

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

Vargas C, Bran M, Morales O, Cáceres R, Huitz P y Chamalé, W.

Unidad de Biodiversidad, Tecnología y Aprovechamiento de Hongos -BioTAH-, Departamento de Microbiología,
Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia,
Dirección General de Investigación, Universidad de San Carlos de Guatemala.

Resumen

En este estudio se evaluó la producción de cuerpos fructíferos de cinco cepas nativas sobre diferentes sustratos a través de la cuantificación de la eficiencia biológica y el tamaño de los píleos. Para ello se utilizaron cuatro sustratos diferentes: Aserrín de pino tratado por esterilización (S1), caña de maíz picada en fragmentos y pulpa de café seca sometidos a composteo por 9 días y luego pasteurizados (S2), caña de maíz y olote de maíz picados en fragmentos y desinfectado por inmersión en agua alcalina (S3) y caña de maíz picada, olote de maíz picado en fragmentos esterilizado (S4). Solamente se produjeron cuerpos fructíferos en los sustratos S1 y S4. Las mayores eficiencias biológicas se obtuvieron en el sustrato S4, observándose diferencia significativa ($p < 0.05$) con el sustrato S1. Con respecto a las cepas, se observó que la 52.03 fue la única que desarrolló píleos con diámetros entre 1 a más de 4.0 cm en los sustratos S1 y S4, en tanto que las cepas restantes obtuvieron píleos menores a 4.0 cm. Se considera que el sustrato S4 es promisorio para la producción de cuerpos fructíferos a nivel de comunidades rurales, por lo cual se recomienda su uso.

Palabras clave: saprobio, sustratos, eficiencia biológica, píleos.

Abstract

The fruit body production on different substrates was evaluated through the quantification of biological efficiency values and on pileou's size. Four different substrates were used: Pine tree sawdust treated by sterilization (S1), chopped corn straw and dried coffee pulp mixture composted for 9 days and then pasteurized (S2), chopped corn straw and chopped corn cobs treated by immersion in alkaline water (S3) and chopped corn straw and chopped corn cobs under steam pressure sterilization (S4). Only substrates S1 and S4 yielded fruit bodies. The highest values of biological efficiency were obtained in substrate S4, with significant difference ($p < 0.05$) when compared with substrate S1. Only strain 52.03 showed pileous with diameters between 1 or more than 0.4 cm in both substrates, S1 and S4. The other four strains produced fruit bodies smaller than 4.0 cm. The use of substrate S4 for fruit body production is promising in rural communities.

Key words: Saprotrophic, substrates, biological efficiency, pileous

Introducción

Guatemala posee una gran diversidad de hongos comestibles, dentro de los cuales se encuentra *Schizophyllum commune* conocido popularmente con el nombre de Asam, el cual es utilizado por personas de las comunidades etnolingüísticas Q'eqchi', Itza', Poqomchi', Popti', Chuj y Kaqchikel. En estas comunidades se consume y se comercializa en grandes cantidades, principalmente en los departamentos de Alta Verapaz y Petén (Bran, Morales, Cáceres y Flores, 2003; Morales, 2001; Sommerkamp, 1990). En México, tiene un alto valor cultural en las regiones tropicales de municipios de los estados de Oaxaca, Veracruz y Tabasco, en donde es comercializado en mercados de las localidades (Ruan, Garibay-Orijel y Cifuentes, 2004; Ruan et al, 2006). Como especie saprobia y degradadora de madera, posee características que hacen factible su cultivo sobre residuos que generan las actividades madereras y agrícolas del país. Sin embargo, la producción de cuerpos fructíferos no ha sido aún estudiada utilizando las cepas nativas aisladas, pese a la demanda que posee para consumo y comercialización en las diversas comunidades. En Guatemala, donde un alto porcentaje de la población se dedica a la agricultura y carece de una nutrición adecuada, el cultivo de especies nativas sobre desechos agrícolas y forestales es una buena alternativa para la producción de alimento. Por tal motivo, en este estudio se evaluó la producción de cuerpos fructíferos de cinco cepas nativas de *S. commune* sobre cuatro diferentes sustratos cuantificando la eficiencia biológica y el tamaño de los píleos.

Materiales y Métodos

Se utilizaron cinco cepas nativas de *S. commune*, las cuales pertenecen al Cepario de hongos saprobios y micorrícicos del Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia (Tabla 1).

Tabla 1. Procedencia y registros de las cepas

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

Las cepas se revitalizaron sembrándolas en Agar Papa Dextrosa (PDA) y se incubaron a 26°C por 20 días. Para la producción de inóculo se utilizaron granos de sorgo, trigo, cebada y arroz, para lo cual se hidrataron por 24 horas. Posteriormente se pesaron 200g de cada uno de ellos y se colocaron en bolsas de polipapel, esterilizándose por 45 minutos a 121°C. Una vez esterilizados, se inocularon con 1 cm² de agar con micelio de cada una de las cepas y se incubaron a temperaturas de 26°C. Para el proceso de fructificación se utilizaron cuatro sustratos diferentes (Tabla 2)

Tabla 2. Composición de los sustratos utilizados

Sustrato	Composición	Tratamiento
S1	Aserrín de pino (<i>Pinus</i> spp) (85%), harina de trigo (10%), harina de avena (4%) y CaCO ₃ (1%)	Esterilizado por 60 minutos a 121° C.
S2	Caña de maíz picada en fragmentos de 2.0 a 3.0 (50%), pulpa de café seca (50%), Ca(OH) ₂ al 2%	Composteo de los materiales por 7 a 9 días.
S3	Caña de maíz picada en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%), olote de maíz picado en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%)	Inmersión en agua alcalina.
S4	Caña de maíz picada en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%), olote de maíz picado en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50%)	Esterilizado en autoclave.

A cada sustrato se le determinó el porcentaje de humedad y en base a este se calculó el peso seco. Los sustratos fueron sembrados con inóculo al 5 % producido en cualquiera de los granos (10 repeticiones) y se incubaron a temperatura ambiente hasta que el micelio cubrió el sustrato. Luego se trasladaron a un módulo de fructificación en donde se colocaron en un área con iluminación natural difusa y ventilación. La productividad se evaluó en términos de porcentaje de eficiencia biológica (EB), (%EB= (peso fresco de los cuerpos fructíferos/peso seco de los sustratos) x100).

Se contó el número y se midió el tamaño de las fructificaciones obtenidas, clasificándolas según el diámetro del píleo; grupo 1 (G1) <2.0 cm, grupo 2 (G2) entre 2.0 y 4.0 cm y grupo 3 (G3) >4.0 cm. Los valores fueron registrados en una hoja de toma de datos, con la que posteriormente se elaboró una base de datos en el programa EXCEL® y se analizaron en el programa estadístico SPSS 16.0®, realizando un análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de Duncan.

Resultados

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

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

La cepa 296.02 obtuvo un valor de EB alto en el sustrato S1 (4.98 %), mientras que en el sustrato S4 el valor fue bajo (1.95%). En el caso de la cepa 52.03, los valores fueron altos en ambos sustratos (3.32 % en el S1 y 5.50 % en el S4) siendo estas dos cepas las que alcanzaron los valores de EB más alto (Tabla 3, Gráfica 1).

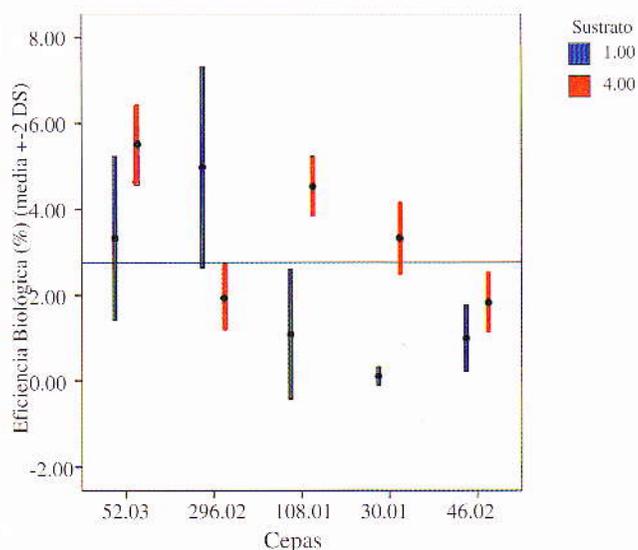
La eficiencia biológica en ambos sustratos mostró diferencia significativa entre cepas ($p < 0.00001$), y de ellas la EB obtenida por la cepa 52.03 fue significativamente mayor que la obtenida en la cepa 30.07 ($p = 0.014$) y de la cepa 46.02 ($p = 0.004$). Asimismo, se encontró diferencia con las cepas 108.01 y 296.02

Tabla 3. Productividad de las cepas de *Schizophyllum commune* (EB)

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

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

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



En el caso de los sustratos la EB mostró diferencia significativa ($p = 0.0010$), y el S4 presentó la mayor eficiencia biológica comparada con el sustrato S1 ($p = 0.0010$).

Al evaluar la interacción entre las cepas y los sustratos evaluados, se evidenció diferencia significativa ($p < 0.00001$). De esta forma, la eficiencia biológica alcanzada por la cepa 52.03 en el sustrato S4 fue estadísticamente diferente a las alcanzadas por las cepas 108.01 ($p = 0.005$), 46.02 ($p = 0.004$) y 30.07 ($p < 0.0001$) cultivadas en el sustrato S1. Asimismo la cepa 296.02 en el sustrato S1 fue estadísticamente diferente que la cepas 108.01 ($p = 0.028$), 46.02 ($p = 0.021$) y 30.07 ($p = 0.001$) cultivadas también en el sustrato S1. Por otra parte la cepa 108.01 en el sustrato S4 fue estadísticamente diferente que la cepa 30.07 en el sustrato S1 ($p = 0.005$) (Tabla 4).

Tabla 4. Valores de P prueba de Duncan combinación de tratamientos cepa-sustrato

Cepa	Sustrato	EB ¹	Cepa	Sustrato	Significancia
52.03	S4	>	30.07	S1	P=0.014
52.03	S4	>	1080	S1	P=0.005
52.03	S4	>	46.02	S1	P=0.004
52.03	S4	>	30.07	S1	P< 0.0001
296.02	S1	>	1080	S1	P= 0.028
296.02	S1	>	46.02	S1	P= 0.021
296.02	S1	>	30.07	S1	P= 0.001
108.01	S4	>	30.07	S1	P= 0.005

1. Eficiencia Biológica

Respecto al tamaño de los pñeos obtenidos, la cepa 52.03 fue la única en la que se obtuvo de los tres grupos en ambos sustratos, no obstante el mayor porcentaje de estos se observó dentro del grupo G1 (Tabla 5). En todas las cepas se obtuvieron de los grupos G1 y G2, observándose el mayor porcentaje de los mismos en el grupo G1 en ambos sustratos (Tabla 5).

Tabla 5. Productividad de las cepas de *Schizophyllum commune* con relación al tamaño de pñeo

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

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

Discusión

Como especie saprobia y degradadora de madera, *S. commune* posee características que hacen factible su cultivo sobre residuos que generan las actividades madereras y agrícolas del país. Además, es una especie cosmopolita capaz de crecer en una gran cantidad de sustratos (James y Vilgalys, 2001), sin embargo, en este estudio no se logró la colonización y fructificación en los sustratos S2 y S3.

En el caso del sustrato S2, este se sometió a un proceso de composteo con la finalidad de degradar la celulosa y hemicelulosa presentes en la pulpa de café, esto con el fin de proveer al micelio de nutrientes fácilmente disponibles (Sánchez, 2001; Villa-Cruz *et al.* 1999). El pH al final de este proceso fue de 9 ± 1 . De igual forma, el sustrato S3 (olote y rastrojo de maíz) fue desinfectado por el método de inmersión alcalina al 2%, alcanzando valores de $pH 12 \pm 1$ al momento de inocularlo con el hongo. El hecho que ambos sustratos no fueron colonizados por las cepas de *S. commune* puede sugerir que este hongo no es capaz de tolerar pH alcalinos. Se sabe que esta especie crece mejor en valores de pH entre 5 – 7, ya que valores más alcalinos afectan la degradación de lignina (Boyle, Kropp y Reid, 1992). Esta observación se reafirma por el hecho que se obtuvo crecimiento en el sustrato S4, el cual estaba constituido por los mismos materiales que el sustrato S3 pero con pH diferente (7.0 ± 1) y en el sustrato S2 que contenía caña de maíz, el cual si fue degradado por el hongo en el sustrato S4. Debido a las observaciones anteriores, desafortunadamente los procedimientos que elevan el pH como método de desinfección o degradación de los sustratos, no pueden ser utilizados en este caso para la producción de cuerpos fructíferos de *S. commune*, contrario a lo observado en el cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Contreras *et al.* 2004) y *P. pulmonarius* (Bernabé-González, Cayetano-Catarino, 2009).

En cuanto a la productividad en los otros dos sustratos, se observó una diferencia de 19 días entre la cosecha obtenida en el sustrato S4, respecto el sustrato S1. Esta diferencia en tiempo puede deberse a que en *S. commune* la actividad de degradación de lignina es baja y lenta (a pesar que produce las enzimas lignina

peroxidasa, manganeso peroxidasa y laccasa) comparado con otros hongos comestibles cultivados como *Flammulina velutipes* y *Lentinula edodes*, por lo que la degradación del sustrato S1 (viruta de pino constituida por 73.4% de lignina y 27.3% de celulosa) fue degradada más lentamente que el sustrato S4 (Boyle, Kropp y Reid, 1992).

La utilización más rápida del sustrato S4 evidenciada por la colonización más pronta del micelio de *S. commune*, se debió probablemente a que este hongo es un potente productor de las enzimas celulasa, α -glucosidasa y xilanasas, las cuales tienen una alta capacidad para degradar celulosa (Desrochers, Jurasek, y Paice, 1981). La gran capacidad celulolítica de este hongo influyó en la eficiente degradación del olote y el rastrojo de maíz, los cuales están constituidos en su mayor proporción por celulosa (Sanchez, 2001). Esta mayor eficiencia de degradación de la celulosa comparada con la lignina se relacionó directamente con la productividad, ya que cuatro de las cinco cepas evaluadas (con excepción de la 296.02), mostraron eficiencias biológicas mayores en el sustrato S4, al compararlas con el sustrato S1. El micelio de *S. commune* utiliza los carbohidratos intracelulares para el inicio de la formación de los primordios, sin embargo para la expansión de los púleos se necesita una fuente adicional de carbono (Niederpruem y Wessels, 1969), la cual en este caso, es proporcionada por la degradación de la celulosa contenida en el olote y el rastrojo de maíz.

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

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

Además de las eficiencias biológicas, se evaluó la producción de cuerpos fructíferos mediante el diámetro de los púleos, ya que este factor permitió evaluar el peso y el tamaño de los cuerpos fructíferos producidos. En este caso se observó que únicamente la cepa 52.03 produjo púleos mayores a 4 centímetros de diámetro, y el resto entre 0 y 4 en los sustratos S1 y S4. Esta observación podría indicar diferencias genéticas entre las cepas. Por otra parte, el diámetro de los púleos producidos en este estudio, se encuentra dentro del rango reportado en la naturaleza, el cual va de 0.7 a 3.0 cm (Guzman, 2003; Mata, 1999).

El hecho de que se hayan encontrado cuatro cepas con capacidad celulolítica y una con capacidad lignolítica, abre la posibilidad de que estas cepas puedan ser capaces de producir cuerpos fructíferos tanto en desechos agrícolas, como el rastrojo y olote, así como en desechos forestales, como es el caso de la viruta de pino; ya que mediante su cultivo a nivel artesanal o industrial pueden ser utilizadas con fines comestibles, económicos y medicinales (Borchers *et al.*, 2004; Takeda y Okumura, 2004; Lindequist *et al.*, 2005) Adicionalmente, debido a que la mayoría de las cepas presentaron mayores valores de EB en el sustrato S4 (con excepción de la cepa *S. commune* 296.02) el cual está conformado por dos materiales relativamente abundantes y de bajo costo, se considera efectivo para el cultivo de las cepas de *S. commune* estudiadas y además hace aún más factible la producción de este hongo en condiciones artesanales.

Referencias

- Bernabé-González, T., Cayetano-Catarino, M. (2009) Cultivation of *Pleurotus pulmonarius* on substrates treated by immersion in alkaline water in Guerrero, México. *Micol Apl Int* 21(1): 19-23.
- Borchers A. et al. (2004) Mushrooms, tumors, and immunity: An update. *Experiment Biol Med* 229: 393-406.
- Boyle D, Kropp B., Reid I. (1992) Solubilisation and mineralization of lignin by white rot fungi. *Appl Environ Microbiol* 58(10):3217-3224.
- Bran, M., O. Morales, R. Cáceres, R. Flores. (2003). Contribución al conocimiento de los hongos comestibles de Guatemala. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Edición Especial* 1(1): 5-24.
- Contreras E. et al. (2004) Soaking of substrate in alkaline water as a pretreatment for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *J Hort Scien Biotech* 79(2):234-240.
- Desrochers M., Jurasek L., Paice M. G. (1981) High production of β -Glucosidase in *Schizophyllum commune*: isolation of the enzyme and effect of the culture filtrate on cellulose hidrolisis. *Appl Environ Microbiol*; 41 (1):222-228.
- Guzmán G. (2003). Los hongos del Edén, Quintana Roo; Introducción a la micobiota tropical de México. México: Instituto de Ecología 316.
- James T., Vilgalys R. (2001). Abundance and diversity of *Schizophyllum commune* spore clouds in the Caribbean detected by selective sampling. *Mol Ecol* 10: 471-479.
- Lindequist U. et al. (2005) The pharmacological potential of mushrooms. *Evid Based Complement Altern Med* 2: 285 - 299.
- Mata M. (1999) *Macrohongos de Costa Rica*. Costa Rica: Editorial INBio. Vols.2, Vol 1. 2.
- Morales O. (2001). Estudio etnomicológico de la cabecera municipal de Tecpán Guatemala, Chimaltenango, Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 92p.
- Niederpruem, D., Wessels, J. (1969) Cytodifferentiation and morphogenesis in *Schizophyllum commune*. *Bact Rev* 33 (4): 505-535.
- Ruán-Soto F. et al. (2006). Process and dynamics of traditional selling wild edible mushrooms in tropical Mexico. *J Ethnobiol Ethnomed* 2(3):46-59
- Ruan Soto F., Garibay-Orijel R., Cifuentes J. (2004). Conocimiento micológico tradicional en la planicie costera del Golfo de México. *Rev Mex Mic* 19:57-70.
- Sánchez, J. (2001). Crecimiento y fructificación. En: *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.*, México: Ed. LIMUSA S. A.
- Sommerkamp, Y. (1990). Hongos comestibles en los mercados de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación. Guatemala. 68p.
- Takeda K, Okumura K. (2004) CAM and NK cells. *Evid Based Complement Altern Med* 1: 17-27.
- Villa-Cruz, V., et al. (1999) Fermentation of a mixture of cornocobs and coffee pulp for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *Micol Neotrop Apl* 12:67-74.