

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
PROGRAMA DE EXPERIENCIAS DOCENTES CON LA COMUNIDAD
PROGRAMA EDC-BIOLOGIA

INFORME FINAL DE LA PRÁCTICA DE EDC
UNIDAD DE BIODIVERSIDAD, APROVECHAMIENTO Y TECNOLOGÍA
DE HONGOS
ENERO 2007- ENERO 2008

GRETCHEN MARIE COHN BERGER
Lic. OSBERTH MORALES
Licda. EUNICE ENRIQUEZ

I. INDICE

I. Índice	2
II. Introducción	3
III. Cuadro resumen de las actividades de EDC	3
IV. Actividades realizadas	4
- Actividades de servicio	4
- Actividades de docencia	6
- Actividades no planificadas	8
- Actividades de investigación	9
V. Resumen de investigación	14
VI. Referencias	14
VII. Anexos	15
- Fotografías de la unidad de práctica y del trabajo realizado	15
- Ejemplo de tarjeta de identificación de los ejemplares	16
- Listado de hongos incluidos en la base de datos	16
- Constancias de actividades realizadas	18

II. INTRODUCCIÓN

El presente informe final de la práctica de EDC resume las actividades realizadas en la unidad de biodiversidad, aprovechamiento y tecnología de hongos de la escuela de química biológica de la USAC. Este informe es de vital importancia ya que muestra por escrito un análisis de las actividades realizadas en este periodo, en donde se puede evidenciar todo el trabajo y avances que se lograron para beneficio de la unidad, y también se muestra un resumen con los resultados de la investigación realizada en este periodo.

III. CUADRO RESUMEN DE LAS ACTIVIDADES DE EDC

<i>Programa universitario</i>	<i>Nombre de la actividad</i>	<i>Fecha de la actividad</i>	<i>Horas EDC ejecutadas</i>
A. Servicio	Organización de la colección Y. Sommerkamp	Enero-Febrero	45
	Organización de la colección Rubén Mayorga	Abril - Junio	70
	Curación de hongos dañados de la colección Y. Sommerkamp	Enero-Febrero	20
	Curación de hongos dañados de la colección Rubén Mayorga	Abril - Junio	50
	Producción de inóculo	Abril - Mayo	60
	Organización y mantenimiento del cubículo	Abril - Agosto	15
	Medición del crecimiento de cepas	Marzo - Junio	10
	Impresión y corte de etiquetas de referencia	Julio - Agosto	15
	Herbario	Julio - Agosto	40
			Total: 325
B. Docencia	Clases magistrales con Lic. Osberth Morales	Marzo - Junio	5
	Etiquetado de cajas de la colección Y. Sommerkamp	Febrero - Marzo	10
	Etiquetado de cajas de la colección Rubén Mayorga	Abril - Junio	20
	Elaboración de etiquetas para los especímenes de col. R. Mayorga	Abril - Junio	20

	Elaboración de listado oficial de ambas micotecas	Abril - Junio	13
	Elaboración de carteles informativos	Febrero - Marzo	5
	Organización de literatura	Mayo - Junio	2
	Asignación de números de registro	Marzo - Junio	55
	Asistencia a la conferencia "Epidemiología, Diagnostico y tratamiento de la Leptospirosis humana y en animales"	Junio	5
	Asistencia al Curso- Taller "Taxonomía de Ascomycetes"	26 - 28 Junio	30
			Total: 165
C. Investigación	Preparación de agar PDA	(31 mayo) 26 julio	20
	Lavado de maicillo	(13 junio) 8 agosto	35
	Pesado y empaquetado del maicillo	(14 junio) 9 agosto	45
	Reproducción de la cepa	(1 junio) 27 julio	25
	Producción de inóculo	(15 junio) 10 agosto	50
	Control de crecimiento del micelio	17 agosto - 8 octubre	5
	Remojado del sustrato	10 octubre - 25 octubre	5
	Pesado del sustrato + suplementos	10 octubre - 25 octubre	25
	Autoclaveado del sustrato con suplemento	11 octubre - 23 octubre	40
	Inoculado del sustrato con suplemento	12 octubre - 25 octubre	50
	Abertura de respiraderos	22 y 26 octubre	5
	Control de crecimiento y contaminación	29 octubre - 7 diciembre	25
	Fructificación	7 diciembre- 23 enero	5
	Cosechas	12, 14, 17, diciembre, 04, 23 enero	15
			Total: 350

IV. ACTIVIDADES REALIZADAS

ACTIVIDADES DE SERVICIO

- No. 1

Organización micoteca Ivonne Sommerkamp

Objetivo: Organizar los especímenes de dicha colección.

Procedimiento: Revisar los especímenes según la base de datos, separar los que están en mal estado y darles tratamiento.

Resultados: Se logró organizar y curar toda la colección, y en buen estado se lograron conservar 898 ejemplares, el resto fue descartado.

Limitaciones: El mal estado en el que se encontraba la colección no hizo posible rescatarla por completo, por lo que los ejemplares que se encontraban en muy mal estado o la muestra estaba destruida se descartaron, disminuyendo el número total de ejemplares valiosos para la colección.

- No. 2

Organización micoteca Rubén Mayorga

Objetivo: Organizar los especímenes de dicha colección.

Procedimiento: Revisar los especímenes según la base de datos, separar los que están en mal estado y darles tratamiento.

Resultados: Se han revisado y organizado los ejemplares procurando dejarlos en buen estado.

Limitaciones: La mayoría de los ejemplares necesitan tratamiento ya que se encuentran en malas condiciones a pesar de que ya se había curado la colección con anterioridad.

- No. 3

Curación de hongos dañados de la micoteca Y. Sommerkamp

Objetivo: Dar tratamiento a las muestras dañadas para que se conserven por más tiempo.

Procedimiento: A las muestras en mal estado se les da el tratamiento predeterminado por el departamento para que no contaminen las demás muestras y se puedan conservar en buen estado.

Resultados: Se obtuvo una colección libre de contaminantes que la podían dañar, logrando rescatar la mayoría de los ejemplares afectados.

Limitaciones: El espacio para tratar las muestras era limitado, por lo que se les tenía que dar tratamiento en grupos.

- No. 4

Curación de hongos dañados de la micoteca Rubén Mayorga

Objetivo: Dar tratamiento a las muestras dañadas para que se conserven por más tiempo.

Procedimiento: A las muestras en mal estado se les da el tratamiento predeterminado por el departamento para que no contaminen las demás muestras y se puedan conservar en buen estado.

Resultados: Se eliminaron los contaminantes que podían dañar a la colección logrando rescatar la mayoría de los ejemplares afectados.

Limitaciones: El espacio para tratar las muestras era limitado, por lo que se les tenía que dar tratamiento en grupos.

- **No. 5**

Producción de inóculo de hongos

Objetivo: Cooperar en la producción de semilla de cepas nativas de *Pleurotus* spp que se distribuye a las comunidades campesinas.

Procedimiento: Elaborar medios de cultivo para la inoculación de las cepas.

Resultados: Se contribuyó en el manejo sostenible de las comunidades campesinas que cultivan hongos como medio de subsistencia, inoculando aproximadamente un quintal de maicillo

Limitaciones: El espacio y el equipo están limitados.

- **No. 6**

Organización y mantenimiento del cubículo

Objetivo: Lograr tener un lugar de trabajo más ordenado, organizado y con más espacio.

Procedimiento: Se organizo y limpió todo el material de la micoteca, se asigno un lugar para libros, uno para material y equipo y el espacio para la micoteca.

Resultados: Al estar más ordenada el área de trabajo se puede encontrar el equipo más fácilmente, esta más accesible todo el material, y hay más espacio.

Limitaciones: El tiempo esta limitado por lo que solo se puede reorganizar unas dos veces por semana.

ACTIVIDADES DE DOCENCIA

- **No. 1**

Clases magistrales con Lic. Osberth Morales

Objetivo: Enriquecimiento del conocimiento sobre hongos, cómo identificarlos, morfología y taxonomía.

Procedimiento: Asistir a clases magistrales impartidas por Lic. Osberth Morales los martes de cada semana. Y leer los libros recomendados por Lic. Osberth Morales.

Resultados: Se ha logrado adquirir nuevos conocimientos para nuestro enriquecimiento profesional sobre cómo identificar y trabajar con hongos.

Limitaciones: El tiempo en común es muy escaso.

- **No. 2**

Realización de etiquetas de identificación de las cajas de la colección de Y. Sommerkamp

Objetivo: Identificar el contenido de las cajas de la colección.

Procedimiento: Elaboración de tarjetas de identificación informativas.

Resultados: Se logró identificar el contenido de los armarios y el de cada caja, también se logró una mayor organización del contenido de la micoteca para facilitar estudios científicos.

Limitaciones: Al ingresar un nuevo género se debe cambiar la tarjeta.

- **No. 3**

Realización de etiquetas de identificación de las cajas de la colección de Rubén Mayorga

Objetivo: Identificar el contenido de las cajas de la colección.

Procedimiento: Elaboración de tarjetas de identificación informativas.

Resultados: Se ha logrado una mayor organización del contenido de la micoteca para facilitar estudios científicos.

Limitaciones: Al ingresar un nuevo género se debe cambiar la tarjeta.

- **No. 4**

Elaboración de etiquetas para los especímenes de la colección Rubén Mayorga.

Objetivo: Cada ejemplar debe poseer una etiqueta nueva con toda la información necesaria.

Procedimiento: Cada ejemplar con su nuevo número de registro es ingresado a la base de datos donde se desarrolla su respectiva etiqueta.

Resultados: Se ha logrado que los ejemplares de la colección posean una etiqueta general de identificación.

Limitaciones: No han podido ser impresas debido a la falta de tinta.

- **No. 5**

Elaboración de listado oficial de ambas micotecas

Objetivo: Crear un listado unificado de información.

Procedimiento: Cada ejemplar ingresado es cuantificado por género y especie en una base de datos.

Resultados: Se proporcionó a la unidad un listado actualizado de ejemplares existentes en la colección.

Limitaciones: Todavía no se ha logrado unificar ambas micotecas por lo que no se ha podido terminar dicho listado.

- **No. 6**

Elaboración de carteles informativos para los armarios de la micoteca

Objetivo: Identificar el contenido de los armarios de la colección.

Procedimiento: Elaboración de carteles de identificación informativos

Resultados: Se realizaron carteles de identificación de la micoteca Y. Sommerkamp, junto con los ejemplares de la micoteca Rubén Mayorga para facilitar el manejo de la micoteca a futuros usuarios.

Limitaciones: Todavía no se han podido imprimir por falta de tinta.

- **No 7**

Organización y reparación de la literatura del departamento

Objetivo: Rescatar la literatura valiosa de la unidad.

Procedimiento: Reparar los libros que se encuentren en mal estado y organizarlos.

Resultados: Se logró organizar los libros presentes en la micoteca, formando una pequeña biblioteca en buen estado para futura referencia.

Limitaciones: No se han podido agregar los libros que se encuentra en el cubículo de profesores.

- **No 8**

Asignación de número de registro a cada ejemplar de la colección

Objetivo: Que cada ejemplar tenga un número de registro oficial en la micoteca.

Procedimiento: En la base de datos se agrega el número de ejemplar asignado, se escribe en la bolsa y en la tarjeta del ejemplar.

Resultados: Se ha logrado asignar número de registro a todos los ejemplares de la micoteca Y. Sommerkamp, y a los ejemplares de la micoteca Rubén Mayorga.

Limitaciones: El tiempo que requiere la manipulación de cada ejemplar.

- **No. 9**

Asistencia a la conferencia de "Epidemiología, Diagnostico y tratamiento de la Leptospirosis humana y en animales"

Objetivo: Enriquecimiento de conocimientos sobre el tema.

Procedimiento: Asistencia a las conferencias organizadas por el departamento de microbiología de la fac. de CCQQ y de veterinaria y por el instituto de medicina tropical "Pedro Kourí" de la Habana, Cuba. La cual se realizó en el auditorium de la facultad de veterinaria.

Resultados: Se logró adquirir nuevos conocimientos para nuestro enriquecimiento profesional sobre esta enfermedad.

Limitaciones: El horario poco conveniente de las conferencias y el exceso de asistentes lo que hacia el espacio limitado

- **No. 10**

Asistencia al Curso- Taller "Taxonomía de Ascomycetes"

Objetivo: Enriquecimiento de conocimientos sobre el tema.

Procedimiento: Asistencia al curso impartido por la Dra. Rosario Medel del instituto de Ecología de México.

Resultados: Se logró adquirir nuevos conocimientos para nuestro enriquecimiento profesional con respecto a estos hongos.

Limitaciones: El horario tan prolongado del curso.

ACTIVIDADES NO PLANIFICADAS

- **No 1**

Medición del crecimiento de distintas cepas en los medios de cultivo en estudio

Objetivo: Llevar un control del crecimiento de las cepas en distintos medios de cultivo.

Procedimiento: Cada dos días se mide el crecimiento del micelio de las cepas, de estas medidas se obtiene un promedio de crecimiento.

Resultados: Ayudar con los proyectos de investigación que lleva a cabo el departamento.

- **No 2**

Impresión y corte de etiquetas de referencia de los especímenes.

Objetivo: Crear etiquetas que identifiquen a cada ejemplar de la colección.

Procedimiento: Se imprimieron las etiquetas de referencia y luego se cortaron.

Resultados: Se obtuvo más de tres mil etiquetas individuales.

Limitaciones: Nos proporcionaron la tinta con mucho tiempo de retraso, lo que atrasó la actividad de unión de las micotecas.

ACTIVIDADES DE INVESTIGACIÓN (Evaluación de la producción de cuerpos fructíferos de *Neolentinus Ponderosus* sobre aserrín de *Pinus* sp. y dos suplementos nutritivos)

- **No. 1**

Preparación de agar para cajas de petri

Objetivo: Preparar un medio predeterminado en el cual pueda crecer el micelio de la cepa 02.2002 de *Neolentinus ponderosus*.

Procedimiento: Se prepara el agar papa dextrosa en los laboratorios de microbiología cuidando de moverlo constantemente para que no se queme. Luego se vierte sobre dos erlenmeyers y se lleva a autoclavar por 30 minutos para eliminar todos los contaminantes posibles. Se espera a que se entibie y luego en la campana se vierte sobre cajas de petri debidamente identificadas y se espera a que termine de enfriar, para ya inocularlo con la cepa.

Resultados: Se ha logrado con éxito preparar todo el agar que se ha necesitado.

Objetivos alcanzados: Hasta el momento se ha logrado preparar el medio requerido para el crecimiento del micelio de la cepa.

Limitaciones: La falta de espacio, ya que se debe esperar a que este libre el autoclave y la campana para poder trabajar.

- **No. 2**

Lavado del maicillo

Objetivo: Eliminar al máximo posible todos los contaminantes que trae el maicillo.

Procedimiento: Se toma una pequeña porción de maicillo y se lava con suficiente agua 6 veces aproximadamente, cada vez se debe colar el maicillo, eliminar el agua, y eliminar los contaminantes flotantes. Este procedimiento se realiza hasta que el agua salga casi transparente. Luego se tiende el maicillo sobre papel kraft al sol, para que se seque. Y poder pesarlo.

Resultados: Se ha logrado lavar y liberar de contaminantes aproximadamente 50 libras de maicillo.

Objetivos alcanzados: Se ha logrado liberar de contaminantes tales como gorgojos, tierra, otro tipo de granos, etc. A el maicillo que se va a utilizar para el inoculado de la cepa.

Limitaciones: Falta de espacio, ya que se requiere el uso constante de los lavamanos de los laboratorios de microbiología y no se puede trabajar si hay prácticas de laboratorio.

- **No. 3**

Pesado y empaquetado de maicillo:

Objetivo: Preparar paquetes de 100 g de maicillo en los cuales se va a inocular el micelio que creció en las cajas de petri.

Procedimiento: Cuando ya esta seco el maicillo, se van pesando bolsitas de 100 g las cuales se envuelven en papel kraft y se llevan a autoclavar por aproximadamente 15 minutos.

Resultados: Se han logrado realizar 80 paquetes de 100 g.

Objetivos alcanzados: Se ha logrado realizar 80 paquetes libres de contaminatnes.

Limitaciones: Falta de espacio para el pesado y el empaquetado, ya que hay que esperar a que se libere un laboratorio para trabajar.

- **No. 4**

Reproducción de la cepa en estudio:

Objetivo: Reproducir la cepa 02.2002 de *Neolentinus ponderosus* .

Procedimiento: Las cajas de petri con agar del paso 1, se inoculan con una pequeña porción de micelio. Esto se realiza en las campanas de LAMIR. Esto consiste en tomar una caja de petri con el micelio del cepario, partir por medio de un asa el agar en cuadros de aproximadamente 1x1 cm y en las nuevas cajas con agar se coloca 1 cuadrado por caja para que crezca el micelio. Se sellan con parafilm y se colocan en la incubadora. Luego se esperan aproximadamente 3 semanas para que el micelio se extienda por toda la caja de petri.

Resultados: Se inocularon 25 cajas de petri, de las cuales 9 se encontraron libres de contaminantes.

Objetivos alcanzados: Se logró reproducir la cepa, a pesar de las pérdidas, se logro obtener una buena cantidad de cajas de petri utilizables.

Limitaciones: La contaminación que sufrieron la mayoría de las cajas de petri, debido a que la campana se encuentra contaminada.

- **No. 5**

Producción de inóculo:

Objetivos: Incrementar y fortalecer el micelio que se va a inocular en el sustrato con sus respectivos suplementos nutritivos, para que crezca en menor tiempo.

Procedimiento: Los paquetes de 100 g ya inoculados se llevan al área de trabajo de la campana. Dentro de la campana, las cajas de petri con el micelio crecido, se cortan con un asa en cuadrillos de aproximadamente de 1x1 cm. Luego se abren los paquetes de 100 g de maicillo, se desprende (ya que luego del autoclave el maicillo se pega por la humedad), luego a cada bolsita se le agregan aproximadamente 6 cuadrillos de agar con micelio y se vuelven a sellar.

Estos paquetes luego se colocan en la incubadora a 26°C y se espera aproximadamente 7 semanas para que el micelio cubra todo el maicillo.

Resultados: Ya se logró obtener una tanda de paquetes libres de contaminación.

Objetivos alcanzados: Ya se logró incrementar y fortalecer el micelio, el cual ya está listo para ser inoculado en los sustratos de la investigación.

Limitaciones: El principal problema fue que la primera tanda de paquetes inoculados se contaminó y se perdió el 100 %. Por lo que se tuvo que repetir todo el procedimiento anteriormente descrito.

- No. 6

Control de crecimiento del micelio

Objetivos: Realizar un control cada 2 días del crecimiento del micelio en el maicillo. Verificar si existe contaminación para desechar los paquetes contaminados.

Procedimiento: Se realizaron visitas periódicas a la incubadora ubicada en el LAMIR en donde se depositaron los paquetes. Se habrían los paquetes cuidando de no contaminar el maicillo, se analizó el crecimiento y se identificaron paquetes contaminados los cuales se descartaron.

Resultados: Se logró identificar contaminación en ciertos paquetes los cuales fueron descartados antes de que contaminaran más, por lo que se pudo obtener un buen porcentaje de paquetes útiles.

Objetivos alcanzados: Se logró controlar el crecimiento de micelio y se eliminaron los paquetes contaminados.

Limitaciones: Los contaminantes afectaron el crecimiento del hongo.

- No. 7

Remojado del sustrato

Objetivos: Proporcionar al aserrín un buen porcentaje de humedad para el óptimo crecimiento del hongo.

Procedimiento: Se puso a remojar aproximadamente 1 ½ costales de aserrín con 3 cubetas de agua. También se puso a remojar la cebada y el salvado de arroz. Esto se dejó reposar durante la noche.

Resultados: Se obtuvo un porcentaje adecuado de humedad para el sustrato con sus suplementos.

Objetivos alcanzados: Se logró proporcionar un buen porcentaje de humedad al sustrato con suplemento para el óptimo crecimiento del hongo.

Limitaciones: El escaso espacio para colocar todo el aserrín y los sustratos en remojo.

- No. 8

Pesado del sustrato

Objetivos: Pesar bolsas con 500 gramos de aserrín y con 5, 10 y 20% de cebada y salvado de arroz, con 10 repeticiones cada uno.

Procedimiento: Se pesaron bolsas de aserrín de 500 g a las cuales se les agregó 5, 10 y 20% de ambos suplementos, con 10 repeticiones para cada tratamiento.

Resultados: Se obtuvieron 70 bolsas de 500g cada una.

Objetivos alcanzados: Se lograron pesar 10 repeticiones de cada tratamiento.

Limitaciones: El escaso espacio para manipular las bolsas y el limitado equipo para pesar las bolsas.

- **No. 9**

Autoclaveado

Objetivos: Liberar de contaminaciones las 70 bolsas con sustrato para que cuando se inocule el micelio no se contamine o se inhiba el crecimiento por contaminaciones.

Procedimiento: Se introdujeron las 70 bolsas en el autoclave del departamento en diferentes tandas ya que no cabían en un solo autoclave.

Resultados: Se logró autoclavar las 70 bolsas con sustrato.

Objetivos alcanzados: Se logró liberar de contaminantes las 70 bolsas con sustrato y suplemento.

Limitaciones: El poco tiempo en que estaba disponible el autoclave, la poca cantidad de bolsas que se podían meter cada vez.

- **No. 10**

Inoculado del sustrato

Objetivos: Inocular con el maicillo infectado de micelio, las bolsas con aserrín como sustrato y salvado de arroz y cebada como suplemento alimenticio en diferentes proporciones.

Procedimiento: Se introdujeron en la campana del departamento de microbiología, las bolsas autoclaveadas con sustrato y sus diferentes proporciones de suplemento alimenticio y los paquetes de maicillo infectado con micelio. Luego el paquete de maicillo se repartió equitativamente entre 4 bolsas de sustrato con suplemento, estas se cerraron y se identificaron, para luego trasladarlas al cuarto de incubación. Este procedimiento se realizó con las 70 bolsas

Resultados: Se logró inocular de maicillo con micelio las 70 bolsas de sustrato con suplemento.

Objetivos alcanzados: Se logró cumplir el objetivo de inocular todas las bolsas de sustrato con suplemento en las diferentes concentraciones.

Limitaciones: El poco espacio, el tiempo limitado para el uso de la campana.

- **No. 11**

Apertura de respiraderos

Objetivos: Realizar pequeñas aperturas en cada bolsa para ventilación del hongo.

Procedimiento: Con un bisturí esterilizado se realizaron pequeñas aperturas en vertical a las bolsas, luego se cubrieron con gasa estéril la cual se sujetó con masking tape.

Resultados: Se logró abrir respiraderos a las 70 bolsas.

Objetivos alcanzados: Se cumplió con el objetivo de abrir respiraderos a cada bolsa de sustrato con suplemento y micelio, para optimizar el crecimiento del hongo.

Limitaciones: El espacio limitado para realizar dicha actividad.

- **No. 12**

Control de crecimiento y de contaminación

Objetivos: Controlar que se este dando con éxito el crecimiento del micelio en los sustratos y eliminar las bolsas contaminadas.

Procedimiento: Se realizaron cuadros de control de cada bolsa en donde se indica el tipo de crecimiento y si existe contaminación.

Resultados: Se logro realizar un control periódico al crecimiento del micelio.

Objetivos alcanzados: Se pudo realizar un control constante del crecimiento y se lograron eliminar las bolsas contaminadas para evitar que contaminaran a otras.

Limitaciones: Se tuvieron que eliminar bastantes bolsas ya que en algunas no se reporto crecimiento y otras tuvieron un alto grado de contaminación.

- **No. 13**

Fructificación

Objetivos: Observar el tiempo de fructificación del hongo.

Procedimiento: Periódicamente se regaron los hongos y se observó si existía fructificación para luego esperar a que maduraran para poder cortarlos.

Resultados: Se observó que el periodo de fructificación duro del 7 de diciembre al 23 de enero.

Objetivos alcanzados: Monitorear regularmente la fructificación y el crecimiento de los cuerpos fructíferos del hongo *Neolentinus ponderosus*.

Limitaciones: Debido a que se utilizó poca semilla, para inocular los sustratos el hongo tardo casi dos meses en producir cuerpos fructíferos.

- **No. 14**

Cosecha

Objetivos: Cortar los hongos, pesarlos y medirlos.

Procedimiento: Los hongos que se encontraban en estado maduro se cortaron, se midió el diámetro, ancho y largo, y luego se pesaron.

Resultados: Se lograron obtener suficientes datos para poder realizar una comparación estadística y determinar que sustrato es el más eficiente.

Objetivos alcanzados: Se logro cortar, pesar y medir todos los hongos que fructificaron del 7 de diciembre al 23 de enero en donde se obtuvieron 2 cosechas para dos tratamientos.

Limitaciones: Disponibilidad de una balanza analítica para medir su peso exacto.

V. RESUMEN DE INVESTIGACIÓN

Se realizó una evaluación del crecimiento micelial y la formación de cuerpos fructíferos de *Neolentinus ponderosus* el cual pertenece a la familia Polyporaceae del Reino fungi; sobre aserrín de pino con cebada y salvado de arroz al 5, 10 y 20 % como suplementos nutritivos, evaluando así la eficiencia biológica de estos sustratos. Con el propósito de encontrar un sustrato adecuado para el cultivo de este hongo el cual a su vez, disminuya los costos y el tiempo de producción, ya que es un hongo comestible nativo de Guatemala con un alto potencial de producción, y con altos valores nutricionales como una importante alternativa alimenticia. Para este proceso se sembró maicillo infectado con micelio de la cepa 02.2002, en 70 paquetes de sustrato con suplemento en las diferentes concentraciones. Los resultados de este procedimiento mostraron que el tratamiento de aserrín con 5% de salvado de arroz es el sustrato más eficiente para el cultivo de este hongo. Se recomienda ampliamente la utilización de este sustrato ya que es de fácil utilización y representa bajos costos.

VI. REFERENCIAS

- Cobar, O. Revista científica 2005. Instituto de investigaciones químicas y biológicas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC. Vol. XVII.
- Lic. Osberth Morales. Investigador, Docente. Unidad de diversidad, aprovechamiento y tecnología de hongos.
- Enríquez, Eunice y Alquijay, Billy, 2007 Programa analítico. Programa de EDC Biología. Anexo No. 9: Guía para elaborar el informe final de la práctica de EDC integrado (Docencia, servicio, investigación).. Facultad de Ciencia Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.

VII. ANEXOS

1. FOTOGRAFÍAS DE LA UNIDAD DE PRÁCTICA Y DEL TRABAJO REALIZADO



Foto 1. Colección antes de ser organizada



Foto 2. Colección después de ser organizada



Foto 3. Ejemplares en mal estado



Foto 4. Ejemplares ordenados alfabéticamente

2. EJEMPLO DE TARJETA DE IDENTIFICACION DE LOS EJEMPLARES

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA ESCUELA DE QUIMICA BIOLOGICA MICOLOGIA	MMG-2351
FAMILIA: NOMBRE CIENTIFICO: <i>Pulveroboletus aff ravenellii</i> NOMBRE COMUN: LOCALIDAD: Tecpán, Chimaltenango COLECTOR: Roberto Cáceres HABITAT: <i>Pinus sp, Quercus sp</i> OBSERVACIONES:	REG. No. 195.2002 ALTITUD: FECHA COLECTA: 06-10-02 CLASIFICADO POR: R. Cáceres No. Ejemplares: 2

Cuadro 1. Ejemplo de tarjeta de identificación de un ejemplar

3. LISTADO DE HONGOS INCLUIDOS EN LA BASE DE DATOS

4. CONSTANCIAS DE ACTIVIDADES REALIZADAS

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
PROGRAMA DE EXPERIENCIAS DOCENTES CON LA COMUNIDAD
PROGRAMA EDC-BIOLOGIA

INFORME FINAL DE INVESTIGACION

“Evaluación de la producción de cuerpos fructíferos de *Neolentinus Ponderosus* sobre aserrín de *Pinus* sp. y dos suplementos nutritivos”

GRETCHEN MARIE COHN BERGER
Lic. OSBERTH MORALES
Licda. EUNICE ENRIQUEZ

I. INDICE

I. Índice	2
II. Resumen	3
II. Introducción	4
IV. Antecedentes	5
4.1 Historia	5
4.2 Características generales	5
4.3 Descripción biológica del hongo <i>N. ponderosus</i>	5
4.4 Características taxonómicas y morfológicas	6
4.5 Hábitat, distribución y nicho ecológico	7
4.5.1 Distribución mundial	7
4.5.2 Distribución en Guatemala	7
4.6 Ciclo de vida	7
4.7 Estudios anteriores	8
4.8 Cultivo de <i>Neolentinus</i> en diferentes sustratos	8
4.8.1 Aserrín	9
4.8.2 Humedad	9
4.8.3 Temperatura	9
4.9 Estimación de la eficiencia biológica	10
V. Justificación	11
VI. Objetivos	12
VII. Hipótesis	12
VIII. Materiales y métodos	13
8.1 Método	13
8.1.1 Reproducción del micelio	13
8.1.2 Preparación del sustrato	13
8.1.3 Inoculación del sustrato	13
8.1.4 Incubación y fructificación	13
8.2 Diseño	14
8.2.1 Población	14
8.2.2 Muestra	14
8.3 Técnicas a usar en el proceso de investigación	14
8.3.1 Recolección de datos	14
8.3.2 Análisis de datos	15
8.4 Instrumentos para registro y medición de las observaciones	15
8.4.1 Recursos físicos e institucionales	15
8.4.2 Equipo y cristalería	15
8.4.3 Medios de cultivo, reactivos, sustrato y suplementos	15
IX. Resultados	16
9.1 Crecimiento miceliar en etapa de incubación	16
9.2 Eficiencia biológica y tasa de producción	18
X. Discusión	23
XI. Conclusiones	25
XII. Recomendaciones	25
XIII. Referencias bibliográficas	26
XIV. Anexos	27

“Evaluación de la producción de cuerpos fructíferos de *Neolentinus Ponderosus* sobre aserrín de *Pinus* sp. y dos suplementos nutritivos”

II. RESUMEN

Se realizó una evaluación del crecimiento miceliar y la formación de cuerpos fructíferos de *Neolentinus ponderosus* el cual pertenece a la familia Polyporaceae del Reino fungi; sobre aserrín de pino con cebada y salvado de arroz al 5, 10 y 20 % como suplementos nutritivos, evaluando así la eficiencia biológica de estos sustratos. Con el propósito de encontrar un sustrato adecuado para el cultivo de este hongo el cual a su vez, disminuya los costos y el tiempo de producción, ya que es un hongo comestible nativo de Guatemala con un alto potencial de producción, y con altos valores nutricionales como una importante alternativa alimenticia. Para este proceso se sembró maicillo infectado con micelio de la cepa 02.2002, en 70 paquetes de sustrato con suplemento en las diferentes concentraciones. Los resultados de este procedimiento mostraron que el tratamiento de aserrín con 5% de salvado de arroz es el sustrato más eficiente para el cultivo de este hongo. Se recomienda ampliamente la utilización de este sustrato ya que es de fácil utilización y representa bajos costos.

III. INTRODUCCIÓN

En los últimos años ha habido un gran auge por el cultivo de hongos comestibles, ya que proporcionan un gran aporte nutritivo y económico. La ventaja que tiene este cultivo es que utiliza desechos de las actividades productivas agropecuarias, generalmente de fácil obtención y de bajo precio, para la producción de un alimento rico, nutritivo y beneficioso para la salud (Albertó, 2007).

Los hongos comestibles, poseen el doble del contenido de proteínas que los vegetales y disponen de los nueve aminoácidos esenciales, contando además con leucina y lisina (ausente en la mayoría de los cereales). Poseen alta cantidad de minerales (superando a la carne de muchos pescados) y vitaminas. Además presentan sus bajas calorías y carbohidratos (Portal Bioceánico, 2006).

Se han realizado intentos de producir la cepa de *Neolentinus* en medios para hongos similares, pero se obtiene una baja producción debido a que dichos sustratos son poco eficientes para el desarrollo de este hongo (Barrios, 2002). Por lo que con esta investigación se pretende encontrar un sustrato suplementado adecuado que brinde un alto porcentaje de rendimiento biológico y que sea económico para la producción de *Neolentinus ponderosus*.

Se comparó el aserrín de *Pinus sp*, con dos suplementos alimenticios que son la cebada y el salvado de arroz. Se determinó el mejor rendimiento en cuanto a producción en base al peso en gramos del hongo por unidad de sustrato, diámetro de los carpóforos en centímetros, el número de setas producidas por unidad de sustrato, y se estableció la comparación del rendimiento de cada tratamiento, evaluando así, la eficiencia biológica (Barrios, 2002).

IV. ANTECEDENTES

4.1 Historia.

El cultivo de hongos se remonta a más de 1,000 años en Asia y 1,700 en Europa (siendo considerados los griegos como pioneros en la materia. Las civilizaciones romanas los utilizaron como veneno y los aztecas y mayas (entre otros) en rituales religiosos (Figueroa, 2004).

El cultivo de hongos con fines comerciales ha sido poco explotado en Guatemala. En 1977 se produjo *Agaricus bisporus* (Champiñón) en pequeña escala. En la década de los setentas esta actividad se estableció en escala comercial. La producción de *Agaricus* en Guatemala, oscila alrededor de los 68,504 kg/año, de lo cual el 70% se consume en el país y el 30% se exporta a El Salvador y Honduras. En 1984 se estableció en Guatemala el cultivo de *Lentinula edodes* (Shiitake), usando aserrín de encino como sustrato. Se calcula que se producen 34,020 kg/año, de los cuales se exporta el 80% y se comercializa el 20% (Mahler, 2006).

La producción comercial de *Pleurotus* en Guatemala dio inicio en 1986, y se producen 29,580 kg/año, de los cuales el 90% es consumido en el país, el resto se exporta (Mahler, 2006).

4.2 Características Generales.

Los hongos son un grupo de organismos con muchas características especiales que los diferencian de los demás: pueden estar formados por una célula (unicelulares) o por muchas (pluricelulares); no elaboran su propio alimento mediante fotosíntesis (carecen de clorofila), sino que viven a expensas de otros organismos como saprofitos (sobre materia en descomposición), parásitos (sobre seres vivos, causándoles enfermedades o muerte) o en simbiosis (asociados con otros seres vivos para beneficio mutuo); no poseen capacidad para desplazarse o moverse sobre el medio o superficie en que crecen, por todo esto se agrupan en el Reino Fungi (Mata, 1999). Aunque no se conoce con exactitud el número de especies de hongos, hasta ahora se han descrito aproximadamente 100.000 en todo el mundo; sin embargo se cree que este número puede llegar a incrementarse hasta 1.5 millones (Mata, 1999).

4.3 Descripción Biológica del hongo *Neolentinus ponderosus*

Reino: Fungi

Subdivision: Basidiomycota

Clase: Basidiomycetes

Orden: Polyporales

Familia: Polyporaceae

Genero: *Neolentinus* redhead & ginns, 1985

Especie: *ponderosus*.

Anteriormente, las especies que conforman el género *Neolentinus* estuvieron incluidas dentro del género *Lentinus*. Sin embargo, Redhead & ginns, indicaron que si bien, las especies de *Neolentinus* no tienen diferencias microscópicas significativas con las de *Lentinus*, el primero causa pudrición café en la madera y el segundo causa pudrición blanca. Esta característica permitió separar ambos géneros (Mahler, 2006; Wood et al, 2007).

4.4 Características Taxonómicas y morfológicas del hongo *Neolentinus ponderosus*

- **Píleo:** De 7.0 a 30.0 cm de ancho, convexo, puede ser plano-convexo, el disco en la madurez típicamente caído a umbilicado; margen curvado a plano; superficie seca, húmeda a subhúmeda; marrón oscuro a marrón claro, tiende a tornarse amarillo con la manipulación con la edad, algunas veces llegando a ser café a anaranjado en especímenes viejos; el contexto es blanco, con tonos color café-rojizo-rosado, firme, de 1.5cm de grueso, cambia de amarillo a marrón claro cuando se le causa lesión; margen ondulado, semienrollado, a veces apendiculado, olor fungico afrutado, dulce; sabor dulce, agradable (Moreno et al, 1996; Wood et al, 2007). La superficie del píleo está esencialmente formada por un epicutis, en muchos casos el píleo es fibroso radialmente, e scamoso o densamente piloso (Mahler, 2006).
- **Lamelas:** Laminas adnatas a decurrentes, aserruladas, gruesas, anchas, frecuentes; cercanas durante la juventud, mas distantes con la edad, de 1.0 cm aproximadamente, color crema llegando a café; bordes serrados. Las láminas son triangulares en sección (Wood et al, 2007).
- **Estípite:** 6.0-16.0 cm de largo, grueso, sólido, unido centralmente, ligeramente atenuado hacia la base; color crema, la porción mas baja cubierta con pequeñas escamas, con el tiempo coloreadas de marrón a naranja. En los estados tempranos de desarrollo las escamas son ligeramente mas claras; no existen restos de velo a manera de anillo (Moreno et al, 1996; Wood et al, 2007).
- **Esporas:** 8.5-10.0x3.5-4.0 μm , hialinas en KOH, cilíndricas, con una depresión suprahilar, lisas, casi elípticas vistas desde enfrente, suaves, delgadas, con un evidente apéndice, color crema a oscuras (Wood et al, 2007).
- **Himenio:** Es lamelar, decurrente al estípite (Mahler, 2006).
- **Hifas:** Hifas generativas, con fíbulas, aunque es frecuente encontrar hifas esclerificadas especialmente hacia el centro del píleo. El sistema hifal generalmente es dimítico. El tipo de hifas secundarias, está constituido por hifas generativas y esqueléticas o ligadoras-esqueléticas. Las basidiosporas generalmente son cilíndricas, hialinas, inamiloides, de pared delgada y lisa. (Mahler, 2006)
- **Sustrato:** Terrícola, pero cerca de tocones o bien lignícola (tronco de

Pinus sp) (Moreno et al, 1996)

- **Vegetación:** En bosque mixto con *Pinus*, *Quercus*, *Arbutus*, *Juniperus*, entre otros. (Moreno et al, 1996)
- **Micofagia:** Ardillas (*Spermophilus* spp) (Moreno et al, 1996)
- **Fenología:** Mayo y Junio (Albertó, 2007).

4.5 Hábitat, distribución y nicho ecológico.

Estos hongos son solitarios, encontrados en la base de coníferas y en troncos de árboles muertos. La colonización de las maderas duras es más rápida que en maderas suaves, debido al alto contenido de lignina y almidón que estos contienen (Mata, 1999; Figueroa, 2004). No crece en sustratos de maderas extraídas de zonas de suelos contaminadas con altas concentraciones de toxinas o metales pesados (Figueroa, 2004).

Es muy raramente encontrado en bajas altitudes, la fructificación ocurre desde finales de primavera a finales de verano (Albertó, 2007).

4.5.1 Distribución mundial.

Neolentinus ponderosus, es una especie que se encuentra en la región pacífico-Noroeste de América del Norte, también se ha reportado en México. Se encuentra creciendo sobre troncos podridos de coníferas, especialmente *Pinus ponderosa*. En México se ha recolectado sobre tocones de pino o encino en tiempo secos, con un poco de humedad en el suelo (Mahler, 2006).

4.5.2 Distribución en Guatemala.

En Guatemala *N. Ponderosus* se conoce como kulicho (lengua Cluj) u hongo de verano, específicamente en el municipio de San Mateo Ixtatán, Huehuetenango. Se recolecta al final de la época seca (Mahler, 2006).

La cepa *Neolentinus ponderosus* (02.2002) que se utilizará para el presente estudio fue colectada en San Mateo Ixtatán, Huehuetenango a una altitud de 2,800 msnm aproximadamente, fue encontrada sobre troncos de *Pinus rudis*. Posteriormente a su colección, se aisló utilizando pequeñas porciones del cuerpo fructífero, hasta lograr la nueva formación de micelio, así la cepa puede ser conservada prolongando su vida.

4.6 Ciclo de vida.

El ciclo de vida de los hongos se caracteriza por presentar una fase somática, constituida por células hifales metabólicamente activas, con potencial de crecimiento y diferenciación y la fase reproductora sexual o asexual, integrada por hifas diferenciadas.

El ciclo se inicia con la germinación de las esporas sexuales (producidas por los cuerpos reproductores), las cuales por lo general son dispersadas por el viento. La germinación depende de un sustrato adecuado y de condiciones ambientales favorables como la acumulación de agua, misma que produce un hinchamiento

de la espora y la emisión de un tubo germinal que desarrolla células filamentosas denominadas hifas. Estas células tienen un crecimiento radial a partir de la ramificación del tubo germinal que emerge de la espora madre, formando una colonia circular de apariencia algodonosa denominada micelio, que constituye el verdadero hongo. El micelio coloniza el sustrato y lo degrada, absorbiendo y acumulando los nutrientes necesarios para su crecimiento y para el posterior desarrollo de las estructuras reproductoras (Stamets, 1993).

La fructificación de los hongos superiores (iniciación del primordio y su morfogénesis), constituye uno de los eventos reproductivos sexuales, esenciales para la multiplicación de las especies y su dispersión a nuevos sustratos, o la resistencia temporal a condiciones adversas. Este proceso depende de la transición de un ambiente favorable para el desarrollo del micelio y la acumulación de reservas en la época de crecimiento y un ambiente que favorece la formación de los primordios y el desarrollo de las estructuras reproductoras, dicha fluctuación parece estar regida por una sucesión climática anual. Es conveniente mencionar que el potencial reproductivo sexual de los hongos está limitado por su constitución genética (factores endógenos); sin embargo, la expresión de este potencial es controlado por la luz, temperatura, humedad, composición y concentración de los nutrientes del sustrato entre otros (Villarreal, 1996).

4.7 Estudios anteriores.

En México se evaluó la potencialidad de cultivo de dos cepas silvestres de *Neolentinus lepideus* y *N. ponderosus* utilizando como medios de cultivo agar extracto de malta y agar papa dextrosa, donde se obtuvo un crecimiento adecuado de las dos cepas. En pruebas llevadas a cabo con semillas y otros sustratos, se observó un desarrollo miceliar adecuado en granos de trigo, pero crecimiento lento en paja de trigo (Mahler, 2006).

En Guatemala se determinó que varias cepas de *Neolentinus* tienen tiempos de producción de inóculo en sorgo, en un rango de 80 días (*N. lepideus*) y 241 días (*N. ponderosus*).

La eficiencia biológica varió entre el 18% (*N. lepideus*) y 32% (*N. ponderosus*) sobre aserrín de pino, observando que es necesaria la suplementación de este sustrato con salvado de arroz al 5%, para lograr la producción de cuerpos fructíferos en *N. ponderosus* (Mahler, 2006).

4.8 Cultivo de *Neolentinus* en diferentes sustratos.

El crecimiento de *Neolentinus* puede llevarse a cabo en una variedad de materiales orgánicos, los cuales tienen dentro de su composición química, moléculas de celulosa y lignina, siendo estas moléculas aprovechadas por otros microorganismos como bacterias y otros hongos, que para la producción, son considerados como contaminantes. Para eliminar esta contaminación del sustrato, este debe ser esterilizado o pasteurizado antes de la inoculación (Stamets, 1993).

El material de sustrato para cultivar hongos es muy diverso, muchos productos

provenientes de la agricultura e industrias madereras, pueden servir de medio para cultivarlos. Este material generalmente es suplementado con aditivos ricos en carbohidratos y proteínas como por ejemplo granos y sus derivados (arroz, trigo, salvado de avena, maíz), (ver Anexo I). Se puede utilizar una gran variedad de maderas, preferiblemente maderas duras ya que tienen grandes reservas de almidón, entre las cuales están el aliso, abedul, carpe, castaño, castaño enano, haya, cenizo, alerce, ocozol, álamo, sauce, palo hacha, nogal, olmo, etc. (Stamets, 1993).

Dentro de las maderas suaves se encuentra el pino, el cual no es degradado fácilmente por el micelio, sin embargo se puede combinar con maderas adecuadas y con suplementos nutritivos (Stamets, 1993).

Algunos de los materiales que se pueden reciclar para la producción de hongos son: desechos de madera y papel, cáscaras o escamas de cereales y granos, olote de maíz, desechos de plantas de café, hojas de te, bagazo de la caña de azúcar, cáscaras de banano, cubiertas de semillas, nueces, desechos de soya, alcachofas y cactus (Figueroa, 2004). El aserrín de pino que es una madera suave, es utilizado en áreas donde las maderas duras son escasas o difíciles de conseguir, pero se debe tener cuidado ya que este tipo de maderas contienen resinas y compuestos fenólicos, los cuales inhiben el crecimiento fúngico, por esta razón estos deben ser removidos o degradados antes de utilizar el aserrín para el cultivo del hongos (Barrios, 2002).

- 4.8.1 Aserrín:** El tiempo requerido para que el hongo degrade el sustrato esta relacionado con el tamaño de la partícula, mientras mas grande es la partícula el crecimiento es mas lento, sucediendo lo contrario con partículas más pequeñas. Para una colonización mas eficiente el tamaño de las partículas de aserrín oscila entre 2-3mm, en el caso de que el tamaño sea menor de 1.5, el rendimiento es significativamente bajo (Barrios, 2002).
- 4.8.2 Humedad:** La humedad del sustrato es importante para un buen desarrollo y crecimiento del hongo, la humedad optima esta entre 55-70%, antes del proceso de autoclaveado (Barrios, 2002).
- 4.8.3 Temperatura:** Es uno de los factores mas importantes en el cultivo de hongos, ya que afecta la supervivencia, al grado de crecimiento, al tiempo de fructificación, a la cosecha, tamaño y color del hongo. La mayoría de las cepas en estado vegetativo crecen a una temperatura de 25°C en las cajas de Petri, mientras que en el proceso de esterilización, la temperatura del sustrato debe estar alrededor de los 30°C antes de ser inoculados, ya que a una temperatura mayor, el micelio del hongo puede morir, tomando en cuenta que durante este proceso el sustrato es mas susceptible a la contaminación (Barrios, 2002).

4.9. Estimación de la eficiencia biológica:

El índice de eficiencia biológica (EB) es un porcentaje que relaciona el número de setas producidas por unidad de sustrato (8).

$$EB = \frac{\text{Peso en gramos de hongos frescos}}{\text{Peso en gramos del sustrato seco}} \times 100$$

V. JUSTIFICACION

Es de gran importancia el cultivo de *Neolentinus ponderosus* ya que es uno de los hongos comestibles nativos de Guatemala con mayor potencial para su cultivo así como lo es el shiitake (*Lentinula edodes*, el segundo más importante en el mundo).

Este hongo posee un importante valor nutricional en cuanto a vitaminas y minerales, además de otros componentes como aminoácidos y polisacáridos, considerándose así una importante alternativa alimenticia (Mata, 1999).

El encontrar un sustrato adecuado para el cultivo de este hongo es de gran importancia para poder indicar a las comunidades productoras y consumidoras de *Neolentinus ponderosus*, el método más efectivo y económico para mejorar el cultivo y su producción.

Es importante encontrar el sustrato adecuado para el crecimiento y fructificación de este hongo, ya que para el cultivo de hongos se puede utilizar material de desecho de industrias tales como la maderera, que produce aserrín de pino, lo cual proporciona una vía alterna a la problemática de los desechos de ciertas industrias.

También se pretende generar información acerca del cultivo de este hongo para futuras generaciones y para que la producción de estos hongos brinde alimento alternativo a comunidades y aldeas con deficiencias nutricionales.

VI. OBJETIVOS

General:

- Evaluar la producción de cuerpos fructíferos de *N. Ponderosus* utilizando viruta de *Pinus* sp. con suplementos alimenticios (cebada y salvado de arroz).

Específicos:

- Documentar el comportamiento de fructificación de *N. ponderosus* en los diferentes suplementos alimenticios utilizados.
- Comparar la de eficiencia biológica de *Neolentinus ponderosus* entre los distintos suplementos alimenticios utilizados.
- Contribuir al estudio y a la generación de información del cultivo de la cepa nativa de *Neolentinus ponderosus*.

VII. HIPOTESIS

No existe diferencia significativa en la eficiencia biológica de *Neolentinus ponderosus* al ser cultivado en aserrín de *Pinus* sp, con distintos suplementos nutritivos.

VIII. MATERIALES Y METODOS

8.1 Método:

8.1.1 Reproducción del Micelio.

Se prepararon 90 cajas de Petri con agar PDA, de las cuales posteriormente se inocularon 25 con la cepa 02.2002, ver anexos. Esto se realiza en las campanas con filtros HEPA, de aire a contracorriente, para tener un área y atmósfera exenta de microorganismos (Barrios, 2002). Luego de la inoculación, se sellaron con papel parafilm para evitar su deshidratación y luego se incubaron a una temperatura entre 26-28 C, humedad ambiental de 90-100%, durante un tiempo aproximado de 20 días. (Ver Anexo II).

Luego se lavaron aproximadamente 50 lb de maicillo el cual se dejó en remojo, luego se pesaron 80 paquetes de 100 lb cada uno, se empacaron con papel kraft, y luego fueron autoclaveados. Estos paquetes de maicillo se inocularon con el micelio crecido en el agar. En las cajas de Petri que contienen el micelio de la cepa se realiza un cuadrículado, y se cortan pequeños trozos de aproximadamente 1 cm², los cuales son distribuidos equitativamente dentro de las bolsas con maicillo. Al terminar la siembra, se mezcla el contenido y se cierran las bolsas, teniendo cuidado de eliminar el aire del interior (Barrios, 2002. Stamets, 1993). Estos paquetes se colocaron en una incubadora y se revisó su crecimiento cada 15 días (ver Anexo II) y se descartaron los paquetes contaminados. Los paquetes se incubaron durante 2 meses.

8.1.2 Preparación del Sustrato

Luego se lavó e hidrató aserrín dejando un 60-70% de humedad en ellos, se realizaron paquetes de 500 g a los que se les agregó 25, 50 y 100 g de cada suplemento (cebada, salvado de arroz) y un grupo control sin suplemento nutritivo, se realizaron 10 repeticiones de cada tratamiento. (Godoy, 1997. Stamets, 1993). Las bolsas que se utilizaron son de polipropileno (PP), por lo que resisten temperaturas de hasta 135 grados centígrados (Barrios, 2002. Stamets, 1993).

Para evitar cualquier tipo de contaminación por medio de otros hongos o microorganismos, se introducen las bolsas al autoclave por 30 minutos, pasado este tiempo se dejan enfriar a temperatura ambiente y se trasladan cuidadosamente a una campana, en donde se inoculan.

8.1.3 Inoculación del sustrato

Las bolsas del inciso anterior se introdujeron en la campana y se inocularon con el maicillo con micelio, las bolsas se deben abrir desde la parte exterior, nunca introducir las manos o equipo en las bolsas, para evitar contaminaciones. Cuando se inocula el sustrato es necesario desinfectar el área y trabajar con un sistema que garantice un ambiente estéril para efectuar la inoculación, ver anexos.

8.1.4 Incubación y Fructificación

Los paquetes debidamente identificados se colocaron en un cuarto oscuro a temperatura ambiente. A estas bolsas por medio de un bisturí se les

cortó un área y se colocó gasa, para que funcionen como respiradero de los hongos. Cada 2-3 días se observó el crecimiento y se descartaron las bolsas contaminadas (Gispert, 1984. Mahler, 2006).

Luego de que el micelio cubrió totalmente el sustrato y este se encontraba en estado sólido, se realizaron cortes transversales a las bolsas, para que por estas aperturas crezca el hongo, luego estos se regaron con agua y después de 4 días se observaron los cuerpos fructíferos, los cuales se cortaron al haber alcanzado su tamaño máximo para pesarlos, medirles el diámetro, ancho y largo para poder calcular la eficiencia biológica de cada sustrato y poder tabular los resultados obtenidos (Gispert, 1984), (ver Anexo II).

8.2. Diseño

8.2.1 Población

La población consista de las cepas silvestres de *Neolentinus spp.* de origen guatemalteco.

8.2.2 Muestra

La muestra consta principalmente de la cepa 02.2002 *N. ponderosus*, recolectada en San Mateo Ixtatán, Huehuetenango, durante los años 2002 a 2003. Estas muestras fueron preservadas desde entonces en el Cepario de Hongos Saprófitos y Micorrízicos del Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

8.3 Técnicas a usar en el proceso de investigación

8.3.1 Recolección de datos:

Se realizarán siete tratamientos:

Tratamientos	Réplicas
Aserrín control	10
Aserrín + 5% cebada	10
Aserrín + 10% cebada	10
Aserrín + 20% cebada	10
Aserrín + 5% salvado de arroz	10
Aserrín + 10% salvado de arroz	10
Aserrín + 20% salvado de arroz	10

Para los resultados se midieron las siguientes variables: Porcentaje de crecimiento de micelio por bloque de sustrato, humedad del sustrato, humedad y temperatura del cuarto de incubación, peso en gramos del hongo por unidad de sustrato, diámetro de los púleos en centímetros, largo y ancho del estípote, y el número de setas producidas por el bloque de sustrato.

8.3.2 Análisis de datos

Para la interpretación de los resultados se realizó un Análisis de Varianza univariado y una comparación múltiple de tukey.

8.4 Instrumentos para registro y medición de las observaciones

8.4.1 Recursos físicos e Institucionales.

- Unidad de Biodiversidad, Aprovechamiento y Tecnología de Hongos.
- Micoteca de Macrohongos.
- Cepario de Hongos Sparófitos y Micorrízicos.
- Laboratorios de Microbiología y Laboratorio Microbiológico de Referencia LAMIR.
- Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

8.4.2 Equipo y Cristalería.

- Balanza analítica.
- Autoclave.
- Campana o gabinete de seguridad.
- Incubadora.
- Estufa eléctrica.
- Incineradores.
- Estereoscopio.
- Microscopio.
- Cajas plásticas de Petri de 20cc.
- Asas de nicromo.
- Espátula.
- Regla.
- Probetas graduadas de 150, 250 y 1000 ml.
- Erlenmeyer de 500 y 1000 ml.
- Papel mantequilla.
- Papel Parafilm.
- Portaobjetos y cubreobjetos.
- Bolsas de Polipropileno.
- Maskin Tape.
- Marcadores permanentes.
- Cámara digital de fotos.
- Bolsas de polipropileno.
- Desinfectante marca Lysol.
- Algodón y papel mayordomo.
- Gasa.

8.4.3 Medios de Cultivo, reactivos, sustratos y suplementos.

- Agar Papa Dextrosa (PDA).
- Cepa del hongo 02.2002.
- Azul de Lactofenol.
- Etanol al 75%.
- Agua destilada.
- Aserrín de *Pinus sp.*
- Salvado de arroz.
- Cebada.

IX. RESULTADOS

9.1 Crecimiento miceliar en etapa de incubación

La cepa *Neolentinus ponderosus* inoculada en los sustratos de aserrín de pino mostró muchas variaciones en cuanto a su crecimiento (en el período de incubación) y fructificación (Tabla No.1), a excepción del tratamiento B suplementado con 5% de cebada, todos en sus inicios mostraron buen desarrollo, siendo los sustratos C y D los que mantuvieron menor cantidad de micelio. Se observó en el tratamiento E con 5% de salvado de arroz un crecimiento fuerte y homogéneo desde su inoculación, seguido por los tratamientos F y G (10 y 20% de salvado de arroz respectivamente); mientras que el grupo control se mantuvo con un crecimiento regular y relativamente lento durante las primeras semanas de desarrollo. A pesar que algunos de los porcentajes de crecimiento aumentaron con el paso de los días, otros dejaron de crecer y posteriormente fueron descartados por ausencia de micelio (Tabla No. 1).

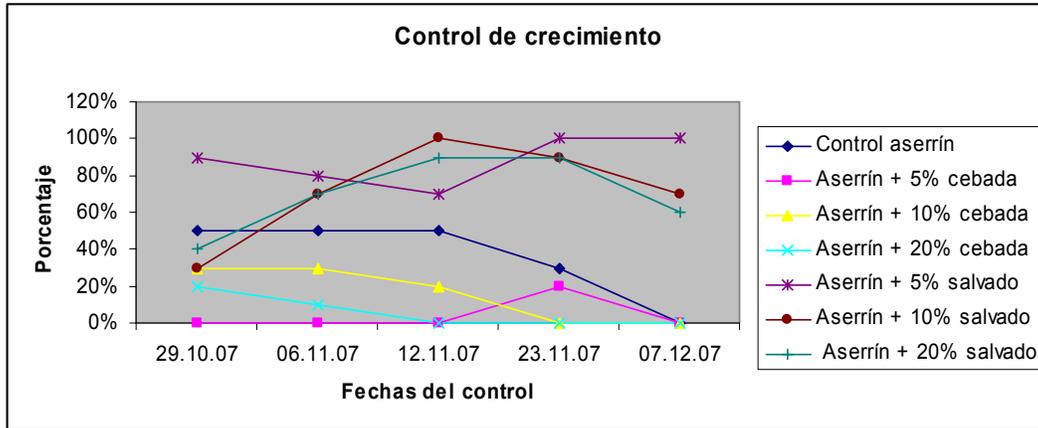
Tabla No. 1. Resultados del crecimiento miceliar de *Neolentinus ponderosus* 02.2002 en los tratamientos con sustrato de aserrín de *Pinus sp.*

Tratamientos	Fechas del control				
	29.10.07	06.11.07	12.11.07	23.11.07	07.12.07
A. Control aserrín	50%	50%	50%	30%	0%
B. Aserrín + 5% cebada	0%	0%	0%	20%	0%
C. Aserrín + 10% cebada	30%	30%	20%	0%	0%
D. Aserrín + 20% cebada	20%	10%	0%	0%	0%
E. Aserrín + 5% salvado	90%	80%	70%	100%	100%
F. Aserrín + 10% salvado	30%	70%	100%	90%	70%
G. Aserrín + 20% salvado	40%	70%	90%	90%	60%

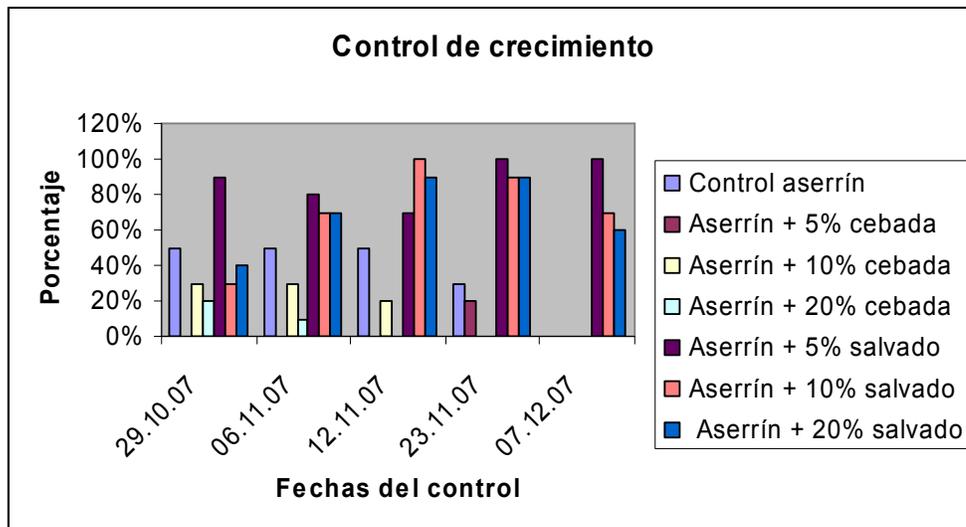
Tabla No. 2. Categorización del crecimiento miceliar de la cepa 02.2002 durante el período de incubación, siendo (-) ausencia o escasez de micelio, (+) regular, (++) bueno, (+++) muy bueno y (+++++) abundante.

Tratamientos	Tipo de crecimiento				
	29.10.07	06.11.07	12.11.07	23.11.07	07.12.07
A. Control aserrín	+	+	+	-	-
B. Aserrín + 5% cebada	-	-	-	+	-
C. Aserrín + 10% cebada	+	+	+	-	-
D. Aserrín + 20% cebada	+	-	-	-	-
E. Aserrín + 5% salvado	+	++	+++	++++	++++
F. Aserrín + 10% salvado	+	+	+	+++	++++
G. Aserrín + 20% salvado	+	+	++	+++	+++

La cepa 02.2002 creció con mayor rendimiento en los sustratos suplementados con salvado de arroz, de los cuales el que mostró mejor y más rápido crecimiento miceliar fue el (E) con 5% de salvado, seguido por (F) 10% y (G) 20% con desarrollos regulares a muy buenos (Tabla No.2, Gráfica No.1). Los tratamientos suplementados con cebada mostraron el desarrollo más débil y escaso, siendo (B) 5% y (D) 20% los que presentaron menor porcentaje de crecimiento, mientras que el suplementado con (C) 10% a pesar de haber comenzado relativamente bien con el paso de los días se observó un ennegrecimiento y posterior muerte del micelio (Tabla No. 2, Gráfica No 1).



Gráfica No.1. Porcentajes de crecimiento de *Neolentinus ponderosus* 02.2002 durante los meses de incubación en sustratos de aserrín.



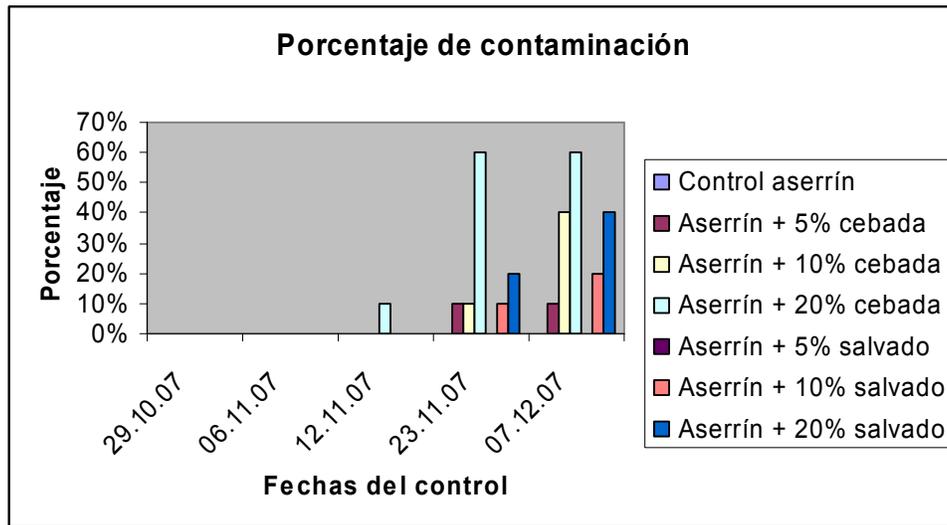
Gráfica No. 2. Control de crecimiento miceliar de *Neolentinus ponderosus* 02.2002 en las distintas fechas de incubación en sustratos de aserrín de *Pinus sp.*

El micelio de la cepa 02.2002 creció regularmente en los tratamientos suplementados con salvado de arroz, aunque en el tratamiento G con un 20% al final del control se obtuvo una contaminación del 40% de todas las repeticiones. Los tratamientos suplementados con cebada fueron los que

sufrieron mayor contaminación siendo el tratamiento D con un 20% de cebada, en el cual se contaminó el 60% de las repeticiones (Tabla No.3 y Gráfica No.3)

Tabla No 3. Control de los niveles de contaminación en los tratamientos con aserrín de *Pinus sp.*

Tratamientos	Fecha control				
	29.10.07	06.11.07	12.11.07	23.11.07	07.12.07
A.Control aserrín	0%	0%	0%	0%	0%
B. Aserrín + 5% cebada	0%	0%	0%	10%	10%
C. Aserrín + 10% cebada	0%	0%	0%	10%	40%
D. Aserrín + 20% cebada	0%	0%	10%	60%	60%
E. Aserrín + 5% salvado	0%	0%	0%	0%	0%
F. Aserrín + 10% salvado	0%	0%	0%	10%	20%
G.Aserrín + 20% salvado	0%	0%	0%	20%	40%



Gráfica No. 3. Niveles de contaminación en las distintas semanas de control de crecimiento micelial en sustratos de aserrín de *Pinus sp.*

9.2 Eficiencia biológica y tasa de producción

Para la incubación y el desarrollo de las fructificaciones del hongo, las muestras se colocaron bajo iluminación natural, recibiendo así 12 hrs de luz y 12 hrs de oscuridad en un lugar ventilado, y una humedad aproximada del 75 al 90% (ver Anexo III) y a temperatura ambiente la cual osciló entre los 14 a 24 °C. Se observó crecimiento y colonización en la mayoría de sustratos con sus diferentes tratamientos, sin embargo los tratamientos A, B, C, D y G no desarrollaron cuerpos fructíferos siendo estos tratamientos el grupo control, el 5, 10 y 20 % de cebada y 20% de salvado respectivamente (Tabla No. 4).

Tabla No. 4 Control de fructificación, en donde + indica que sí hubo fructificación y - indica que no se observó fructificación.

Tratamiento	12/12/2007	14/12/2007	17/12/2007	04/01/2008	23/01/2008
A. Aserrín control	-	-	-	-	-
B. Aserrín + 5% cebada	-	-	-	-	-
C. Aserrín + 10% cebada	-	-	-	-	-
D. Aserrín + 20% cebada	-	-	-	-	-
E. Aserrín + 5% salvado	+	+	+	+	+
F. Aserrín + 10 % salvado	-	-	+	+	+
G. Aserrín + 20% salvado	-	-	-	-	-

En los tratamientos E y F, 5% y 10% de salvado de arroz respectivamente, fue donde se obtuvo el mayor porcentaje siendo el tratamiento E en el que se obtuvieron hongos en todas las repeticiones, en cambio en el tratamiento F solo se obtuvieron 5. En ambos tratamientos se lograron obtener 2 cosechas, en el tratamiento E, se obtuvieron 2 cosechas para las réplicas 1, 3, 4 y 10. En el tratamiento F se obtuvieron 2 cosechas para las réplicas 2 y 4 (Tabla No. 5).

Tabla No. 5 Pesos y eficiencia biológica para los tratamientos E y F con las réplicas que fructificaron

Réplica	Control aserrín		Aserrín + 5% salvado		Aserrín + 10% salvado	
	Peso	%EB	Peso	%EB	Peso	%EB
1	0	0	18.7	12.02		
2	0	0	11.8	7.58	12.4	7.97
3	0	0	21.8	14.01		
4	0	0	26.8	17.22	11	7.07
5	0	0	19.2	12.34		
6	0	0	13.4	8.61	14.8	9.51
7	0	0	24.5	15.75		
8	0	0	19.2	12.34		
9	0	0	15.7	10.09	11.7	7.52
10	0	0	21.8	14.01	21	13.5
Total	0	0	192.9	123.97	70.9	45.57
Promedio	0	0	19.29	12.397	7.09	4.557

Para el análisis de los resultados de peso y eficiencia biológica se realizó un análisis de varianza univariado con el programa SPSS 14.0. En las Tablas No. 6 y No. 7 se puede observar una comparación entre la Variable 1 y Variable 2 siendo estos sustratos y pesos respectivamente. 1, 2 y 3 representan el grupo control, el grupo de 5 y 10 % de salvado respectivamente.

Tabla No. 6 Comparación entre las variables 1 y 2 las cuales son sustratos y pesos

VAR00001

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VAR00002
Tukey HSD

(I) VAR00001	(J) VAR00001	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	-22.8200*	1.82735	.000	-27.6951	-17.9449
	3.00	-14.1800*	1.82735	.000	-19.0551	-9.3049
2.00	1.00	22.8200*	1.82735	.000	17.9449	27.6951
	3.00	8.6400*	1.82735	.001	3.7649	13.5151
3.00	1.00	14.1800*	1.82735	.000	9.3049	19.0551
	2.00	-8.6400*	1.82735	.001	-13.5151	-3.7649

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tabla No. 7 Medias de las variables de peso y sustratos

VAR00002

Tukey HSD^{a,b}

VAR00001	N	Subset		
		1	2	3
1.00	5	.0000		
3.00	5		14.1800	
2.00	5			22.8200
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 8.348.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

b. Alpha = .05.

En las Tablas No. 8 y No. 9 se puede observar una comparación entre la Variable 1 y Variable 3 siendo estos sustratos y eficiencia biológica respectivamente. 1, 2 y 3 representan el grupo control, el grupo de 5 y 10 % de salvado de arroz respectivamente.

Tabla No. 8 Comparación entre las variables sustratos y eficiencia biológica

VAR00001

Multiple Comparisons

Dependent Variable: VAR00003

Tukey HSD

(I) VAR00001	(J) VAR00001	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.00	2.00	-14.6660*	1.17460	.000	-17.7997	-11.5323
	3.00	-9.1140*	1.17460	.000	-12.2477	-5.9803
2.00	1.00	14.6660*	1.17460	.000	11.5323	17.7997
	3.00	5.5520*	1.17460	.001	2.4183	8.6857
3.00	1.00	9.1140*	1.17460	.000	5.9803	12.2477
	2.00	-5.5520*	1.17460	.001	-8.6857	-2.4183

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tabla No. 9 Medias de las variables de sustratos y eficiencia biológica

Homogeneous Subsets

VAR00003

Tukey HSD^{a,b}

VAR00001	N	Subset		
		1	2	3
1.00	5	.0000		
3.00	5		9.1140	
2.00	5			14.6660
Sig.		1.000	1.000	1.000

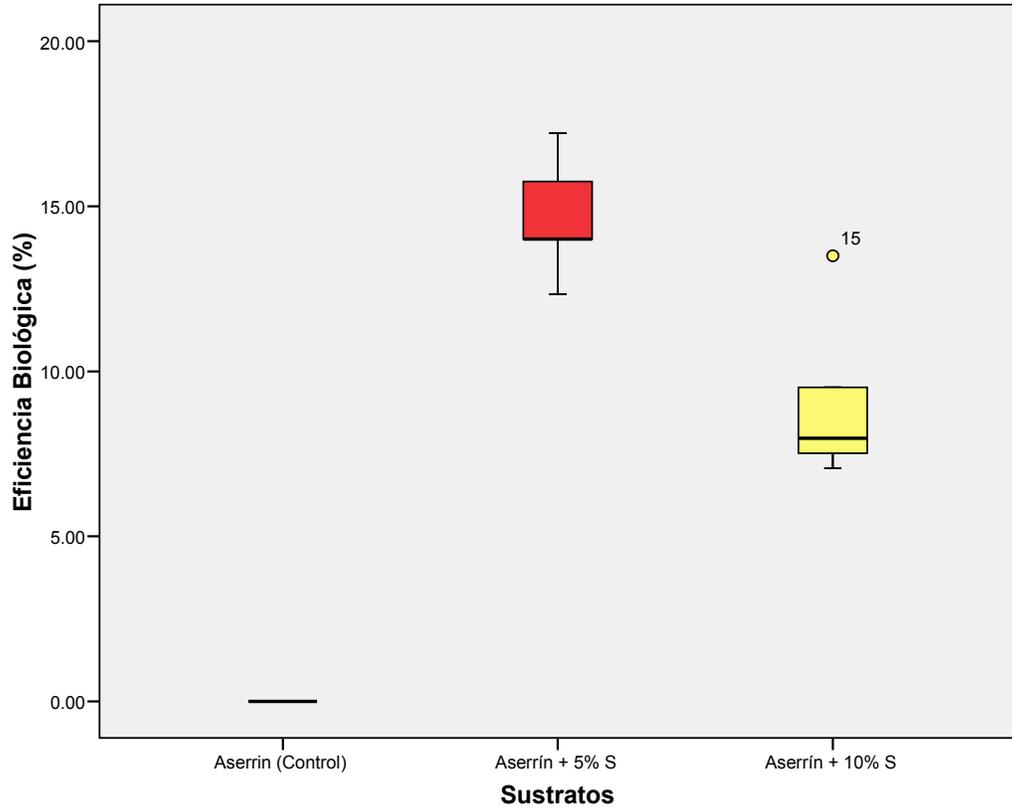
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 3.449.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

b. Alpha = .05.



Gráfica No. 4 Análisis de cajas de Tukey para los sustratos y su eficiencia biológica

X. DISCUSIÓN

- Crecimiento miceliar en etapa de incubación

Como se puede observar en la tabla No.1 de los resultados el crecimiento fue gradual en la mayoría de los tratamientos pero se puede observar que luego de cierto tiempo disminuye, esto fue causado principalmente por una gran tasa de contaminación que sufrieron los sustratos, debida a una plaga de *Drosophila melanogaster*, las cuales por los respiraderos de las bolsas penetraban hacia el sustrato y lo contaminaron, y siendo *N. ponderosus* un hongo de crecimiento lento se vio gravemente afectado en su crecimiento principalmente para los tratamientos A, B, C y D ya que cualquier contaminación le gana el espacio y los nutrientes que este requiere. En la gráfica No. 3 y tabla No.3 se pueden observar los porcentajes de contaminación sufridos en cada tratamiento siendo el tratamiento D con cebada al 20% la más contaminada, esto también se pudo deber a que cierto tiempo después de la inoculación la cebada comenzó a fermentarse y esto atrajo a las mosquitas ya que el tratamiento D es el que presenta mayor porcentaje de este suplemento lo que constituía en mayor fuente de alimento para las mosquitas. Para eliminar esta fuente de contaminantes se utilizaron cintas con pegamento y “nido limpio” los cuales eliminaron a las mosquitas sin afectar el crecimiento del hongo, en vez de pesticidas que podrían inhibir o matar al hongo en crecimiento, pero no lograron eliminar las contaminaciones que estas dejaron en las bolsas.

En la gráfica No. 1 se puede observar que los tratamientos con cebada nunca presentaron un alto nivel de crecimiento de micelio, esto se debe probablemente a que el aserrín con cebada no constituyen un buen sustrato para este hongo, ya que se pudo observar que el maicillo con micelio que fue introducido en las bolsas era originalmente de color blanco debido al hongo y luego de cierto tiempo se tornaron negros, indicando que el micelio que recubría el maicillo había muerto, esto se puede deber a que el sustrato se encontraba muy compacto por lo que no había mucha ventilación y por eso no pudieron desarrollarse los micelios, en cambio el salvado de arroz permitía que el sustrato estuviera mas suelto, beneficiando así el crecimiento del micelio.

Como se indica en la Gráfica No. 1 y Gráfica No. 2 el crecimiento del hongo en los tratamientos con suplemento nutritivo de salvado de arroz es mucho mayor, resultando este el mejor sustrato en comparación con la cebada.

Se pudo observar que los pocos tratamientos suplementados con cebada que no sufrieron contaminación y en los cuales si hubo crecimiento de micelio, no se logró obtener fructificación del hongo esto se puede deber a que el hongo fue inhibido por la contaminación o a que la cebada no constituye un buen suplemento nutritivo. En cuanto al grupo control hubo crecimiento de micelio pero luego el micelio murió esto se puede deber a que utilizando el aserrín como sustrato para el crecimiento de este hongo, sí se necesita cierto porcentaje de suplemento nutritivo, como en este caso el salvado de arroz, para mejorar la tasa de producción.

El crecimiento en los tratamientos con cebada en diferentes concentraciones es muy bajo ó nulo y esto también se puede deber a que la

cebada junto con el aserrín inhiben el crecimiento ó a que debido a la falta de tiempo y espacio se realizaron diferentes tandas para la preparación e inoculación de los sustratos por lo que los porcentajes de humedad podrían variar, aunque se midió el porcentaje de humedad en el sustrato con el aparato Halogen MB 35 marca OHAUS, en el cual se colocaron 0.527 g por 15 minutos a 105°C, este indico que el porcentaje de humedad del aserrín era de 68.88%. Pero sólo se midió una vez y es probable que las diferentes tandas tengan un leve grado de diferencia en el porcentaje de humedad.

- **Eficiencia biológica y tasa de producción**

En la Tabla No. 6 se puede observar una comparación entre los sustratos con respecto a su peso, con lo que se obtuvo, con un 95% de confianza, que los tres sustratos son diferentes, por lo que se rechaza la hipótesis, y que el mejor sustrato es el 2, siendo este el de 5 % de salvado de arroz. En la Tabla No. 7 se puede observar que todas las muestras utilizadas para el análisis eran del mismo tamaño, por lo que se tuvieron que eliminar algunos datos, para que el análisis fuera homogéneo ya que el tamaño de las muestras de las medias es armónico para todos los tratamientos.

En la Tabla No. 8 se puede observar que el tratamiento 2 es el mejor con respecto a su eficiencia biológica, siendo este el sustrato con 5 % de salvado de arroz. Y en la Tabla No. 9 se observa que el tamaño de las muestras de las medias es armónico para todos los tratamientos.

La Gráfica No. 4 muestra un análisis de cajas de Tukey para los diferentes sustratos y la eficiencia biológica de la cepa, en donde se obtuvo que el aserrín con el 5% de salvado de arroz fue el sustrato más eficiente y con la mayor eficiencia biológica. Estos resultados son de gran importancia ya que se pudo encontrar un sustrato con alto grado de eficiencia biológica y económico ya que el salvado de arroz es muy barato en comparación con la cebada que resulto ser muy cara, lo cual aumentaría los costos de producción de este hongo.

Todo lo anterior muestra que el sustrato más eficiente es el menos enriquecido, por lo que se demuestra la capacidad de este hongo de fructificar en un sustrato de bajo costo, lo que hace más factible el cultivo en condiciones artesanales.

XI. CONCLUSIONES

- La mayor parte de los tratamientos sufrieron contaminación debida a una plaga de *Drosophila melanogaster*.
- La cebada no constituye un sustrato adecuado para el crecimiento de este hongo ya que no se observó crecimiento significativo.
- El aserrín como sustrato necesita cierto porcentaje de suplemento nutritivo para que el hongo tenga una alta tasa de producción.
- El 5 y el 10 % de salvado de arroz son los porcentajes más eficientes para el crecimiento del hongo.
- Según el análisis de cajas de Tukey se concluye que el mejor sustrato es aserrín + 5% de salvado de arroz.
- El aserrín con el 5% de salvado de arroz resulta ser un sustrato muy conveniente para la producción de este hongo debido a su bajo precio.
- Todos los sustratos son diferentes por que se rechaza la hipótesis nula.

XII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda comprobar la eficiencia biológica en sustratos con diferentes suplementos alimenticios.
- Se recomienda controlar con sumo cuidado la asepsia del lugar del trabajo para evitar contaminaciones.
- Se recomienda buscar un lugar adecuado y amplio para este tipo de trabajos.
- Se recomienda realizar todos los sustratos en conjunto y en una sola tanda para evitar cierto grado de error.
- Se recomienda llevar un control periódico del crecimiento desde la etapa miceliar hasta la fructificación tomando en cuenta todas las variables ambientales.
- Se recomienda descartar todos los sustratos contaminados para evitar que se expanda la contaminación.
- Se recomienda realizar varias repeticiones, más de las necesarias si fuera posible, ya que se puede contaminar un alto porcentaje de réplicas.
- Se recomienda tomar las medidas de los hongos frescos y en etapa madura ya que luego de esta etapa puede variar su peso y medidas.

XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Albertó, E. 2007. Laboratorio de micología y cultivo de hongos comestibles y medicinales, Instituto de investigaciones Biotecnológicas, Universidad Nacional General San Martín. Argentina. Disponible en: <http://www.iib.unsam.edu.ar/IIBINTECH/html/laboratorios/micologia/cultivo.html>
2. Arora, D. 1986. Mushrooms Demystified. Second Edition. Ten Speed Press Berkeley. USA. 959 pp.
3. Barrios, Ronald. 2002. Tesis para Licenciatura en Química Biológica: Comparación del rendimiento de dos cepas de *Lentinula edodes* (shiitake) utilizando cinco sustratos diferentes bajo condiciones controladas. USAC.
4. Gispert, M., O. Nava y J. Cifuentes, 1984. Estudio comparativo del saber tradicional de los hongos de dos comunidades de la Sierra del Ajusco. Bol. Soc. Mex. Mic. 19: 253-264.
5. Godoy, C. 1997. Tesis para Licenciatura en Química Biológica: Cultivo de una cepa mexicana de *Pleurotus Ostreatus* utilizando como sustrato aserrín de caoba y cedro, fibra de coco y olote de maíz. USAC.
6. Guzman, G., 1977. Identificación de los hongos comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera. Limusa, Mexico. DF.
7. Figueroa, W. 2007. Hongos comestibles. Cuba. Disponible en: <http://www.granma.cubaweb.cu/secciones/ciencia/ciencia229.htm>
8. Mahler, Julia. 2006. Tesis para Licenciatura en Química Biológica: Descripción de las características del cultivo *in Vitro* y producción de inóculo de cuatro cepas nativas de *Neolentinus* spp.
9. Moreno - Fuentes, Angel, et al. KUTE-MO'KO-A: Un Hongo comestible de los indios Raramuri de Mexico. Revista Mexicana de Micología 12, 31-39, 1996.
10. Mata, Milagro. 1999. Hongos de Costa Rica. Costa Rica. 169 pt.
11. Moreno - Fuentes, Angel, et al. KUTE-MO'KO-A: Un Hongo comestible de los indios Raramuri de Mexico. Revista Mexicana de Micología 12, 31-39, 1996.
12. Portal del corredor Bioceánico del sur de América y del MERCOSUR. 2006. Guía No.5: Hongos y setas, producción y comercialización de setas y hongos comestibles. Disponible en: http://www.portalbioceanico.com/nuevasactividades_hongosysetas.htm
13. STAMETS, P. 1993. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Ten Speed Press. Hong Kong. 544 PT.
14. Villareal, L. 1996. Los hongos silvestres: componentes de la biodiversidad y alternativa para la sustentabilidad de los bosques templados de México. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfC066.pdf>
15. Wood, M., Stevens, F. 2007. The fungi of California. USA. Disponible en: http://www.mykoweb.com/CAF/species/Neolentinus_ponderosus.ht

XIV. ANEXOS

Material	Tot. Mat. seca	Proteína	Grasa	Fibra	Extracto libre de N	Tot. Min.	Calcio	Fosforo	Nitrógeno	Potasio
Heno de cebada	90.8	7.3	2	25.4	49.3	6.8	0.26	0.23	1.17	1.35
Paja de cebada	90	3.7	1.6	37.7	41	6	0.32	0.11	0.59	1.33
Cebada liviana	89.1	12.1	2.1	7.4	64.3	3.2			1.94	
Cebada sin cáscara	90.2	11.6	2	2.4	72.1	2.1			1.86	
Forraje de cebada alta calidad	90.3	13.5	3.5	8.7	60.5	4.1	0.03	0.4	2.16	0.6
Forraje de cebada de baja calidad	92	12.3	3.45	14.7	56.2	5.3			1.97	
Cebada germinada	93.4	12.7	2.1	5.4	70.9	2.3	0.06	0.42	2.03	0.37
Residuos de cebada	88.6	11.6	2.7	9.1	61.3	3.9			1.86	
Heno de arroz	92	3	0.8	40.7	28.4	19.1	0.08	0.08	0.48	0.31
Paja de arroz	92.5	3.9	1.4	33.5	39.2	14.5	0.19	0.07	0.62	1.22
Desechos de arroz	88.3	7.5	0.6	0.6	78.8	0.8	0.04	0.1	1.2	
Arroz moreno	87.8	9.1	2	1.1	74.5	1.1	0.04	0.25	1.46	
Arroz refinado	87.8	7.4	0.4	0.4	79.1	0.5	0.01	0.09	1.18	0.04
Salvado de arroz	90.9	12.5	13.5	12	39.4	13.5	0.08	1.36	2	1.08
Grano de arroz	88.8	7.9	1.8	9	64.9	5.2	0.08	0.32	1.26	0.34
Arroz pulido	89.8	12.8	13.2	2.8	51.4	9.6	0.04	1.1	2.04	1.17

Tabla No. 1. Valores nutricionales de diferentes suplementos (Según Stamets)

Fecha	Hora	Temperatura	T. máxima	T. mínima	Humedad	H. máxima	H. mínima
12/10/2007	11:20	22	27	12	69	98	65
15/10/2007	11:15	23	27	12	68	98	62
16/10/2007	11:15	23	24	23	68	78	68
17/10/2007	11:00	23	24	23	67	72	65
18/10/2007	10:30	23	24	23	67	72	64
22/10/2007	11:20	23	25	23	69	69	64
23/10/2007	11:00	24	24	23	67	72	66
24/10/2007	11:30	23	24	23	60	72	59
25/10/2007	12:00	22	24	22	56	65	54
26/10/2007	11:00	23	24	22	55	65	53
29/10/2007	11:30	22	24	21	60	65	47
31/10/2007	11:30	22	23	22	61	61	57
02/11/2007	11:00	23	23	22	56	62	53
06/11/2007	10:30	20	24	20	62	50	42
07/11/2007	10:30	20	22	20	46	88	46
08/11/2007	11:00	21	21	20	50	52	46
09/11/2007	11:30	22	23	21	43	51	43
12/11/2007	12:00	24	25	22	44	50	41
13/11/2007	11:30	25	25	22	44	51	40
14/11/2007	14:30	26	26	25	46	48	43
15/11/2007	11:30	25	26	25	37	50	35
16/11/2007	12:00	25	26	25	38	50	35
19/11/2007	12:00	26	26	25	44	44	34
20/11/2007	12:00	26	26	26	45	51	43
21/11/2007	12:00	26	27	26	45	49	44
22/11/2007	13:00	26	27	26	42	50	42
23/01/2007	12:00	27	27	26	44	45	41
26/11/2007	12:00	26	28	26	41	46	41
27/11/2007	12:00	26	27	26	41	45	41
28/11/2007	12:00	26	27	26	41	46	41
29/11/2007	12:00	26	28	26	41	45	41

Tabla No. 2 Control de Temperatura y humedad de incubación de *Neolentinus*

Réplica	12/12/2007	Peso	G1 <5cm	G2 5-10 cm	G3 >10cm
1	Aserrín 5%S				
2	Aserrín 5%S				
3	Aserrín 5%S	20.3	1=4	1=16.3	
4	Aserrín 5%S	24		1=24	
5	Aserrín 5%S				
6	Aserrín 5%S				
7	Aserrín 5%S				
8	Aserrín 5%S	19.2	2=5	1=14.2	
9	Aserrín 5%S	15.7	1=2.5	1=13.2	
10	Aserrín 5%S	18.6	1=18.6		

Tabla No. 3 Control de fructificación, para el 12. Dic. 07 en donde se midió el peso, y diámetro de los hongos.

Réplica	14/12/2007	Peso	G1 <5cm	G2 5-10 cm	G3 >10cm
1	Aserrín 5%S				
2	Aserrín 5%S				
3	Aserrín 5%S				
4	Aserrín 5%S				
5	Aserrín 5%S				
6	Aserrín 5%S				
7	Aserrín 5%S	24.5	1=1.3	1=23.2	
8	Aserrín 5%S				
9	Aserrín 5%S				
10	Aserrín 5%S				

1	Aserrín 10%S				
2	Aserrín 10%S				
3	Aserrín 10%S				
4	Aserrín 10%S				
5	Aserrín 10%S				
6	Aserrín 10%S				
7	Aserrín 10%S				
8	Aserrín 10%S				
9	Aserrín 10%S				
10	Aserrín 10%S	21	4=21		

Tabla No. 4 Control de fructificación, para el 14. Dic. 07 en donde se midió el peso, y diámetro de los hongos.

Réplica	17/12/2007	Peso	G1 <5cm	G2 5-10cm	G3 >10cm
1	Aserrín 5%S	17.7	2=17.7		
2	Aserrín 5%S	11.8	2=11.8		
3	Aserrín 5%S				
4	Aserrín 5%S				
5	Aserrín 5%S	19.2	1=19.2		
6	Aserrín 5%S	13.4	1=1.9	1=11.5	
7	Aserrín 5%S				
8	Aserrín 5%S				
9	Aserrín 5%S				
10	Aserrín 5%S				

1	Aserrín 10%S				
2	Aserrín 10%S				
3	Aserrín 10%S				
4	Aserrín 10%S	9.7		1=9.7	
5	Aserrín 10%S				
6	Aserrín 10%S				
7	Aserrín 10%S				
8	Aserrín 10%S				
9	Aserrín 10%S				
10	Aserrín 10%S				

Tabla No. 5 Control de fructificación, para el 17. Dic. 07 en donde se midió el peso, y diámetro de los hongos.

Réplica	23/01/2008	Peso	G1 <5cm	G2 5-10cm	G3 >10cm
1	Aserrín 5%S	1	1=1		
2	Aserrín 5%S				
3	Aserrín 5%S	1.5	1=1.5		
4	Aserrín 5%S				
5	Aserrín 5%S				
6	Aserrín 5%S				
7	Aserrín 5%S				
8	Aserrín 5%S				
9	Aserrín 5%S				
10	Aserrín 5%S				

1	Aserrín 10%S				
2	Aserrín 10%S	2.7	1=2.7		
3	Aserrín 10%S				
4	Aserrín 10%S	1.3	2=1.3		
5	Aserrín 10%S				

6	Aserrín 10%S
7	Aserrín 10%S
8	Aserrín 10%S
9	Aserrín 10%S
10	Aserrín 10%S

1	Viruta Control			
2	Viruta Control			
3	Viruta Control	0.8	1=0.8	
4	Viruta Control			
5	Viruta Control			
6	Viruta Control			
7	Viruta Control			
8	Viruta Control	9.4	1=0.4	1=9
9	Viruta Control			
10	Viruta Control			

Tabla No. 6 Control de fructificación, para el 23. Ene.08 en donde se midió el peso, y diámetro de los hongos.

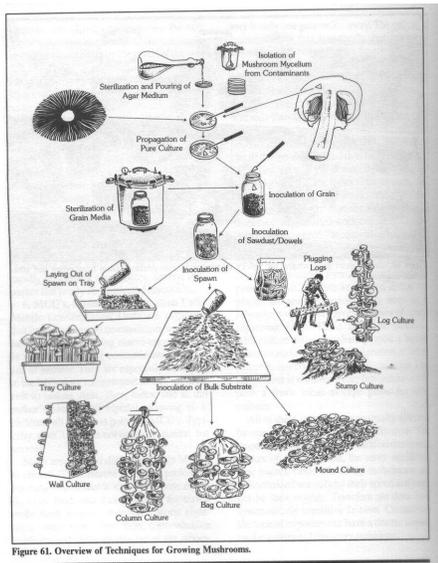


Figure 61. Overview of Techniques for Growing Mushrooms.

Fig. 1 Procedimiento para la producción



Figure 108. Transferring several squares of mycelium from the nutrified agar medium into sterilized grain.

Fig. 2 Inoculación del micelio en el sustrato



Fig. 3 Incubadora cajas de petri y con paquetes de maicillos infectados de micelio



Fig. 4 Campana en donde se preparan los medios y se inoculan los sustratos



Fig. 5 Maicillo infectado de micelio



Fig. 6 Paquetes con sustrato y suplemento nutritivo en diferentes concentraciones, inoculados con la cepa y con respiraderos, en el cuarto de incubación.



Fig. 7 Fructificaciones de los hongos, las primeras 3 fotografías son de aserrín + 5% de salvado de arroz, la cuarta fotografía es de aserrín +10% de salvado de arroz