
Aislamiento y caracterización de la cepa de *Laetiporus cf. sulphureus*, proveniente de plantaciones forestales de *Eucalyptus globulus*, del distrito de Yucay, Cusco, Perú

Isolation and characterization of *Laetiporus cf. sulphureus* from forest plantations of *Eucalyptus globulus*, from the Yucay district, Cusco, Peru

Mario Callalli Chanchhuaña^{1,2} & María E. Holgado-Rojas^{2,3}

¹Hongos Perú. Av. Ejército B-12, Cusco, Perú. Email: biomar6@gmail.com

²Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Av. De la Cultura 733 Cusco. Perú

³Sociedad Botánica del Cusco. Av. De la Cultura 733 Cusco, Perú.

Resumen

Se realizó la colecta de *Laetiporus cf. sulphureus* a partir de troncos de *Eucalyptus globulus* L. en la localidad de Yucay durante los meses de febrero y marzo del 2014 con la finalidad de aislar y obtener la cepa de este poliporo cuyos basidiomas juveniles presentan propiedades alimenticias. Para la colecta se utilizó el método aleatorio simple, seleccionando aquellos que presentaban las mejores características en cuanto a tamaño, aspecto y textura, realizando el aislamiento a partir de un fragmento de pseudotejido en Agar Papa Dextrosa (PDA) y Agar Extracto Malta (EMA), a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ bajo condiciones de completa oscuridad. La caracterización macroscópica de la cepa se realizó en cuatro medios de cultivo PDA, EMA, HMA (Agar Harina de Maíz) y MBC (Medio Basado en Cerveza), incubados a 17, 21 y 25°C , midiendo el diámetro de la colonia cada 24 horas durante siete días. Para la obtención de basidiomas el inoculo fúngico fue cultivado en sustrato lignocelulósico a base de aserrín de eucalipto en un 80%. Las mejores características se lograron en la cepa L. sp-01, determinándose al HMA, EMA como los medios de cultivo más adecuados con 9.25 y 9.23 mm/día a 25°C respectivamente. Los cuerpos fructíferos se obtuvieron después de una incubación de seis meses e inmersión en agua a temperatura ambiente (shock térmico) por 24 horas.

Palabras clave. Caracterización, Cusco-Perú, *Eucalyptus*, *Laetiporus*, Xilófago.

Abstract

The collection of *Laetiporus cf. sulphureus* from *Eucalyptus globulus* L. in Yucay locality, was carried out during the months of February and March 2014 with the purpose of isolating and obtaining the strain of this polypore whose juvenile basidiomas have nutritional properties. For the collection, the simple random method was used, selecting those basidiomas that presented the best characteristics in terms of size, appearance and texture. The strain was isolated from a pseudo-tissue fragment by culturing on Potato Dextrose Agar (PDA) and Malt Extract Agar (EMA), at $25 \pm 1^\circ\text{C}$ under conditions of complete darkness. Subsequently, the macroscopic characterization of the strain was carried out in four culture media PDA, EMA, Corn Flour Agar (HMA) and Beer-Based Medium (MBC), incubated at 17, 21 and 25°C , measuring the diameter of the colony every 24 hours for seven days. To obtain basidiomas, the fungal inoculum was cultured in 80% lignocellulosic substrate based on eucalyptus sawdust. The best characteristics were achieved in the L. sp-01 strain, determining HMA, EMA as the most suitable culture media with 9.25 and 9.23 mm / day at 25°C respectively. Fruiting bodies were obtained after a six-month of incubation and immersion in water at room temperature (thermal shock) for 24 hours.

Keywords. Characterization, Cusco-Peru, *Eucalyptus*, *Laetiporus*, Xilofago.

Introducción

El cultivo de los hongos comestibles en la actualidad se ha presentado como una alternativa ideal para la obtención de alimentos sobre todo en países en vías de desarrollo, siendo fundamental en esta biotecnología el aislamiento y culturización de las especies reportadas como comestibles, donde la velocidad del crecimiento micelial es determinante para la elección de la cepa. (Lopez-Rodriguez et al., 2008). En países micofílicos como México esta actividad promueve beneficios económicos, ecológicos y sociales (Martínez-Carrera, 2002). Actualmente, la mayoría de las cepas utilizadas en el cultivo comercial provienen de regiones de América del Norte, Europa y el sur de Asia, las que son mantenidas bajo métodos convencionales para su preservación y utilización en investigaciones orientadas a su cultivo (Mata, Salmones, & Gaitán-Hernández, 2010). Especies de *Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinula* y *Ganoderma*, se producen en mayor o menor grado en diversas partes del mundo (Chang & Quimio, 1982). Otras especies menos conocidas son *Neolentinus*, *Volvariella*, *Auricularia*, *Flammulina*, *Grifola*, *Hypsizigus*, *Lepista* y *Morchella* (Martínez-Carrera, 2002; Mata et al., 2010). *Flammulina mexicana* Redhead, Estrada, & Petersen en (Franco et al., 2012) entre los que se encuentra *Laetiporus*. Diversos autores han demostrado la capacidad de estos hongos para colonizar una gran variedad de sustratos lignocelulósicos, caracterizando las etapas de crecimiento micelial y producción de carpóforos.

Esta capacidad de colonización del sustrato depende de la calidad de cepa obtenida y principalmente la velocidad de crecimiento del micelio. Al respecto Holgado (2012) evalúa el

crecimiento micelial de *Pleurotus ostreatus* y *P. djamor* en Medio Basado en Cerveza (MBC) con Tasas de crecimiento Diario (TCD) de 12,43 y 6,14 mm/día. Mientras que para *Pycnoporus sanguineus* (L: Fr) Murr. el medio EMA fue el más adecuado con una velocidad de crecimiento de 11.7 mm/día a 25°C. (Bautista & Sánchez, 2011). Lo que también se viene desarrollando en el CIPHAM de la UNSAAC.

Por lo que es necesario fortalecer el desarrollo de la fungicultura aplicando biotecnologías amigables con el ambiente como los residuos lignocelulósicos que se producen en la región como una alternativa agroecológica de desarrollo sostenible y la consecuente incorporación de nuevos alimentos en la dieta del poblador andino. De aquí la imperante necesidad de realizar estudios encaminados a la obtención, caracterización y aprovechamiento del germoplasma propio de la región, que generen técnicas adecuadas para la explotación masiva de los hongos comestibles, más aún si tomamos en cuenta que hasta ahora, se ha prestado poca atención a cepas de origen mesoandino, particularmente del orden de los poliporaceos.

Por consiguiente, evaluar el aislamiento y cultivo de *Laetiporus cf. sulphureus*, en diferentes medios de cultivo sólidos para obtener la cepa, permitirá que este hongo xilófago promisorio, sea considerado como un micorecurso nutraceutico cuyo estudio aún no se ha registrado en Perú.

Materiales y Métodos

Área de estudio

El ámbito de estudio comprende el distrito de Yucay que se encuentra a 2 858 msnm a 78 km. de la Ciudad del Cusco en el Valle Sagrado de los Incas.

Cuyas coordenadas UTM corresponde a 13°19'10" S y 72°05'10" W, limitando por el Norte con la provincia de Calca, por el Sur con el Distrito de Ollantaytambo, por el Este con el Distrito de Chinchero y por el oeste con la Comunidad de San Juan.

Metodología

Obtención de basidiomas y determinación de los especímenes silvestres

Los basidiomas fueron colectados por el método aleatorio simple seleccionando aquellos que presentan las mejores características en cuanto a tamaño, aspecto y textura (Mostajo, 2004), los cuales fueron extraídos de forofitos de *E. globulus* con la ayuda de una navaja estéril, en seguida colocados en frascos de vidrio estériles y transportados al Centro de Investigación y Producción de Hongos Alimenticios y Medicinales (CIPHAM), para sus posteriores evaluaciones.

Para la determinación de la especie se tomó en cuenta los caracteres macroscópicos y microscópicos, como la perennidad, tamaño del Píleo, coloración, forma de margen, consistencia, textura de la superficie, forma de los basidios, tamaño y forma de esporas, tipos de hifas, tipo de himenóforo y forma de poros. Asimismo, se utilizó bibliografía especializada, claves dicotómicas y consulta a especialistas.

Aislamiento y obtención de cepas de *Laetiporus cf. sulphureus*, a partir de tejido vegetativo

Se utilizó la metodología adaptada de Saldarriaga Osorio & Pineda Gutiérrez (2001), los basidiomas fueron seleccionados tomando en cuenta el tamaño y el grado de desarrollo,

prefiriendo los juveniles, los mismos que fueron desinfectados en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% durante 5 minutos. Se realizaron enjuagues con agua destilada estéril por tres veces. Luego se tomó una pequeña porción de pseudotejido (4-5 mm) mediante cortes con bisturí de primer uso. Los fragmentos se colocaron en placas Petri con medios de cultivo: Agar Papa Dextrosa (PDA) y Agar Extracto Malta (EMA). La incubación se realizó a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, previa rotulación, observándose diariamente el crecimiento de hifas y la formación del micelio. Finalmente se obtuvo el micelio puro (cepa madre) realizando un repique a partir de las placas con las mejores características de crecimiento.

Evaluación de la velocidad de crecimiento micelial

Se tomó una pequeña fracción de la cepa madre (agar con micelio de 10 mm de diámetro) que se colocó en el centro de placas Petri con medios de cultivo: Agar Papa Dextrosa (PDA), Agar Extracto Malta (EMA), Agar Harina de Maíz (HMA) y Medio Basado en Cerveza (MBC), los cuales fueron incubados a 17, 21 y 25°C midiéndose el crecimiento micelial durante 7 días con la ayuda de un vernier. La velocidad de crecimiento se calculó con la fórmula utilizada por Huerta, Martínez-Carrera, Sánchez y Leal-Lara (2009):

$$\text{Velocidad crecimiento} = (Df - Di) / (Tf - Ti)$$

Dónde:

Df = Diámetro final de crecimiento

Di = Diámetro inicial de crecimiento

Tf-Ti = Días de crecimiento micelial

Cultivo de *Laetiporus cf. sulphureus*.

Se utilizaron formulaciones de aserrín de eucalipto (*E. globulus*), suplementado con salvado de trigo (*T. aestivum*), tomando como referencia lo utilizado por diferentes autores para el cultivo de *Ganoderma* (Tabla 1).

Tabla 1. Formulaciones de sustratos utilizados para fructificación de *Ganoderma lucidum*, adaptado para el cultivo de *Laetiporus cf. sulphureus*

Aserrín	Salvado	Suplemen to	CaSO4 2 H2O	H2O	Referencias
80%	18%	sacarosa 1%	1%	67%	Chen y Miles, 1996b
80%	20%	-	un poco	70%	Hseu, 1993
78%	20%	-	2%	*	Liu et al., 1990
75%	25%	-	-	*	Lu y Chang, 1975, Quimio, 1986
87%	10%	-	3%	*	Tong y Chen, 1990
93,50%	5%	MgSO4 0,2 %	-	*	Triratana et al., 1991

Fuente: Chen(1999)

*cantidad de agua necesaria.

Inoculación e incubación del sustrato final

La inoculación se realizó en condiciones de asepsia, con un promedio de 30 gr. de spawn o inóculo fúngico para cada bolsa, conteniendo 1.5 kilogramos de sustrato previamente esterilizada. Durante la incubación se utilizaron ambientes cerrados a 25°C±1 sin iluminación (Deacon, 2006) hasta que los sustratos estuvieron completamente invadidos por el micelio. La inducción a la fructificación se realizó por inmersión en agua durante 24 horas (Stamets, 1993), a temperatura ambiente.

Monitoreo de los parámetros ambientales

Los parámetros a controlar fueron: la temperatura y la humedad que se mantuvo a través del riego diario por aspersión (ambos

- parámetros registrados por un termohigrómetro), oxigenación (ventilación natural, por ventanas) y horas de luz natural.

Tratamiento Estadístico

La determinación de la calidad del aislamiento se definió mediante el uso del análisis de tabla cruzada. En tanto para las velocidades de crecimiento se aplicó ANOVA.

La prueba de Tuckey para determinar el mejor medio de cultivo y la interacción. Los análisis estadísticos y gráficos fueron realizados mediante el uso del software de IBM-SPSS Statistics y Excel. Donde se plantea la hipótesis nula (H_0) todos los tratamientos tienen medias iguales, en tanto la hipótesis alterna (H_1), no todos los tratamientos tienen medias iguales.

Resultados y discusión

Descripción macroscópica y microscópica de *Laetiporus cf. sulphureus*

Basidioma, gregario, imbricado, anual, sécil, moderadamente adherido al sustrato, semicircular, hasta 18 cm de largo, 13 cm de ancho y 5 cm de altura. *Superficie abhimental*: velutinoso finamente, lisa, glabra, de color naranja intenso, que al madurar se decolora bajando de intensidad, con margen lobulado de color amarillo azufre. *Superficie himenial*:

finamente poroide, concoloro al margen que al ser manipuladas se torna de color café oscuro, con poros circulares. *Contexto*: carnosa, homogéneo de color blanco. *Impronta*: blanca. *Sistema hifal*: dimítico, hifas generativas de pared simple, delgada, hialinas, ramificadas, con septos simples; hifas esqueléticas, hialinas, de pared simple. *Basidios*: hialinas de pared delgada, en forma de bate y/o clava, con el extremo proximal (base) delgado y el extremo distal (ápice) más ensanchada. *Esporas*: 3-5 um, hialinas, elipsoidales, de pared delgada, nucleadas. *Hábitat*: parásito, saprófito, lignícola, en plantaciones forestales sobre corteza y troncos de *Eucalyptus globulus* L. en pie y caídos (Fig.1).

Aislamiento a partir de pseudotejido

La Tabla 2, muestra el grado de desarrollo del micelio a los siete días, en diferentes medios de cultivo observándose que todos los aislamientos resultaron positivos. Así las cepas L. sp-04, L. sp-05, L. sp-06 y L. sp-02 presentan crecimiento regular, L. sp-03 presenta crecimiento bueno, mientras L.sp-01 presenta un crecimiento excelente y mejores características de adaptación, el cual fue utilizado como cepa madre para las siguientes pruebas (Fig.2, 3).

Tabla 2. Grado del desarrollo micelial de *Laetiporus cf. sulphureus*, durante el aislamiento.

Medio de cultivo	Repeticiones	Código	Crecimiento micelial
EMA	A	L.sp-01	+++
	B	L.sp-02	+
	C	L.sp-03	++
PDA	A	L.sp-04	+
	B	L.sp-05	+
	C	L.sp-06	+

+ : Regular, ++: Buena, +++ : Excelente

La Tabla 3, muestra el recuento de los aislamientos positivos por cada medio de cultivo y la calidad del grado de desarrollo de las mismas, la que se determinó a través de datos cualitativos, siendo estas clasificadas en escala del 0 a 4, donde 0: no presenta crecimiento micelial, 1: crecimiento regular, 2: crecimiento bueno y 3: crecimiento Excelente.

Tabla 3. Tabla cruzada de recuento y porcentaje esperado del medio de cultivo y crecimiento micelial.

Medio de cultivo		Crecimiento micelial			Total
		Regular	Buena	Excelente	
EMA	Recuento	1	1	1	3
	% del total	2.0	0.5	0.5	3.0
PDA	Recuento	3	0	0	3
	% del total	2.0	0.5	0.5	3.0
Total	Recuento	4	1	1	6
	% del total	4.0	1.0	1.0	6.0

Selección del medio de cultivo sólido óptimo para la propagación del micelio vegetativo del hongo *Laetiporus cf. sulphureus*

El crecimiento micelial (Tabla 4 y Fig. 2) de la cepa L.sp.01, se evaluó a tres temperaturas distintas: 17°C, 21°C y 25°C, en cuatro medios sólidos de cultivo: PDA, EMA, HMA y MBC, a través de una correlación entre las variables temperatura y medio de cultivo en relación el diámetro de crecimiento micelial, siendo este significativo.

Mediante el análisis de varianza (ANOVA) se corroboró las diferencias significativas en las medias para la variable medio de cultivo (Tabla 6) y temperatura (Tabla 7) encontrándose que la velocidad de crecimiento micelial de L.sp-01

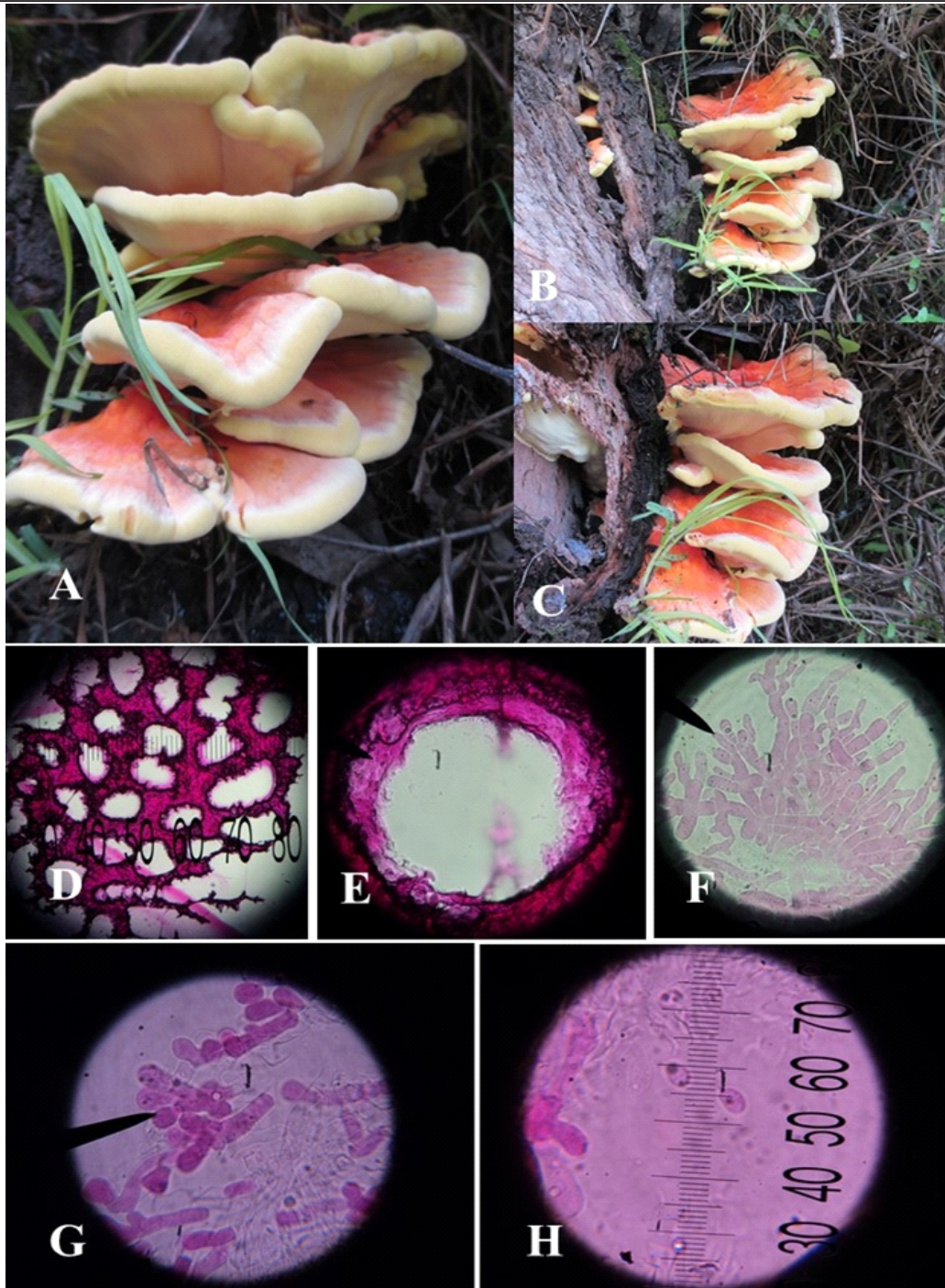


Figura 1. *Laetiporus* cf. *sulphureus*, A-C. Basidioma, D. corte transversal del himenóforo, E. poro, F. hifas, G. basidios y H. esporas, todas las estructuras microscópicas coloreadas con floxina.

Tabla 4. Crecimiento micelial de *L. sp-01*, en cuatro medios de cultivo solido a tres temperaturas distintas.

Medios de Cultivo	Temperatura °C	Tiempo en días							Diámetro final (mm)	
		0	1	2	3	4	5	6		7
PDA	17°C	10.000	10.400	11.275	12.375	14.200	16.488	21.675	25.838	25.838
	21°C	10.000	10.725	11.850	13.662	18.562	23.938	33.875	42.288	42.288
	25°C	10.000	11.025	12.500	14.212	22.188	28.988	38.338	48.162	48.162
EMA	17°C	10.000	11.200	12.588	14.950	24.025	31.675	40.038	48.525	48.525
	21°C	10.000	11.975	14.762	19.225	30.188	40.038	51.022	60.088	60.088
	25°C	10.000	13.925	18.962	26.838	38.438	52.588	61.525	74.625	74.622
HMA	17°C	10.000	10.350	11.062	11.750	14.512	18.288	24.612	33.038	33.038
	21°C	10.000	11.925	14.350	17.975	22.850	29.350	39.000	47.575	47.575
	25°C	10.000	13.238	17.288	23.050	31.375	41.338	56.825	74.788	74.788
MBC	17°C	10.000	11.838	14.738	17.112	22.825	29.538	36.725	43.975	43.975
	21°C	10.000	11.775	14.025	17.262	24.300	33.125	40.588	50.088	50.088
	25°C	10.000	13.762	18.112	23.962	34.612	46.625	58.162	70.950	70.950

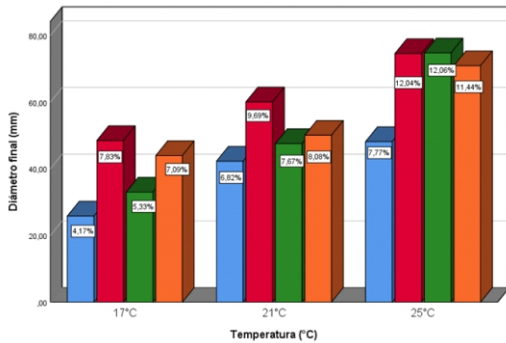


Figura 2. Crecimiento micelial de *L.sp-01*, en cuatro medios de cultivo solido a tres temperaturas distintas

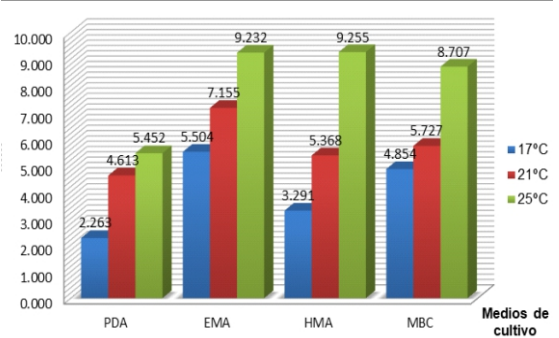


Figura 3. Velocidad de crecimiento micelial (mm/día) de *L.sp-01*, en cuatro medios de cultivo solido a tres temperaturas distintas.

Tabla 6. Tabla de ANOVA del crecimiento micelial respecto al medio de cultivo

Correlación	Medio de cultivo	Temperatura de crecimiento micelial	Diámetro de crecimiento micelial
Medio de cultivo	Correlación de Pearson	1	,294
	Sig. (bilateral)	1,000	,354
	N	12	12
Temperatura de crecimiento micelial	Correlación de Pearson	,000	,796**
	Sig. (bilateral)	1,000	,002
	N	12	12
Diámetro de crecimiento micelial	Correlación de Pearson	,294	,796**
	Sig. (bilateral)	,354	,002
	N	12	12

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

Tabla 7. Tabla de ANOVA del crecimiento micelial respecto a la temperatura

Variable		SC	GL	MC	F	Sig.
Temperatura	Entre T°s	1731,557	2	865,779	7,991	,010
	Dentro de T°s	975,147	9	108,350		
Total		2706,704	11			

-es óptima a 25°C con 9.255 mm/día en HMA (Fig. 3) mostrando las mejores características en cuanto al desarrollo micelial, biomasa más algodonosa y la presencia de un halo bien definido. Los otros medios de cultivo también llegaron a invadir toda la placa Petri (Fig. 4), pero en mayor tiempo y con menor biomasa. Este aspecto es importante señalar ya que seleccionar el medio de cultivo óptimo para la propagación vegetativa nos permite conocer mejor la preferencia nutricional de la especie, de este modo se disminuye el tiempo de incubación de las placas y los resultados obtenidos serán tomados como antecedentes en el caso que se realice un proceso tanto de investigación y/o producción.

Numerosos trabajos se han realizado para evaluar la propagación del micelio vegetativo de hongos xilofagos silvestres y comerciales, entre ellos Bautista & Sánchez (2011), determinan al medio de cultivo sólido Agar Extracto de Malta (EMA) como medio óptimo para *Pycnoporus sanguineus*, con una velocidad de crecimiento de 11.7 mm/día a 25°C. En tanto que Holgado (2012), al evaluar el crecimiento micelial de *Pleurotus ostreatus* y *P. djamor*, determina como mejor medio de cultivo solido el Medio Basado en Cerveza (MBC) con una Tasa de crecimiento Diario (TCD) de 12,43 mm/día y 6,14 mm/día, mientras que en el presente trabajo se determinó al Agar Harina de Maíz (HMA),

como medio de cultivo óptimo para la propagación del micelio vegetativo con un crecimiento de 9.26 mm/día a 25°C, siendo este último un agar casero a diferencia de las que usaron los autores anteriores que son comerciales, aminorando de esta manera los costos de este material de laboratorio indispensable para el cultivo y aumento de biomasa micelial.

Monitoreo de los parámetros ambientales

En el cultivo de hongos comestibles se deben tener en cuenta varios factores a la hora de producción, entre los más importantes, temperatura, humedad e iluminación, para que estos hongos puedan crecer de forma satisfactoria. Según Stamets (2005) la temperatura para el desarrollo del micelio debe ser 24°C hasta que invada completamente el sustrato y para la formación de primordios se requiere de un cambio brusco de temperatura que fluctúe entre 10-15.6°C durante por lo menos 5 días, en la presente investigación se pudo ver que estos tiempos de shock térmico pueden ser menores, así para *Laetiporus* fue necesario solo 24 horas. En cuanto a la Humedad relativa la literatura reporta valores entre 60 y 95% para la mayoría de las especies (Chang & Hayes, 1987).

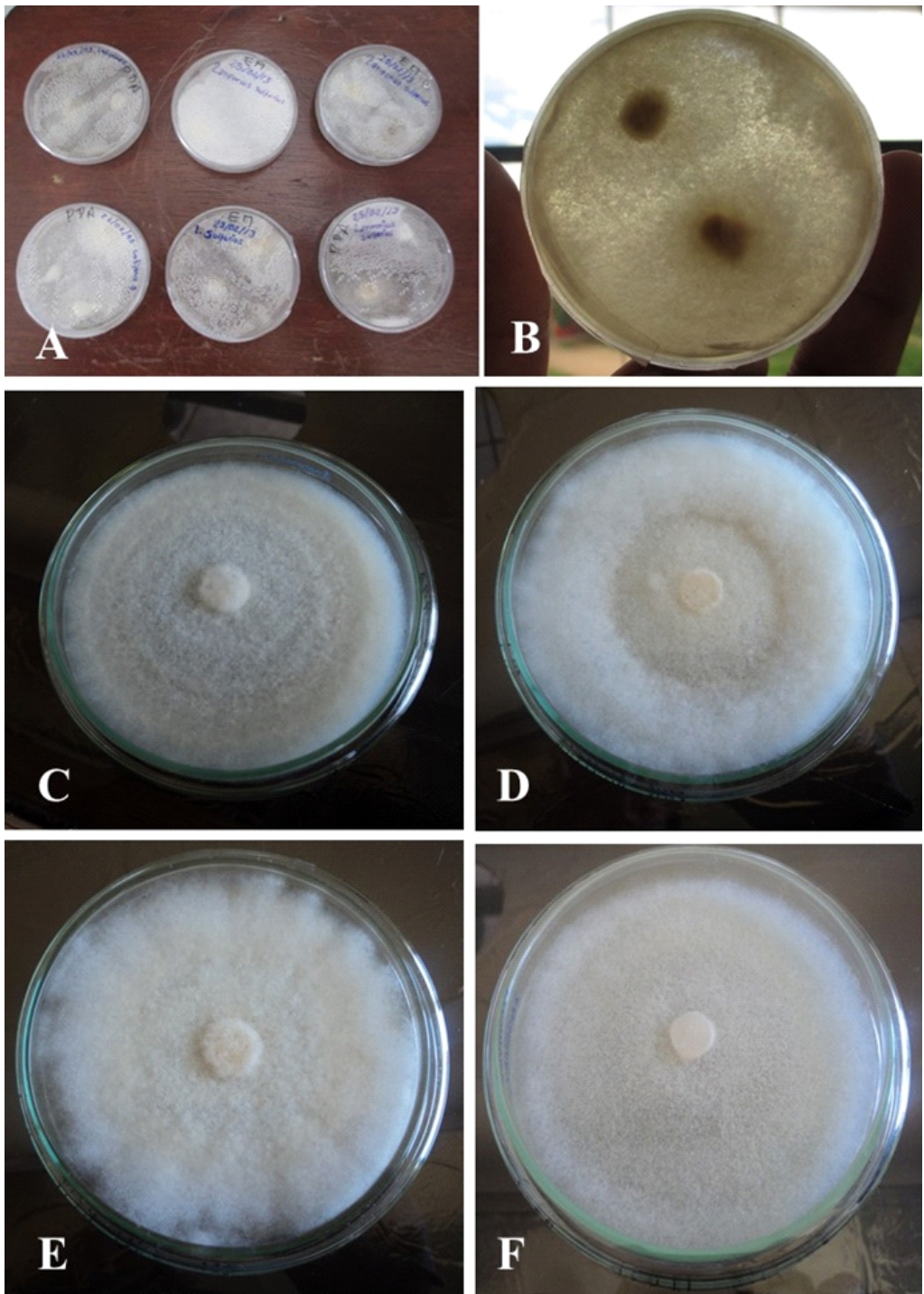


Figura 4. Desarrollo de crecimiento micelial vegetativo de *L.sp-01* en medio de cultivo sólido. **A:** aislamiento de pseudotejido en PDA y EMA, **B.** *L.sp-01*, **C.** PDA, **D.** HMA, **E.** MBC y **F.** EMA.

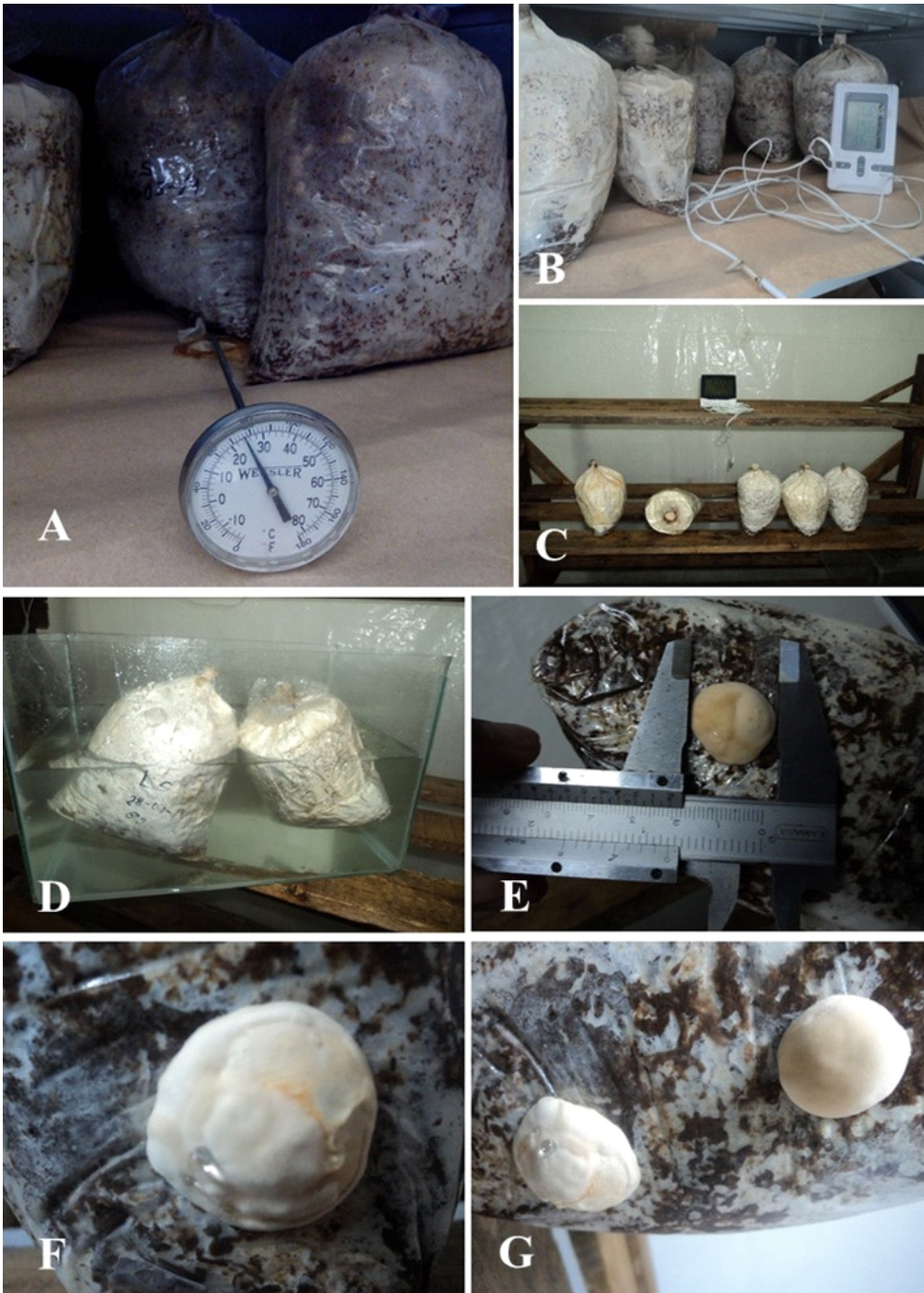


Figura 5. Obtención de los basidiomas de *Laetiporus* cf. *sulphureus*. **A, B y C.** monitoreo de los parámetros ambientales, **D.** shock térmico (inducción a fructificación), **E, F y G.** basidioma (primordio) en aserrín de *Eucalyptus globulus* l.

Los mismos autores mencionan que para *Pleurotus ostreatus* se ha observado que una humedad de 85-90% es la más adecuada ya que una inferior al 80% resulta negativa para la formación de los carpóforos. En el caso de *Laetiporus*, este parámetro se mantuvo casi constante entre los 89-90% con resultados satisfactorios (Tabla 8).

Obtención de los basidiomas

Se logró obtener primordios de *Laetiporus* cf. *sulphureus*, en condiciones de laboratorio luego de 6 meses de incubación del sustrato utilizando aserrín de eucalipto (*E.globulus* L.) 80%, salvado de trigo (*T. aestivum*) 18%, sacarosa (azúcar comercial) 1%, sulfato de calcio ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 1% y aproximadamente 67% de agua. Semejante formulación utilizan Bautista & Sánchez (2011), para la obtención de basidiomas de *Pycnoporus sanguineus*, con un 80 % aserrín, 19 % salvado de arroz y 1 % de yeso, logrando la fructificación también después de 6 meses de incubación, valores que podríamos considerarlos como estándar para el cultivo de poliporaceos, siendo la única diferencia el tiempo de shock térmico que en nuestra investigación fue de solo 24 horas, mientras que para *P.sanguineus* fue necesario hasta tres días. Es importante señalar que los insumos usados (Aserrín de eucalipto, salvado de trigo) están siempre disponibles en la región.

La luz del día suele ser suficiente para obtener buenas fructificaciones y no se ha demostrado que iluminar más tiempo permita un mejor rendimiento (Arjona, Aragón, Aguilera, Ramírez, & Pisabarro (2008). Durante la etapa de colonización del sustrato se

debe trabajar bajo completa oscuridad, sin embargo, durante la fructificación la luz es necesaria de 8- 12 horas diarias. Es suficiente una luz que permita ver durante las horas diurnas para la formación de botones (García, 1991), así en la formación de los primordios de *Laetiporus* cf. *sulphureus* fue suficiente exponer los sustratos durante 3 días a las horas de luz natural del día (Fig. 5).

Conclusiones

Se aisló y caracterizo la cepa de *Laetiporus* cf. *sulphureus* a partir de pseudotejido, la cual fue codificada como L.sp-01, determinándose como medio de cultivo óptimo al Agar Harina Maíz (HMA) que presento mayor velocidad de crecimiento micelial respecto a los otros medios de cultivo convencionales. Los primordios se desarrollaron en sustratos a partir de aserrín de eucalipto (*Eucalyptus globulus* L.) 80%, salvado de trigo (*Triticum aestivum*) 18%, sacarosa (azúcar comercial) 1%, sulfato de calcio 1% y aproximadamente 67% de agua, previamente sometidos a shock térmico durante 24 horas y tres días de exposición en luz natural.

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento al M.Sc. Carlos A. Salvador Montoya por la bibliografía proporcionada, a los semilleros de investigación del Centro de Investigación de Hongos Alimenticios y Medicinales-CIPHAM por su contribución en la colecta de los basidiomas en campo, especialmente a Albino Quispe y Milton Callañaupa.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Literatura citada

- Arjona, D., Aragón, C., Aguilera, J. A., Ramírez, L. & Pisabarro, J. (2008). Reproducible and controllable light induction of in fruiting of the white-rot basidiomycete *Pleurotus ostreatus*. *Mycological Research* (10). Navarra, España.
- Bautista, N. & Sánchez, P. (2011). Aislamiento y Cultivo del hongo *Pycnoporus sanguineus* (L: Fr) Murr. Para Evaluar la Actividad Leishmanicida en promastigotas de *Leishmania*. *Tesis para optar al Título Profesional de Biólogo*. Cusco—Perú.
- Chang, S. T. & Hayes, A. (1987). The biology and cultivation of edible mushrooms. The University of Chicago Press Journals. NuevaYork. EE. UU.
- Chen, A. (1999). Cultivation of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) P. Karst.(Reishi). *International Journal of medicinal mushrooms*.
- Deacon, J. (2006). *Fungal Biology*. Institute of Cell and Molecular Biology, University of Edinburgh, UK. Editorial Blackwell Publishing, cuarta edición.
- Franco, M. S., Burrola-Aguilar C. & Arana, G. Y. (2012). Hongos comestibles silvestres: Un recurso forestal no maderable del Nevado de Toluca. México: EON.
- García, E. (1991). Cultivo de setas y trufas. Ed. Mundiprensa. Madrid España.
- Hernández, R. & López, C. (2005). Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostratus* sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca.
- Holgado-Rojas, M. E. (2012). Cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.ex Fr.) Kumm y *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn (Tricholomataceae) en la comunidad San Nicolásde Bari-Zurite-Anta. *Tesis Maestría en Ciencias mención Ecología y Recursos Naturales EPG.UNSAAC*.
- Huerta, G., Martínez-Carrera, D., Sánchez, J. E. & Leal-Lara, H. (2009). Grupos de interesterilidad y productividad de cepas de *Pleurotus* de regiones tropicales y subtropicales de México. *Revista Mexicana de Micología*, 30.
- López-Rodríguez, C., Hernández-Corredor, R., Suárez-Franco, C. & Borrero, M. (2008). Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostratus* sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca. *Universitas Scientiarum*.
- Martínez-Carrera, D. (2002). Current development of mushroom biotechnology in Latin America. *Micología Aplicada Internacional*, 14(2).
- Mata, G., Salmones, D. & Gaitán-Hernández. (2010). Basic and applied research on mushroom cultivation at the Institute of Ecology, Xalapa, México. In D. Martínez-Carrera, N. Curvetto, M. Sobal, P. Morales, & V. M. Mora (Eds.), *Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y perspectivas en el siglo XXI* México: Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales.
- Mostajo, M. (2004). Aislamiento y evaluación de diversos sustratos para el crecimiento vegetativo del hongo *Auricularia delicata* (Fries) Henn del valle de la convención. Tesis para optar el grado de magister en ciencias con mención en Biología. Lima—Perú.
- Saldarriaga, O, Y. & Pineda, G. F. (2001). *Manual de Micología Aplicada*. Medellín, Colombia: Editorial Universidad de Antioquia.
- Stamets, P. & Chilton, J. S. (1993). Grain culture. En: "The Mushroom Cultivator". Editorial Agarikon. Washington.
- Stamets, P. (2005). *Growing gourmet and medicinal mushrooms*. Third Edition. Toronto.