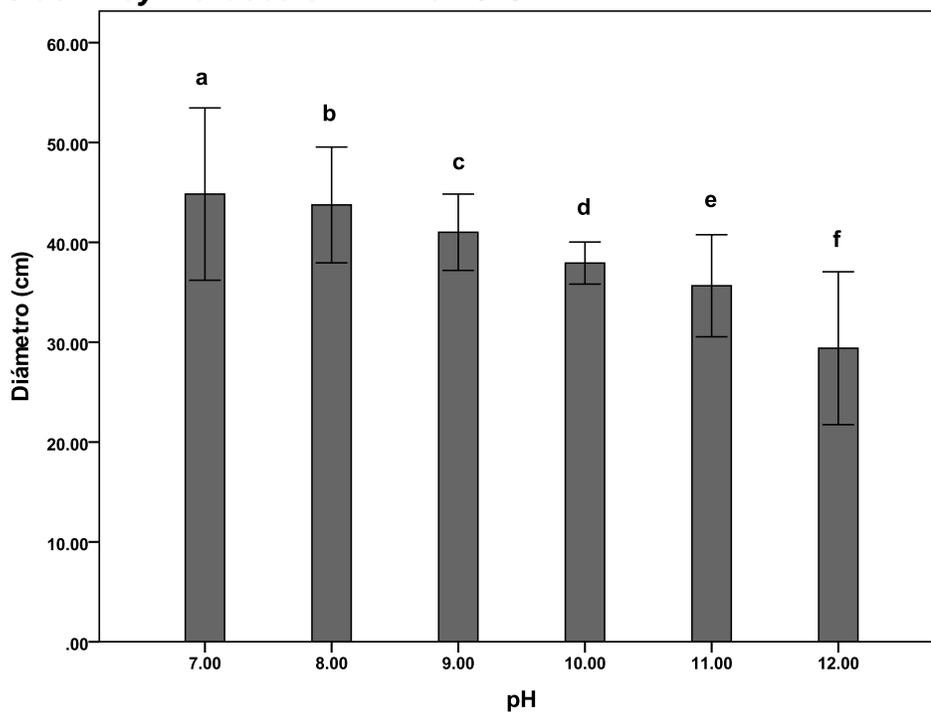
**Figura 2. Interacción de las cepas y el diámetro de crecimiento micelial en el medio EMA a 18°C.**



Las barras representan la media del diámetro de crecimiento micelial (mm) después de 14 días de incubación. Las barras de error representan la desviación estándar de la media con intervalo de confianza de 95%.

Al evaluar el efecto general del pH sobre el crecimiento micelial se determinó que el mayor diámetro de crecimiento se obtuvo a pH 7 para la mayoría de las cepas, seguido del pH 8 y pH 9. El menor diámetro se observó a pH 12, el cual mostró diferencia estadísticamente significativa entre todos los pH evaluados ( $p < 0.0001$ ) (Figura 3).

**Figura 3. Efecto del pH sobre el diámetro del crecimiento micelial de las cepas de *A. cylindracea* en EMA a 18°C**



Las barras representan la media del diámetro de crecimiento micelial (mm) después de 14 días de incubación. Las barras de error representan la desviación estándar de la media con intervalo de confianza de 95%.

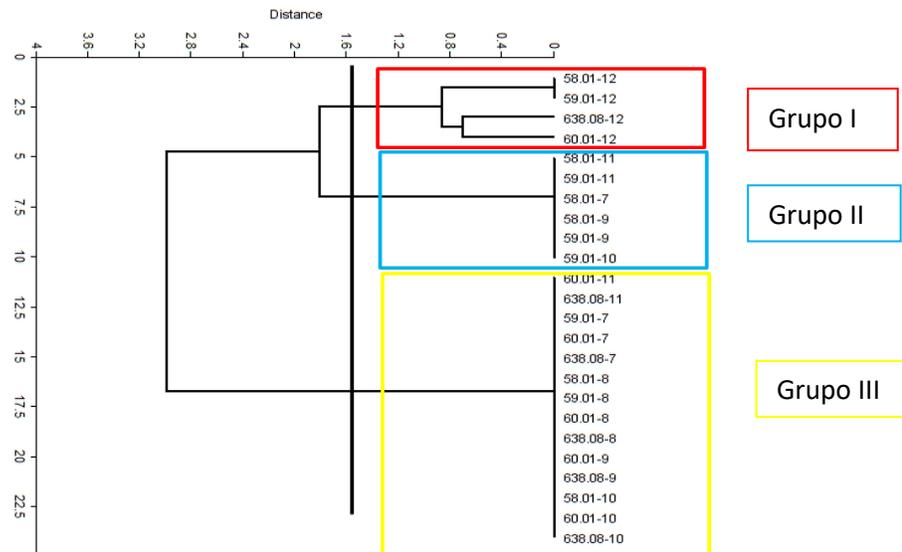
Los resultados de este estudio indicaron que el mejor pH de crecimiento para la mayoría de cepas evaluadas es de 7 en EMA, a la temperatura (18°C) probada. La cepa que alcanzó el mayor diámetro de crecimiento micelial al pH anteriormente indicado, fue la 58.01, y a medida que aumenta el pH del medio se observa una disminución del crecimiento micelial de las cepas.

## B. Características macro y microscópicas de *A. cylindracea* a diferentes pH

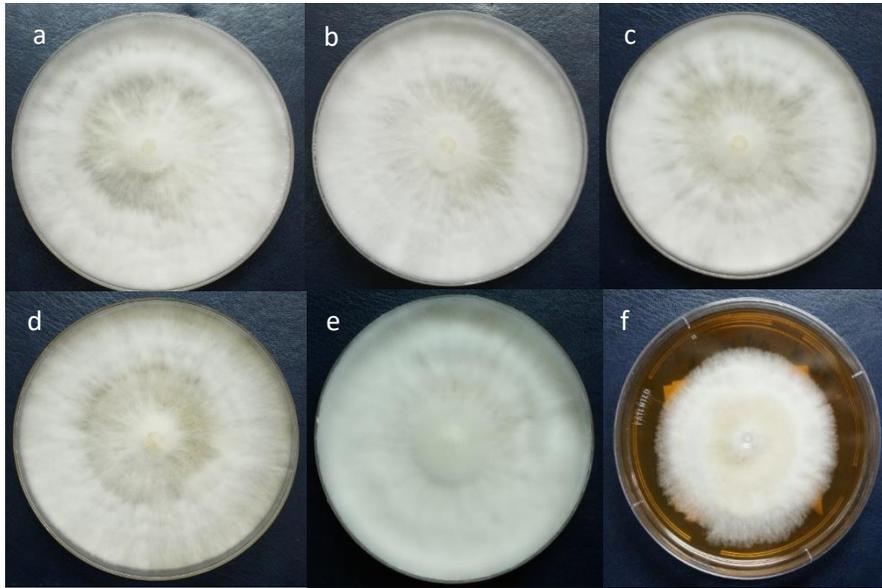
Con relación a las características macroscópicas, el análisis de conglomerados unificó los cinco tratamientos en tres grupos (Figura 4). El primero de ellos integrado por cuatro cepas evaluadas a pH 12 (grupo I), las cuales presentaron similitud en cuanto al color blanco y la textura algodonosa, así mismo al micelio aéreo en escasa cantidad. Por otra parte, también se observó crecimiento zonado en las cepas 58.01 y 59.01 y crecimiento no zonado en la cepa 638.01 y 60.01 (Figuras 5-8).

El grupo II integró el crecimiento de las cepas 58.01 a pH 7, 9 y 11 y la 59.01 a pH 9, 10 y 11, las cuales exhibieron color blanco, textura algodonosa, micelio aéreo en regular cantidad y crecimiento zonado (Figuras 5-8). El grupo III agrupó todas las cepas evaluadas a pH 7-11, donde se observó similitud en el color blanco, la textura algodonosa, el micelio aéreo en regular cantidad y el crecimiento no zonado.

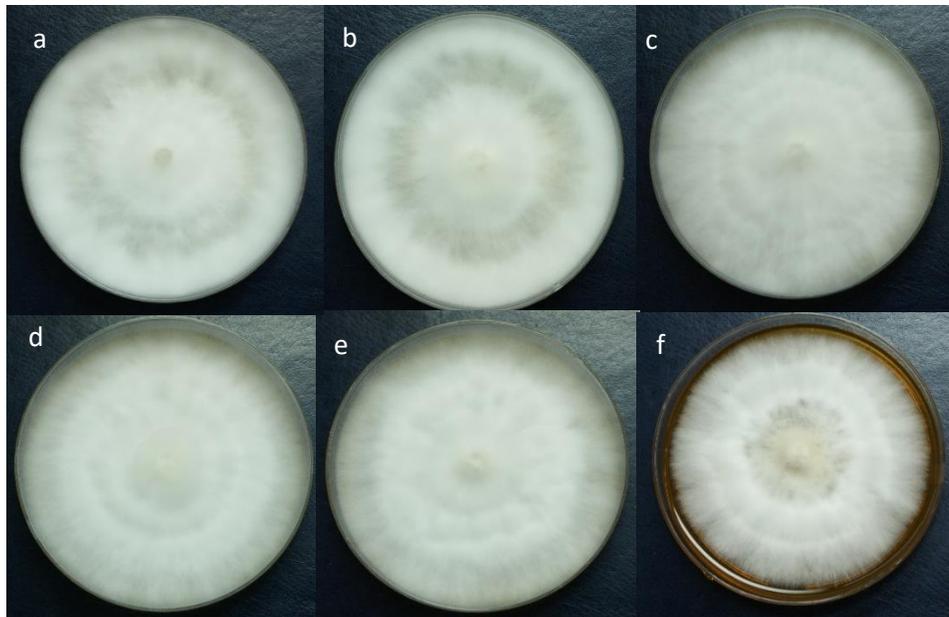
**Figura 4. Análisis de conglomerados de las características macroscópicas de *A. cylindracea***



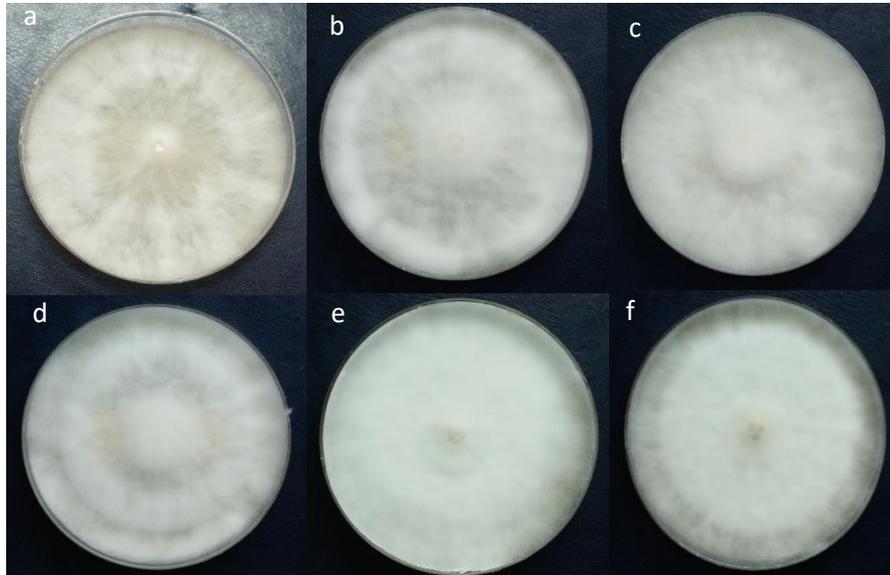
Línea horizontal describe la distancia de aglomeración. La línea vertical describe el número de elementos formados. Línea vertical (en negro) corta el dendrograma para determinar el número de grupos donde se reparten los elementos. Diferentes enmarcados asocian los tratamientos con características afines en grupos.



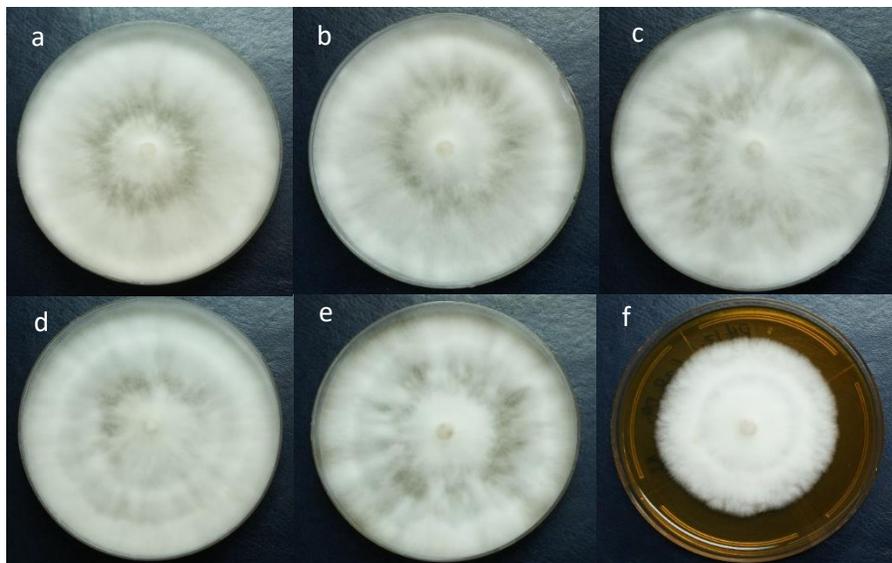
**Figura 5. a-f. Características macroscópicas de *A. cylindracea* 58.01. Colónias algodonosas en AEM a 18°C. a. pH 7, b. pH 8, c. pH 9, d. pH 10, e. pH 11, f. pH 12.**



**Figura 6. a-f. Características macroscópicas de *A. cylindracea* 59.01. Colónias algodonosas en AEM a 18°C. a. pH 7, b. pH 8, c. pH 9, d. pH 10, e. pH 11, f. pH 12.**



**Figura 7. a-f. Características macroscópicas de *A. cylindracea* 60.01. Colonias algodonosas en AEM a 18°C.a. pH 7, b. pH 8, c. pH 9, d. pH 10, e. pH 11, f. pH 12.**

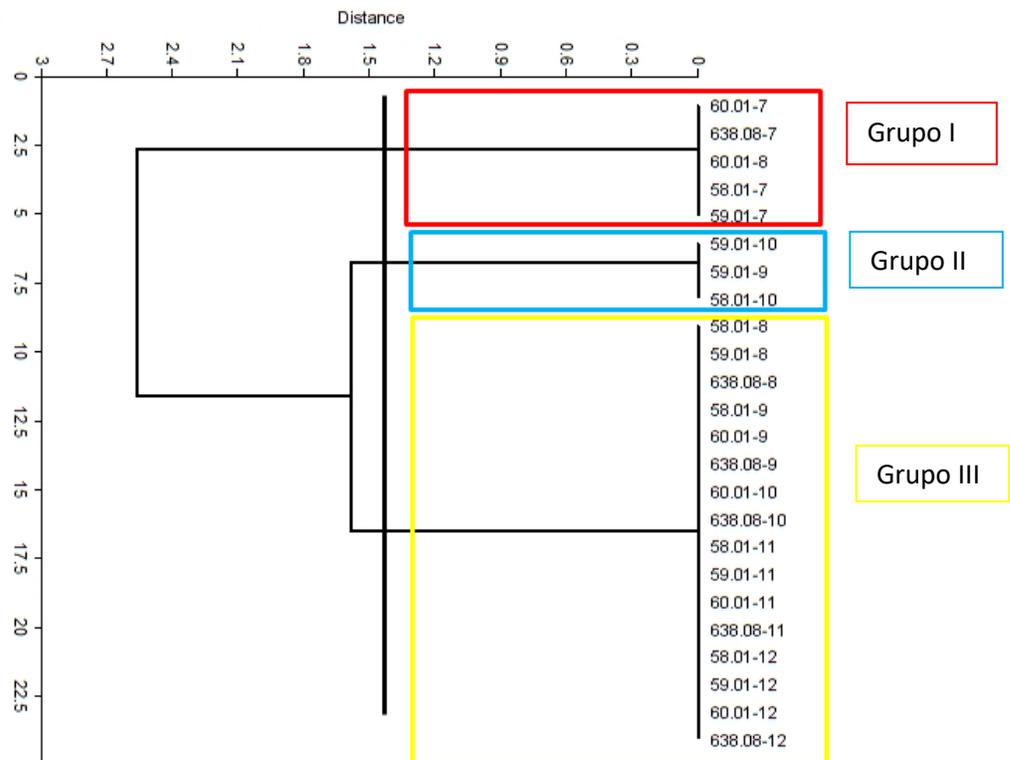


**Figura 8. a-f. Características macroscópicas de *A. cylindracea* 638.08. Colonias algodonosas en AEM a 18°C.a. pH 7, b. pH 8, c. pH 9, d. pH 10, e. pH 11, f. pH 12.**

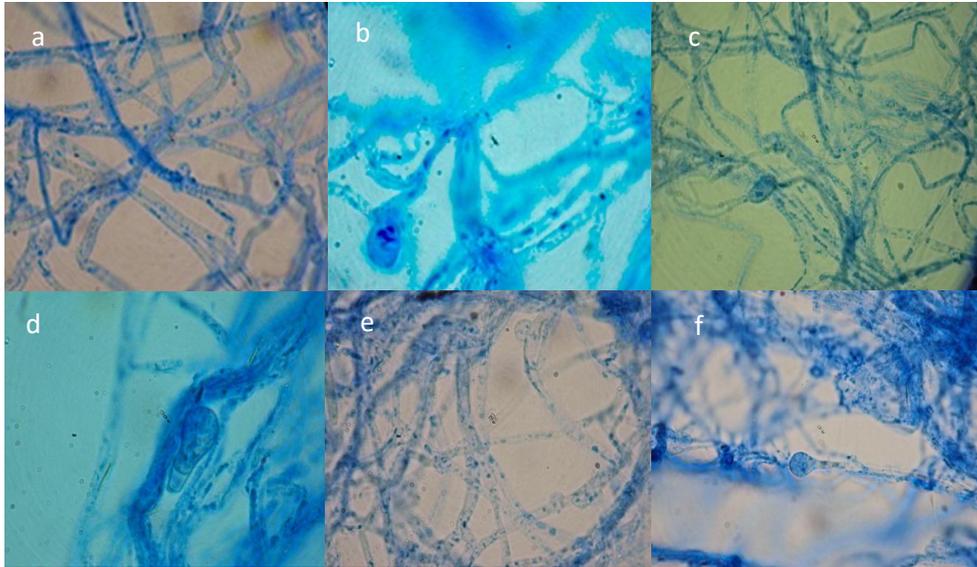
Con respecto a las características microscópicas el análisis de conglomerados asoció los tratamientos en tres grupos (Figura 9). El Grupo I lo conformaron cuatro cepas a pH 7 y la cepa 60.01 a pH 8, las cuales presentaron hifas con diámetro de 1 - 2  $\mu\text{m}$ , fíbulas en abundante cantidad y clamidioconidios en escasa cantidad. En el grupo II se asociaron las cepas 59.01 (pH 9,10) y la 58.01 (pH 10) las cuales mostraron similitud en cuanto al diámetro de las hifas (1 - 2  $\mu\text{m}$ ), a la cantidad de fíbulas (de escasa a regular) y a la presencia de clamidioconidios (de regular cantidad a abundantes). En el grupo III se agruparon todas las cepas (pH 8-12) con presencia de hifas de 1 - 2  $\mu\text{m}$  y de fíbulas escasas y clamidioconidios en abundante cantidad (Figura 10- 13).

Por lo anterior se puede concluir que a medida que aumenta el pH disminuye la cantidad de fíbulas y aumenta la cantidad de clamidioconidios.

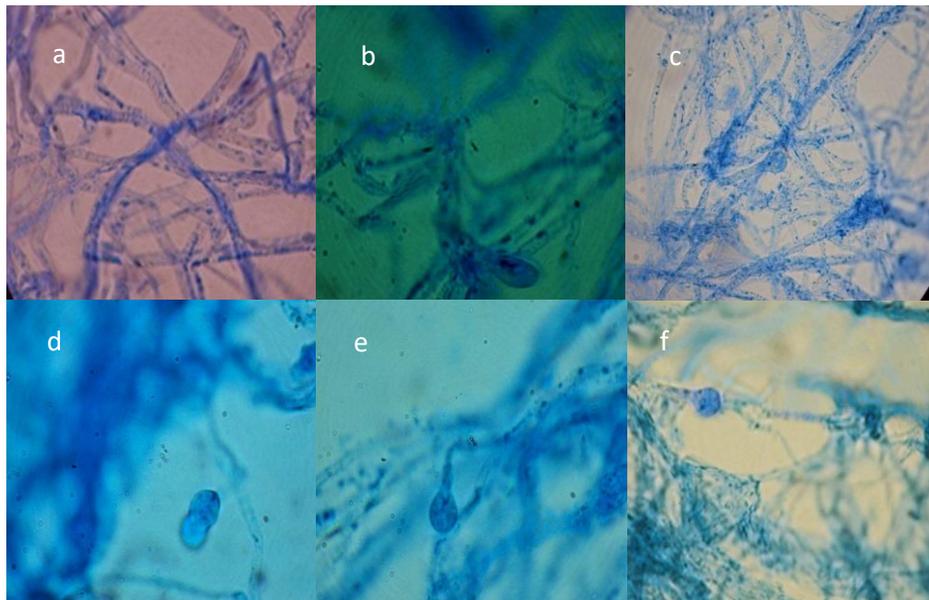
**Figura 9 Análisis de conglomerados de las características microscópicas de *A. cylindracea***



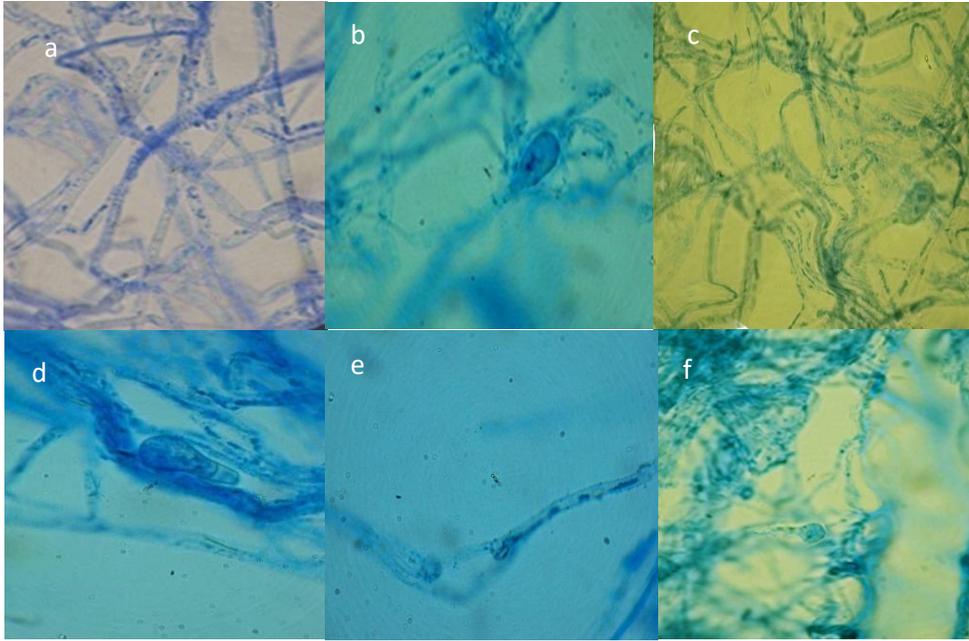
Línea horizontal describe la distancia de aglomeración. La línea vertical describe el número de elementos formados. Línea vertical (en negro) corta el dendrograma para determinar el número de grupos donde se reparten los elementos. Diferentes enmarcados asocian los tratamientos con características afines en grupos.



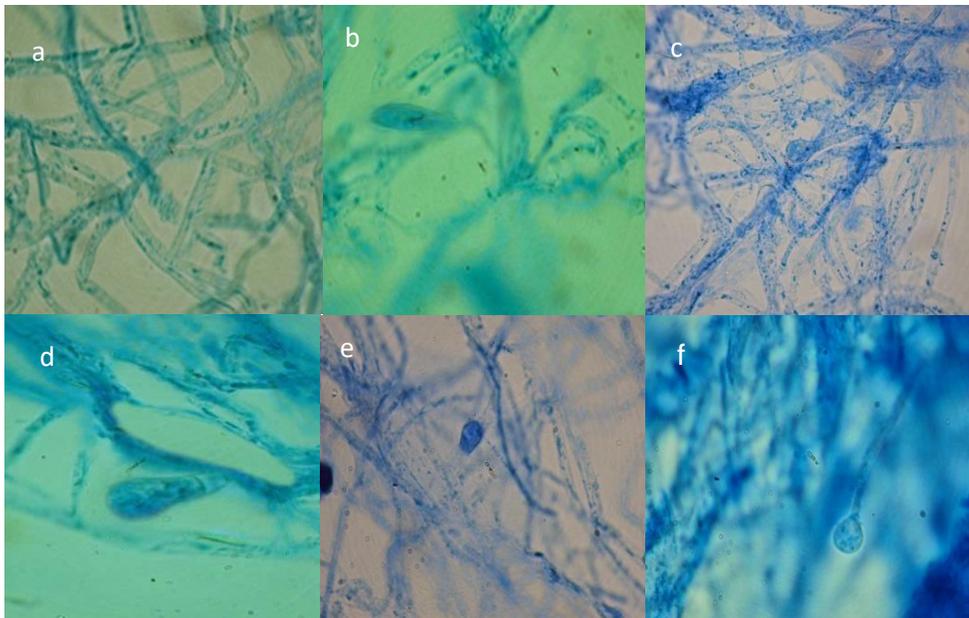
**Figura 10. Características microscópicas en azul de lactofenol de *A. cylindracea* 58.01. a. pH 7, b. pH 8, c. pH 9, d. pH 10, e. pH 11, f. pH 12. Aumento 1000x.**



**Figura 11. Características microscópicas en azul de lactofenol de *A. cylindracea* 59.01. a. pH 7, b. pH 8, c. pH 9, d. pH 10, e. pH 11, f. pH 12. Aumento 1000x.**



**Figura 12. Características microscópicas en azul de lactofenol de *A. cylindracea* 60.01. a. pH 7, b. pH 8, c. pH 9, d. pH 10, e. pH 11, f. pH 12. Aumento 1000x.**



**Figura 13. Características microscópicas en azul de lactofenol de *A. cylindracea* 638.08. a. pH 7, b. pH 8, c. pH 9, d. pH 10, e. pH 11, f. pH 12. Aumento 1000x.**

## IX. DISCUSION DE RESULTADOS

En este estudio se determinó que las cepas utilizadas de *A. cylindracea* pueden crecer en el rango de pH evaluados (7, 8, 9, 10, 11 y 12), sin embargo el mejor diámetro de crecimiento micelial se alcanzó a pH 7, el cual va disminuyendo conforme aumenta el pH.

Debido a que en la literatura disponible no existen otros trabajos de investigación relacionados con el efecto del pH sobre diámetro de crecimiento micelial de cepas de *A. cylindracea*, no fue posible establecer parámetros de comparación. Sin embargo, si se contrastan con los resultados obtenidos con otras especies de hongos comestibles, éstos coincidieron con lo reportado por González, (2016), el cual encontró que *P. albidus* presentó la mayor tasa de crecimiento micelial a pH 7 en agar PDA, así como con lo reportado por Rangel y De León (2016), en un estudio sobre caracterización del crecimiento micelial de una cepa nativa de *Neolentus ponderosus*, en el que, observaron también, que el mayor crecimiento micelial en AEM se presentaba a pH 7, sin embargo el crecimiento también disminuye conforme aumenta el rango de pH entre los probados .

En un trabajo efectuado por Reyes (2011), en el cual se utilizaron las mismas cepas de *A. cylindracea*, se determinó que éstas también podían crecer a pH ácidos (5.0, 5.5 y 6). Es de hacer notar que en ambos trabajos la temperatura de incubación apropiada fue de 18°C, lo cual también fue comunicado por Bran y colaboradores (2009) en un reporte previo.

Vázquez, Santiago y Estrada (2002), al estudiar 15 cepas de hongos ectomicorrizógenos en el medio biotina, aneurina y ácido fólico (BAF), determinaron que para la mayoría de las cepas evaluadas, el efecto del pH varió desde 3 hasta 8, lo cual dependió de la fase de crecimiento y de la especie de hongo.

Sánchez (2002), observó que el pH tiene efecto sobre el crecimiento de los hongos porque influye directamente sobre las proteínas de la membrana y de la actividad de las enzimas ligadas a la pared celular; lo que afecta directamente su metabolismo. Si el pH del medio donde crece un hongo no es el adecuado, aunque las condiciones de temperatura y nutrientes sean óptimos, el crecimiento se verá afectado.

Lo anterior se vio reflejado en este trabajo en el cual a medida que el pH del medio cambia de 7 a 12, el diámetro del crecimiento micelial de las colonias va disminuyendo, la cantidad de fíbulas se presenta de abundantes a escasas y la de clamidioconidios aumenta, sin embargo es de hacer notar que el diámetro de las hifas se mantiene en un rango de 1-2  $\mu\text{m}$ , así como las colonias de las cepas evaluadas presentan similitud en cuanto al color blanco, la textura algodonosa, el micelio aéreo en regular cantidad y el crecimiento no zonado en los diferentes pH evaluados.

Según Chang & Milles (2004), las fíbulas son estructuras que indican el estado de dicarion del hongo y que garantizan la capacidad que tiene de formar cuerpos fructíferos, siendo una característica de la mayoría de los Basidiomicetes. Las cuales en el presente trabajo, a pesar del incremento de pH y la disminución del diámetro de crecimiento de las colonias, siempre estuvieron presentes, lo que sugiere la posibilidad de producción de basidiomas, aún a pH alcalinos.

Los clamidioconidios se forman cuando las condiciones son adversas. En este estudio a medida que aumentó el pH se incrementaron las estructuras antes mencionadas lo que indica que en rangos muy altos de pH se afecta el crecimiento de *A. cylindracea*.

A pesar de lo anterior, es importante resaltar, la tolerancia de las cepas evaluadas de *A. cylindracea* a pH alcalinos, característica que podría

aprovecharse para establecer la posibilidad de aplicar tratamientos de desinfección a nivel de sustrato por la técnica de inmersión en agua alcalina para la producción de basidiomas, sin embargo hace falta efectuar estudios de crecimiento de *A. cylindracea* en los diferentes pH evaluados a nivel de sustrato para inducir la producción de cuerpos fructíferos. Chang y Miles, (2004), mencionan que el pH óptimo de crecimiento difiere del de fructificación.

Con relación a lo anterior, Hung y Trappe, (1983), indican que los experimentos *in vitro* que miden el efecto del pH sobre el crecimiento de los hongos debe ser interpretado con precaución, ya que los resultados pueden ser afectados por la duración del ensayo, la fuente de nitrógeno, la adición de hierro antes y después de la esterilización del medio, así como por otros factores.

Bran, y colaboradores (2012), produjeron cuerpos fructíferos de cepas nativas de *A. cylindracea*, utilizando las técnicas de desinfección por pasteurización y esterilización por autoclave de los sustratos utilizados, sin embargo cabe mencionar que son tratamientos que implican gastos de energía y equipo de alto costo así como instalaciones apropiadas.

La técnica de desinfección por inmersión en agua alcalina del sustrato, para la producción de cuerpos fructíferos de *Pleurotus*, ha sido estudiada con resultados satisfactorios por Contreras, Sokolov, Mejía y Sánchez (2004), en México, así como por Batz (2010) en Guatemala. Esta técnica se aplica actualmente en el país, a nivel del cultivo artesanal en comunidades campesinas (Morales, 2016, comunicación personal).

Por lo anterior al evaluar los pH dentro del rango alcalino se pretende generar una tecnología propia, accesible a comunidades campesinas que puedan producir cuerpos fructíferos de *A. cylindracea*. Sin embargo es necesario mencionar que se hace indispensable también efectuar estudios de pH a nivel de la fase de colonización del micelio en el sustrato, así como en la etapa de

producción de cuerpos fructíferos en el mismo, que permitan sustentar una tecnología aplicable y así de esta manera contribuir al desarrollo de comunidades campesinas en Guatemala.

## **X. CONCLUSIONES**

El mayor diámetro de crecimiento micelial de las cepas estudiadas en agar extracto de malta, se presentó a pH ajustado a 7, en el cual la mayoría de las colonias de las cepas fueron similares en cuanto al color blanco, la textura algodonosa, el micelio aéreo en regular cantidad y el crecimiento no zonado.

A pH 7 las cepas presentaron hifas con diámetro de 1 - 2  $\mu\text{m}$ , fíbulas abundantes y clamidioconidios en escasa cantidad, los pH alcalinos (8 - 12) mostraron hifas de diámetros entre 1- 2  $\mu\text{m}$ , fíbulas de abundantes a escasas y los clamidioconidios de escasos a abundantes.

A medida que aumenta el pH disminuye la cantidad de fíbulas y aumenta la cantidad de clamidioconidios.

## XI. RECOMENDACIONES

Efectuar estudios de pH tanto a nivel de colonización micelial del sustrato como de producción de basidiomas dentro del rango alcalino para la producción de cuerpos fructíferos de *A. cylindracea*

Efectuar estudios de pH a nivel de sustrato dentro del rango alcalino para la producción de cuerpos fructíferos de *A. cylindracea*, que permitan sustentar una tecnología aplicable y así de esta manera contribuir al desarrollo de comunidades campesinas en Guatemala.

Aplicar la técnica de inmersión en agua alcalina para la desinfección de sustratos para la producción de basidiomas de *A. cylindracea* bajo condiciones artesanales.

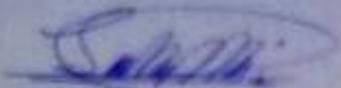
## XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

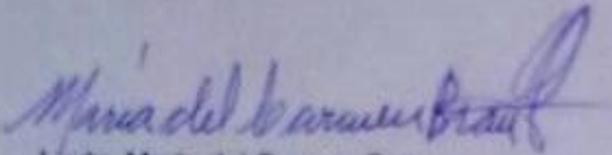
- Alam, N., Kim J., Shim M., Lee U. y Soo T., (2010). Mycelial propagation and molecular phylogenetic relationships of commercially cultivated *Agrocybe cylindracea* based on ITS sequences and RAPD. *Mycobiology*, 38 (2), 89-96.
- Batz, E. (2010). Producción de cuerpos fructíferos de *Pleurotus* en sustratos desinfectados por inmersión en agua alcalina. (Tesis de graduación: Químico Biólogo). Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Boa, E. (2004). Wild edible fungi: a global overview of their use and importance to people. Non Wood Forest Products No. 17. Roma: FAO. IT. Disponible en línea en <http://www.fao.org/docrep/007/y5489e/y5489e00.htm>
- Bran, M., Cáceres, R., Gurriarán, N., Morales, O. y Flores, R. (2014). Evaluación de la producción de cuerpos fructíferos de cepas guatemaltecas del hongo comestible Rukoxil Tunay Che' (*Agrocybe cylindracea* (DC.) Maire) en diferentes sustratos. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 1 (1), 35-42.
- Bran, M., Cáceres, R., Gurriarán, N., Morales, O. y Flores, R. (2015). Caracterización *in vitro* y producción de inóculo de cepas guatemaltecas de *Lepista nuda* (Bull.:Fr.) Cooke. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 2 (2), 5-13.
- Bran, M., Morales, O., Cáceres, R. y Flores, R. (2008). *Caracterización y producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas del hongo comestible Asam (Schizophyllum commune Fr.)* (inf-2008-084). Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Guatemala.
- Bran, M., Morales, O., Cáceres, R. y Flores, R. (2003a). Contribución al conocimiento de los hongos comestibles de Guatemala. *Revista Científica*, 1 (1), 2-24.
- Bran, M., Morales, O., Cáceres, R., y Flores, R. (2003b). *Hongos comestibles de Guatemala: Diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula. (Fase III)*. (inf-2003-30) Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación, Guatemala.
- Bran, M., Morales, O., Flores, R., Cáceres, R. y Gurriarán, N. (2009). *Cultivo de cepas guatemaltecas del hongo comestible Tx'yol B'aqman (Agrocybe cylindracea (DC.: Fr.) Maire): caracterización y producción de cuerpos fructíferos*. (inf-2009-45). Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación, Guatemala.

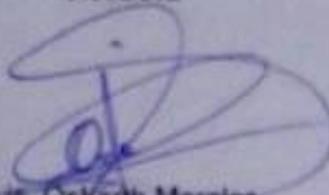
- Bran, M., Morales, O., Cáceres, R. (2012). *Cultivo de hongos comestibles silvestres en Guatemala: investigación y transferencia de tecnología*. (p 269-280). En *Hongos comestibles y medicinales en Iberoamérica: Investigación y desarrollo en un entorno multicultural*. J. Sánchez y G. Mata. Eds. México: Ecosur, Inecol.
- Chang, S., Miles, P. (2004) *Mushrooms cultivation, nutritional value, medicinal effect and environmental impact*. 2nd. Edition. Boca Ratón: CRC Press.
- Contreras, E. Sokolov, M. Mejia, G. Sanchez, J. (2004). Soaking of substrate in alkaline water as a pretreatment for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 79 (2) 234-240.
- De León, R.(2003) Cultivation of edible and medicinal mushrooms in Guatemala, Central America. *Micología Aplicada Internacional*, 15 (1), 31-35.
- Eaton González, R.; Salmón Peralta, E. (2000). Hongos venenosos del estado de Baja California, del orden Agaricales. México: Universidad Autónoma de Baja California. Consultado 14 septiembre 2013. Disponible en : <http://alpha.rec.uabc.mx/matdidac/micologa/hongostoxicos/hongotox.htm>
- Gaitán-Hernández, R. (2008). 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.
- González, F. (2016) Determinación de las características de cultivo *in vitro* y producción de inóculo de una cepa guatemalteca de *Pleurotus albidus* (Berk.). (Tesis de graduación: Químico Biólogo). Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Hosting, R., Hosting, R., & Vásquez, L. (1998) *Etnobotánica Mam.*, Guatemala: GTZ.
- Hung, L. & Trappe, J. (1983). Growth variation between and within species of ectomycorrhizal fungi in response to pH *in vitro*. *Mycologia*, 75, 234-241
- Kirk, P. Camon, P., Stalper, J. (2008). *Dictionary of the fungus*. 10<sup>th</sup>. Edition. Trow Bringe: Cromwell Press.
- Kûes, U. (2000). *Fruiting body production in basidiomycetes*. PAIS: Springer - Verlag.

- Manzi, P., Marconi, S., Aguzzi, A. & Pizzoferrato, L. (2004). Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. *Food Chemistry*. 84: 2001-2004
- Mier, T., Toriello, C. y Ulloa, M. (2002). *Hongos microscópicos saprobios y parásitos: métodos de laboratorio*. México D.F.: Universidad Autónoma de México.
- Ministerio de agricultura y ganadería y alimentación. (2011-2013). Precios de Frijol negro producción de frijol negro. 14 pp. Consultado 14 de septiembre 2013. Disponible en :  
[http://web.maga.gob.gt/wp-content/uploads/pdf/home/diplan/fn/informacion\\_de\\_precios\\_frijol\\_negro\\_2013.pdf](http://web.maga.gob.gt/wp-content/uploads/pdf/home/diplan/fn/informacion_de_precios_frijol_negro_2013.pdf)
- Nobles, M., (1965). Identification of cultures of wood-inhabiting Hymenomycetes. *Canadian Journal of Botany* 43 1097-1139.
- Poucheret, P., Fons, F. & Rapior, S. (2006). Biological and pharmacological activity of higher fungi: 20-year retrospective análisis. *Crypt Micology*, 27 (4), 311-333.
- Reyes C. (2011). Evaluación del crecimiento micelial de cepas nativas de *Agrocybe cylindracea* (DC.:Fr) Maire, en diferentes medios de cultivo y pH. (Tesis de graduación: Químico Biólogo). Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Rangel, C. y De León, D. (2016). Caracterización del crecimiento micelial de cepas nativas de *Neolentinus ponderosus* y *N. lepideus* en diferentes pH y degradación de la madera de *Pinus* spp. (Tesis de graduación: Químicos Biólogos). Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- 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. J. (2002). Crecimiento y fructificación. (p. 59). En J. Sánchez y D. Royse. *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* México: Limusa.
- Sattayaphist, W. (2002). *Stability of some commercial mushrooms in Thailand after continuous subculture of mycelia for production*. Oslo: IMC7 Book of Abstracts.

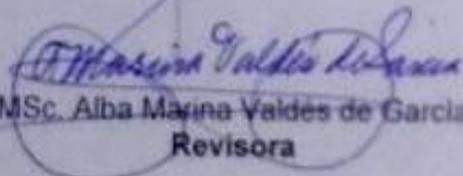
- Stamets, P. (1993). *Growing gourmet & medicinal mushrooms*. WA, USA: Ten Speed Press.
- Tormo-Molina, R.(1996). Los hongos: generalidades. Lecciones hipertextuales de botánica, España. Consultado 10 marzo 2013. Disponible en <http://www.unex.es/polen/LHB/hongos/hongos0.htm>).
- Uhart, M. Albertó, E. (2007). Morphologic characterization of *Agrocybe cylindracea* (Basidiomycetes, Agaricales) from America, Europe and Asia. *Revista Mexicana de Micología*, 24, 9-18.
- Uhart, M., Piscera, J. & Albertó, E. (2008). Utilization of new occurring strains and supplementation to improve the biological efficiency of the edible mushroom *Agrocybe cylindracea*., *Journal Industrial Microbiology Biotechnology*, 35, 595-602.
- Vázquez, A., Santiago, G. y Estrada, A. (2002). Influencia del pH en el crecimiento de quince cepas de hongos ectomicorrizógenos. *Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica*, 73(1), 1-15

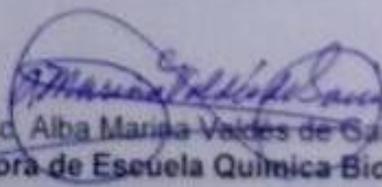
  
Lisbeth Nohemi Méndez Soto  
**Autora**

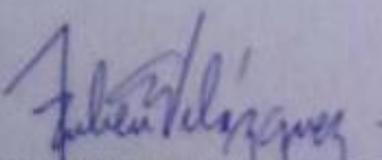
  
Licda. María del Carmen Bran  
**Asesora**

  
Lic. Osberth Morales  
**Asesor**

  
M.A. María Eugenia Paredes Sánchez  
**Revisora**

  
MSc. Alba Marina Valdes de Garcia  
**Revisora**

  
MSc. Alba Marina Valdes de Garcia  
**Directora de Escuela Química-Biológica**

  
Dr. Rubén Velásquez Miranda, PhD  
**Decano**



