



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

CARACTERIZACIÓN MICELIAL Y CULTIVO DE CEPAS DE *Schizophyllum* spp.

TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
B I Ó L O G O  
P R E S E N T A:  
MARIEL FABIAN JURADO

DIRECTORA  
DRA. MAURA TÉLLEZ TÉLLEZ

CODIRECTORA  
DRA. MA. DE LOURDES ACOSTA URDAPILLETA

CUERNAVACA, MORELOS

Octubre 2022

## **Agradecimientos**

A mis estimadas directoras de tesis:

Doctora Maura Téllez Téllez, por todo el apoyo brindado en toda mi trayectoria académica, por el conocimiento compartido para llevar a cabo esta investigación (especialmente toda la parte enzimática) y por la paciencia que me tuvo siempre, puesto que trabajar conmigo es complicado.

Siempre he admirado su destacado trabajo, eso siempre será así, es por ello que le doy infinitas gracias, por su confianza, compañía, consejos, apoyo moral, tiempo, comprensión, dedicación y profesionalismo hacía mí y sobre todo por compartirme sus conocimientos y experiencias durante estos años de trayectoria.

PD: perdón por todos los corajes que le hice pasar.

Ha sido una excelente directora y la mejor profesora y una gran amiga.

Doctora Ma. de Lourdes Acosta Urdapilleta, por compartirme su amplio conocimiento en cultivo, así como sus técnicas, por la paciencia que me tuvo siempre y el apoyo que me dio en esta investigación. Así también le agradezco por su comprensión, tiempo y dedicación hacía mí. Y también por consolarme cuando mi directora me regañaba.

Gracias a ustedes, me llevo grandes experiencias.

Agradezco a cada uno de los miembros del comité sinodal

Doctora Elba Cristina Villegas Villarreal

Maestra Patricia Martínez Jaimes

Biólogo Nestor Irai Bautista García

Doctora Silvia Cappello García

Gracias por el tiempo que se tomaron en revisar cada parte del escrito realizado y por el apoyo con cada uno de sus comentarios para realizar este proyecto, así también por las ideas propuestas para mejorarlo y llevarlo a mejor calidad. Agradezco su grata presencia y evaluación, en cada uno de los seminarios que se llevaron a cabo.

Agradezco a la Dra. Silvia, por el apoyo de algunas cepas que se trabajaron y por la identificación de la cepa recolectada en Morelos. Así también agradezco al biólogo Nestor por su apoyo con la elaboración de semilla y su debido proceso de inoculación.

## A mi familia

A mis adorables padres, la señora Ma. Elena Jurado y el señor Nicolás Fabian, quienes han estado conmigo brindándome su apoyo incondicional en todo momento, dándome sus consejos y palabras de aliento ante cualquier situación, les agradezco por el apoyo ante mis diferentes decisiones y sobre todo por confiar en mí. Gracias por la educación recibida, desde casa, hasta la académica.

Sobre todo les agradezco por impulsarme a seguir el camino, a pesar de mis caprichos de no querer seguir estudiando, por ustedes culminé una licenciatura.

Guillermo, Alfredo y Adán, por el apoyo de la compu y otros detalles materiales hacía mí.

A la lic. Beatriz, por hacer algunos pagos de semestre en el banco jaja.

A la maeta Maribel, por ser mi sugar y aval ante estos últimos años de estudio y por sus mimos hacia mí, ya que después de clases, me llevaba a cenar y a comprar chatarras.

Al inge. Omar, por la orientación para elaborar el índice de dicho proyecto y por el apoyo técnico, porque cuando tuve mi primer seminario estuvo al pendiente de las posibles fallas del internet y cuando se presentó una, rápidamente lo solucionó. También gracias porque me poyo económicamente con pasajes y comida haha.

A Fer por su ayuda con material que llegaba a necesitar, como cargar un tronco porque tenía hongos y por el apoyo moral que me ha dado. También porque se desvelaba por hacerme compañía cuando hacía tareas o el escrito de dicha tesis. PD: el chato no cuenta jaja. A todos y cada uno de mis siete hermanos, muchas gracias.

## Compañeros y amigos

Agradezco a la maestra Alma por su gran amistad y su gran apoyo dentro del laboratorio, por enseñarme todo lo que sabe, incluyendo técnicas para tener un mejor desempeño laboral y académico. Agradezco infinitamente por el tiempo que me dio de alojo en su casa y por el desayuno que me preparaba antes de salir al laboratorio.

Al maestro Benjamín, por compartirme de su conocimiento, principalmente por enseñarme a preparar buffers.

Bióloga Paloma, por mimarme con fruta y comida haha, ya que siempre me compartió de lo que poseía.

Biólogo Reyes, porque le daba sabor a mis días, siempre animándome con cualquier cosa que hacía o decía.

Bióloga Estefany, por su apoyo en el laboratorio, en la parte enzimática sobre todo y por tomarse el tiempo en revisarme mi escrito.

Maeta Oli y Juan, por el pollo encacahuatado que nos preparaban, que se repita!!! Así también quiero agradecer por lo que hicieron por mi mamá. Gracias infinitas.

A mi tutor académico, el maestro Gabriel Flores, por su gran apoyo con literatura brindada y por los consejos sobre algunas materias, por su grata asesoría y porque desempeñó un papel como el mejor tutor ante mis compañeros, ya que siempre me brindaba la información al prestarme sus libros, o bien me ayudaba a buscar información sobre algún tema y me lo entregaba impreso, por eso mis compañeros y amigos, lo adoraban.

Dra. Patricia Trujillo por el apoyo moral.

Dr. Armando Burgos, aunque cada sermón duraba 30 minutos, al final tuvo toda la razón, gracias por cada uno de los consejos y reflexiones que siempre me dio, ante la vida y no solo sobre lo académico, desde segundo semestre hasta ahora, los llevaré siempre presentes.

Ed y Liz por estar conmigo en algunos de los semestres de la carrera, por apoyarme en mis trabajos, y por recordarme que habían dejado de tarea. Y por las tardes de películas y karaoke. Que se repita!!!

Barajas, por tomarse el tiempo de enseñarme matemáticas y por prepararme para el examen de dicha materia.

Daniel, por estar siempre en cada presentación de la materia diversidad vegetal, a pesar que no era su materia, siempre sacó al mismo equipo adelante 20 minutos antes de presentar, así el equipo no tuviera nada para dar por falta de organización. Nunca supe como lo hacía, pero siempre expusimos con esa adrenalina y motivación. Por él aprobé dicha materia.

Ceci por acompañarme desde la prepa y darme sus porras en todo momento, por su apoyo incondicional. La persona más valiente, al dejarse puncionar para donar sangre a mi mamá.

Yow, por las porras y ánimos, siempre levantándome el ego jaja.

Mayra y Edahi, por su amistad y apoyo en esta trayectoria académica, por la creatividad en la elaboración de una maqueta del hongo *morchella*, y por el arroz con leche que me preparó el día de mi cumpleaños.

Kenia y Osvaldo, por las tardes de videojuegos y las noches de hamburguesas.

A la Dra. Silvia Toledo, que siempre ha creído en mí, a la cual le tengo un gran afecto y admiración. La mejor médico de la prepa.

Itzel catalán, por estar siempre conmigo, jode y jode, pero no dejas de estar. Gracias por tan buenos consejos y las porras.

Gracias a todos y cada uno de ustedes.

## **Dedicatoria**

Este proyecto se lo dedico principalmente a mis papás, la señora Ma. Elena y el señor Nicolás, quienes me dieron la inspiración suficiente para ser mejor persona, a quienes siempre han estado conmigo en todo momento, apoyándome al darme sus sabios consejos y levantándome después de cada recaída. A ellos les dedico este trabajo, porque se merecen todo lo bonito de esta vida.

Así también, este proyecto se lo dedico a cada uno de mis hermanos (Guillermo, Beatriz, Alfredo, Adán, Maribel, Omar, Jennifer), porque siempre vieron por mí, económicamente siempre cubrieron mis gastos, siempre se preocuparon y estuvieron presentes cada que llegué a necesitarlos, como fue en las tares, aunque no lo entendían, trataron de ayudarme y sacar ese pendiente a tiempo, porque han sido el mejor equipo que he podido tener y el mayor soporte.

A mi abuelita la señora Salú Cano, a pesar de estar a distancia, siempre ha estado al pendiente de su familia y cada que la visitamos, nos trata más que como nietos.

A mis sobrinos (Yari, Ros, Fabs, Cath), quienes le trajeron más alegría a mi vida.

También se lo dedico a mis directoras de tesis, Dra. Maura y Dra. Ma. de Lourdes, quienes me inculcaron la ciencia y me hicieron enamorarme de la micología, por ellas se realizó este proyecto, por sus ideas, y sus grandes conocimientos.

## Índice

<b>1</b>	<b>Introducción</b> .....	10
1.1	Características de los basidiomicetos .....	10
1.2	Características generales del género <i>Schizophyllum</i> .....	11
1.2.1	Morfología.....	11
1.2.2	<i>Schizophyllum cummune</i> .....	12
1.2.3	<i>Schizophyllum radiatum</i> .....	12
1.3	Clasificación taxonómica del género <i>Schizophyllum</i> .....	13
1.4	Importancia de <i>Schizophyllum</i> .....	13
1.4.1	Importancia ambiental.....	13
1.4.2	Importancia medicinal.....	16
1.5	Sustratos evaluados .....	17
1.5.1	Aserrines de cedro, jacaranda y pino.....	17
1.5.2	Cáscara de cacahuete.....	17
1.5.3	Fibra de coco .....	18
1.5.4	Rastrojo de maíz y olote.....	18
<b>2</b>	<b>Antecedentes</b> .....	19
<b>3</b>	<b>Justificación</b> .....	20
<b>4</b>	<b>Pregunta de investigación</b> .....	21
<b>5</b>	<b>Objetivos</b> .....	21
5.1	General.....	21
5.2	Particulares.....	21
<b>6</b>	<b>Materiales y métodos</b> .....	22
6.1	Material biológico .....	23
6.2	Preparación de agar .....	23
6.3	Velocidad de crecimiento.....	23
6.4	Características morfológicas del micelio.....	23
6.5	Extractos enzimáticos.....	23
6.6	Determinación <i>in vitro</i> de la actividad enzimática.....	24
6.6.1	Lacasas.....	24
6.6.2	Amilasas.....	24
6.6.3	Celulasas.....	24
6.6.4	Invertasas .....	25

6.6.5	Pectinasas.....	25
6.7	Sustratos lignocelulósicos .....	25
6.8	Preparación de inóculo .....	25
6.9	Patrón de producción.....	26
6.10	Secado de hongos .....	26
<b>7</b>	<b>Resultados y discusión.....</b>	<b>27</b>
7.1	Velocidad de crecimiento.....	27
7.2	Características morfológicas del micelio.....	29
7.3	Obtención de cuerpos fructíferos .....	33
	Actividad enzimática del extracto de <i>Schizophyllum</i> spp.....	35
7.3.1	Cuantificación de enzimas lacasas .....	35
7.3.2	Cuantificación de enzimas celulasas .....	37
7.3.3	Cuantificación de enzimas pectinasas.....	37
7.3.4	Cuantificación de enzimas invertasas .....	38
7.3.5	Cuantificación de enzimas amilasas.....	38
<b>8</b>	<b>Conclusión.....</b>	<b>41</b>
<b>9</b>	<b>Perspectivas .....</b>	<b>41</b>
<b>10</b>	<b>Referencias bibliográficas .....</b>	<b>42</b>

## Índice de figuras

Figura 1. Cuerpo fructífero de <i>Schizophyllum</i> spp. ....	11
Figura 2. Diagrama general del proyecto. ....	22
Figura 3. Obtención de extractos enzimáticos. ....	24
Figura 4. Secado de cuerpos fructíferos. ....	27
Figura 5. Velocidad de crecimiento de <i>S. commune</i> (cepa HEMIM-98). ....	27
Figura 6. Velocidad de crecimiento de <i>S. commune</i> (cepa HEMIM-99). ....	28
Figura 7. Velocidad de crecimiento de <i>S. radiatum</i> (cepa HEMIM-107). ....	28
Figura 8. Características miceliales de la cepa HEMIM-98. ....	31
Figura 9. Características miceliales de la cepa HEMIM-99. ....	31
Figura 10. Características miceliales de la cepa HEMIM-107. ....	32
Figura 11. Características fenotípicas de la cepa HEMIM 98. a) Cuerpos fructíferos en rastrojo de maíz, b) esporulación de cuerpos fructíferos. ....	32
Figura 12. Morfología de la cepa HEMIM-98. ....	33
Figura 13. Actividad enzimática de lacasas en <i>Schizophyllum</i> spp. (HEMIM-98). ....	36
Figura 14. Actividad enzimática de lacasas en <i>Schizophyllum</i> spp. (HEMIM-99). ....	36
Figura 15. Actividad enzimática de lacasas en <i>Schizophyllum</i> spp. (HEMIM-107). ....	36
Figura 16. Actividad enzimática de celulasas en <i>Schizophyllum</i> spp., HEMIM-98, HEMIM-99 y HEMIM-107). ....	37
Figura 18. Actividad enzimática de pectinasas en <i>Schizophyllum</i> spp. HEMIM-98, HEMIM-99 y HEMIM-107. ....	37
Figura 19. Actividad enzimática de invertasas en <i>Schizophyllum</i> spp. HEMIM-99 y HEMIM-107. ....	38
Figura 20. Actividad enzimática de amilasas en <i>Schizophyllum</i> spp HEMIM-98, HEMIM-99 y HEMIM-107. ....	39

## Índice de tablas

Tabla 1. Características morfológicas de <i>Schizophyllum</i> spp. ....	29
Tabla 2. Patón de producción de <i>Schizophyllum</i> spp. cultivado en cáscara de cacahuete y rastrojo de maíz. ....	34

## Resumen

Los hongos son un recurso sumamente importante, ya que desempeñan un papel esencial, al conservar el equilibrio de la naturaleza, pues reciclan la mayoría de los restos orgánicos y así permiten completar el ciclo de la materia, ya que desempeñan un papel de intervención en la producción del humus del suelo, sustancia sumamente importante para su fertilidad, determinando así la biodiversidad en la superficie y en el interior del suelo, los encontramos como parásitos, simbioses y saprófitos, estos últimos, son considerados uno de los principales descomponedores del material insoluble de las plantas, principalmente la lignina. Estos hongos degradadores de la madera, producen tres tipos de pudrición: blanca (degrada celulosa, hemicelulosa y lignina), marrón (degradan celulosa, hemicelulosa y nada o muy poca lignina, a la cual le pueden cambiar la estructura) y pudrición blanda (degradan celulosa y hemicelulosa). El hongo *Schizophyllum commune* ha sido previamente caracterizado como especie de podredumbre blanca, a pesar de la limitada capacidad de degradación de la lignina, debido a que el genoma de *S. commune* carece de genes que codifican peroxidasas de clase II de la familia AA2, que también están ausentes en las especies de podredumbre parda. Sin embargo, en trabajos de comparaciones genómicas sugieren que *S. commune* es una especie intermedia entre hongos de pudrición blanca y parda (Riley *et al.*, 2014). El objetivo de este trabajo fue caracterizar el crecimiento micelial y la producción de cuerpos fructíferos de tres cepas de *Schizophyllum* spp. dos del estado de Tabasco (HEMIM-98: *Schizophyllum commune* y HEMIM-99: *Schizophyllum commune*) y una del estado de Morelos (HEMIM-107: *Schizophyllum radiatum*). Se crecieron en siete sustratos: aserrín de cedro, aserrín de jacaranda, aserrín de pino, cáscara de cacahuate, fibra de coco rastrojo de maíz y olote, se incubaron a 25°C, se registró la velocidad de crecimiento, se tomaron las características morfológicas del micelio como fueron: color, textura, tipo de micelio, densidad, agregaciones, invasión total en días, y así evaluar el mejor sustrato para el crecimiento. Se cultivaron sobre maíz y cáscara de cacahuate, se evaluaron los parámetros como fue temperatura y humedad relativa, tasa de producción y se evaluaron el número de cosechas según el caso.

Se tomaron las características de los cuerpos fructíferos. Se determinó la actividad enzimática de lacasas, pectinasas, celulasas, amilasas e invertasas de extractos crudos enzimáticos obtenidos del sustrato (caja Petri) a los 47 días. La mayor actividad de celulasas fue de 10.25 U/gX para la cepa HEMIM-99 en aserrín de jacaranda, para la cepa HEMIM-98 fue de 14.97 U/gX en rastrojo de maíz, invertasas se obtuvo 1.31 U/gX en rastrojo de maíz, para la cepa HEMIM-99, la actividad de pectinasas fue de 59.83 U/gX para la cepa HEMIM-99.

## 1 Introducción

Estos organismos que llamamos hongos se conocen desde hace miles de años; su nombre proviene del griego *mikes*, que significa “setas” (Cepero *et al.*, 2012). Los hongos son organismos que se caracterizan por ser heterótrofos, es decir no fabrican su propio alimento como lo hacen las plantas, esto se debe a la falta de clorofila y de pigmentos fotosintéticos, es por ello, que los hongos tienen que relacionarse con otros seres vivos para poder sobrevivir, buscando nutrientes orgánicos para alimentarse (Rocabado, 2011). Su nutrición la realizan por absorción, a través de la producción de enzimas que son depositadas sobre la materia orgánica para degradarla y luego absorberla. Debido a todas estas características los hongos pertenecen al “Reino Fungi” (Campbell & Reece, 2007).

De acuerdo con Hawksworth & Lücking (2017) se estima que el número de hongos es de aproximadamente de 2,2 y 3,8 millones. En México, Guzmán (1995) calculó que existen entre 120,000 y 140,000 especies de hongos, de los cuales apenas se conocen unas 6,000 (Cappello-García, 2006). No obstante, para el caso sólo de macrohongos a nivel mundial, Müller *et al.* (2007) mencionaron que se han descrito 21,679 especies y estiman que debe haber entre 53,000 y 110,000 especies.

Con respecto a la distribución que tienen las especies de hongos por entidades federativas aún no se conoce totalmente; sin embargo, el estado de Morelos cuenta con 480 especies (Contreras-MacBeath *et al.*, 2006). En cuanto a Tabasco, México se han reportado alrededor de 54 especies de hongos comestibles y medicinales, entre ellas *Schizophyllum commune* Fr. (1815), el cual es reconocido por sus propiedades nutraceuticas, medicinales y su valor comercial en distintas zonas tropicales de Brasil (Silveira-Ruegger *et al.*, 2001), Colombia (Bolaños & Soto-Medina, 2011), Guatemala (Bran-González *et al.*, 2009) Japón (Pauli, 2000), Panamá (Guzmán & Piepenbring, 2011) y México (Oaxaca, Chiapas, Veracruz y Tabasco) (Ruan-Soto *et al.*, 2004; Cappello-García, 2006).

### 1.1 Características de los basidiomicetos

Este filo comprende aproximadamente 31.515 especies correspondientes al 32.27% de las especies de hongos descritas. El principal carácter diagnóstico para el filo, es la presencia de los basidios que producen las esporas sexuales o basidiosporas y de los cuales el grupo toma su nombre. La presencia del septo doliporo, la formación de las fíbulas (aunque no están presentes en todos los Basidiomycota) y las múltiples capas que poseen las paredes de las hifas, son otras de las características diagnósticas (Kirk *et al.*, 2008).

Muchos de los hongos de este filo son saprótrofos, están involucrados en la descomposición de maderas y muchos tipos de materia orgánica (Webster & Weber, 2007). Otros son comestibles. De ellos los más cultivados comercialmente son el champiñón (*Agaricus*

*bisporus*), la seta (*Pleurotus* spp.) y el shiitake (*Lentinula edodes*) (Andrade *et al.*, 2012). Además, la diversidad fúngica es una importante fuente para la obtención de enzimas con valor biotecnológico, por ejemplo, los basidiomicetos tienen una esencial importancia en la naturaleza debido a que algunos de ellos, como por ejemplo, las especies *Lentinus hirtus*, *Schizophyllum commune* y *Trametes versicolor* son capaces de descomponer o degradar la lignina (Agrios, 2005).

## 1.2 Características generales del género *Schizophyllum*

El nombre de este género viene de las palabras latinas *esquizo*, que significa división, y que medio lamina. Por lo tanto, su nombre apropiadamente describe sus características únicas y distintiva morfología dentro del orden Agaricales (Cooke, 1961; Guzmán, 2003). Se han descrito 16 especies del género *Schizophyllum* Fr., de las que sólo son válidas cinco (Donk, 1964; Hawksworth *et al.*, 1983). De estas, tres se han reportado en México (Guzmán, 1977). Es un género de distribución cosmopolita en zonas cálidas. Es saprótrofo, crece sobre una amplia variedad de maderas (Figura 1) (Cannon & Kirk, 2007). En México, se ha reportado para Puebla, Oaxaca, Veracruz, Quintana Roo y Tabasco (Hemmes & Desjardin, 2002; Mata *et al.*, 2003; Ruan-Soto *et al.*, 2004; Cappello-García, 2006; Bran-González *et al.*, 2006; Guzmán & Piepenbring, 2011, Vázquez-Mendoza *et al.*, 2012).



Figura 1. Cuerpo fructífero de *Schizophyllum* spp.

### 1.2.1 Morfología

A nivel macroscópico, este género se caracteriza por las siguientes características: basidiomas con píleo flaviformes, conchados, dimidados o espatulados; márgenes lobulados o dentados; superficie vellosa y blanco grisáceo (Küppers, 1996). El himenio se encuentra en branquias divididas que se dividen longitudinalmente en dos partes (Cooke, 1961; Linder, 1933; Guzmán 2003) que puede plegarse en el trama himenofóreo durante largos periodos de sequía para proteger las esporas o que pueden abrirse durante los periodos de humedad adecuada para liberar las esporas (Vellinga, 2013; Piepenbring, 2015).

A nivel microscópico, las superficies del píleo tienen una capa vellosa, también llamada “película”, compuesta de hifas entretrejadas que varían con las especies en longitud y densidad. En el lado opuesto, un grupo de hifas o “abhymenial pelos” se observa en las branquias. Las esporas son generalmente hialinas, elípticas o cilíndricas (Linder, 1933). El píleo que desarrollan las especies, va de subgloboso a reniforme, delgado o coriáceo; superficie de color blanco o gris-marrón. El himenóforo radialmente sulcado o formando una serie de lamelas falsas. El contexto delgado y de consistencia dura. Microscópicamente poseen esporas elipsoides, alantoides a cilíndricas. Cistidios a veces presentes. El pileipellis es un tricodermio de hifas densa o laxamente entrelazadas (Pegler, 1983).

### 1.2.2 *Schizophyllum commune*

Píleo 4-64 mm de ancho x 4-44 mm de largo, flabeliforme, semicircular, sésil. Margen lobulado, superficie vellosa suave al tacto, pelos frecuentemente enmarañados, apariencia que varía en color; blanco, gris ligero, gris oscuro, amarillo claro, o marrón claro. Contexto 359-447  $\mu\text{m}$ . Himenio con branquias abiertas, 399-1256  $\mu\text{m}$  en longitud; pelo abhymenial sencillo, hialino, aferrado a la superficie opuesta a las branquias, Basidios 18-22 x 3,2-3,3  $\mu\text{m}$ , estrechos claviforme; esporas 4.5-7.2 x 1.5-3  $\mu\text{m}$  (Carreño-Ruiz *et al.*, 2019).

De acuerdo a su hábitat y distribución, son un grupo de hongos solitarios o gregarios en grandes grupos, son saprótrofos o parásitos. Esta especie se ha reportado sobre más de 500 anfitriones (Linder, 1933; Cooke, 1961; Olivo-Aranda & Herrera, 1994; Vázquez-Mendoza, 2013; Farr & Rossman, 2017) y sobre madera caída de *Ficus benjamina*. Esta especie tiene una amplia distribución y se puede encontrar durante todo el año (Gradof *et al.*, 1997). En México, ha sido registrado en todos los estados (Olivo-Aranda & Herrera, 1994; Díaz-Moreno, 2004). Y en todo el mundo es repartido sobre todos los continentes excepto para la Antártida (Chang & Lui, 1969; Adejaye *et al.*, 2007; Ohm *et al.* 2010).

### 1.2.3 *Schizophyllum radiatum*

Píleo 3-45 mm de ancho y 5-48 mm de largo, flabeliforme, semicircular o espatulado, sésil. Margen liso, irregular, ligeramente rodó hacia el himenio; película de 70  $\mu\text{m}$  de espesor; blanco, blanco-grisáceo, o blanco con zonas de gris claro, gris oscuro o marrón. El contexto va de 113 a 384  $\mu\text{m}$  de grosor. Himenio de branquias abiertas, 449 hasta 780  $\mu\text{m}$  en longitud; amarillo pelo abhymenial simple hialino. Basidios de 19-20 x 3-3,6  $\mu$ , esporas 4,3-6 x 2-3  $\mu\text{m}$ , hialinas, cilíndricas, oblicuamente apiculadas (Carreño-Ruiz *et al.*, 2019).

En cuanto a su hábitat y distribución, son un grupo solitario o gregario en grupos saprótrofos. Esta especie ha sido reportada en madera de *Magnolia mexicana*, *Persea americana* (Linder, 1933) y *Gossypium arboreum* (Farr & Rossman, 2017). Se ha reportado en todo el mundo, en Estados Unidos y en regiones tropicales del continente americano, incluyendo Bolivia, Cuba, Ecuador, Guatemala, Honduras, Jamaica, Panamá, Puerto Rico, Venezuela y Surinam (Linder, 1933) y en México, es nuevo registro (Carreño-Ruiz *et al.*, 2019).

### 1.3 Clasificación taxonómica del género *Schizophyllum*

Según el Index Fungorum (2022), *Schizophyllum* sp. se ubica en la siguiente posición taxonómica.

Reino: Fungi

Phyllum: Basidiomycota

Grupo: Agaricomycotina

Clase: Basidiomycetes

Subclase: Agaricomycetidae

Orden: Agaricales

Familia: Schizophyllaceae

Género: *Schizophyllum*

### 1.4 Importancia de *Schizophyllum*

Las especies de *Schizophyllum*, desempeñan un papel importante en la naturaleza al intervenir en la pudrición blanca de la madera y de esta manera, facilitar la biodegradación de la lignina, la cual ocupa una proporción considerable en el ciclo del carbono en la Tierra (Agrios, 1976; Kirk, 1978). *Schizophyllum commune* tiene múltiples usos (Vázquez-Mendoza, 2013); Además, de comercializarse como un hongo comestible, tiene propiedades antibióticas, antitumorales, antioxidantes, anticancerígenas y se emplea contra la leucorrea (Ying et al., 1987; Chang & Miles, 2004; Hobbs, 2005; Adejoye et al., 2007; Calongue, 2011; Vázquez-Mendoza, 2012). En la medicina tradicional china, *Schizophyllum commune* se utiliza en forma de infusiones contra la leucorrea. Este hongo produce el polisacárido inmunoestimulante schizophylano o sonifilano (1→3)-β-D-glucano con ramificaciones (1→6)-β-D-glucosil, el cual se utiliza ampliamente para el tratamiento de cáncer cervical (May, 1997; Chang & Miles, 2004; Takeda, et al., 2004; Lindequist, et al., 2005). Como anticancerígeno, ha tenido un papel importante en la medicina tradicional, principalmente en Asia; y en los últimos años ha empezado a manifestarse su importancia en biotecnología a través de aspectos como la producción de enzimas (Salahuddin, 2008; Quiroz-Castañeda & Folch Mallol, 2011). Si bien se han reportado casos de sinusitis provocados por esta especie, se han producido sólo en personas con inmunodeficiencia; por lo que en general se considera una especie inocua (Castro et al., 2010).

#### 1.4.1 Importancia ambiental

Los hongos comestibles se desarrollan directamente sobre los sustratos de cultivo de carácter lignocelulósico, secretando diversas enzimas, hidrolasas y oxidasas (Collins et al., 1996). Dentro de las hidrolasas se encuentran las xilanasas catalizan el rompimiento de

xilano (el segundo polímero más abundante sobre la tierra después de la celulosa) en xilanoligosacaridos y xilosa (Beg *et al.*, 2001). Estas enzimas pueden contribuir en combinación con las celulasas para la conversión suficiente de celulosa a azúcares solubles en la producción de biodiesel (Selig *et al.*, 2008), participan en el bi blanqueo de papel, producen oligosacáridos de xilanos aislados, los que después se utilizan como adictivos en los alimentos o edulcolorantes alterativos con ciertas propiedades benéficas para la alimentación humana y animal (Lynd *et al.*, 2002). Las celulasas, hemicelulasas y pectinasas tiene gran potencial biotecnológico en varias industrias incluyendo la de alimentos, textil, agricultura, pulpa y papel (Reddy *et al.*, 2003). Actualmente se estudian diferentes fuentes de obtención de estas enzimas de importancia industrial, sin embargo, las enzimas de origen fúngico han mostrado notable termoestabilidad (Prakash & Jaiswal, 2010).

#### 1.4.1.1 Lacasas

El sistema enzimático de las lacasas es posiblemente uno de los más estudiados. Estas enzimas las encontraron en hongos en el año 1896 a partir de entonces se ha incrementado el interés y el conocimiento de estas enzimas, descubriendo cada vez más aplicaciones y usos para ellas (Desai & Nityanand, 2011). Se ha descrito ampliamente la capacidad de deslignificación de los hongos sobre las paredes celulares vegetales, las lacasas de hongos participan en este proceso debido a su habilidad de degradar lignina. Las lacasas son posiblemente las enzimas más prometedoras para reemplazar mucho de los procesos químicos convencionales ya que catalizan la oxidación de una gran variedad de sustratos orgánicos e inorgánicos (Kunammeni, 2007). Actualmente, se encuentran ya algunas lacasas en el mercado para la producción de textiles, alimentos y otras industrias, y existen muchas aplicaciones potenciales para las lacasas, que incluyen: blanqueo de pulpa de papel, decolorante de textiles, en síntesis, orgánicas, usos ambientales para degradar compuestos tóxicos, desarrollo y mejoramiento de procesos alimenticios y farmacéuticos. Aportan ventajas adicionales, ya que consumen poca energía y son biodegradables, por lo que los procesos de biocatálisis con lacasas, pueden considerarse apropiados para desarrollar procesos industriales más eficientes, sustentables y ambientalmente. La lacasa (p-difenol: dioxigeno: oxido-reductasa), es una enzima extracelular producida por casi todos los hongos de la podredumbre blanca, la cual usa al oxígeno molecular como oxidante (Bourbonnais & Paice, 1990).

#### 1.4.1.2 Celulasas

Las enzimas celulasas son proteínas derivadas de los procesos naturales de fermentación, capaces de degradar la celulosa. En realidad, una enzima de celulasas es una mezcla de diversos componentes enzimáticos, formando lo que se denomina un “complejo enzimático”, que actúa de forma sinérgica en la degradación de celulosa. Este complejo enzimático está formado por tres tipos de enzimas: 1) Endoglucanasas (EGs) o

endocelulasas (1,4- $\beta$ -D-glucan 4-glucanohidrolasa), creando cadenas terminales libres; 2) Celobiohidrolasas (CBHs) o exocelulasas ( $\beta$ -1,4-D-glucan 4-celobiohidrolasa) y la cual degrada la molécula adicional por eliminación de las unidades de celobiosa de las cadenas terminales libres; 3)  $\beta$ -glucosidasa (BGs) o celobiosa ( $\beta$ -D-glucosido glucohidrolasa), la cual hidroliza la celobiosa para producir glucosa (Carrillo, 2002; Romano *et al.*, 2005).

En la industria textil, estas enzimas son necesarias para biodesgaste de prendas de mezclilla mejorando la eficiencia de detergentes y limpieza de azulejos. La celulasa se puede utilizar como un potente agente antitumoral. En la industria del papel y la pulpa, también se utilizan para pulpa bioquímica, reciclaje de papel, destintado de fibras recicladas y mejora drenaje y operabilidad de las fábricas de papel. Además, estas enzimas son vitales para preparar papel blando fácilmente degradable y cartón, biomasa lignocelulósica mejorada para animales, residuos para mejorar la fertilidad del suelo y para preparación de formulaciones para la eliminación de lodos industriales. En la comida y la industria cervecera, las celulasas se utilizan para extraer y clarificar jugos de frutas y vegetales, producir néctares de frutas y purés, extracto de aceite de oliva utilizado en extracciones de carotenoides para producción de colorantes alimentarios y preparación de aditivos para la industria alimentaria como espesante (Chen *et al.*, 2003). Se ha utilizado un complejo enzimático (celulasas, xilanasas y pectinasas) para la extracción y clarificación de jugos y mostos (Carvalho *et al.*, 2008).

#### 1.4.1.3 Pectinasas

Las pectinasas son un conjunto de enzimas que hidrolizan la pectina. Estas presentan una extensa aplicación en la industria alimentaria, principalmente en la obtención y clarificación de jugos, vinos y cervezas (Fogarty & Ward, 1974). Las pectinasas se producen principalmente a nivel basal constitutivamente en muchos microorganismos, sin embargo, las sustancias pécticas actúan como inductores (Kashyap *et al.*, 2001), la principal aplicación industrial es en la extracción y clarificación de jugos de frutas y vegetales (Ribeiro *et al.*, 2010), mediante la acción de estas enzimas se reduce la viscosidad, debido a que atacan a la pectina insoluble.

#### 1.4.1.4 Invertasas

Las invertasas catalizan la hidrólisis de la sacarosa a glucosa y fructosa. Se utiliza en la conversión de residuos industriales, en particular el azúcar industrial de subproductos, varios estudios han demostrado la capacidad de la invertasa para dar un valor agregado a la melasa (Ye *et al.*, 2012).

#### 1.4.1.5 Amilasas

Las amilasas se clasifican en  $\alpha$ -amilasas,  $\beta$ -amilasas y  $\gamma$ -amilasas. Las amilasas son hidrolasas que actúan sobre los enlaces glucosídicos  $\alpha$ -1-4. Se distribuyen ampliamente en los sistemas

vivos y tienen sustratos específicos (Guzmán-Maldonado & Paredes-López, 1995; Gupta *et al.*, 2003). Los sustratos de las amilasas están ampliamente disponibles en fuentes vegetales baratos, lo que hace que las aplicaciones potenciales de la enzima sean más abundantes en términos de costos (Gopinath *et al.*, 2017). Las amilasas se pueden dividir en endoamilasas y exoamilasas. Las endoamilasas catalizan la hidrólisis de manera aleatoria dentro de la molécula de almidón. Esta acción provoca la formación de oligosacáridos lineales y ramificados de varias longitudes de cadena. Las exoamilasas catalizan la hidrólisis del sustrato desde el extremo no reductor, dando como resultado productos finales sucesivamente más cortos (Gupta *et al.*, 2003). Toda la  $\alpha$ -amilasa (EC 3.2.1.1) actúa sobre el almidón (polisacárido) como sustrato principal y producen pequeñas unidades de glucosa (monosacárido) y maltosa (disacárido). El almidón está formado por dos polímeros de glucosa, amilosa y amilopectina, que comprenden moléculas de glucosa que están conectadas por enlaces glucosídicos (Gopinath *et al.*, 2017). Téllez-Téllez *et al.* (2013) & Raveendran *et al.* (2018) mencionan que el principal uso de estas enzimas es la hidrólisis parcial o total del almidón para producir dextrinas y jarabes ricos en glucosa. También mencionan que las amilasas reducen la viscosidad de la solución de almidón utilizada en el recubrimiento de papel, retrasan el estancamiento en la industria de la panificación, se usan como suplemento para mejorar la digestión, producen jarabes ricos en maltosa, soluciones con actividad antiinflamatoria y participan en el proceso de malteado de la cebada antes de la fermentación alcohólica en la producción de cerveza.

#### 1.4.2 Importancia medicinal

Se han publicado numerosos trabajos, donde resaltan la importancia medicinal y biotecnológica principalmente, de los hongos, en diferentes regiones del mundo, donde encontramos compuestos importantes para la industria farmacéutica con propiedades antitumorales, antioxidantes, antivirales, hipocolesterolemias, e hipoglucemiantes (Chang & Milles, 2004; Cheung, 2010; Ayaz *et al.*, 2011).

Komatsu *et al.* (1969) fueron los primeros en indicar el efecto de una solución acuosa de schizophyllano presentó actividad antitumoral contra el Sarcoma 180, fue eficaz contra distintos tumores alogénicos y singénicos en ratones, dicho compuesto en asociación con agentes quimioterapéuticos también inhibió la leucemia L1210, el melanoma B-16 y el fibrosarcoma Meth-A (Zhang *et al.*, 2013). Reportaron que el polisacárido extraído de *S. commune*, redujo la incidencia de carcinomas mamarios y hepáticos, disminuyendo la proliferación celular en ratones con carcinogénesis inducida por dimetil benz( $\alpha$ )antoceno (DMBA). Los autores indican que por el nivel de seguridad del polisacárido, el costo relativamente bajo, su capacidad para inhibir carcinomas mamarios y para suprimir las lesiones hepáticas asociadas con el tratamiento con tamoxifeno, se debe continuar con

investigaciones preclínicas, para la terapia de cáncer de mama con receptores de estrógenos positivos (Mansour *et al.*, 2012).

### 1.5 Sustratos evaluados

*Schizophyllum commune* es un hongo cosmopolita distribuido en todos los continentes, excepto la Antártida (Chang & Lui, 1969; Adejoye *et al.*, 2007). De acuerdo con la *Fungal database* de Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, crece sobre 373 hospederos diferentes (Farr & Rossman, 2006). Entre los que se encuentran árboles como encinos (*Quercus* spp.), pinos (*Pinus* spp.), álamos (*Hacer* spp.), capulines (*Prunus* spp.) y tilos (*Tilia* spp.) (Snieskiené & Juronis, 2001; Grand & Vernia, 2004). Adejoye *et al.* (2007) lo reportan creciendo sobre mango (*Mangifera indica*) y en Grecia y Libia se ha reportado creciendo sobre especies del género *Opuntia* (Farr & Rossman, 2006). Ahora bien, los materiales lignocelulósicos se explotan en industrias tales como la madera, el papel y la agroindustria, cuyos residuos podrían transformarse en productos utilizables por bioconversión.

#### 1.5.1 Aserrines de cedro, jacaranda y pino

Así mismo, la madera es un biopolímero tridimensional cuya composición química general está formada por compuestos esenciales o primarios: holocelulosa (celulosa y hemicelulosa) y lignina y compuestos extraños o secundarios: extractos (en agua, en solventes, volatizados en vapor) y no extraíbles (compuestos inorgánicos, proteínas y sustancias pécticas) (Gutiérrez *et al.*, 1998). La composición química de la corteza es compleja, al igual que la madera, contiene polisacáridos (celulosa y hemicelulosa) y lignina, pero a diferencia de ella tiene una mayor concentración de extraíbles. Estos extraíbles comprenden una amplia variedad de compuestos orgánicos dispersos y depositados en el lumen celular o impregnando las paredes de las células, que pueden removerse con solventes neutros de polaridad variable como hexano, éter, acetato de etilo, acetona, etanol, metanol y agua, entre otros. De la fracción hidrofílica (polar) está constituida principalmente por sustancias polifenólicas (Fengel & Wegener, 1989). En general, la madera en base a su peso, está compuesta de 20-40% de lignina, 30-50% de celulosa, 9-28% de pentosanas y 0.2-20% de extractivos (Lima, 2013).

#### 1.5.2 Cáscara de cacahuete

El cacahuete (*Arachis hypogaea*), es uno de los cultivos tradicionales en el estado de Morelos. El principal uso de la cáscara, es como combustible de calderas. Se emplea

también como medio para cultivo de hongos y algunos usos similares a la viruta de madera, tales como protección de plantas. Sin embargo, con semejantes cantidades de desperdicios, la aplicación de los desechos del descáscarado de cacahuate sólo tiene aplicación parcial. Las cáscaras son difícilmente degradables en su exposición al exterior, debido al alto contenido de lignina; bajo contenido de nitrógeno, y existencia en tan grandes volúmenes. Estas condiciones ofrecen pocas posibilidades para actuar como abono o mejoradores de suelos (Arguello *et al.*, 2005). Dentro de la composición química del cacahuate, las proteínas y las grasas ocupan los mayores porcentajes; sin embargo, en la cáscara del producto, se puede encontrar alto contenido de fibra. La fibra está constituida por los componentes estructurales de las paredes celulares de los vegetales, entre los que destacan la celulosa, la hemicelulosa, las pectinas y la lignina.

#### 1.5.3 Fibra de coco

El polvo de coco (*Cocos nucifera* L.) es un material usado como sustrato, que destaca por su buena capacidad de retención de agua, alto contenido de agua fácilmente disponible, estabilidad como sustrato orgánico y bajo costo de adquisición en comparación con otros sustratos. El polvo de coco se considera un material alternativo a la turba, tanto por razones ambientales como por presentar buenas características físicas (elevada capacidad de aireación a costa de una menor retención de agua de los tipos fácilmente y total disponible) (Evans *et al.*, 1996; Noguera *et al.*, 1998) y químicas (elevada capacidad de intercambio catiónico) relacionadas directamente con la granulometría del material (Konduru *et al.*, 1999; Noguera *et al.*, 2003).

#### 1.5.4 Rastrojo de maíz y olote

El maíz (*Zea mays*), es una planta herbácea anual, nativa del hemisferio norte, originaria de México desde hace unos 10 mil años y que se cultiva en todo el mundo. La composición química de la hoja de mazorca de maíz, según Hurter (2001), está compuesta por holocelulosa,  $\alpha$ -celulosa, lignina y cenizas. Finalmente, la producción de biomasa residual que genera un cultivo de maíz, fluctúa entre las 20 y 35 ton. por hectárea (González, 1995; IDEA, 2007; Imba, 2011). *Schizophyllum*, es un hongo intermediario entre las especies de pudrición blanca y podredumbre parda, lo que significa que degrada celulosa, hemicelulosa y lignina, por esta razón, creemos que estos sustratos serán eficientes para el cultivo y crecimiento de dicho organismo.

## 2 Antecedentes

Históricamente, la producción de hongos comestibles inició como una auténtica área de biotecnología tradicional, basada en técnicas sencillas de propagación, hace aproximadamente 1,000-1,400 años en china, con el cultivo empírico de las “orejas de ratón” (*Auricularia* spp.) y del “shiitake” [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler]. De la misma forma aunque como proceso independiente, también comenzó en Francia hace más o menos 350 años con el cultivo del champiñón (*Agaricus* spp.). A través del tiempo, ha sido posible la incorporación y desarrollo de tecnologías que han mejorado substancialmente la producción comercial a gran escala no tan sólo de los hongos comestibles mencionados, sino también de otras especies potencialmente cultivables (Martínez-Carrera, 2002; Chang & Miles, 2004). Los ensayos del cultivo de hongos comestibles en México se iniciaron en 1933 por José Leben Zdravie utilizando como substrato estiércol de caballo o de vaca, mezclado con pequeñas cantidades de paja o cebada. Y no fue hasta el año 1939 cuando se instaló la primera planta productora de hongos en nuestro país (Martínez-Carrera *et al.*, 1991). Sin embargo, se han realizado algunas investigaciones con diferentes hongos, principalmente en basidiomicetos, en los cuales evalúan cultivo sobre diferentes sustratos lignocelulósicos y así también, su actividad enzimática extracelular.

García & Torres (2003) evaluaron el crecimiento de *Trametes versicolor*, *Pleurotus floridae* (28°C) y *Phanerochaete chrysosporium* (37°C) sobre ciertos desechos agroindustriales y cuantificaron enzimas lignolíticas a un tiempo fermentativo de 21 días de crecimiento. Reportan que la actividad de lacasas que ésta se vio favorecida en los siguientes sustratos: salvado de trigo, donde *T. versicolor* obtuvo actividad de 0.94 U/g, *P. floridae* 0.84 U/g y *P. chrysosporium* 1.43 U/g; en olote de maíz fue de 158 U/g para *T. versicolor*, 3.20 U/g para *P. floridae* y 0.00567 U/g y para *P. chrysosporium*; en paja de arroz para *T. versicolor* se encontró una actividad de 3.07 U/g, *P. floridae* 3.21 U/g y *P. chrysosporium* no presentó actividad y en paja de trigo para *T. versicolor* mostró 3.07 U/g de actividad, *P. floridae* 3.21 U/g y ninguna actividad para *P. chrysosporium*.

Reddy *et al.* (2003) emplearon residuos agrícolas de la platanera (*Musa paradisiaca*), que utilizaron de forma separada en biomasa foliar y pseudotallos, crecieron sobre dichos sustratos a *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus sajor-caju* con la finalidad de poder determinar la producción de algunas enzimas, entre las que se encuentran: lacasa, xilanasas, endo-1,4-β-D-glucanasa (CMCasa) y exo-1,4-βD-glucanasa (actividad de papel filtro). El cultivo se inoculó a 25°C y tomaron muestras desde el día 10 y posteriormente a intervalos de 5 días hasta el día 40. Al cultivar a *P. ostreatus* sobre biomasa foliar de la platanera, las actividades específicas máximas de lacasas y xilanasas se presentaron en el día 20 (1.7106 Umg<sup>-1</sup> y 0.1435 Umg<sup>-1</sup>, respectivamente). Los niveles de CMCasa para endoglucanasa y actividad FP (papel filtro) para exoglucanasa fueron relativamente bajos durante todo el periodo de cultivo. Sobre

biomasa de pseudotallo de la platanera, las actividades específicas máximas de lacasa y xilanasa fue el día 10 ( $0.4722 \text{ Umg}^{-1}$ ) y el día 20 ( $0.0408 \text{ Umg}^{-1}$ ), respectivamente. De igual forma, detectaron niveles muy bajos de actividades de actividad de CMCasa y FP. Por otro lado, al cultivar el hongo *P. sajor-caju* sobre biomasa foliar de la platanera, encontraron la actividad específica más alta de lacasa fue el día 10 ( $1.6669 \text{ Umg}^{-1}$ ), mientras que la actividad específica de la xilanasa fue de  $0.1411 \text{ Umg}^{-1}$  para el día 10 y  $0.1174 \text{ Umg}^{-1}$  el día 40. En su investigación, solo pudieron detectar niveles bajos de actividad de CMCasa y FP. Cuando utilizaron biomasa del pseudotallo de la platanera como sustrato, observaron un aumento en la actividad específica de lacasa desde el día 10 ( $0.1122 \text{ Umg}^{-1}$ ) el día 20 ( $0.7415 \text{ Umg}^{-1}$ ). La actividad específica de xilanasa fue de  $0.0237 \text{ Umg}^{-1}$  el día 10 y  $0.0862 \text{ Umg}^{-1}$  el día 40 y sólo pudieron detectar niveles muy bajos de actividad de CMCasa y FP.

Carreño-Ruiz *et al.* (2020) evaluaron la tasa de producción de basidiomas, velocidad de crecimiento, eficiencia biológica y rendimiento de cuatro cepas de *Schizophyllum commune* (CCG003, CCG009, CCG010 y CCG13) de Tabasco, México crecidos sobre cuatro sustratos: cáscara de cacao (CC), hojas de plátano (HP), hojas de maíz (HM) y como testigo se utilizó palo mulato (PM). Como resultados, obtuvieron la mayor velocidad de crecimiento micelial en CC de las cepas CCG003 y CCG013 ( $51.6$  y  $64.4 \text{ mmd}^{-1}$ ) y en la HM y HP por las cepas CCG009 y CCG010 ( $86.9$  y  $58 \text{ mmd}^{-1}$ ), en comparación con el sustrato testigo (de  $117.2$  a  $120 \text{ mmd}^{-1}$ ). Mientras que la producción más alta que registraron fue en CC por la cepa CCG009 cultivada en bolsa, con una EB de  $12.8 \%$  y TP de  $0.7 \%$ . La producción de *S. commune* fue mejor en bolsa que en bandeja.

### 3 Justificación

Debido a su falta de conocimiento como un recurso comestible, en el estado de Morelos, así como en otros estados, es importante caracterizar el crecimiento de este organismo en diferentes medios *in vitro*, así como su cultivo en diferentes sustratos sólidos, los cuales son residuos de actividades agroforestales, contribuyendo así a la reutilización de éstos, y ofreciendo una alternativa de sustratos disponibles y de bajo costo. *Schizophyllum* spp. Es de gran importancia económica, medicinal y ecológica, además, en algunos estados de México cuenta con alto valor culinario. Por ello, se propone la evaluación de crecimiento micelial de tres cepas de *Schizophyllum* spp. utilizando sustratos agroindustriales regionales accesibles como alternativa para la producción de cuerpos fructíferos y así determinar los mejores sustratos para su cultivo y conocer la capacidad de producción de enzimas en los diferentes sustratos analizados, por lo que en este proyecto evaluamos la actividad enzimática de: lacasas, pectinasas, celulasas, amilasas e invertasas, de tres cepas del hongo *Schizophyllum* spp.

#### **4 Pregunta de investigación**

¿Presentarán diferencias miceliales y actividad enzimática las tres cepas analizadas de *Schizophyllum* spp.?

#### **5 Objetivos**

##### 5.1 General

Caracterizar el micelio y cultivo de cepas de *Schizophyllum* spp.

##### 5.2 Particulares

- Caracterizar el crecimiento de *Schizophyllum* sp. en caja de Petri
- Determinar el patrón de producción de las cepas de *Schizophyllum* sp.
- Determinar la actividad enzimática de lacasas, pectinasas, celulasas, amilasas e invertasas del crecimiento en caja Petri.

## 6 Materiales y métodos

En la figura 2 se muestra de manera general los pasos a seguir para la realización de este proyecto.

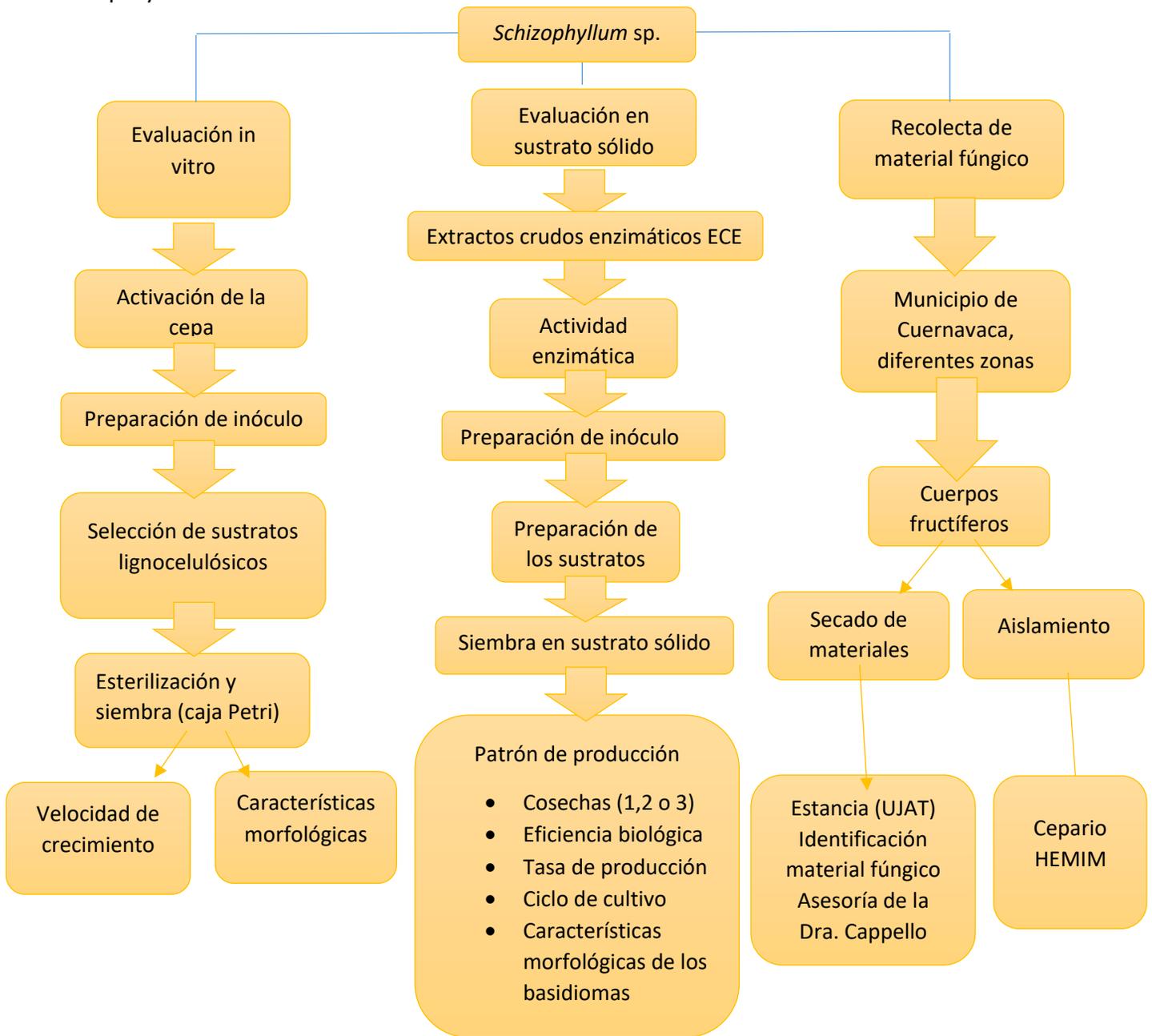


Figura 2. Diagrama general del proyecto.

### 6.1 Material biológico

Para la realización de este proyecto, se utilizaron tres diferentes cepas de *Schizophyllum* sp. CCG-003, CCG-009 y HEMIM- 107 dichas cepas se encuentran depositadas en el Herbario Micológico de Morelos, del Laboratorio de Micología del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, de las cuales, dos fueron donadas por el Cepario de Hongos Comestibles y Medicinales “Cappello García” de la División Académica de Ciencias Biológicas (Universidad Juárez Autónoma de Tabasco), con el registro CCG003 y CCG009 y la tercera fue recolectada en el municipio de Cuernavaca-Morelos, la cual fue registrada como HEMIM-107. Las cepas donadas CCG-003 y CCG-009, se encuentran depositadas en el cepario HEMIM (Herbario Micológico de Morelos) con las claves HEMIM-98 y HEMIM-99 respectivamente.

### 6.2 Preparación de agar

El micelio de las cepas donadas por la UJAT se reactivó sobre Agar Dextrosa y Papa (PDA); para cada evaluación se realizaron dos réplicas y se incubaron 25°C en oscuridad. El PDA es un medio de cultivo que aporta los elementos nutricionales necesarios para el desarrollo de hongos filamentosos y levaduras. La combinación de la infusión de papa con la glucosa proporciona la fuente de energía perfecta para que exista un crecimiento satisfactorio de los hongos. El medio PDA se esterilizó (121°C/20 min). Posteriormente, se vació en cajas Petri, esto se elaboró dentro de una campana de flujo laminar, para evitar contaminantes.

### 6.3 Velocidad de crecimiento

El crecimiento micelial de cada una de las cajas, fue observado y monitoreado cada 24 h. Para determinar la velocidad de crecimiento en los siete sustratos, se elaboraron cuatro réplicas en cajas de Petri y estas se incubaron a 25 °C. La velocidad de crecimiento micelial se determinó midiendo los milímetros avanzados cada 24 h a partir del inóculo de 0.5 mm de diámetro colocado en la parte central de la caja Petri (Sánchez, 2001).

### 6.4 Características morfológicas del micelio

Para la caracterización morfológica del micelio se elaboraron réplicas cuádruples de cada sustrato por cada cepa y se tomaron en cuenta aspectos de color, textura, tipos de micelio, densidad y agregaciones, durante el desarrollo micelial en los siete sustratos, esto a los 30 días de cultivo (Acosta-Urdapilleta, 2000).

### 6.5 Extractos enzimáticos

Posterior a 17 días de cultivo, manteniendo las cepas en incubación a una temperatura de 25 °C, se llevaron a cabo los extractos crudos enzimáticos (ECE), de los cuales se realizaron usando la siguiente regla: 25 mL de agua destilada estéril/g de biomasa seca de sustrato.

Posterior a esto, se colocó el sustrato en un vaso desechable (Figura 3), se le adicionó el volumen correspondiente de agua destilada estéril y con parafilm se selló, agitando por un

tiempo de dos minutos en movimientos circulares suaves, para llevar a refrigeración por un tiempo de 16-18 h, tomando en cuenta que se rotuló el recipiente con datos de sustrato, número de repetición y cepa.

Una vez transcurrido este periodo de tiempo en refrigeración, el sobrenadante se llevó a filtración, esto se realizó con gasas y papel filtro, para obtener un extracto puro (sin sustrato). Finalmente se almacenó en un tubo Falcon de 15 mL y un tubo Eppendorf de 2mL, esto por cada extracto (rotulados con la misma información) y se llevó a congelar hasta su posterior uso.

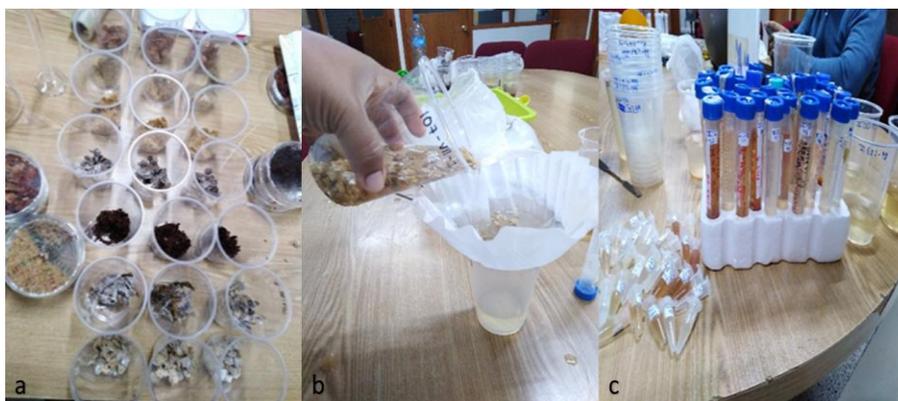


Figura 3. Obtención de extractos enzimáticos. a) muestra los sustratos en recipientes listos para su proceso, b) filtrado de los sustratos y c) sustratos almacenados y rotulados.

## 6.6 Determinación *in vitro* de la actividad enzimática

### 6.6.1 Lacasas

Se utilizó como sustrato 2,6-dimetoxifenol (DMP). La mezcla de reacción contenía 900  $\mu\text{L}$  de DMP a una concentración de 2 mM, en buffer de acetato a 0.1 M y pH de 4.0, 4.5, 5.0 y 5.5 con 100  $\mu\text{L}$  de ECE. Se incubó a 40 °C durante 10 min, se leyó la absorbancia a 468 nm (Téllez-Téllez *et al.*, 2008).

### 6.6.2 Amilasas

Se utilizó como sustrato almidón. La mezcla de reacción contenía 50  $\mu\text{L}$  de sustrato en buffer de acetato a 0.1 M y un pH de 5.0 y 950  $\mu\text{L}$  de ECE. La reacción se incubó a 35 °C durante 30 min, se agregó 2 ml de DNS y se colocaron los tubos de ensayo en agua en ebullición durante 5 minutos, se dejaron enfriar y se leyó la absorbancia a 575 nm (Miller, 1959).

### 6.6.3 Celulasas

Se utilizó como sustrato carboximetilcelulosa. La mezcla de reacción contenía 950  $\mu\text{L}$  de sustrato (carboximetilcelulosa en buffer de acetato a 0.1 M a un pH de 4.8) y 50  $\mu\text{L}$  de ECE. La reacción se incubó a 50 °C durante 45 min, se agregó 2 mL de DNS y se colocaron los

tubos de ensayo en agua en ebullición a 100 °C durante 5 minutos, se dejaron enfriar y se leyó la absorbancia a 575 nm (Miller, 1959).

#### 6.6.4 Invertasas

Se utilizó como sustrato glucosa. La mezcla de reacción contenía 950 µL de sustrato en buffer de acetato a 0.1 M y un pH de 5.5 y 50 µL de ECE. La reacción se incubó a 30 °C durante 30 min y se colocaron los tubos de ensayo en agua en ebullición de 100 °C durante 5 minutos, se dejaron enfriar y se leyó la absorbancia a 575 nm.

#### 6.6.5 Pectinasas

Se utilizó como sustrato ácido poligalacturónico. La mezcla de reacción contuvo 950 µL de sustrato (ácido poligalacturónico en agua estéril) y 50 µL de ECE. La reacción se incubó a 45 °C durante 30 min, se agregó 2 mL de DNS y se colocaron los tubos de ensayo en agua en ebullición durante 5 min, se dejaron enfriar y se leyó la absorbancia a 575 nm (Miller, 1959).

### 6.7 Sustratos lignocelulósicos

El material donde crecen los hongos se llama sustrato, el cual degradan para su alimentación. Los sustratos que se utilizaron, son residuos de la industria forestal que fueron obtenidos de madereras locales: aserrín de cedro, aserrín de jacaranda, aserrín de pino, cáscara de cacahuate, fibra de coco, rastrojo de maíz y olote de maíz. La preparación de los sustratos se realizó con base en Acosta-Urdapilleta *et al.* (2010), y consistió en:

- a) Fragmentación: los sustratos (secos) fueron triturados, esto para el buen crecimiento del hongo.  
La reducción del tamaño de partículas, se hizo con trituradora eléctrica.
- b) Hidratación: se sumergieron los sustratos por separado, en agua caliente a una temperatura de 70-75 °C, esto por un tiempo de 30 min.
- c) Drenado: los sustratos fueron drenados en coladeras plásticas por 30 min aproximadamente, hasta que dejó de fluir agua y a la humedad final de los sustratos evaluados, se les agregó cal y yeso.
- d) Pesado y empacado: cada sustrato fue pesado con una balanza granataria, en bolsa de polipropileno/ etilo, en cada bolsa se pesaron 400-450 g de sustrato (peso húmedo).
- e) Esterilización: Los sustratos se esterilizaron a 121 °C durante 2 h.

### 6.8 Preparación de inóculo

La preparación del inóculo, también conocido comercialmente como “semilla” se preparó en granos de trigo, los cuales se limpiaron, eliminando la cascarilla y la basura, posteriormente fueron lavados con abundante agua y se deshidrataron durante 30 min aproximadamente hasta que se obtuvo una consistencia blanda; se drenó el exceso de humedad con ayuda de coladeras plásticas. Posteriormente se le adicionó cal y yeso (5 g de

cal y 20 g de yeso por kg de trigo seco) al trigo hasta obtener una mezcla homogénea; después los granos de trigo fueron colocados en frascos de vidrio que se esterilizaron a 121°C durante 1.5 h, este material se dejó enfriar a temperatura ambiente; una vez frío se hizo la inoculación, la cual consistió en poner en cada frasco una quinta parte de placa inoculada contenida en la caja Petri; posteriormente se incubó a 25°C hasta que los granos de trigo fueron completamente colonizados (Guzmán *et al.*, 1993).

#### 6.9 Patrón de producción

Para obtener el patrón de producción de las cepas de *Schizophyllum* se hidrató el sustrato de maíz y cacahuete, se esterilizaron y sembraron en campana de flujo laminar con granos de trigo invadido por las cepas de *Schizophyllum* (apartado 5.6). Se realizaron 4 repeticiones de cada sustrato o mezcla a evaluar, se utilizaron bolsas de polipropileno etileno con filtro. Durante el periodo de incubación del sustrato se registrará la temperatura ambiente (°C) hasta la total colonización del sustrato. En la última etapa (fructificación) las bolsas se trasladaron al módulo de producción de hongos del Laboratorio de Micología del CIB, donde se evaluaron las siguientes variables:

1. Aparición de la primera, segunda, tercera cosecha según el caso.
2. Eficiencia biológica, según Tschierpe & Hartmann (1977).

Formula:

$$EB = \frac{\text{Peso fresco de los cuerpos fructíferos}}{\text{Peso seco del sustrato empleado al momento de la inoculación}} \times 100$$

3. Tasa de producción, propuesta por Royse (1989).

Fórmula:

$$TP = \frac{EB}{CC}$$

EB= eficiencia biológica

CC= ciclo de cultivo

TP= tasa de producción

4. Ciclo de cultivo.
5. Características fenotípicas de los basidiomas cosechados.
6. Temperatura (°C) y humedad relativa (%).

#### 6.10 Secado de hongos

Los cuerpos fructíferos obtenidos de *Schizophyllum* sp. (Figura 4), fueron deshidratados inmediatamente de ser cosechados a una temperatura ambiente que varió de 20-24°C, esto

en oscuridad y con la ayuda de un ventilador, hasta que obtuvieron un peso constante y finalmente se conservaron en una bolsa ziploc con sus respectivos datos.



Figura 4. Secado de cuerpos fructíferos

## 7 Resultados y discusión

### 7.1 Velocidad de crecimiento

En las Figuras 5, 6 y 7, se muestra la velocidad de crecimiento de las cepas HEMIM-98, HEMIM-99 y HEMIM-107, donde a manera general, el crecimiento sobre el sustrato rastrojo de maíz fue el más destacable para las cepas de *Schizophyllum* spp., la invasión total fue entre 6 a 9 días. Pero el aserrín de pino, fue el sustrato donde se presentó menor velocidad de crecimiento para las tres cepas, esto con 0.015 mm/h para la cepa HEMIM-98 que no presentó diferencias significativas con aserrín de cedro (Figura 5).

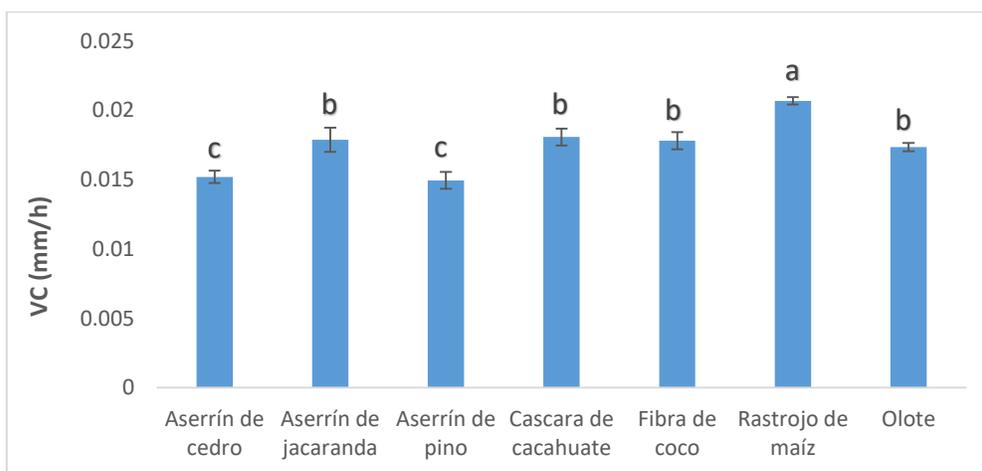


Figura 5. Velocidad de crecimiento de *S. commune* (cepa HEMIM-98).

En la figura 6 se observó que solo mostró diferencias significativas el crecimiento sobre rastrojo de maíz (0.0203 mm/h) con respecto a los seis sustratos evaluados.

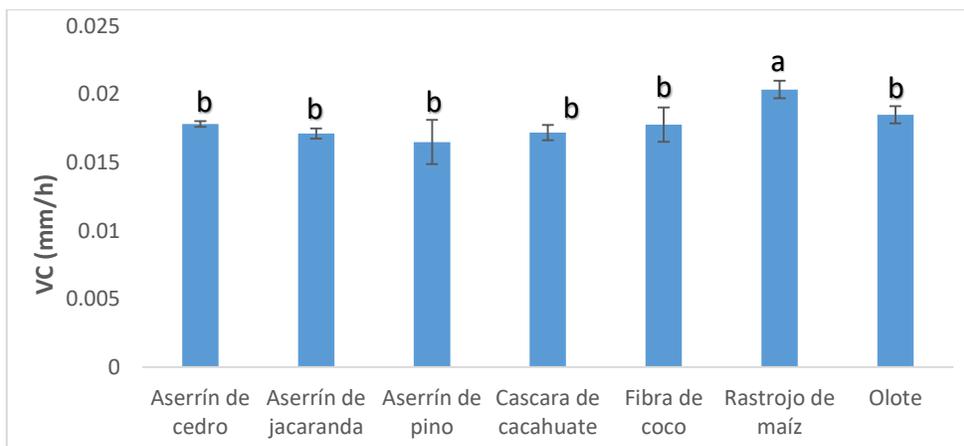


Figura 6. Velocidad de crecimiento de *S. commune* (cepa HEMIM-99).

En el caso de la HEMIM-107 hubo más diferencias entre los sustratos, fueron parecidos aserrín de jacaranda y cáscara de cacahuete con 0.025 mm/h (Figura 7).

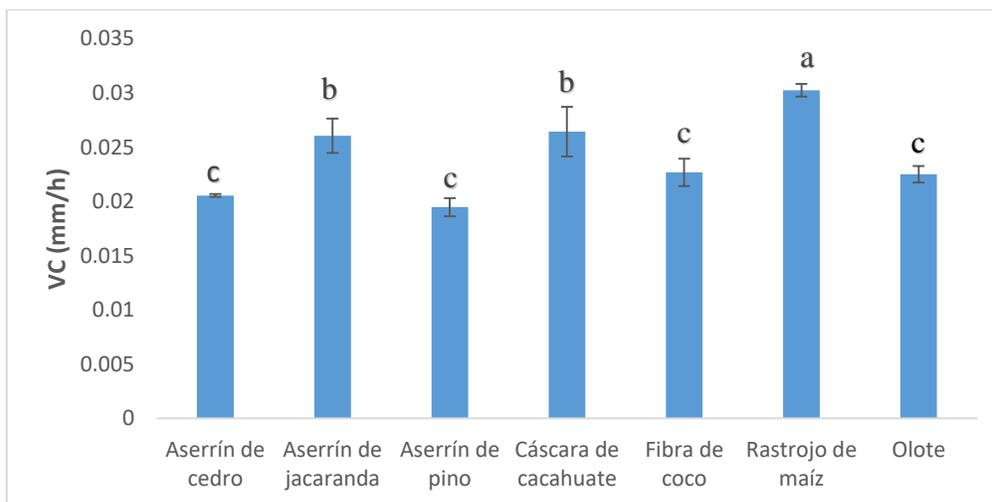


Figura 7. Velocidad de crecimiento de *S. radiatum* (cepa HEMIM-107).

Carreño Ruiz *et al.*, (2014) reportaron una tasa de crecimiento micelial promedio diario de la cepa silvestre de la región CH-147 de *S. commune*, crecida en cáscara de cacao fue de 9.7 mm/d (Ruán-Soto *et al.*, 2004). Carreño-Ruiz *et al.* (2020) crecieron cuatro cepas de *S. commune* (CCG003, CCG009, CCG010 y CCG13) sobre cuatro sustratos: cáscara de cacao (CC), hojas de plátano (HP), hojas de maíz (HM) y como testigo se utilizó palo mulato (PM), obtuvieron la mayor velocidad de crecimiento micelial a los 12 días en PM fue de 117.2 mm para CCG009 y 120 mm las otras tres cepas, en CC para las cepas CCG003 fue de 51.6 mm y

para CCG013 de 64.4 mm, para HP por las cepas CCG009 y CCG010 (56.4 y 58 mm respectivamente). Los autores reportan que al crecer las cepas en HM fue donde crecieron menos CCG003 (0.098 mm/h), CCG010 (0.17 mm/h) y CCG13 (0.05 mm/h) y para CCG009 fue de 0.30 mm/h, que son más altas a las reportadas en este trabajo, para HEMIM-98 (CCG003) fue solo de 0.015 mm/h y HEMIM-99 (CCG009) fue de 0.016 mm/h, dicha diferencia de crecimiento se debe a que los autores incubaron a 35°C y lo crecieron en otras condiciones (Gaitán-Hernández y Salmones, 2015) a las realizadas en este trabajo

## 7.2 Características morfológicas del micelio

En la tabla 1, se muestran las características morfológicas del micelio que presentaron las tres cepas de *Schizophyllum* spp., en general, presentaron color blanco, textura algodonosa, densidad regular/abundante, esto para los sustratos cáscara de cacahuate, rastrojo de maíz y olote, mientras que los aserrines y la fibra de coco, presentaron color hialino, textura ausente y densidad escasa (casi nula) (Figuras 8, 9 y 10). Los mejores sustratos para las tres cepas, por su densidad micelial fueron cáscara de cacahuate y rastrojo de maíz, mismos que presentaron la formación de cuerpos fructíferos en la caja de Petri (a los 20 días) de la cepa HEMIM-98 y completando su ciclo con la formación de esporas (Figura 11), mostrando una invasión total a los 6-10 días. Con los sustratos aserrín de cedro, aserrín de jacaranda, aserrín de pino, fibra de coco y olote el crecimiento micelial alcanzó una invasión total a los 7-12 días. Bran-González *et al.* (2009) caracterizaron cinco cepas del hongo *S. commune*, nativos de Guatemala, en tres medios de cultivo *in vitro*: Papa Dextrosa Agar (PDA), Extracto de Malta Agar (EMA) y Agar Czapek-Dox (ACD), incubados a dos temperaturas de incubación (18°C y 26°C), donde determinaron al medio PDA y la temperatura de 26 °C, como factores favorables al crecimiento micelial de la especie.

Tabla 1. Características morfológicas de *Schizophyllum* spp.

<i>Schizophyllum commune</i> (HEMIM-98)					
Sustrato	Color	Textura	Tipo de micelio	Densidad	Agregaciones hifales
Aserrín de cedro	Hialino	Ausente	Aéreo	Escasa (casi nula)	Ausente
Aserrín de jacaranda	Hialino	Ausente	Aéreo	Escasa (casi nula)	Presente
Aserrín de pino	Hialino	Ausente	Aéreo	Escasa (casi nula)	Presente

Cáscara de cacahuete	Blanco	Algodonoso	Aéreo	Regular	Presente
Fibra de coco	Hialino	Ausente	Rastrero	Escasa	Ausente
Rastrojo de maíz	Blanco	Algodonoso	Aéreo	Abundante	Presente
Olote	Blanco	Algodonoso	Aéreo	Regular	Ausente
<i>Schizophyllum commune</i> (HEMIM-99)					
Aserrín de cedro	Hialino	Ausente	Aéreo	Escasa (casi nula)	Ausente
Aserrín de jacaranda	Hialino	Ausente	Aéreo	Escasa (casi nula)	Ausente
Aserrín de pino	Hialino	Ausente	Aéreo	Escasa (casi nula)	Ausente
Cáscara de cacahuete	Blanco	Algodonoso	Aéreo	Regular	Presente
Fibra de coco	Hialino	Ausente	Rastrero	Escasa	Ausente
Rastrojo de maíz	Blanco	Algodonoso	Aéreo	Abundante	Presente
Olote	Blanco	Algodonoso	Aéreo	Regular	Ausente
<i>Schizophyllum radiatum</i> (HEMIM-107)					
Aserrín de cedro	Hialino	Ausente	Aéreo	Escasa	Ausente
Aserrín de jacaranda	Hialino	Ausente	Rastrero	Regular	Ausente
Aserrín de pino	Hialino	Algodonosa (poco)	Rastrero	Regular	Ausente
Cáscara de cacahuete	Blanco	Algodonosa	Aéreo	Abundante	Presente
Fibra de coco	Hialino	Ausente	Rastrero	Escasa	Ausente
Rastrojo de maíz	Blanco	Algodonosa	Aéreo	Abundante	Ausente
Olote	Blanco	Algodonosa	Aéreo	Abundante	Ausente



Figura 8. Características miceliales de la cepa HEMIM-98, en diferentes sustratos, a) aserrín de cedro, b) aserrín de jacaranda, c) aserrín de pino, d) cáscara de cacahuate, e) fibra de coco, f) rastrojo de maíz, g) olote.



Figura 9. Características miceliales de la cepa HEMIM-99, en diferentes sustratos, a) aserrín de cedro, b) aserrín de jacaranda, c) aserrín de pino, d) cáscara de cacahuate, e) fibra de coco, f) rastrojo de maíz, g) olote.



Figura 10. Características miceliales de la cepa HEMIM-107, en diferentes sustratos, a) aserrín de cedro, b) aserrín de jacaranda, c) aserrín de pino, d) cáscara de cacahuete, e) fibra de coco, f) rastrojo de maíz, g) olote.



Figura 11. Características fenotípicas de la cepa HEMIM 98. a) Cuerpos fructíferos en rastrojo de maíz, b) esporulación de cuerpos fructíferos.

### 7.3 Obtención de cuerpos fructíferos

Para llevar a cabo el crecimiento sólido, se seleccionaron dos de los siete sustratos trabajados, tomando en cuenta los resultados de velocidad de crecimiento y el número total de los días en los cuales el micelio colonizó las cajas de Petri, siendo cáscara de cacahuate y rastrojo de maíz los sustratos. Una vez teniendo los sustratos seleccionados, se llevó a cabo el proceso de cultivo (Tabla 2), se realizaron ocho replicas por cada uno de los sustratos, siendo un total de 16 bolsas de 400 g cada una.

Se caracterizó los cuerpos fructíferos de cada una de las cepas, HEMIM-98 presentó el píleo flabeliforme en forma de abanico, superficie marrón con escasa vellosidad, consistencia correosa y con medidas de 7-30 mm de ancho y 10-30 mm de largo, presentando margen lobulado (Figura 12). Para la cepa HEMIM-99 las características fueron similares, a excepción de la pigmentación de los cuerpos fructíferos que fueron más claros. Finalmente las características fenotípicas de la cepa HEMIM-107, fueron distintas a las otras cepas, los basidiomas presentaron píleo subgloboso con superficie de pigmentación blanca y vellosidades abundantes de textura lanosa y márgenes lobulados, con medidas de 10-30 mm de ancho y 13-32 mm de largo (Figura 17). La coloración de los cuerpos fructíferos de la cepa HEMIM-98 que a los 15 días los cuerpos fructíferos tenían color blanco, a los 19 días color crema y posteriormente a los 24 días pasó a color marrón, tomando esta como referencia para cosechar.



Figura 12. Morfología de la cepa HEMIM-98.

Cabe mencionar que en general para las tres cepas de *Schizophyllum* spp. el mejor sustrato fue cáscara de cacahuate, en el caso de la cepa de *S. radiatum* (HEMIM-107) fue la que presentó mayor eficiencia biológica, ciclo de cultivo corto y cuerpos fructíferos con mayor diámetro, en comparación con *S. commune* (HEMIM-98) y (HEMIM-99).

Tabla 2. Patón de producción de *Schizophyllum* spp. cultivado en cáscara de cacahuate y rastrojo de maíz.

<b>HEMIM-98</b>			
Cáscara de cacahuate		Rastrojo de maíz	
Incubación (días)	10	Incubación (días)	12
Fructificación (días)	14	Fructificación (días)	13
Ciclo de cultivo (días)	24	Ciclo de cultivo (días)	25
EB (%)	10.75	EB (%)	1.41
Tasa de producción	0.76	Tasa de producción	0.05
<b>HEMIM-99</b>			
Cáscara de cacahuate		Rastrojo de maíz	
Incubación (días)	10	Incubación (días)	10
Fructificación (días)	12	Fructificación (días)	12
Ciclo de cultivo (días)	22	Ciclo de cultivo (días)	22
EB (%)	3.32	EB (%)	2.11
Tasa de producción	0.10	Tasa de producción	0.06
<b>HEMIM 107</b>			
Cáscara de cacahuate		Rastrojo de maíz	
Incubación (días)	11	Incubación (días)	8
Fructificación (días)	15	Fructificación (días)	11
Ciclo de cultivo (días)	26	Ciclo de cultivo (días)	19
EB (%)	18.64	EB (%)	8.29
Tasa de producción	0.69	Tasa de producción	0.63

Romero *et al.* (2015) evaluaron las fórmulas C-Agrol 1, 2 y 3 en la producción de la cepa CP-CA1 de *Lentinula edodes* (Pegler) en bloques de aserrín de encino (*Quercus* sp.), olote de maíz triturado (*Zea mays*) y rastrojo de maíz (*Zea mays*). Donde la cepa CP-CA1 mostró una tasa de producción de 0.38, 0.33 y 0.31% en cada uno de los sustratos y una EB de 100.5% en la formula C-Agro2, lo que muestra que son valores muy altos para la eficiencia biológica

que se obtuvo en este experimento, pero valores estandares en TP de *Schizophyllum* spp. ya que en promedio, se obtuvieron 0.28 (HEMIM-98) y 0.64 (HEMIM-107).

El hongo *S. commune* no es un hongo que se cultive con fines comerciales a nivel mundial y nacional, solo se hace con fines de investigación, este hongo se ha utilizado para estudios genéticos y bioquímicos (Chang & Miles, 2004). Bran-González *et al.* (2009) evaluaron el crecimiento micelial de cinco cepas nativas de *S. commune* en Guatemala sobre cuatro sustratos compuestos de viruta de pino, pulpa de café seca, olote y caña de maíz, harina de avena y trigo, en cuatro posible combinaciones, donde la mayor eficiencia biológica fue de 5.50 % que se obtuvo en caña de maíz y olote de maíz (proporción 1:1) y una TP de 0.19, los cuerpos alcanzaron medidas menores de 2.0 cm y más de 4.0 cm de diámetro.

Carreño-Ruiz *et al.*, (2014) evaluaron el crecimiento *in vitro* de tres hongos: *Auricularia fuscosuccinea*, *Oudemansiella canarii* y *S. commune* en cuatro sustratos agrícolas para evaluar el crecimiento micelial en cada sustrato y en combinación: fibra de coco (*Cocos nucifera*), cáscara de cacao (*Theobroma cacao*), hojas de plátano (*Musa paradisiaca*) y aserrín de cedro (*Cedrela odorata*). A *S. commune* le favoreció en la cáscara de cacao y la hoja de plátano, así como las combinaciones coco-cacao, coco-aserrín, coco-plátano, cuyos valores de crecimiento micelial promedio fueron de 8.54 a 9.99 mm d<sup>-1</sup>.

### **Actividad enzimática del extracto de *Schizophyllum* spp.**

#### **7.3.1 Cuantificación de enzimas lacasas**

La actividad de lacasas del hongo *Schizophyllum* sp. crecido sobre diferentes sustratos, muestra que, la actividad enzimática fue mayor en el sustrato rastrojo de maíz para las tres cepas. En la figura 13, se puede observar la actividad enzimática para la cepa HEMIM-98, donde dicha actividad fue de 27.81 U/gX a pH de 5.5, y 23.60 U/gX a pH 5.0. La cepa HEMIM-99 (Fig. 14) mostró mayor actividad a los mismos pH, a pH 5.0 (17.76 U/gX) y 5.5 (15.94 U/gX). Con el resto de sustratos hubo baja actividad de lacasas (entre 2.68 U/gX y 1.73 U/gX). Sin embargo para la cepa HEMIM-107 (Fig.15) el pH que favoreció la actividad fue 4.5 para los sustratos rastrojo de maíz (11.33 U/gX), para el resto de los sustratos fue de alrededor de 1.27 U/gX.

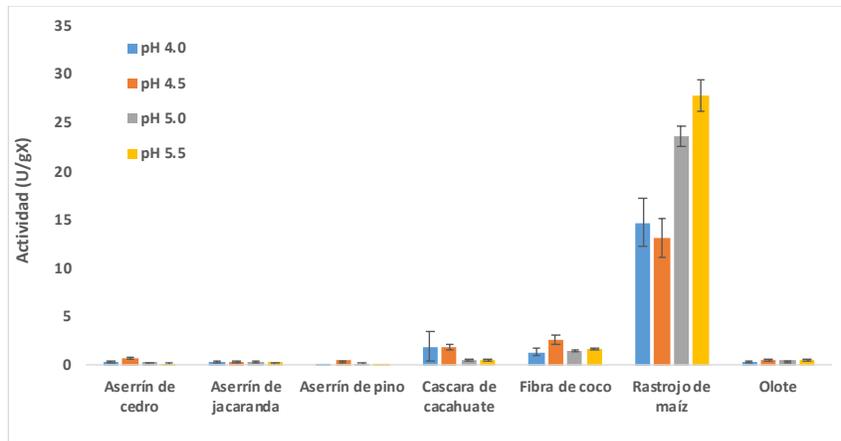


Figura 13. Actividad enzimática de lacasas en *Schizophyllum* spp. (HEMIM-98).

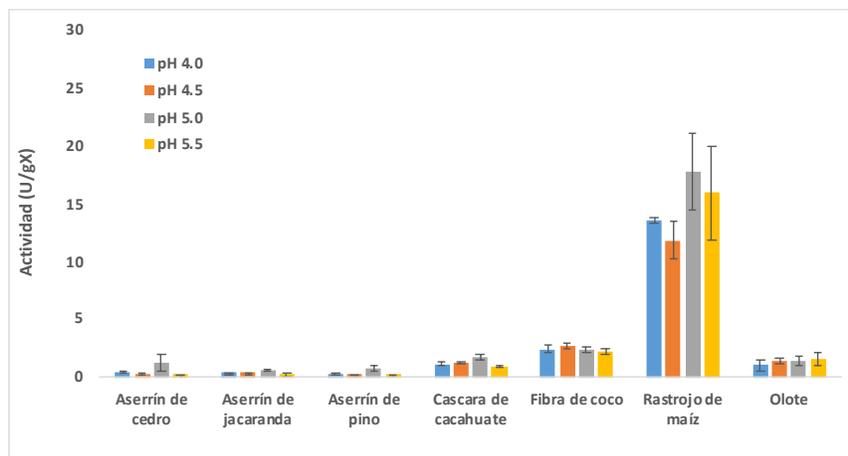


Figura 14. Actividad enzimática de lacasas en *Schizophyllum* spp. (HEMIM-99).

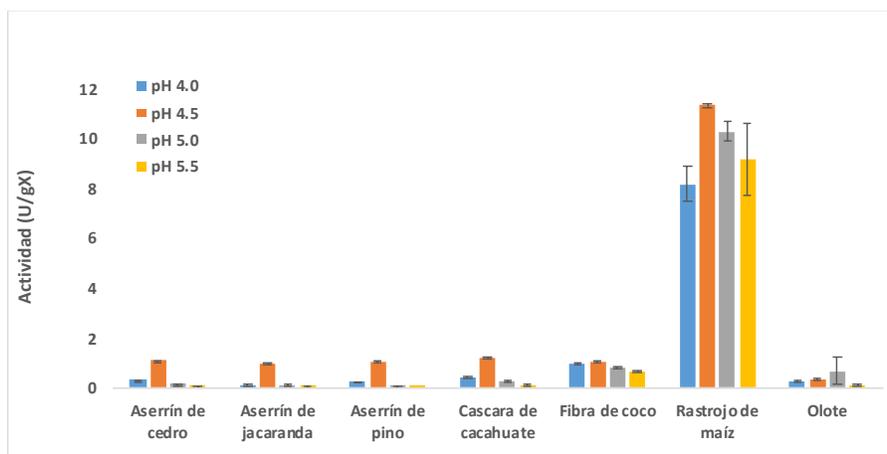


Figura 15. Actividad enzimática de lacasas en *Schizophyllum* spp. (HEMIM-107).

### 7.3.2 Cuantificación de enzimas celulasas

Se cuantificó la actividad enzimática de celulasas (Fig. 16), en la cual se puede observar que los sustratos más aptos para las tres cepas de *Schizophyllum* sp. fue cáscara de cacahuete y rastrojo de maíz, donde la cepa HEMIM-98 fue la que presentó mayor actividad en ambos sustratos (11.78 U/gX y 14.97 U/gX, respectivamente). La cepa HEMIM-99 presentó mayor actividad en cáscara de cacahuete (1.33 U/gX) y finalmente para cepa HEMIM-107 en rastrojo de maíz fue de (6.69 U/gX). Para el resto de los sustratos, la actividad de celulasas fue muy baja, menor de 1 U/gX.

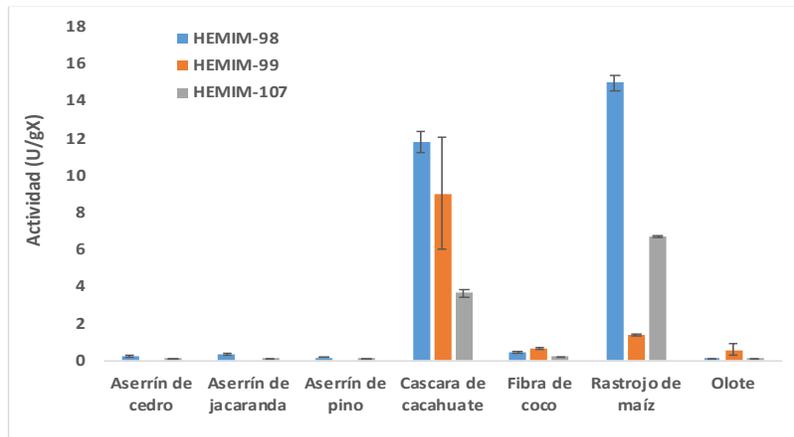


Figura 16. Actividad enzimática de celulasas en *Schizophyllum* spp.

### 7.3.3 Cuantificación de enzimas pectinasas

La actividad de pectinasas se presenta en la figura 18 donde se muestra que el sustrato más en el que hubo mayor actividad fue fue rastrojo de maíz y la cepa que presentó mayor actividad fue HEMIM-99 (59.83 U/gX), seguido de HEMIM-98 (26.74 U/gX) y la cepa HEMIM-107 solo presentó 5.27 U/gX de actividad de pectinasas.

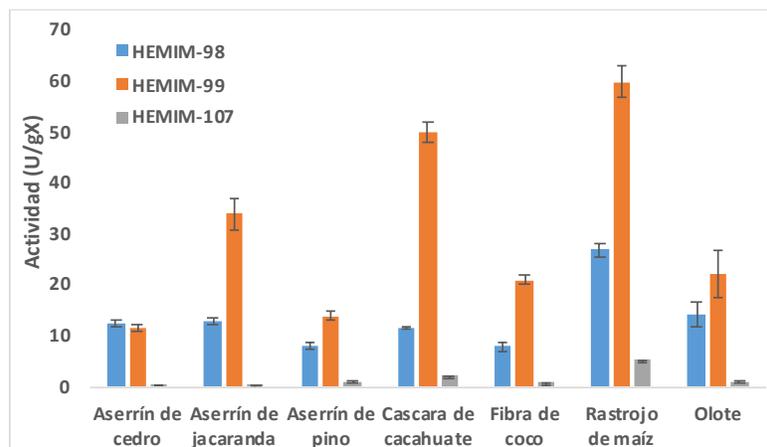


Figura 17. Actividad enzimática de pectinasas en *Schizophyllum* spp. HEMIM-98, HEMIM-99 y HEMIM-107.

### 7.3.4 Cuantificación de enzimas invertasas

La actividad donde la mayor actividad de invertasas fue en el rastrojo de maíz (1.31 U/gX) para la cepa HEMIM-99 y para HEMIM-107 fue de 1.21 U/gX. Cabe mencionar, que las invertasas, fueron las enzimas con menor actividad en el hongo *Schizophyllum* spp (Fig. 19).

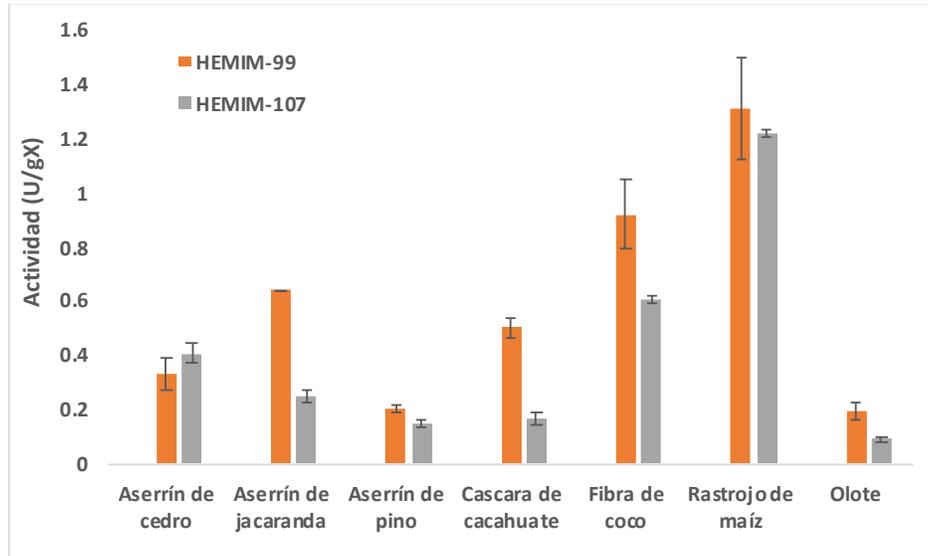


Figura 18. Actividad enzimática de invertasas en *Schizophyllum* spp. HEMIM-99 y HEMIM-107.

### 7.3.5 Cuantificación de enzimas amilasas

En la actividad enzimática de amilasas (Fig. 20) mayor actividad se obtuvo en el aserrín de jacaranda (10.25 U/gX), seguido de la cáscara de cacahuete (7.39 U/gX) y rastrojo de maíz (6.07 U/gX) para la cepa de HEMIM-99, para la cepa HEMIM-98 la actividad fue de 4.43 U/gX, 4.60 U/gX y 3.54 U/gX, la actividad de la cepa HEMIM-107 fue de 0.27 U/gX, 5.59 U/gX y 6.77 U/gX para los mismos sustratos mencionados anteriormente.

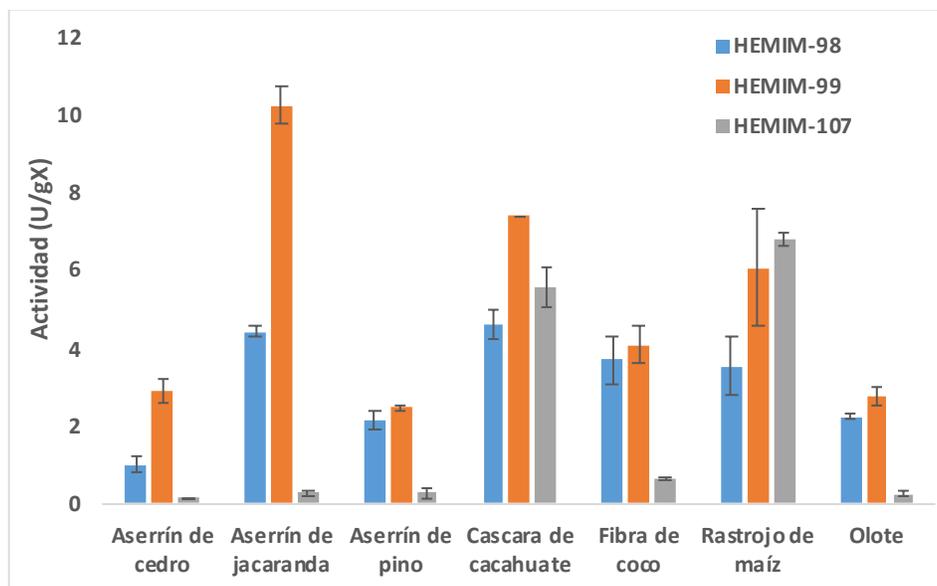


Figura 19. Actividad enzimática de amilasas en *Schizophyllum* spp HEMIM-98, HEMIM-99 y HEMIM-107.

Se ha informado que la fermentación en estado sólido (SSF) es un mejor sistema que la fermentación sumergida (SMF) para producir enzimas, incluidas las lacasas. Chan *et al.* (2016), evaluaron la actividad enzimática de *Pycnoporus sanguineus* en paja de trigo obteniendo una actividad de 118.2 U/L, bagazo de caña con 76.7 U/L y aserrín de pino con 100.1 U/L esto a un pH de 4.5; Murrieta, *et al.*, (2002) evaluó la actividad enzimática de lacasas de dos cepas de *Pleurotus pulmonarius* (137 y 225), en las cuales presentaron 34.69 Ug<sup>-1</sup> en sustrato de pulpa de café (pH de 5.0), Karp *et al.* (2015) reportaron la actividad de lacasas (151.6 U/g) en *Pleurotus ostreatus* crecido sobre bagazo de caña de azúcar (pH de 5.5), como se puede observar, *Schizophyllum* spp. obtuvo niveles bajos de lacasas, en comparación de otros hongos.

Zhu *et al.* (2016) analizaron las proteínas extracelulares de *S. commune* que coloniza el tallo de la alcachofa de Jerusalén y se compararon con las de dos hongos de pudrición blanca *Phanerochaete chrysosporium*, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Gloeophyllum trabeum* (hongo de pudrición parda). *S.commune* mostró niveles considerablemente más altos de actividades enzimáticas hidrolíticas en comparación con los de *P. chrysosporium*, *C. subvermispora* y *G. trabeum*. Durante el proceso de biodegradación, este hongo modificó el polímero de lignina de una manera consistente con un ataque de radicales hidroxilo, similar al de *G. trabeum*. Un análisis reveló que, en comparación con otros tres hongos, esta especie produce una mayor diversidad de enzimas que degradan los carbohidratos, especialmente hemicelulasas y pectinasas que actúan sobre las cadenas principales y laterales de los polisacáridos.

Dentro de la información derivada de la secuenciación del genoma de *S. commune*, se ha indicado que presenta 366 enzimas degradadoras de carbohidratos (CAZymas), de las cuales 106 están involucradas en la degradación de polisacáridos vegetales (Ohm et al. 2010). El análisis de la diversidad de enzimas que degradan polisacáridos no celulósicos mostró que *S. commune* tiene más hidrolasas relacionadas con la degradación de xilano y pectina, como las familias GH5, 10, 28, 43, 51, 53, 93, 105 y 115, además que posee más proteínas GH43 que son enzimas  $\beta$ -xilosidasas (Erdmann et al., 2012), lo que indica su gran capacidad para la degradación de hemicelulosa y pectina. Se han identificado en el sistema celulolítico de *S. commune* varias familias de enzimas que eliminan la cadena lateral de xilano, como las acetil xilano esterasas (Biely et al., 1985), las glucuronoil esterasas (Spanikova & Biely., 2006) y las  $\alpha$ -glucuronidasas (Tenkanen & Siika-aho., 2000; Chong et al., 2011). Entre los pocos estudios sobre las hidrolasas, se ha informado que una endoxilanasas recombinante de *S. commune* presenta alta actividad de degradación del xilano de madera de haya (Song et al., 2013) y los extractos crudos que contienen principalmente  $\beta$ -glucosidasa de esta especie fúngica podrían degradar la lignocelulosa pretratada igual que una  $\beta$ -glucosidasa comercial (Lee et al., 2014).

## Resumen de resultados

<i>S. commune</i> HEMIM-98 Villahermosa, Tabasco	<i>S. commune</i> HEMIM-99 Villahermosa, Tabasco	<i>S. radiatum</i> HEMIM-107 Cuernavaca, Morelos
La cepa mostró formación de cuerpos fructíferos y estos esporularon en caja Petri.	Corto tiempo en incubación y fructificación	Ciclo biológico más rápido, desde colonización hasta fructificación
Cuerpos fructíferos con menor diámetro	Cuerpos fructíferos con mejor textura	Mayor crecimiento micelial y mejor EB y TP
Lacasas 27.81 U/gX a pH 5.5 en rastrojo de maíz	Lacasas 17.76 U/gX a pH 5.0 en rastrojo de maíz	Lacasas 11.33 U/gX a pH 4.5 en rastrojo de maíz
Celulasas 14.97 U/gX, en rastrojo de maíz	Amilasas 10.25 U/gX en aserrín de jacaranda	Invertasas 1.21 U/gX en rastrojo de maíz

## 8 Conclusión

Las tres cepas analizadas presentaron diferentes características en el crecimiento del micelio, actividad enzimática y durante el cultivo.

El hongo *Schizophyllum* spp. es un eficiente degradador de materiales lignocelulósicos, se trabajó con *S. commune* y *S. radiatum* donde el sustrato rastrojo de maíz favoreció el crecimiento para las tres cepas y para las características miceliales fue cáscara de cacahuate y rastrojo de maíz .

Se obtuvo el cultivo de *Schizophyllum* spp. a pesar de la temperatura de incubación (22-24°C), ya que este hongo requiere temperaturas más altas (30°C), aunque en general se obtuvieron EB bajas, siendo la más alta para *S. radiatum* (18%) en cáscara de cacahuate, que fue uno de los sustrato que favoreció las características miceliales, por lo que en este caso los resultados de caja Petri nos ayudaron a escoger los sustratos a trabajar en cultivo.

La actividad enzimática fue más altas en general en los extractos obtenidos del crecimiento de *Schizophyllum* spp. sobre rastrojo de maíz y cáscara de cacahuate, por lo que coincidió con las características miceliales.

## 9 Perspectivas

- Optimizar las condiciones de cultivo (sustratos, pH, temperatura etc.).
- Caracterizar la producción de enzimas e isoenzimas de xilanasas producidas en diferentes sistemas de cultivo.
- Caracterizar el cultivo y producción de enzimas de más especies de *Schizophyllum* spp. que están reportadas para el país.

## 10 Referencias bibliográficas

- Acosta-Urdapilleta, M. L. (2000). Aislamiento y cultivo de diferentes cepas silvestres de *Pleurotus* spp. En el Estado de Morelos, México. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Acosta-Urdapilleta, M. L., Alonso, G. A., Rodríguez, A., Adame, V. I., Salgado, D. S. J., Montiel-Peña, M., Medrano, F. & Villegas, E. C. (2010). *Pycnoporus sanguineus*, un hongo con potencial biotecnológico. En Martínez-Carrera, D., Curvetto, N., Sobal, M., Mora, V. M., (Eds.), *Hacia un Desarrollo sustentable de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: avances y Perspectivas en el siglo XXI*. (pp. 189-220). Puebla, Puebla, México: Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y medicinales: Producción, Desarrollo y Consumo.
- Adejoye, O. D., Adebayo-Tayo, B. C., Ogunjobi, A. A. & Afolabi, O. O. (2007). Estudios fisicoquímicos sobre *Schizophyllum commune* (Fries), un hongo comestible de Nigeria. *Revista Mundial de Ciencias Aplicadas*, 2 (1), 73-76.
- Agrios, G. N. (1976). *Fitopatología*. Editorial Limusa. México, D.F, 838 pp.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology*, 5ª ed., EE. UU: Elsevier Academic Press, 922 pp.
- Alexopoulos, J. C. (1977). *Introducción a la Micología*. Editorial Universitaria de Buenos Aires.
- Andrade-Gallegos, R. H., Mata, G. & Sánchez, J. E. (2012). La producción iberoamericana de hongos comestibles en el contexto internacional. *Hongos Comestibles y Medicinales en Iberoamérica: Investigación y Desarrollo en un Entorno Multicultural*, 9-16 pp.
- Arguello, R., Gatani, M. & Berreta, H. (2005). Componentes constructivos con cáscara de cacahuete (maní) y cemento. Primeros estudios sobre las incompatibilidades físico-químicas en el fraguado del material. *Seminario Iberoamericano de Tecnología de Materiales, Subprograma CYTED, La Habana*.
- Beg, Q. K., Kapoor, M., Tiwari, R. P. & Hoondal, G. S. (2001). Bleach-boosting of eucalyptus kraft pulp using combination of xylanase and pectinase from *Streptomyces* sp. QG-11-3. *Res Bull. Punjab University*, 57: 71-8.
- Biely, P., Puls, J. & Schneider, H. (1985). Acetyl xylan esterases in fungal cellulolytic systems. *FEBS letters*, 186 (1), 80-84.
- Bran-González, M. C., Morales-Esquivel, O. I., Caseres-Stackmann, R. & Flores-Arzú, R. (2006). Hongos comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula. *Informe final técnico Fase II. Dirección General de Investigación, Universidad de San Carlos*.
- Bran-González, M. C., Morales-Esquivel, O. I., Flores-Arzú, R. & Cáceres-Stackmann, R. (2009). Caracterización y producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas del hongo comestible Asam (*Schizophyllum commune* Fr). Universidad de San Carlos, Guatemala, 59 pp.
- Bolaños, A. C. & Medina, E. S. (2011). Macrohongos comestibles y medicinales comunes en la vegetación de la Universidad del Valle, Colombia. *Revista de Ciencias*, 15, 31-38.

- Calongue, F. D. (2011). *Hongos medicinales*. 1ª ed. España: Mundi-Prensa. 130 pp.
- Campbell, N. A. & Reece, J. B. (2007). *Biología*. 7ma. ed. Madrid, España: Médica Panamericana. 608-625 pp.
- Cannon, P. F. & Kirk. P. M. (2007). *Fungal Families of the World*. Egham, Inglaterra: CABI. 456 pp.
- Cappello-García. S. (2006). *Hongos del Yumká*. Guía ilustrada. Tabasco, México: Colección José N. Rovirosa, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. 105 pp.
- Carreño-Ruiz, S. D., Cappello-García, S., Gaitán-Hernández, R., Cifuentes-Blanco, J. & Rosique-Gil, E. (2014). Growth of three tropical edible fungi in culture mediums and agricultural waste. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5(8), 1447-1458.
- Carreño-Ruiz, S. D., Cappello-García, S., Gaitán-Hernández, R., Gaspar-Génico, J. A. & Rosique-Gil, J. E. (2020). Production of basidiomes of *Schizophyllum commune* (Fungi: Basidiomycota) in agricultural by-products of Tabasco, Mexico. *Agroproductividad*, 13(5), 65-71.
- Carreño-Ruiz, S. D., Ávalos, A. A., Cappello-García, S., Gaitán-Hernández, R., Chen, J., Guillén-Navarro, G. K., García-Fajardo, L. V., Jiménez-Pérez, N. C., Torres-Cruz, M., Cifuentes-Blanco, J. & Cappello, R. E. (2019). New record of *Schizophyllum* (Schizophyllaceae) from Mexico and the confirmation of its edibility in the humid tropics. *Phytotaxa*, 413(2), 137- 148.
- Carrillo, F. J. (2002). Capital systems: implications for a global knowledge agenda. *Journal of Knowledge Management*, 6(4), 379-399.
- Castro, L. Á., Álvarez, M. I, & Martínez, E. (2010). Case report of *Schizophyllum commune* sinusitis in an immunocompetent patient. *Colombia Médica*, 41(1), 71-75.
- Carvalho R., Corrêa D., T. L. R., Silva, J. C., Viana, M. D., A P., Martínez, M. L. L. (2008). Optimización de las condiciones de cultivo para la producción de amilasas e hidrólisis de almidón por la acción de la enzima. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 28, 380-386.
- Cepero de García, M. C., Restrepo-Restrepo, S., Franco-Molano, A. E., Cárdenas-Toquica, M. & Vargas-Estupiñán, N. (2012). *Biología de hongos*. 1ª ed. Bogotá-Colombia: Ediciones Uniandes, 485 pp.
- Chan-Cupul, W., Heredia-Abarca, G. P. & Rodríguez-Vázquez, R. (2016). Aislamiento y evaluación de la actividad enzimática ligninolítica de macromicetos del estado de Veracruz, México. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 32(3), 339-351.
- Chang, S. T. & Miles, P. G. (2004). *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. 2<sup>nd</sup> ed. Estados Unidos de América: CRC press, 451 pp.
- Chang, S. & Lui, W. (1969). Analysis of the mating types of *Schizophyllum commune* in the natural population of Hong Kong. *Botanical Bulletin of the Academia Sinica*, 10, 74-88.
- Chen, S., Ma, D., Ge, W. & Buswell, J. A. (2003). Induction of laccase activity in the edible straw mushroom, *Volvariella volvacea*. *FEMS Microbiology Letters*, 218(1), 143-148.
- Chong, S. L., Battaglia, E., Coutinho, P. M., Henrissat, B., Tenkanen, M. & de Vries, R. P. (2011). La  $\alpha$ -glucuronidasa de *Schizophyllum commune* es miembro de una nueva

- familia de glucósidos hidrolasas (GH115). *Microbiología aplicada y biotecnología*, 90 (4), 1323- 1332.
- Collins, P. J., Kotterman, M., Field, J. A. & Dobson, A. (1996). Oxidation of anthracene and benzo [a] pyrene by laccases from *Trametes versicolor*. *Applied and environmental microbiology*, 62(12), 4563-4567.
- Contreras-MacBeath, T., Monroy, F. J. & Delgado, J. C. B. (2006). La diversidad biológica en Morelos. Estudio de estado. Conabio, UAEM. p. 40.
- Cooke, W. B. (1961). The genus *Schizophyllum*. *Mycología*, 53(6), 575-599.
- Desai, S. S. & Nityanand, C. (2011). Microbial laccases and their applications: a review. *Asian Journal of Biotechnology*, 3(2), 98-124.
- Donk, M. A. (1964). A conspectus of the families of Aphyllophorales. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 3(2), 199-324.
- Erdmann, S., Freihorst, D., Raudaskoski, M., Schmidt-Heck, W., Jung, E. M., Senftleben, D. & Kothe, E. (2012). Transcriptome and functional analysis of mating in the basidiomycete *Schizophyllum commune*. *Eukaryotic cell*, 11(5), 571-589.
- Evans, M. R., Konduru, S. & Stamps, R. H. (1996). Source variation in physical and chemical properties of coconut coir dust. *HortScience*, 31(6), 965-967.
- Farr, D. F. & Rossman, A. Y. (2006). Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>; última consulta: 10.V.2010.
- Farr, D. F. & Rossman, A. Y. (2017) Fungal Database, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved September 15, 2017, from <https://nt.arsgrin.gov/fungaldatabases/>
- Fengel, D. & Wegener, G. (1989). *Wood Chemistry, Ultrastructure, Reactions*. 2<sup>nd</sup> ed. Berlín, Germany: Walter de Gruyter, 415 pp.
- Gopinath, S. C. B., Anbu, P., Arshad, M. K. M., Lakshmpriya, T., Voon, C. H., Hashim, U. & Chinni, S. V. (2017). Biotechnological processes in microbial amylase production. *BioMed Research International*, 1–9.
- Grand, L. F. & Vernia, C. S. (2004). Fungi on plants in North Carolina. *Review Version. North Carolina State University, North Carolina*, 1-179.
- Gutiérrez, A., del Río, J. C., González-Vila, F. J. & Romero, J. (1998). Variation in the composition of wood extractives from *Eucalyptus globulus* during seasoning. *Journal of wood chemistry and technology*, 18(4), 439-446.
- Guzmán, G. (1977). *Identificación de los hongos: comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera*. México, DF: Limusa, 236 pp.
- Guzmán, G. (2004). *Los hongos del El Edén Quintana Roo. Introducción a la micobiota tropical de México*. México: Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 316 pp.
- Guzmán, G., Mata, G., Salmones, D., Soto-Velazco, C. & Guzmán-Dávalos, L. (1993). *El cultivo de los hongos comestibles. Con especial atención a especies tropicales y*

- subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales*. México, D.F: Instituto Politécnico Nacional, 245 pp.
- Guzmán, G. & Piepenbring, M. (2011). Los hongos de Panamá, Introducción a la identificación de los macroscópicos. 1 ed. México: Instituto de Ecología A.C, 372 p.
- Guzmán-Maldonado, H., Paredes-López, O. & Biliaderis, C. G. (1995). Amylolytic enzymes and products derived from starch: a review. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 35(5), 373-403.
- Hawksworth, D. L., Sutton, B. C. & Ainsworth, G. C. (1983). *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*. 7<sup>th</sup>. ed. Kew, Inglaterra: Commonwealth Mycological Institute, 210 pp.
- Hawksworth, D. L. & Lücking, R. (2017). Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. *Microbiology spectrum*, 5(4), 5-4.
- Hemmes, D. E. & Desjardin, D. E. (2002). *Mushrooms of Hawaii*. 1<sup>a</sup> ed. Hong Kong: Ten speed press. 212 pp.
- Hobbs, C. (2005). The chemistry, nutritional value, immunopharmacology, and safety of the traditional food of medicinal split-gill fungus *Schizophyllum commune* Fr.: (Schizophyllaceae). A literature review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 7, 1-2.
- Hurter, W. R. (2001). Nonwood plant fiber uses in papermaking. Hurter Consult Incorporated. Extracted from "Agricultural Residues", Tappi. 1997. Non wood fibers short course notes, updated and expanded.
- IDAE). (2007). *Energía de la Biomasa*. Madrid: Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía, 140 pp.
- Imba-Chontasi, E. G. & Tallana-Chimarro, L. M. (2011). *Aceptabilidad del bagazo de caña, rastrojo de maíz y tamo de cebada en bloques nutricionales como reemplazo del maíz en cobayos de engorde (cavia porcellus) en la granja La Pradera-Chaltura*. Tesis de licenciatura. Universidad Técnica del Norte. Ibarra, Ecuador.
- Index Fungorum. (2022). Recuperado el 16 de marzo de 2022, de <http://www.IndexFungorum.org>
- Karp, S. G, Faraco, V., Amore, A., Letti, L. A. J., Soccol, V. T., Soccol C. R. (2015). Optimización estadística de la producción de lacasa y designificación del bagazo de caña de azúcar por *Pleurotus ostreatus* en fermentación en estado sólido. *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica*, 8 pp.
- Kashyap, D. R., Vohra, P. K., Chopra, S. & Tewari, R. (2001). Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource technology*, 77(3), 215-227.
- Kirk, K. T. (1978). *Lignin Biodegradation: Importance and Historical Research Perspective*. (USDA). Forest Service Forest Products Lab. Madison, Wisconsin.
- Kirk, P. M., Cannon, F. P., Minter, W. D. & Stalpers, A. J. (2008). *Dictionary of the Fungi* 10<sup>th</sup> ed. Wallingford, Reino Unido: CABI Publishing, 640 pp.

- Komatsu, N., Okubo, S., Kikumoto, S., Kimura, K., Saito, G. & Sakai, S. (1969). Host-mediated antitumor action of schizophyllan, a glucan produced by *Schizophyllum commune*. *GANN Japanese Journal of Cancer Research*, 60(2), 137-144.
- Konduru, S., Evans, M. R. & Stamps, R. H. (1999). Coconut husk and processing effects on chemical and physical properties of coconut coir dust. *HortScience*, 34(1), 88-90.
- Küppers, H. (1996). *Atlas de los colores*. España: Blume, 217 pp.
- Lee, Y. M., Lee, H., Kim, J. S., Lee, J., Ahn, B. J., Kim, G. H. & Kim, J. J. (2014). Optimización de componentes del medio para la producción de  $\beta$ -glucosidasa en *Schizophyllum commune* KUC9397 e hidrólisis enzimática de biomasa lignocelulósica. *BioResources*, 9(3), 4358-4368.
- Lima-Rojas, L. (2013). *Evaluación de la composición química y propiedades físicas de madera y corteza de cuatro coníferas para la producción de bioenergía*. Tesis de maestría. Universidad autónoma de nuevo león. Linares, Nuevo León, México.
- Lindequist, U., Niedermeyer, T. H. & Jülich, W. D. (2005). The pharmacological potential of mushrooms. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2(3), 285-299.
- Linder, D. H. (1933). The genus *Schizophyllum*. I. Species of the western hemisphere. *American Journal of Botany*, 20(8), 552-564.
- Lynd, L. R., Weimer, P. J., Van-Zyl, W. H. & Pretorius, I. S. (2002). Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and molecular biology reviews*, 66(3), 506-577.
- Mansour, A., Daba, A., Baddour, N., El-Saadani, M. & Aleem, E. (2012). Schizophyllan inhibits the development of mammary and hepatic carcinomas induced by 7, 12 dimethylbenz ( $\alpha$ ) anthracene and decreases cell proliferation: comparison with tamoxifen. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 138(9), 1579-1596.
- Martinez-Carrera, D. (2002). Mushroom. *McGraw-Hill Encyclopedia of Science and Technology*, 9<sup>th</sup> ed. Nueva York: McGraw-Hill, Inc. 4 pp.
- Martínez-Carrera, D., Leben, R., Morales, P., Sobal, M. & Larqué-Saavedra, A. (1991) Historia del cultivo comercial de los hongos comestibles en México. *Ciencia y Desarrollo*, 96, 33-43.
- Mata, M., Halling, R. E. & Müller, G. M. (2003). *Macrohongos de Costa Rica*. 2<sup>nd</sup> ed. Santo Domingo de Heredia, Costa Rica: Instituto Nacional de Biodiversidad, 256 pp.
- May, G. S. & Adams, T. H. (1997). The importance of fungi to man. *Genome research*, 7(11), 1041-1044.
- Müller, G. M., Schmit, J. P., Leacock, P. R., Buyck, B., Cifuentes, J., Desjardin, D. E., Halling, R. E., Hjortstam, K., Iturriaga, T., Larsson, K. H., Lodge, D. J., May, T. W., Minter, D., Rajchenberg, M., Redhead, S. A., Ryvarden, L., Trappe, J. M., Watling, R. & Wu, Q. (2007). Global diversity and distribution of macrofungi. *Biodiversity and conservation*, 16(1), 37-48.
- Murrieta-Hernández D. M., Mata, G. & Iglesias-Andreu, L. G. (2002). Cambios en la producción de lacasa por el hongo *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Qué. Cultivado en pulpa

- de café en confrontación con *Trichoderma viride* Pers., un moho contaminante. *Foresta Veracruzana*, 4 (1), 47-52.
- Noguera, P., Abad, M., Noguera, V., Puchades, R. & Maquieira, A. (1998). Coconut coir waste, a new and viable ecologically-friendly peat substitute. *Quality of Horticultural Products*, 517, 279-286.
- Noguera, P., Abad, M., Puchades, R., Maquieira, A. & Noguera, V. (2003). Influence of particle size on physical and chemical properties of coconut coir dust as container medium. *Communications in soil science and plant analysis*, 34 (3-4), 593-605.
- Ohm, R. A., De Jong, J. F., Lugones, L. G., Aerts, A., Kothe, E., Stajich, J. E., De Vries, P. R., Record, E., Levasseur, A., Baker, S., Bartholomew, K. A., Coutinho, P. M., Erdmann, S., Fowler, T. J., Gathman, A. C., Lombard, V., Henrissat, B., Knabe, N., Kües, U., Lilly, W. W., Lindquist, E., Lucas, S., Magnuson, J. K., Piumi, F. & Wösten, H. A. (2010). Genome sequence of the model mushroom *Schizophyllum commune*. *Nature biotechnology*, 28(9), 957-963.
- Oliveira, C. F. (2011). *Estudo da hidrólise da proteína de soja utilizando proteases de Chryseobacterium sp. para o uso como antioxidante em alimentos*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Rio Grande, Brasil.
- Olivo-Aranda, F. & Herrera, T. (1994). Las especies de *Schizophyllum* en México, su distribución ecológica e importancia etnomicológica. *Scientia Fungorum*, 10, 21-32.
- Pauli, G. (2000). Un estudio de caso hongos tropicales. *Fundación Zeri*. 16 pp.
- Pegler, D. N. (1983). *Agaric flora of the Lesser Antilles*. 9 ed. London: Kew Bulletin, 668 pp.
- Piepenbring, M. (2015). *Introducción a la micología en los trópicos*. Estados Unidos de América: The American Phytopathological Society, 325 pp.
- Prakash, O. & Jaiswal, N. (2010).  $\alpha$ -Amylase: an ideal representative of thermostable enzymes. *Applied biochemistry and biotechnology*, 160(8), 2401-2414.
- Quiroz-Castañeda, R. E. & Folch-Mallol, J. L. (2011). Proteínas que remodelan y degradan la pared celular vegetal: perspectivas actuales. *Biotecnología Aplicada*, 28(4), 205-215.
- Reddy, G. V., Ravindra-Babu, P., Komaraiah, P., Roy, K. R. R. M. & Kothari, I. L. (2003). Utilization of banana waste for the production of lignolytic and cellulolytic enzymes by solid substrate fermentation using two *Pleurotus* species (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*). *Process Biochemistry*, 38(10), 1457-1462.
- Ribeiro, D. S., Henrique, S. M., Oliveira, L. S., Macedo, G. A. & Fleuri, L. F. (2010). Enzymes in juice processing: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(4), 635-641.
- Rocabado R, D. M. (2011). Los hongos. *Bolivia Ecológica*, 62, 1-20.
- Romano, S. D., González-Suárez, E. & Laborde, M. A. (2005) *combustibles Alternativos. Nuevas tecnologías para la obtención de Biocombustibles*. Buenos Aires, Argentina: Ediciones Cooperativas, 181 pp.
- Romero-Arenas, O., Martínez-Guerrero, M. A., Damián-Huato, M. A., Ramírez-Valverde, B. & López-Olguín, J. (2015). Producción del hongo Shiitake (*Lentinula edodes* Pegler) en

- bloques sintéticos utilizando residuos agroforestales. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(6), 1229-1238.
- Royse, D. J. (1989). Factors influencing the production rate of shiitake. *Mushroom Journal for the Tropics*, 9(4), 127-138.
- Riley, R., Salamov, A. A., Brown, D. W., Nagy, L. G., Floudas, D., Held, B. W., Levasseur, A., Lombardo, V., Morín, E., Otilar, R., Lindquist, E. A., Sol, H., La Butti, K. M., Schmutz, J., Jabbour, D., Luo, H., Baker, S. E., Pisabarro, A. G., D Walton, J., Blanchette, R. A., Henrissat, B., Martín, F., Cuellen, D. & Hibbett, D. (2014). Extensive sampling of basidiomycete genomes demonstrates inadequacy of the white-rot/brown-rot paradigm for wood decay fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(27), 9923-9928.
- Ruan-Soto, F., Garibay-Orijel, R. & Cifuentes, J. (2004). Conocimiento micológico tradicional en la planicie costera del Golfo de México. *Scientia Fungorum*, 19, 57-70.
- Salahuddin, M. A. A. (2008). *Biological activities of Schizophyllum commune* Fr. Doctoral dissertation. University Malaya. Malasia.
- Selig, M. J., Knoshaug, E. P., Adney, W. S., Himmel, M. E. & Decker, S. R. (2008). Synergistic enhancement of cellobiohydrolase performance on pretreated corn stover by addition of xylanase and esterase activities. *Bioresource technology*, 99(11), 4997-5005.
- Ruegger, M. J. S., Tornisielo, S. M. T., Bononi, V. L. R. & Capelari, M. (2001). Cultivation of the edible mushroom *Oudemansiella canarii* (Jungh.) Höhn. in lignocellulosic substrates. *Brazilian Journal of Microbiology*, 32, 211-214.
- Snieðkienė, V. & Juronis, V. (2001). Distribution of the fungus *Schizophyllum commune* Fr. in plantings of trees in the Kaunas city. *Biologija*, 3, 45-47.
- Song, Y., Lee, Y. G., Choi, I. S., Lee, K. H., Cho, E. J. & Bae, H. J. (2013). Expresión heteróloga de endo-1,4-β-xilanasas A de *Schizophyllum commune* en *Pichia pastoris* y caracterización funcional de la enzima recombinante. *Tecnología enzimática y microbiana*, 52 (3), 170-176.
- Spanikova, S. & Biely, P. (2006). Glucuronil esterasa: carbohidrato esterasa nueva producida por *Schizophyllum commune*. *Cartas FEBS*, 580 (19), 4597-4601.
- Takeda, K. & Okumura, K. (2004). CAM and NK cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1(1), 17-27.
- Téllez-Téllez, M., Díaz, R., Sánchez, C. & Díaz-Godínez, G. (2013). Hydrolytic enzymes produced by *Pleurotus* species. *African Journal of Microbiology Research* 7 (4), 276–281.
- Téllez-Téllez, M., Fernández, F. J., Montiel-González, A. M., Sánchez, C. & Díaz-Godínez, G. (2008). Growth and laccase production by *Pleurotus ostreatus* in submerged and solid-state fermentation. *Applied microbiology and biotechnology*, 81(4), 675-679.
- Tenkanen, M. & Siika-aho, M. (2000). Una α-glucuronidasa de *Schizophyllum commune* que actúa sobre el xilano polimérico. *Diario de Biotecnología*, 78 (2), 149-161.

- Tschierpe, H. J. & Hartmann, K. (1977). A comparison of different growing methods [Edible fungi]. *Mushroom Journal*, 60, 404-416 p.
- Vázquez-Mendoza, S. (2012). Macromicetos medicinales provenientes de la Sierra Norte de Puebla, México; depositados en el herbario "Gastón Guzmán", ENCB-IPN. *Etnobotánica*, 10, 34-37.
- Vázquez-Mendoza, S. (2013). Nuevo hospedero del hongo *Schizophyllum commune* en América. *Revista mexicana de biodiversidad*, 84(2), 661-663.
- Vellinga, E. (2013). Split Gill—*Schizophyllum commune*. *Mycena News*, 64(9), 1-6.
- Webster, J. & Weber, S. R. W (2007). *Introduction to fungi*. 3<sup>rd</sup> ed. New York, United States of America. Cambridge university press. 867 p.
- Ni, Y., Wang, Y. & Sun, Z. (2012). Butanol production from cane molasses by *Clostridium saccharobutylicum* DSM 13864: batch and semicontinuous fermentation. *Applied biochemistry and biotechnology*, 166(8), 1896-1907.
- Ying, J. Z. (1987). *Icons of medicinal fungi from China*. 1 ed. China: Science press, 574 pp.
- Zhang, Y., Kong, H., Fang, Y., Nishinari, K. & Phillips, Go. (2013). Schizophyllan: A review on its structure, properties, bioactivities and recent developments. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 1(1), 53-71.
- Zhu, N., Liu, J., Yang, J., Lin, Y., Yang, Y., Ji, L., Li, M. & Yuan, H. (2016). El análisis comparative de los secretomes de *Schizophyllum commune* y otros basidiomicetos de la descomposición de la madera durante la fermentación en estado sólido revela su exclusivo sistema enzimático que degrada la lignocelulosa. *Biotechnol Biocombustibles*, 9 (1), 42.

Cuernavaca, Morelos a 12 de octubre de 2022

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE**  
**DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**P R E S E N T E.**

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **MARIEL FABIAN JURADO**, con el título del trabajo: **CARACTERIZACIÓN MICELIAL Y CULTIVO DE CEPAS DE *Schizophyllum spp.***

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación por Tesis Profesional por Etapas como lo marca el artículo 26° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

**A T E N T A M E N T E**  
***Por una humanidad culta***

**JURADO REVISOR**

**FIRMA**

PRESIDENTE: DRA. ELBA CRISTINA VILLEGAS VILLARREAL \_\_\_\_\_

SECRETARIO: M. EN C. PATRICIA MARTINEZ JAIMES \_\_\_\_\_

VOCAL: DRA. MAURA TELLEZ TELLEZ \_\_\_\_\_

SUPLENTE: BIOL. NESTOR IRAI BAUTISTA GARCIA \_\_\_\_\_

SUPLENTE: DRA. SILVIA CAPELLO GARCIA \_\_\_\_\_



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**MAURA TELLEZ TELLEZ | Fecha:2022-10-12 12:05:14 | Firmante**

EdP1SQXwyJxP/MyFg2Q2ipwbc6cJSd3Zezwko79m8sy+9lyJufFX21tVStoZQ+PEua6LXB9pCJu00tBz5b+hoorH6zmpjDI79GEk7YzoOli+FBmpd1oWkmnaGwaSMlbn2fIF7gyPkI5TbNHNbUjW1hxCBxTif95GW20E10JohMn7Bi8lBJYKABs9+VauJYVxy8qhsVJdfW9cQDvqdzEfr4ZZGHxZzPJ+AaOqcZhx6Qz+0AhJqnVRnxSiPk8YRQrA0u1W5/2WabQnHj5I9YKcMMa224GjmeJw0B5FOQ5V6L0Hr344JFxmMM+GEAbpNPICr7cvVrdTje4RmY8k7kA==

**PATRICIA MARTINEZ JAIMES | Fecha:2022-10-13 09:59:30 | Firmante**

ZJ+UAsm6aCGcFR/+QGm+ijXMwdQo4sgLxXJOWGBNjh0/S1TWcrBgXK5GKtV/n0RugLlNplky6krN3gA1JP9Eq1akmLV3ld9XKA8oQgbsC6lfqjCzJpMPPyNHX+15IJX52tZcfHYGjvdTFPMJdpD26nl5Lq8iF23gKUCOHSsCiltbTFITfPlkm4OQAac00UNPNyG2hhYDms3kvQKJ24uBSzS0g8tFlwTg4ZUYDdVIVEDn0rNQ22B/ee4U7vBCGQH4dzm+b0V02Cf1EkxIH/+wpDimzfq8It4QyBKaQUzu9MwvxVymNrqEGn6JJaVBhOadJe/Z5DFK0SxSA8wXu245w==

**NESTOR IRAI BAUTISTA GARCIA | Fecha:2022-10-13 12:14:10 | Firmante**

mPNg+ceVhqxn1AILD2dmJjk47paffntbIIbn1XuJAfcB+92mPE7tBuXn86wswP0qEa1/+wzE0vPC2TIUtl14iwZYWlyRLE6luNgu/ag1HqzgiKUSV/5Czpbk2YmRbiwxqrNexT5q7PaWhR8+D6mJYqg2zMeTeyOxx3U9JvfqJmy6yc1AJlib0WZtpVxmX6lCAS2eiH0YAsYwWED7Huqls65loR4GEubhFP1OqBj8ZqvcHGail0uGUyG/wG0uaRkTtYbUT/GggxelgeIn6uCYEluV4rw5HeBmNIUzod6W5Qs2UyovQo0MF4tnLurGxD1KlSsOMG4i04z9jHzx5VPCLQ==

**ELBA CRISTINA VILLEGAS VILLARREAL | Fecha:2022-10-18 22:51:20 | Firmante**

UCxqNgvGKYUGhPomY0vqZNLLA4UNwQuS+TXPcPnj7JEIbUMCLkTLYcjxDchMuE1xQBvqRN6yq9DzDUDt18XLJds2oIKyyX8uyvr6x+v9P3+UirHAuBs10VxP+xsIs9dgzKILeY/Qhzmii+pt9HQwhAfOHUcyPZU2KZDizEJKN6gs0NhPv6FKXd9e4H9ZovQEnGSCyeINRIC5C3daSl0HEcNdg+jZwkL1YQG5A8xj8OpJQqLli/gIbWwOeEaDEu54piTHh8P0jq9I4XZ2fZRJVxsqgWd7ssKIvNmN7yPD3JISRTz1stL+LNezRcD6JV5Bh8oVAXivO+dH9PrbsFJA==

