Revista Científica
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Caracterización del crecimiento miceliar de cepas nativas de *Neolentinus ponderosus* y *N. lepideus* en diferentes pH y degradación de madera de *Pinus* spp.

Mycelial growth of native strains of *Neolentinus ponderosus* and *N. lepideus* at different pH and their *Pinus* spp. wood degradation

Claudia Rangel del Valle, Diego de León Ruíz, Osberth Morales Esquivel, María del Carmen Bran González
Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala
moresq7@gmail.com

Recibido: 31 de mayo 2017 Aprobado: 02 de abril 2018

DOI: https://doi.org/10.54495/Rev.Cientifica.v28i1.61
Licencia: CC-BY 4.0

Resumen

Neolentinus ponderosus y *N. lepideus* son dos especies de hongos saprobios que poseen uso alimenticio tradicional en comunidades de los departamentos de Huehuetenango y Totonicapán, Guatemala. La capacidad degradadora de ambas especies les confiere potencial para el estudio de la producción de cuerpos fructíferos a nivel de sustrato, por lo que en esta investigación se evaluó el crecimiento de una cepa nativa de *N. ponderosus* y una de *N. lepideus* en el medio de cultivo agar extracto de malta (EMA) a diferente pH y también se estudió la degradación de la madera de dos especies de pino (*Pinus tecunumanii* y *P. ayacahuite*) en cámaras de podredumbre durante 12 meses. El mayor diámetro de crecimiento miceliar de la cepa *N. ponderosus* se observó a pH 7.0, en tanto que para *N. lepideus* se obtuvo a pH 5.0 y 5.6. Las colonias de ambas cepas evidenciaron textura afelpada, borde regular a irregular, color blanco, con o sin pigmento difusible, olor frutal, hifas de 1.0-5.0 µm de diámetro, con clamidosporas y fíbulas. La madera de *P. tecunumanii* degradada por la cepa de *N. ponderosus* y la madera de *P. ayacahuite* por la cepa *N. lepideus*, presentaron porcentajes de pérdida de peso de 8.76 (±5.58) y 12.07 (±5.66), respectivamente y en ambos casos se alcanzó solamente el estadio temprano de degradación. Los resultados de este estudio sientan las bases para investigaciones posteriores en los que se evalúe el cultivo en troncos de ambas especies para la producción de cuerpos fructíferos con fines alimenticios y comerciales.

Palabras clave**:** cultivo de hongos comestibles, podredumbre café, cuerpos fructíferos, hongos saprobios.

Abstract

Neolentinus ponderosus and *N. lepideus* are two saprophytic fungi species used traditionally in Huehuetenango and Totonicapán, Guatemala. The degradative capacity of both species confers them potential for fruiting bodies production. This study evaluated the mycelial growth of two native strains of *N. ponderosus* and *N. lepideus* in malt extract agar (EMA) at different pH and the degradation of wood from two pine species in rot chambers during 12 months. pH 7.0 was the most appropriate for the mycelial growth of *N. ponderosus* and for *N. lepideus* were 5.0 and 5.6. The colonies of both strains showed fruity odor, velvety texture, regular to irregular edge, white color, with or without diffusible pigment, hyphae with 1-5 µm width, chlamydospores and clamp connections. Wood from *Pinus tecunumanii* and *P. ayacahuite* exhibit weight-loss percentages between 8.76 ± 5.58 and 12.07 ± 5.66, with *N. ponderosus* 145.2003 and *N. lepideus* 90.2002, respectively. In both cases reached the early stage of brown-rot decay. These results could be useful for future research that evaluate the fruiting bodies production in logs for food and commercial purposes.

Keywords: edible fungi culture, brown-rot decay, fruiting bodies, saprophytic fungi.

Introducción

El cultivo de hongos comestibles es un proceso biotecnológico que contribuye con el reciclaje de los residuos lignocelulósicos agrícolas y forestales, ya que las setas producidas se utilizan como alimento para el consumo humano y los sustratos degradados pueden utilizarse en diferentes formas (Sánchez, 2004). De las 7,000 especies de hongos que se consideran comestibles en el mundo, solamente de 200 se ha estudiado su cultivo de forma experimental y cerca de diez se producen a escala industrial: *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach, *Auricularia* spp., *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray, *Hypsizygus marmoreus* (Peck) H.E. Bigelow, *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, *Pholiota nameko* (T. Itô) S. Ito & S. Imai, *Pleurotus* spp., *Tremella fuciformis* Berk. y *Volvariella volvacea* (Bull.) Singer (Chang & Miles, 2004).

En años recientes se han logrado cultivar con éxito nuevas especies de hongos comestibles, entre las que destacan *Agrocybe cylindracea* (DC.) Maire, *Favolus tenuiculus* P. Beauv., *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers., *Lepista nuda* (Bull.) Cooke, *Phallus indusiatus* Vent, *Pleurotus albidus* (Berk.) Pegler, *P. citrinopileatus* Singer y *Stropharia rugosoannulata* Farl. ex Murrill (Chang & Miles, 2004; Omarini, Lechner, & Albertó, 2009; Lechner & Albertó, 2011; Bran, Cáceres, Gurriarán, Morales, & Flores, 2014). Es por esta razón que en la actualidad muchos estudios se han centrado en la búsqueda de nuevas especies de hongos comestibles silvestres, para estudiar su cultivo y así poder ampliar el número de especies disponibles para el consumo humano (Omarini et al., 2009).

En Guatemala existe una gran variedad de hongos comestibles y actualmente se ha documentado el uso de 83 especies que se consumen en 48 municipios de 20 departamentos del país (Morales, Bran, & Cáceres, 2010). Dentro de esta gran variedad de especies sobresalen *N. ponderosus* (Fr.) Redhead & Ginns y *N. lepideus* (O.K. Mill.) Redhead & Ginns, las cuales poseen gran popularidad por su consumo y comercialización en los departamentos de

Huehuetenango y Totonicapán (Bran, Morales, Cáceres, & Flores, 2003a, 2003b).

El hábitat natural del género *Neolentinus* es la madera de *Pinus* spp, en las que ocasiona podredumbre café (Pegler, 1893; Redhead & Ginns, 1985). En Guatemala *N. ponderosus* se ha encontrado sobre madera de *P. tecunumanii* Eguiluz & Perry, en tanto que *N. lepideus* se desarrolla en *P. ayacahuite* Ehren., por lo que se considera que ambas especies son de naturaleza saprobia y con posibilidades de ser cultivadas en desechos forestales (Bran et al., 2003a). Por lo anterior, en el año 2007 se aislaron varias cepas nativas de dichas especies y también se realizaron estudios sobre el crecimiento *in vitro* con diferentes medios de cultivo y temperaturas; así como la producción de inóculo y de cuerpos fructíferos con diferentes tratamientos de desinfección, con el fin de lograr la producción de cuerpos fructíferos sobre desechos lignocelulósicos que se generan en el país (Bran, Morales, Flores, Cáceres, & Blanco, 2007).

Debido a que no se cuenta con estudios sobre el crecimiento miceliar en diferentes condiciones de cultivo, en este estudio se evaluó el comportamiento de dos cepas nativas (*N. ponderosus* y *N. lepideus*) en el medio EMA a diferente pH, así como su actividad degradadora en la madera de *P. tecunumanii* y *P. ayacahuite*, respectivamente, como un paso previo para establecer si es posible su cultivo y producción de cuerpos fructíferos en troncos de madera pino y otros sustratos sintéticos (formas que se utilizan con éxito en el cultivo de *L. edodes*), así como la posible aplicación de la técnica de desinfección de los sustratos por inmersión en agua alcalina.

Materiales y métodos

Reactivación de las cepas de *N. ponderosus* y *N. lepideus*: Se utilizaron dos cepas que 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, de la Universidad de San Carlos de Guatemala. El código y la procedencia de las cepas son las siguientes: *Neolentinus lepideus*, 90.2002 (Aldea Panquix, Totonicapán) y *Neolentinus ponderosus*, 145.2003 (Aldea Bulej, San Mateo Ixtatán, Huehuetenango). Las mismas se sembraron en cajas de Petri con medio EMA y se incubaron a 26°C por dos semanas. Posteriormente se resembraron en medio de cultivo mencionado y se incubaron por dos semanas más.

Determinación del diámetro de las colonias a diferente pH: El procedimiento se realizó de acuerdo con lo recomendado por Stamets (1993) y Mier, Toriello y Ulloa (2002): Se preparó el medio de cultivo EMA (Merck®), se ajustó el pH a valores de 5.0, 7.0, 9.0 y 12.0 con HCl o KOH al 10% y se esterilizaron en autoclave por 15 min a 121°C y 1.0 Kg/cm^2. Se sirvieron 20 mL de cada uno en cajas de Petri de poliestireno desechables estériles. De la misma forma se preparó medio EMA sin ajuste de pH (5.6), el cual se utilizó como control. Posteriormente se inocularon 10 cajas (repeticiones) de cada medio con un segmento de 0.5 cm^2 de micelio de cada una de las cepas. Las cajas inoculadas se sellaron e incubaron a 26°C durante 21 días. Se midió y anotó el diámetro alcanzado por las colonias, en dos planos perpendiculares (ejes x, y) de los cuales se obtuvo el diámetro promedio (cm). Con los datos obtenidos, el programa Excel® se elaboró una base de datos que incluyó el diámetro promedio (cm) de las colonias de cada una de las cepas en los medios ajustados a diferente pH y el medio control.

Documentación de las características macro y microscópicas de las colonias: El procedimiento

se realizó de acuerdo con Nobles (1965). Las colonias obtenidas de cada cepa (10 repeticiones) sembradas en el medio EMA a pH 5.0, 7.0, 9.0 y 12.0, se caracterizaron macroscópicamente con la ayuda de un estereoscopio. Se observó el color del anverso y reverso de la colonia, la textura, aspecto del borde, olor del cultivo y presencia o ausencia de pigmento. El micelio de las colonias se describió microscópicamente y se realizaron preparaciones con azul de lactofenol de secciones del centro, medio y borde de las colonias, para observar las características hifales a un aumento de 1000x. Se midió el diámetro de las hifas (µm), se observó el número de fíbulas y clamidosporas por campo.

Preparación de cámaras de podredumbre: El procedimiento se realizó según la American Society for Testing and Materials (1971). Se prepararon 20 frascos con tapa de rosca de 250 mL, con 18 mL de medio EMA y se esterilizaron por 15 min a 121°C y 15 Kg/cm^2. Los frascos se colocaron horizontalmente de manera que el agar se solidificara en esta posición. Posteriormente, cada cepa se sembró en 10 frascos con un segmento circular de 0.5 cm de diámetro en el centro del medio de cultivo y se incubaron a 26°C durante dos semanas hasta que el micelio colonizó totalmente el medio.

Preparación de los bloques de madera, esterilización de los bloques y cámara de podredumbre: El procedimiento se realizó de acuerdo a Cartwright (1929). A partir de una rodela de madera de *P. tecunumanii* y otra de *P. ayacahuite* se cortaron bloques de madera de 1 x 1 x 1.5 cm, tanto de la albura como del duramen. Se seleccionaron bloques que no presentaran ningún defecto y con un lápiz se escribió un número correlativo en los diferentes lados y se secaron por 48 h en un horno a 65ºC para eliminar la humedad, hasta que alcanzaron peso constante. Se procedió a determinar el peso inicial de los bloques (P_o) y luego se saturaron con agua potable en un matraz Kitasato que se sometió a vacío. El punto de saturación se obtuvo por inmersión y desplazamiento de aire. Paralelamente, se prepararon soportes de vidrio que junto con los bloques se esterilizaron por 15 min a 121°C y 1.0 Kg/cm^2. Una vez fríos, los soportes se colocaron con una pinza estéril sobre el micelio crecido en los frascos. Posteriormente, se colocaron bloques de *P. ayacahuite* sobre los soportes de vidrio con la superficie transversal hacia el micelio de *N. lepideus,* cepa 90.2002, crecido en los frascos (13 repeticiones). De la misma forma se colocaron bloques de *P. tecunumanii* en los frascos con micelio de *N. ponderosus*, cepa 145.2003 (29 repeticiones) y se incubaron a 26ºC por 12 meses, período en el cual ocurrió la colonización de los mismos. Transcurrido este lapso, se extrajeron los bloques de madera y se eliminó el micelio crecido en el exterior y se dejaron secar por 24 h en un horno a 65ºC, hasta que alcanzaron peso constante. Se determinó el peso final de los bloques (P_f) y se calculó el porcentaje de pérdida de peso de cada uno de los bloques de madera con la siguiente fórmula (Kumar & Dev, 1993): Porcentaje de Pérdida de peso = [(Po-Pf)/Po] *100. Posteriormente se calculó el promedio y la desviación estándar del porcentaje de pérdida de peso a partir de los valores individuales de las réplicas.

Preparación de cortes de la madera colonizada**:** El procedimiento se realizó según Johansen, (1949) y Pérez, Pinzón y Echenique, (1977): Se preparó la solución fijadora formaldehído, alcohol, ácido acético (FAA) de la siguiente manera: Etanol 95% (50 mL), ácido acético (5 mL), formaldehído (10 mL) y agua destilada (35 mL). Los bloques de madera se saturaron con la solución FAA en un Kitasato que se sometió a vacío por 30 min. Se reemplazó el FAA por agua destilada y se sometieron

a vacío por 5 min más, luego se lavaron con agua potable por 30 min. Con un micrótomo de deslizamiento se cortaron secciones de 20 µm de ancho de la cara radial de los bloques. Las secciones se tiñeron con el método de Cartwright de azul de picro-anilina, la cual se realizó de la siguiente manera: Safranina acuosa 1% (30 s), agua destilada (30 s, dos veces), azul de picro-anilina al vapor (30 s), agua destilada (30 s dos veces), etanol al 50%, 70%, 95% y 100% (30 s cada uno), etanol al 100% (2 min, dos cambios) y xileno al 100% (3 min, dos cambios). Finalmente se colocaron en xileno al 100% y se colocaron en portaobjetos que contenían una pequeña gota de resina Entellán® y luego se colocaron cubreobjetos sobre los mismos, se presionaron, etiquetaron y dejaron secar. Se estudiaron las secciones y se observó la distribución de las hifas en las células de la madera.

Análisis de resultados: El diámetro de crecimiento miceliar de cada cepa a los pH evaluados (5.0, 7.0, 9.0 y 12.0) y el control (5.6), se analizó estadísticamente por medio de un análisis de varianza de una vía, con una prueba posterior de comparaciones múltiples de Tukey (α =.05) en el programa SPSS 19.0®, para evidenciar diferencias estadísticamente significativas. Las características macro y microscópicas de las colonias obtenidas a los pH evaluados fueron analizadas a través de un análisis de conglomerados con el programa estadístico PAST®, a través de la elaboración de dendrogramas construidos a partir de distancias euclidianas, para observar similitudes morfológicas entre los tratamientos. Para la degradación de madera no se realizó análisis estadístico, sino que se describió el porcentaje de pérdida de peso y la degradación por parte del hongo en las células vegetales.

Resultados

El mayor diámetro de crecimiento miceliar de *N. ponderosus* cepa145.2003 se observó en el pH 7.0, la cual presentó 8.25 (±0.13) cm luego de 21 días de incubación. Sin embargo, este diámetro no mostró diferencia significativa ($p > 0.05$) con los obtenidos en el pH 5.0 y el pH 5.6 que correspondió al control. Los diámetros observados en los pH 9.0 y 12.0, fueron de 6.81 (0.87) cm y 5.71 (±0.43) cm, respectivamente, los cuales presentaron diferencia significativa entre sí ($p = .001$) y con respecto a los demás pH evaluados ($p < .05$). Asimismo, se observó una disminución del crecimiento miceliar en los pH alcalinos (Figura 1).

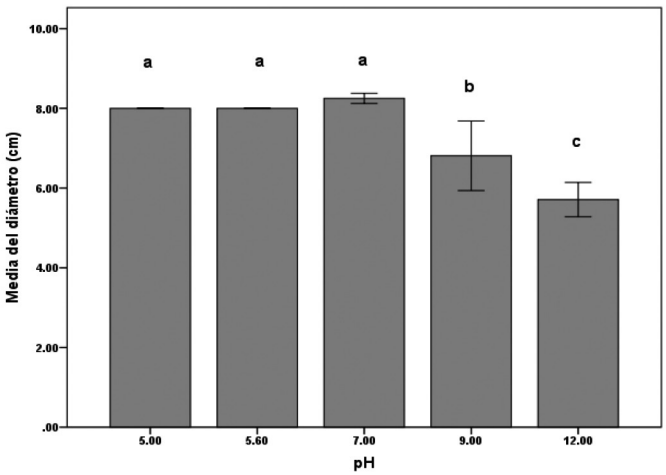

Figura 1. Diámetros de crecimiento miceliar de *N. ponderosus* cepa 145.2003 en cinco valores de pH, a los 21 días de incubación. Las barras de error indican la media del diámetro de crecimiento miceliar ± la desviación estándar. Letras distintas indican diferencia significativa con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($p < .05$).

El mayor diámetro de crecimiento de *N. lepideus* cepa 90.2002 se observó en el pH 5.0, así como en el pH control (5.6), los cuales presentaron una media de 8.0 (.00) cm en ambos casos luego de 21 días de incubación. Asimismo, no presentaron diferencia significativa entre sí ($p > .05$). Los diámetros de crecimiento miceliar observados en los pH 7.0, 9.0 y 12.0, fueron de 7.43 (0.13) cm, 4.94 (0.87) cm y 4.26 (0.43) cm, respectivamente, presentaron diferencia significativa entre ellos ($p < .05$) y con respecto a los pH 5.0 y 5.6. También se observó disminución en el crecimiento miceliar conforme aumentó el valor de pH (Figura 2).

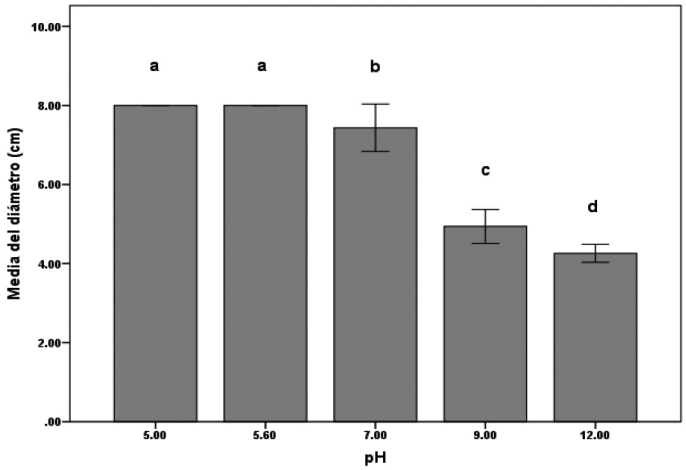

Figura 2. Diámetros de crecimiento miceliar de *N. lepideus* cepa 90.2002 en cinco pH, a los 21 días de incubación. Las barras de error indican la media del diámetro de crecimiento miceliar ± la desviación estándar. Letras distintas indican diferencia significativa con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($p < 0.05$).

El análisis de conglomerados para *N. ponderosus* cepa 145.2003 mostró que las características macroscópicas de las colonias desarrolladas a los pH evaluados se asociaron inicialmente en dos grupos (A y B) (Figura 3). El grupo A, a su vez se dividió en dos subgrupos (C y D). En el subgrupo C se agruparon las colonias obtenidas a los pH 5.0 y 5.6, las cuales presentaron colonias blancas, ausencia de pigmento, borde regular, textura afelpada, olor dulce frutal, diámetro de hifas de 1- 5 µm (promedio 2.5 µm), presencia de 2-3 fíbulas por campo a pH 5.0 y 3-4 fíbulas por campo a pH 5.6. En ambos casos se presentaron de 0 a 1 clamidosporas por campo. El subgrupo D incluyó las colonias obtenidas a pH 12.0, las cuales presentaron borde irregular, 1-2 fíbulas y 2-3 clamidosporas por campo.

El grupo B que agrupó colonias obtenidas a pH 7.0 y 9.0, mostró colonias blancas, borde regular, textura afelpada, olor dulce frutal, presencia de pigmento difusible en el medio color amarillento a marrón en el 60% de las colonias evaluadas a pH 7.0 y en el 100% de las colonias evaluadas a pH 9.0, presencia de 1-2 fíbulas y 0-1 clamidosporas por campo a pH 7.0, en tanto que 1-2 fíbulas y 1-2 clamidosporas por campo a pH 9.0.

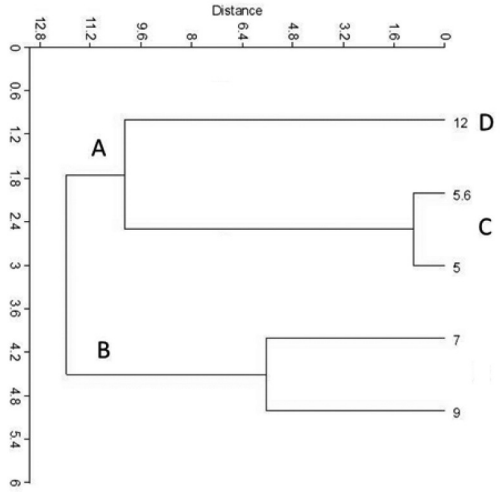

Figura 3. Análisis de conglomerados de características macro y microscópicas de *N. ponderosus* cepa 145.2003 en cinco valores de pH.

El análisis de conglomerados para *N. lepideus* cepa 90.2002 mostró que las características de colonias en los diferentes pH evaluados se asociaron inicialmente en dos grupos (A y B) (Figura 4). En el grupo A incluyó las colonias obtenidas a pH 7.0, las cuales presentaron coloración blanca, borde regular, textura afelpada, olor dulce frutal, presencia de pigmento, diámetro de hifas de 1-4 µm (promedio 3.57 µm), presencia de 3-4 fíbulas y 3-4 clamidosporas por campo. El grupo B a su vez se dividió en 2 subgrupos (C y D). El subgrupo C incluyó colonias desarrolladas a pH 12.0, las cuales presentaron coloración blanca, textura afelpada, olor dulce frutal, presencia de pigmento, borde irregular, diámetro de hifas de 1-4 µm (promedio 1.73 µm), presencia de 0-1 fíbulas y 3-4 clamidosporas por campo.

El subgrupo D se dividió en dos grupos más (E y F). El grupo E incluyó las colonias evaluadas a pH 9.0, que presentaron coloración blanca, borde regular, textura afelpada, olor dulce frutal, diámetro de hifas de 1-4 µm (promedio 1.85 µm), ausencia de pigmento, 1-2 fíbulas y 3-4 clamidosporas por campo. El grupo F incluyó las colonias desarrolladas a pH 5.0 y 5.6, que mostraron coloración blanca, borde regular, textura afelpada, olor dulce frutal, pigmento en el 20% de las colonias evaluadas a pH 5.0 y en el 10% de las evaluadas a pH 5.6, diámetro de las hifas de 1-4 µm (promedio 1.6 µm), presencia de 3-4 fíbulas y 0-1 clamidosporas por campo.

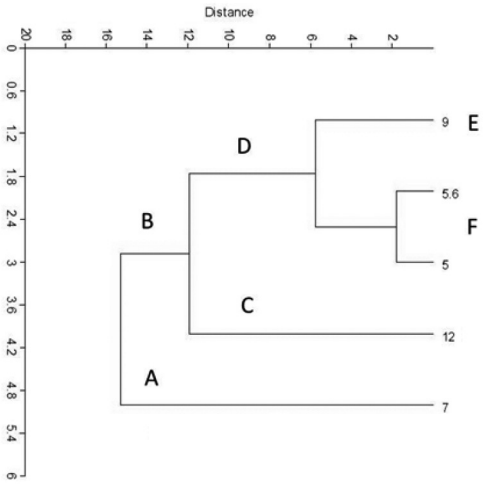

Figura 4. Análisis de conglomerados de características macro y microscópicas de *N. lepideus* cepa 90.2002 en cinco valores de pH.

Con respecto a la degradación, la pérdida de peso de la madera de *P. tecunumanii* colonizada con *N. ponderosus* cepa145.2003 fue de 8.76 (5.58) % (*n*=29); mientras que en el caso de la madera de *P. ayacahuite* al ser incubada con *N. lepideus* cepa 90.2002 se obtuvo una media de 12.07 (5.66) % (*n*=13).

Después de 12 meses de incubación de la madera en presencia de las dos cepas de *Neolentinus,* se observó que en ambos casos la podredumbre café ocasionada, únicamente alcanzó el estadio temprano de degradación, ya que las hifas solamente penetraron la pared hasta alcanzar el lumen de las células.

Discusión

La concentración de iones de hidrógeno es muy importante ya que de ella depende el estado y la disponibilidad de los iones inorgánicos y de los diferentes metabolitos en un medio de cultivo. La mayoría de los hongos pueden crecer en un ambiente con un pH entre 4 y 8,5, con un óptimo entre 5 y 7, muy cerca al pH neutro (Cepero, Restrepo, Franco-Molano, Cárdenas, & Vargas, 2012).

En el caso de los hongos *N. ponderosus* cepa 145.2003 y *N. lepideus* cepa 90.2002, es muy importante identificar el pH óptimo de crecimiento miceliar, para posteriormente mejorar la producción de inóculo y de cuerpos fructíferos. Por tal razón, ya que tanto *N. ponderosus* cepa 145.2003 como *N. lepideus* cepa 90.2002 obtuvieron el mayor crecimiento miceliar en rangos de pH 5.0-7.0, se considera que son los óptimos para el crecimiento de estas cepas. La reducción del crecimiento miceliar en medios con pH alcalino se debe a que algunos de los genes fúngicos no son expresados en dichas condiciones, como por ejemplo los que son responsables de la expresión de enzimas proteasas y oxidasas (Polizeli & Rai, 2013).

Infortunadamente, la reducción del crecimiento miceliar de *N. ponderosus* y *N. lepideus* en pH alcalinos limitaría el uso del método de inmersión en agua alcalina, para desinfección de los sustratos en la producción de cuerpos fructíferos y podría no ser apropiado para el cultivo de estos hongos. Sin embargo, es necesario realizar otros estudios a nivel de sustrato para verificar la eficacia de dicho

método en el cultivo de estas dos especies.

Al comparar los resultados obtenidos con otros estudios, se comprobó que fueron similares a los obtenidos por Tandon (1961), quien encontró que los hongos *Phyllosticta cycadina, P. artocarpina, P. morfolia* y *P. mortoni* mostraron un mejor crecimiento en el rango de pH de 5.0 a 6.5. Así mismo, coincidieron con lo comunicado por Berger y Hanson (1963), quienes observaron un óptimo crecimiento miceliar para *Cercospora zebrina* y *Lophotrichus ampullus* a pH 6.0. Por el momento no se cuenta con estudios donde se evalúe el crecimiento micelar de las especies *N. ponderosus* y *N. lepideus*, por lo que no es posible establecer un parámetro de comparación.

Por otra parte, el pigmento amarillo observado en las colonias en *N. ponderosus* cepa 145.2003, a pH 7.0 y 9.0 y en *N. lepideus* cepa 90.2002 principalmente a pH 7.0, probablemente se debió a la abundante producción de metabolitos secundarios en estas condiciones específicas y no afectó el diámetro de crecimiento miceliar de las colonias (Stamets, 1993).

Con respecto a la degradación de la madera, al utilizar la clasificación de Kumar y Dev, la cual evalúa la resistencia de la madera con base en la pérdida de peso, la madera de *P. tecunumanii* se clasificó como "muy durable" ya que perdió entre 0 y 10% de peso, en tanto que *P. ayacahuite* se catalogó como "durable" pues perdió entre 11 y 24% de peso. Ambas categorías se consideran con alta resistencia a la degradación por hongos (Kumar & Dev, 1993).

Lo anterior fue comprobado microscópicamente, ya que en ambas especies de *Pinus,* únicamente se evidenció el estadio temprano de podredumbre café, en el cual las hifas alcanzaron solamente el lumen de las células de la madera después de penetrar la pared en forma radial (Douglas, Flournoy, Kent, & Highley, 1991). Por tal razón no se observaron cambios en el volumen de la pared celular, ni presencia de grietas y/o hendiduras, características de estadios más avanzados de degradación (Schwarze, Engels, & Mattheck, 2000).

Estos resultados demostraron la alta durabilidad de la madera de estas especies de *Pinus*, ya que a pesar del largo periodo en que la madera permaneció en contacto con las cepas antes mencionadas, la estructura celular se mantuvo, no se encontraron indicios de actividad avanzada de enzimas, ni tampoco porcentajes elevados de pérdida de peso, por lo que se podría utilizar estas especies como sustratos para producción de cuerpos fructíferos, por medio del método de cultivo en troncos, tal y como se realiza para otras especies como *Lentinula edodes* (De León, 2010).

Estudios similares fueron descritos por Ferraz, Rodríguez, Freer y Baeza (2001), quienes al incubar por 90 días madera de *Pinus radiata* con *Wolfiporia cocos*, hongo causante de podredumbre café, obtuvieron un porcentaje de pérdida de peso de 9.4 (0.4). Asimismo, Chee, Farrell, Stewart y Hill (1998) incubaron durante 126 días madera de *P. radiata* con *Artrodia serialis* y *Gloephyllum sepiarium*, ambos hongos causantes de podredumbre café, y reportaron un porcentaje de pérdida de peso de 15.9 y 19.3, respectivamente. Si bien ambas publicaciones muestran valores comparables al del presente estudio, fueron obtenidos en un periodo de incubación menor, lo cual puede indicar que bajo las condiciones de este estudio, las cepas utilizadas degradaron más lentamente la madera de pino evaluadas. Lamentablemente no se cuenta con estudios similares para ambas cepas de hongos y especies de *Pinus*, por lo que no es posible establecer comparación con los resultados obtenidos.

Es importante mencionar que el estudio de la influencia del pH en el crecimiento de las cepas nativas de *N. ponderosus* y *N. lepideus*, así como la evaluación de la degradación de la madera de las especies de *P. tecunumanii* y *P. ayacahuite*, que son sus hospederos naturales, constituye una investigación pionera en este campo y determina las bases para estudios posteriores, en los que se evalúe la producción de cuerpos fructíferos en troncos de estas especies de uso comestible en nuestro país.

Agradecimientos

A la Unidad de Biodiversidad, Tecnología y Aprovechamiento de Hongos (BIOTAH) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC) por el apoyo brindado. A la Inga. Myrna Ethel Herrera Sosa de la Facultad de Agronomía (USAC), por la asistencia con los cortes de la madera. A los revisores por las mejoras y sugerencias realizadas.

Referencias

American Society for Testing and Materials. (1971). *Standard method of accelerated laboratory test of natural decay.* Philadelphia: ASTM Book of Standards.

Berger, R. & Hanson, E. (1963). Pathogenicity, host-parasite relationship, and morphology of some forage legume *Cercospoae*, and factors related to disease development. *Phytopathology*, *53*(5), 500-508.

Bran, M., Morales, O., Cáceres, R., & Flores, R. (2003a). *Hongos comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula. (Fase III).* (Inf. 2003.30). Guatemala: Dirección General de Investigación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

Bran, M., Morales, O., Cáceres, R., & Flores, R. (2003b). Contribución al conocimiento de los hongos comestibles en Guatemala. *Revista Científica*, *1*(1), 2-24. https://doi.org/10.54495/Rev.Cientifica.EdicionEspecial2003.232

Bran, M., Morales, O., Flores, R., Cáceres, R., & Blanco, R. (2007). Caracterización *in vitro* y producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas de *Neolentinus ponderosus* y *N. lepideus*. (Inf. 2007.019). Guatemala: Dirección General de Investigación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

Bran, M., Cáceres, R., Gurriarán, N., Morales, O., & Flores, R. (2014). Evaluación de la producción de cuerpos fructíferos de cepas guatemaltecas del hongo comestible Rukoxil Tunay Che' (*Agrocybe cylindracea* (DC.) Maire.) en diferentes sustratos. *Ciencia, Tecnología y Salud, 1*(1), 35-42. https://doi.org/10.36829/63CTS.v1i1.8

Cartwright, K. (1929). A satisfactory method for staining fungal mycelium in wood sections. *Annals of Botany*, *43*, 412-413. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a090177

Cepero, M., Restrepo, S., Franco-Molano, A., Cárdenas, M., & Vargas, N. (2012). *Biología de hongos.* Bogotá: Editorial Uniandes.

Chang, S. & Miles, P. (2004). *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect and environmental impact.* (2ª. Ed). Boca Raton: CRC Press.

Chee, A., Farrell, R., Stewart, A. & Hill, R. (1998). Decay potential of basidiomycete fungi from *Pinus radiata*. *Forest and Enviroment*, *51*, 235-240. https://doi.org/10.30843/nzpp.1998.51.11659

De León, R. (2010). Producción comercial de *Pleurotus* spp. y *Lentinula edodes* en Guatemala. (pp. 465-487). En D. Martínez-Carrera, N. Curvetto, M. Sobal, P. Morales, & V. Mora (Eds.). *Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica*: *avances y perspectivas en el siglo XXI*. Puebla: Red Latinoamericana de hongos comestibles y medicinales.

Douglas, S., Flournoy, T., Kent, T., & Highley, T. (1991). Wood decay by brown-rot fungi: change in pore structure and cell wall volume. *International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*, *45*(5), 383-388. https://doi.org/10.1515/hfsg.1991.45.5.383

Ferraz, A., Rodríguez, J., Freer, J., & Baeza, J. (2001). Biodegradation of *Pinus radiata* softwood by white- and brown-rot fungi. *World Journal of Microbiology & Biotechnology, 17*, 31-34. https://doi.org/10.1023/A:1016646802812

Johansen, O. (1949). *Plant microtechniques*. New York City: McGraw-Hill.

Kumar, S. & Dev, I. (1993). *Wood preservation in India*. Dehradun: Indian Council of Forestry Research and Education Press.

Lechner, B. & Albertó, E. (2011). Search for new naturally occurring strains of *Pleurotus* to improve yields. *Pleurotus albidus* as a novel proposed species for mushroom production. *Revista Iberoamericana de Micología, 28*(4), 148-154. https://doi.org/10.1016/j.riam.2010.12.001

Mier, T., Toriello, C., & Ulloa, M. (2002). *Hongos microscópicos saprobios y parásitos*. México D. F.: Universidad Autónoma de México.

Morales, O., Bran, M., & Cáceres, R. (2010). Los hongos comestibles de uso tradicional en Guatemala. (Pp. 437-464). En D. Martínez-Carrera, N. Curvetto, M. Sobal, P. Morales, & V. Mora (Eds.). *Hacia un desarrollo sostenible del sistema producción-consumo de los hogos comestibles y medicinales en Latinoamérica: avances y perspectivas en el siglo XXI.* Puebla: Red Latinoamericana de hongos comestibles y medicinales.

Nobles, M. (1965). Identification of culture of wood-inhabiting hymenomycetes. *Canadian Journal of Botany*, *43*, 1097-1139. https://doi.org/10.1139/b65-126

Omarini, A., Lechner, B., & Albertó, E. (2009). *Polyporus tenuiculus*: a new naturally occurring mushroom that can be industrially cultivated on agricultural waste. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 36*(5), 635-642. https://doi.org/10.1007/s10295-009-0530-2

Pegler, D. (1983). *The genus Lentinus: a world monograph.* Kew: Royal Botanic Gardens.

Pérez, J., Pinzón, L., & Echenique, R. (1977). Ensayo de laboratorio sobre resistencia natural de la madera de especies tropicales mexicanas al ataque de hongos xilófagos. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, *11*, 99-109.

Polizeli, M. & Rai, M. (2013). *Fungal enzymes*. Florida: CRC Press. https://doi.org/10.1201/b15247-14

Redhead, S. & Ginns, J. (1985). A reappraisal of agaric genera associated with brown rots of woods. *Transactions of the Mycological Society of Japan, 26,* 349-381.

Sánchez, C. (2004). Modern aspects of mushroom culture technology. *Applied Microbiology and Biotechnology, 64,* 756-762. https://doi.org/10.1007/s00253-004-1569-7

Schwarze, F., Engels, J., & Mattheck, C. (2000). *Fungal strategies of wood decay in trees*. Berlin: Springer-Verlag. https://doi.org/10.1007/978-3-642-57302-6

Stamets, P. (1993). *Growing gourmet & medicinal mushrooms.* Washington: Ten Speed Press Mycomedia.

Tandon, R. (1961). *Physiological studies on some pathogenic fungi.* Allahabad: Uttar Pradesh Scientific Research Comittee Monographs.

Copyright (c) 2018 Claudia Rangel del Valle, Diego de León Ruíz, Osberth Morales Esquivel y María del Carmen Bran González

Este texto está protegido por una licencia *CreativeCommons 4.0*.

Usted es libre para Compartir —copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato— y Adaptar el documento —remezclar, transformar y crear a partir del material— para cualquier propósito, , incluso para fines comerciales, siempre que cumpla la condición de:

Atribución: Usted debe dar crédito a la obra original de manera adecuada, proporcionar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que tiene el apoyo del licenciante o lo recibe por el uso que hace de la obra.

Resumen de licencia - *Texto completo de la licencia*