

Producción de inóculo de cepas nativas del hongo comestible Asam (*Schizophyllum commune* Fr.) en diferentes sustratos y temperaturas

Chamalé W¹, Bran M^{1,2}, Morales O^{1,2}, Cáceres R^{1,2}

1. Unidad de Biodiversidad, Tecnología y Aprovechamiento de Hongos -BioTAH-, Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad San Carlos de Guatemala.
2. Programa Universitario en Desarrollo Industrial -PUIDI-, Dirección General de Investigación, Universidad de San Carlos de Guatemala.

Resumen

En este estudio se evaluó la producción de inóculo de cinco cepas nativas de *S. commune*, utilizando granos de sorgo, trigo, cebada y arroz, los cuales fueron inoculados con el micelio de cada una de las cepas, incubándose tanto a 26°C como a 18°C. Se determinó que el sustrato donde se obtuvieron los menores tiempos de producción de inóculo fue el trigo, seguido del sorgo, cebada y arroz, tanto a 18°C como 26°C, observándose diferencia significativa ($p < 0.001$) solamente entre el primero respecto a los demás. Las cepas con menores tiempos de producción fueron la 108.2001 y la 52.2003, en granos de trigo a 26°C de temperatura de incubación, presentando diferencia significativa con las demás ($p < 0.001$).

Palabras clave: inóculo, cepa nativa, *S. commune*.

Abstract

In this study, the inoculums production of five native strains of *S. commune* was evaluated using grains of sorghum, wheat, barley and rice, which were inoculated with the mycelium of each one of the strains. Everything was incubated at 26°C and 18°C. The substrate with the shortest inoculums production time was wheat, followed by sorghum, barley and rice, all at 18° and 26°C. Wheat showed a significant difference ($p < 0.001$) compared with the rest. Strains with shortest production were 108.2001 and 52.2003, in wheat grains at 26°C incubation temperature, showing significant difference with the others ($p < 0.001$).

Key words: seed production, native strains, *S. commune*.

Introducción

Schizophyllum commune Fr. es una de las más de setenta especies de hongos comestibles que se conocen en Guatemala. Se vende en grandes cantidades en el mercado de Cobán, al igual que en Petén, donde se le conoce como "Asam" en el idioma Q'eqchi' (Sommerkamp, 1990). Su consumo se ha reportado también en Tactic (Alta Verapaz), donde se conoce como "Isem" en idioma Poqomchi'. Se utiliza en Jacaltenango y San Matco Ixtatán (Huehuetenango), donde es llamado "Esem" y "Asn" en los idiomas Popti' y Chuj, respectivamente (Morales, Bran, Cáccres y Flores, 2003). Se conoce en Tecpán (Chimaltenango) con el nombre de "xikin kuk" en idioma Kaqchikel (Morales, 2001).

Este hongo ha sido ampliamente utilizado para estudios genéticos y bioquímicos (Ruán-Soto, Garibay, y Cifuentes, 2004). No obstante, la elaboración de inóculo con fines de producción de cuerpos fructíferos haciendo uso de cepas nativas, no ha sido estudiada aun en Guatemala. Por tal motivo, en este estudio se evaluaron cinco cepas nativas de *S. commune* para determinar cuál es el mejor sustrato, así como también la temperatura en la cual el tiempo de producción de inóculo fue menor.

Materiales y Métodos

Se utilizaron cinco cepas de *S. commune*, las cuales se encuentran depositadas en el cepario de hongos saprobios y micorrícicos del Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Los códigos y la procedencia de las cepas son las siguientes: 52.2003 (Jacaltenango, Huehuetenango), 46.2002 (Tactic, Alta Verapaz), 296.2002 (Tecpán, Chimaltenango), 30.2007 (Poptún, Petén) y 108.2001 (Carchá, Alta Verapaz). 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 tomaron granos de sorgo, trigo, cebada y arroz, para lo cual se hidrataron los granos por 24 horas, posteriormente se pesaron 200 g de cada uno de ellos y se colocaron en bolsas de polipapel y se esterilizaron por 45 minutos a 121°C. Una vez esterilizados, cada paquete se inoculó con 1 cm² de agar con micelio, de cada una de las cepas (20 repeticiones por sustrato y cepa) y se incubaron a temperaturas de 18 y 26°C. Se observó el crecimiento del micelio sobre el sustrato

cada 5 días, hasta la colonización completa de los sustratos. La colonización se evidenció mediante el compactamiento del sustrato y el recubrimiento del mismo con el micelio.

Con base en los resultados obtenidos, se determinó el menor tiempo de colonización miceliar en los granos tomando como fecha de corte la fecha en la cual la primera cepa colonizó completamente el primer grano. Los valores fueron anotados en una hoja de toma de datos, con la que posteriormente se elaboró una base de datos en una hoja electrónica del programa EXCEL[®] y se analizaron en el programa estadístico SPSS 16.0[®], realizando un ANOVA y prueba de comparaciones múltiples de Duncan.

Resultados

Para evaluar el tiempo de producción de inóculo de cinco cepas de *S. commune*, se consideró que el menor tiempo de colonización obtenido sobre un determinado sustrato, es el más adecuado para producir inóculo de una cepa en particular. El menor tiempo de producción del inóculo para la cepa 108.2001 a 26°C y 18°C, se obtuvo en trigo, seguido del arroz, sorgo y cebada. Para la cepa 52.2003 a 26°C, los menores tiempos de colonización se obtuvieron en el trigo y cebada, seguidos por el sorgo y arroz. A 18°C, el inóculo fue producido en menor tiempo en trigo, seguido del sorgo, arroz y cebada (Tabla 1, ver anexos).

Respecto a la cepa 296.2002 a 26°C, el menor tiempo de producción del inóculo se obtuvo en cebada y trigo, seguidos del sorgo y arroz. A 18°C, el menor tiempo de colonización se presentó en trigo, seguido de cebada y sorgo, y por último en arroz (Tabla 1, ver anexos).

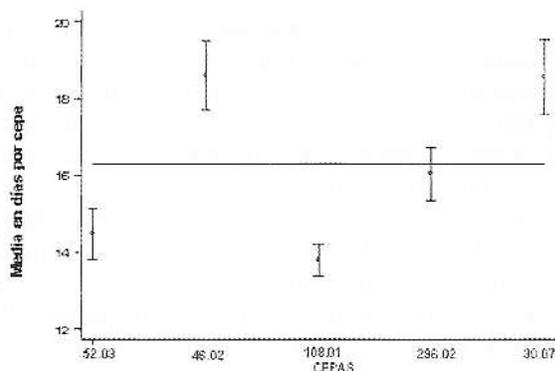
Para la cepa 30.2007 a 26°C, el menor tiempo de producción del inóculo se observó tanto en cebada, como en arroz y sorgo, en tanto que en trigo se obtuvo en mayor tiempo. Esta misma cepa a 18°C, presentó menor tiempo de colonización en trigo, seguido del arroz y sorgo, y por último cebada (Tabla 1, ver anexos).

Para la cepa 46.2002 a 26°C, el menor tiempo de colonización del inóculo se obtuvo en arroz, seguido por el sorgo, el trigo y la cebada. Esta cepa a 18°C, produjo el inóculo en menor tiempo en trigo, seguido por el arroz, el sorgo y la cebada (Tabla 1, ver anexos).

Al comparar el tiempo de colonización miceliar alcanzado por cada una de las cepas, se comprobó

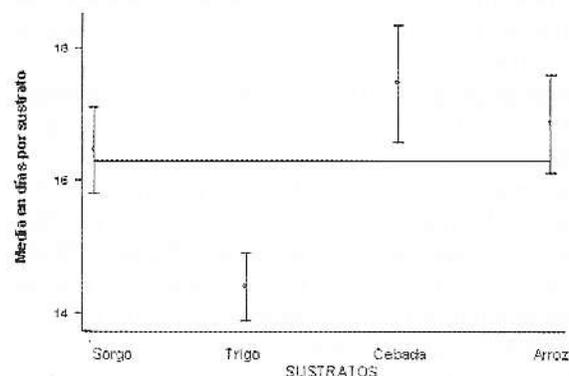
que (unificando sustrato y temperatura de incubación), los aislamientos 108.2001 y 52.2003 tuvieron un crecimiento más rápido, lo que se tradujo en menor tiempo de producción de inóculo, en comparación con las cepas 30.2007 ($p < 0.00001$), 46.2002 ($p < 0.00001$) y 296.2002 ($p = 0.02$). Esta última tuvo un crecimiento significativamente menor que las cepas 30.2007 ($p < 0.00001$) y 46.2002 ($p < 0.00001$) (Gráfica 1). Por lo tanto, las cepas 108.2001 y 52.2003 son las que crecen más rápido, las más lentas son las cepas 30.2007 y la 46.2002. La cepa 296.2002 tiene un comportamiento intermedio.

Gráfica 1. Comparación de las cepas de *S. commune*, en cuanto al tiempo de producción de inóculo.



Por otra parte, al relacionar el tiempo de colonización en cada uno de los sustratos (sin importar la temperatura de incubación y la cepa) se observó que los menores tiempos de producción del inóculo se obtuvieron en los granos de trigo, seguido por el sorgo, el arroz y la cebada. Estadísticamente, solo el trigo presentó un tiempo de crecimiento significativamente menor a los granos del sorgo ($p = 0.001$), arroz ($p < 0.0001$) y cebada ($p < 0.0001$) (Gráfica 2).

Gráfica 2. Comparación de los diferentes sustratos evaluados, en cuanto al tiempo de producción de inóculo.



Aunque el trigo presentó menor tiempo de colonización, el factor temperatura el que más ejerció su influencia sobre el crecimiento, independientemente del sustrato.

En cuanto a la comparación de la interacción entre cepas y sustratos evaluados, se demostró que las cepas 52.2003 y 108.2001 inoculadas en trigo, presentaron crecimiento significativamente menor a los demás ($p < 0.01$) y no diferencia entre ellas.

Es de hacer notar que estos análisis confirmaron que el trigo fue el grano colonizado más rápidamente por las cepas y, de ellas la 52.2003 108.2001 fueron las mejores. Se confirmó además, que la cebada fue el sustrato en el que mayor tiempo de colonización observado, y además las cepas 46.2002 y 30.2007 crecieron más lentamente.

Finalmente, la mejor combinación observada fue la conformada por la cepa 52.2003 al colonizar en menor tiempo los granos de trigo y cebada a 26°C, de temperatura de incubación. De igual forma, la cepa 108.2001 en los granos de trigo a la misma temperatura. Estas combinaciones presentaron diferencia significativa con relación a los demás tratamientos ($p < 0.01$).

Discusión

En la producción de inóculo, se considera como el mejor sustrato, aquel que es colonizado por una cepa determinada, en el menor tiempo ya que la prolongación en el tiempo de incubación promueve la contaminación y alarga los ciclos de cultivo (Stamets, 1993).

La producción de inóculo de las cepas, con respecto a las temperaturas de incubación, se observó que a 26°C se obtuvo un menor tiempo de crecimiento con respecto a los resultados observados a 18°C. Esto se debe a que el descenso de la temperatura reduce el crecimiento miceliar, disminuyendo el metabolismo del hongo y afectando la fluidez de los lípidos de la membrana celular (Chang, & Miles 2004). La sensibilidad a la temperatura no solo varía entre cepas, sino también para una misma cepa, según su etapa de desarrollo. Así, es posible y aún frecuente que un hongo tenga una temperatura óptima de germinación y que ésta sea diferente de su temperatura óptima de crecimiento miceliar o de su temperatura óptima de fructificación (Royse y Sanchez, 2001).

El hecho que las cepas evaluadas hayan tenido diferencias en el tiempo de colonización, pudo indicar que los requerimientos nutricionales de las cepas varían según los nutrientes presentes en los sustratos evaluados. Así, la utilización óptima de un sustrato varía si otros nutrientes o factores de crecimiento (temperatura, pH) se encuentran en condiciones subóptimas (Royse y Sanchez, 2001). Con relación a los sustratos, el trigo fue el único grano en el que la producción de inóculo presentó tiempos de crecimiento significativamente menores. Esta observación podría ser explicada con base a que, se ha reportado que la cantidad de tiamina es el único factor limitante en el crecimiento del micelio dicariótico de *S. commune* (Raper & Krongelb, 1958) y, en este caso, el trigo es el que mayor cantidad contiene comparado con los granos evaluados. Por otra parte, este grano es también el más rico en nitrógeno. En la literatura se ha indicado que para el adecuado crecimiento miceliar de *S. commune*, se requiere además de tiamina, nitrógeno y carbohidratos, puesto que se acumulan en el micelio vegetativo, previo a la formación de los cuerpos fructíferos (Niederpruem & Wessels, 1969).

Es probable que la combinación, principalmente del

contenido de tiamina y nitrógeno, permitieran que la mayoría de las cepas produjera el inóculo en el menor tiempo, en trigo.

Caso similar ocurrió con el sorgo, en el cual el tiempo de producción de inóculo, se correlacionó con la cantidad de tiamina ya que, después de trigo, este grano tiene una mejor concentración de la misma.

Los granos de cebada ocuparon el tercer lugar en tiempo de producción del inóculo y, en cuanto a cantidades de tiamina, la contiene en menor cantidad que los anteriores. En consecuencia puede decirse que, en este caso, la tiamina es el principal factor que limita el crecimiento del micelio vegetativo de *S. commune* en este grano, tal y como se indicó anteriormente, independientemente de la cantidad de nitrógeno, el cual no limita el crecimiento, sin embargo, es necesario para el desarrollo del micelio vegetativo (Martínez, I Morales, y Sobal, 1988). Adicionalmente, este hecho se corroboró con lo observado en arroz, ya que este grano posee la menor cantidad de tiamina y nitrógeno de todos los sustratos evaluados, como era de esperarse presentó los tiempos más prolongados de la producción de inóculo.

En base en lo discutido anteriormente, puede inferirse que, en este estudio, el principal factor que influyó en la disminución del tiempo de producción de inóculo fue la cantidad de tiamina presente en los sustratos.

Por otra parte, la cantidad de carbohidratos no influyó directamente en el crecimiento vegetativo de *S. commune*, ya que de los sustratos evaluados el trigo es el que menor cantidad contiene, en tanto que el arroz es el que posee un patrón contrario lo cual se evidenció por los tiempos de producción observados en la presente investigación.

Comparativamente, la producción de inóculo en granos de trigo ha sido exitosa en otras especies tales como *N. lepideus*, *N. ponderosus*, *P. ostreatus* y *P. pulmonarius*, permitiendo su producción en grandes cantidades (Carrera, Soto y Guzmán, 1982; Palacios, 2000a; Palacios, 2000b; Cetz, Ancona, y Belmar, 2000). Estos estudios apoyan el hecho de que en las cepas 108.2001 y 52.2003 a 26°C y todas a 18°C, hayan colonizado en menor tiempo los granos de trigo, por lo que se recomienda producir el inóculo en este grano.

Los tiempos de producción del inóculo de *S. commune* utilizando trigo, fueron similares a los reportados para las cepas de *P. djamor*, *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* en granos de sorgo, ya que estas

lograron la producción en un lapso de una a tres semanas en condiciones de oscuridad (López, Ancona, y Medina, 2005; Rodríguez, 2006; Cayetano, y Bernabé, 2008).

Acerca de la producción del inóculo en granos de cebada, no se encontró ninguna referencia que indicara la utilización de este sustrato para tal fin, por lo que no se puede establecer comparación alguna. Por tal razón, entre los aportes de este estudio se puede mencionar que la cebada es un buen sustrato para la producción de inóculo de las cepas 296.2002 y 30.2007 a 26°C.

Existe poca información referente al uso de los granos de arroz para la producción de inóculo, solamente se ha indicado que la cepa híbrida de *P. ostreatus* x *P. ostreatus* var. *florida* (ICIDCA-184) necesitó tres semanas para desarrollar el inóculo sobre este grano (Cruz, 2008). El haber obtenido el inóculo de la cepa 46.2002 de *S. commune* en arroz en 12.4 días a 26°C, es indicativo de que es posible producir inóculo de varias especies de hongos comestibles sobre granos de arroz.

En este estudio, el comportamiento general de las cepas a 26°C y 18°C en cuanto a la preferencia de colonización miceliar, mostró que el menor tiempo de producción de inóculo (en orden ascendente) se presentó en los granos de trigo, sorgo, arroz y cebada. La producción de inóculo de *S. commune* lograda con éxito en los granos evaluados, permitirá que la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la Unidad de Investigación, se constituya como proveedor del inóculo o semilla certificada para los productores de hongos que deseen cultivarlo con fines de producción de cuerpos fructíferos, ya que los productores confían en el productor de semilla y en la calidad de la misma.

Referencias

- Carrera, D., Soto, C. y Guzmán, G. (1985). Cultivo de *Pleurotus ostreatus* en pulpa de café con paja como sustrato. *Rev Mex Mic*, 1: 101-108.
- Cayetano, M. y Bernabé, T. (2008). Cultivo de *Pleurotus* sobre residuos de las cosechas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y plátano (*Musa paradisiaca*). *Rev Mex Mic*, 26: 57-60.
- Cetz, G., Ancona, L. y Belmar, R. (2000). Cultivo de *Pleurotus djamor* en rastrojo de calabaza. *Rev Mex Mic*, 16: 41-43.
- Chang, S., & Miles, P. (2004). *Mushrooms cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. 2nd. ed. USA: CRC Press.
- Cruz, L., Estrada, A., Poncc, I. y Solano, G. (2008). Inoculación de *Pleurotus ostreatus* (8 % p/p) y su influencia sobre algunos indicadores químicos en una mezcla de residuos fibrosos de la industria azucarera. Instituto de Investigaciones Agropecuarias Jorge Dimitrov, Bayamo, Granma, Cuba. Obtenido el día 04 de julio de 2008, desde: <http://www.reduc.edu.cu/147/04/2/14704212.pdf>.
- López, E., Ancona, L. y Medina, S. (2005). Cultivo de *Pleurotus djamor* en condiciones de laboratorio y en una casa rural tropical. *Rev Mex Mic*, 21:93-97.
- Martínez, D., Morales, P. y Sobal, M. (1988). Cultivo de diversas cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus* sobre pulpa de café y paja de cebada. *Rev Mex Mic*, 4: 153-160.
- Morales, O. (2001). Estudio etnomicológico de la cabecera municipal de Tecpán Guatemala, Chimaltenango. Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Morales, O., Bran, M., Cáceres, R. y Flores, R. (2003). "Contribución al conocimiento de los hongos comestibles de Guatemala". *Revista Científica*, 1(1), 2-24.
10. Niederpruem, D. & Wessels, J. (1969). Cytodifferentiation and morphogenesis in *Schizophyllum commune*. *Bacteriol Rev*, 33(4): 505-535.
- Palacios, A. (2000a). Investigación sobre la potencialidad de cultivo de dos cepas silvestres de *Neolentinus lepideus* y *N. ponderosus*. En: *Memorias del VII Congreso Nacional de Micología*, Querétaro, México. p.
- Palacios, A. (2000b). Evaluación de un filtro de fibra sintética para el intercambio de gases en el desarrollo de *Neolentinus lepideus* (Fr.:Fr) Fr. en viruta de *Pinus spp* pasteurizada, en condiciones rústicas. En: *Memorias del VII Congreso Nacional de Micología*, Querétaro, México.

Raper, J. & Krongelb, G. (1958). Genetic and environmental aspects of fruiting in *Shizophyllum commune* Fr. *Mycologia*. 50: 707-740.

Rodríguez, R. (2006). Perspectivas de producción de hongos comestibles (*Pleurotus spp.*) en la región noroeste del estado de Nuevo León. *Scientia-CUCBA*, 8(2):163-169.

Royse, D. y Sanchez, J. (2001). La biología y el cultivo de *Pleurotus spp.* México: Editorial Limusa, S.A. .

Ruán-Soto, F., Garibay, R. y Cifuentes, J. (2004). Conocimiento Micológico Tradicional en la Planicie Costera del Golfo de México. *Rev Mex Mic*, 19:57-70.

Sommerkamp, I. (1990). "Hongos comestibles en los mercados de Guatemala". Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación. Guatemala.

Stamets, P. (1993). Growing gourmet and medicinal mushrooms. Ten Speed Press & Mycomedia. Olympia, WA. USA.

Anexos

Tabla 1. Tiempo de colonización de las cepas de *S. commune*, para la producción de inóculo sobre diferentes sustratos a 26 y 18°C.

Cepa	Sustrato	Tiempo de colonización (días) ¹	
		26°C	18°C
108.2001	Trigo	10.40 ± 0.82	14.00 ± 1.77
	Arroz	11.62 ± 0.84	15.25 ± 2.53
	Sorgo	12.00 ± 0.00	17.10 ± 0.44
	Cebada	12.00 ± 0.00	17.35 ± 1.72
52.2003	Trigo	10.30 ± 0.73	13.10 ± 1.02
	Cebada	10.60 ± 0.94	21.00 ± 2.53
	Sorgo	11.40 ± 1.42	16.65 ± 1.22
	Arroz	12.30 ± 0.73	19.65 ± 2.71
296.2002	Cebada	11.40 ± 0.94	19.15 ± 3.73
	Trigo	11.90 ± 1.21	16.55 ± 1.82
	Sorgo	12.50 ± 0.89	19.80 ± 1.50
	Arroz	12.55 ± 1.70	23.10 ± 3.30
30.2007	Cebada	12.20 ± 1.28	27.95 ± 1.57
	Arroz	12.60 ± 0.94	24.00 ± 2.77
	Sorgo	12.85 ± 1.35	24.30 ± 0.73
	Trigo	13.75 ± 1.68	20.50 ± 0.88
46.2002	Arroz	12.40 ± 0.82	23.25 ± 3.46
	Sorgo	13.10 ± 2.29	24.00 ± 0.00
	Trigo	13.50 ± 0.89	19.90 ± 1.37
	Cebada	14.70 ± 1.13	27.70 ± 1.92

¹Fuente: Datos experimentales