

Modelo logístico de la dinámica del crecimiento micelial del hongo ‘Totolcozcatl’ en medios de cultivo

Julio Cesar Buendía-Espinoza¹
María Edna Álvarez-Sánchez^{1§}
Natalia Mateo-Guzmán¹
Víctor Manuel Bandalá Muñoz²
Ranferi Maldonado-Torres¹

¹Maestría en Agroforestería para el Desarrollo Sostenible-Departamento de Suelos-Universidad Autónoma Chapingo. Carretera Texcoco-México km 38.5, Chapingo, Texcoco, Estado de México. CP. 56230.

²Instituto de Ecología. Xalapa, Veracruz. (victor.bandala@inecol.mx).

§Autor para correspondencia: edna.alvarez30@yahoo.com.mx.

Resumen

Los hongos silvestres comestibles son considerados un recurso forestal no maderable, de importancia alimenticia, ecológica, cultural y económica para las comunidades rurales. En el bosque mesófilo de montaña, en Xaltepuxtla, Puebla, el saqueo y la sobreexplotación de la especie *Entoloma abortivum*, conocida como ‘Totolcozcatl’, la colocan como especie amenazada. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar su dinámica de crecimiento promedio micelial, en medios de cultivo mediante un modelo logístico, para su proceso de inducción. Los medios de cultivo valorados en 2018 fueron: extracto de malta-extracto de levadura-polipeptona-agar (MYPA); peptona de carne-dextrosa-extracto de levadura-agar bacteriológico (CYM) y extracto de malta-salvado (EMS). El análisis estadístico indicó que el sustrato MYPA y EMS fueron estadísticamente diferentes al CYM ($p < 0.05$), en el crecimiento micelial después de 16 días de cultivo. El modelo logístico ajustado a los datos experimentales obtenidos en cada uno de los sustratos arrojó coeficientes de determinación R^2 de 0.99. El modelo mostro que el máximo crecimiento predicho se observó en el sustrato EMS (95.94 mm) y el mínimo en CYM (83.23 mm). El punto de máximo crecimiento y la producción excesiva de hifas agregadas al micelio se obtuvo en el sustrato EMS (47.97 y 9.59 mm), seguido de MYPA (45.76 y 8.83 mm) y CYM (41.61 y 6.86 mm). Finalmente, se concluye que la principal alternativa importante y viable para el proceso de inducción del hongo Totolcozcatl es el medio EMS.

Palabras clave: *Entoloma abortivum* (Berk. & Curtis) Donk., medios de cultivo, tasa de crecimiento.

Recibido: noviembre de 2019

Aceptado: enero de 2020

Introducción

Los hongos silvestres son componentes funcionales y esenciales de los ecosistemas forestales, y proporcionan directamente a los seres humanos productos valiosos. Debido a sus propiedades gastronómicas y nutraceuticas, se ha incrementado su demanda en perjuicio de su distribución y abundancia en los ecosistemas naturales llegando incluso a su extinción (Pilz *et al.*, 1996; Alvarado-Castillo *et al.*, 2015).

De acuerdo con Sánchez y Mata (2012), los hongos silvestres comestibles han tenido impulso a nivel mundial desde mediados del siglo pasado y posiblemente continúe por las siguientes razones: incremento de la población, incremento en la demanda, diversificación de los hongos producidos, nuevas aplicaciones de los hongos en el campo de la alimentación y la medicina, y atractivo como actividad económica. Respecto a su comercialización, Contreras *et al.* (2018) indican que el precio del hongo comestible Totolcozcatl (*Entoloma abortivum*), de hábitat terrícola, simbiote y parásito, oscila entre \$100.00 a \$150.00 por kg, debido a la escasez en la región.

Alvarado *et al.* (2012) mencionan que existen dos opciones para el aprovechamiento racional de este recurso y su conservación: 1) el manejo y la gestión adecuada de las poblaciones naturales; y 2) el desarrollo de técnicas para la domesticación y producción comercial. Los hongos silvestres comestibles pueden ser cultivados en ambientes controlados, ya que al ser independientes de otros seres vivos sólo basta desarrollar un sustrato lignocelulósico determinado y controlar la temperatura, ventilación, humedad y luz adecuadas para lograr que crezcan y fructifiquen.

En este contexto, Ríos y Ruiz (1993) establecen que para la propagación de los hongos silvestres comestibles con fines comerciales, es necesario identificar las especies prevalecientes en la región y determinar los factores que influyen en su desarrollo y crecimiento. Una vez logrado lo anterior, las fases previas a su propagación son: obtención del micelio, elaboración de inóculo, preparación del sustrato, inoculación del sustrato, incubación y fructificación.

La obtención de micelio es una de las fases determinantes de éxito para la propagación del hongo, el cual depende sobremanera que el medio de cultivo proporcione los nutrientes necesarios para el desarrollo del micelio en el tiempo y la forma en que éste lo demande. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar la dinámica de crecimiento del diámetro promedio micelial del hongo 'Totolcozcatl' en tres medios de cultivo: extracto de malta-extracto de levadura-polipeptona-agar (MYPA), peptona de carne-dextrosa-extracto de levadura-agar bacteriológico (CYM); y extracto de malta- salvado (EMS) y valorar mediante un modelo logístico, cuál de los medios proporciona las condiciones más favorables para el desarrollo del micelio como etapa determinante previa a su propagación.

Materiales y métodos

Localización del área de estudio

Ejemplares de la especie *Entoloma* sp. fueron colectados en relictos de bosque mesófilo de montaña ubicados en la finca Ocotitla, en la comunidad de Xaltepuxtla, en el estado de Puebla, entre las coordenadas 20° 11' 23.06" a 20° 10' 57.124" latitud norte y 97° 58' 5.303" a 97° 57' 30.836"

longitud oeste, a una altura promedio de 1 280 msnm (Mateo-Guzmán, 2018). El clima corresponde a un semicálido húmedo con lluvias todo el año, precipitación del mes más seco mayor de 40 mm y menos de 18% de lluvia invernal con respecto a la lluvia total y su temperatura media anual oscila entre los 18° y 24 °C.

Colecta y desinfección del material

Se recolectaron hongos de cuerpo completo durante el período de emergencia de estos, entre diciembre y enero, cuando las condiciones de sustrato orgánico, temperatura y humedad son favorables para su crecimiento (Mateo, 2018). Se cubrieron con papel aluminio y se transportaron en una hielera para contar con material fresco para su aislamiento. En el laboratorio, este proceso consistió en seleccionar hongos enteros y sanos; desinfectar la superficie de los hongos por medio de un algodón embebido en una solución de agua con detergente, posteriormente con una solución de cloro al 10% y finalmente en una solución al 0.2% de antibiótico gentamicina de uso veterinario.

Obtención de micelio

La obtención del micelio en los tres medios de cultivo se hizo mediante la metodología de Ardón (2007); Silva *et al.* (2010), que consiste en aislamiento por contexto, proceso de purificación y prueba de crecimiento del micelio en medios de cultivo. Ésta última etapa consistió en: a) resembrar las cepas obtenidas del aislamiento por contexto (vegetativo) en tres medios de cultivo (extracto de malta-extracto de levadura-polipeptona-agar (MYPA); peptona de carne-dextrosa-extracto de levadura-agar bacteriológico (CYM) y extracto de malta-salvado (EMS); b) comparar su crecimiento en cada uno; c) definir el medio en el que mejor se adapta y crece el micelio; d) inocular más de cinco cajas por medio; e) escoger cinco de éstas con mejor apariencia y ausencia de contaminantes; f) extraer una fracción de cepa en forma circular de aproximadamente 0.5 cm; g) colocar ésta en el centro de una caja Petri; h) sellar ésta con parafilm y etiquetarla con el nombre del medio y la fecha de inoculación; i) colocar la caja sellada y etiquetada a temperatura ambiente; y j) medir el diámetro de crecimiento micelial cada dos días.

Análisis de datos

Para el análisis de datos del crecimiento del diámetro micelial en los tres medios de cultivo: MYPA, CYM y EMS, se aplicó un análisis de varianza (Anova) de una vía (1V) para medidas repetidas (MR), Anova-1V-MR (Davis, 2002), para determinar si estos tienen algún efecto en el crecimiento del diámetro del micelio del hongo *Totalcozcatl*, donde los medios de cultivo corresponden al factor categórico con tres niveles. El método consistió en: a) comprobar los supuestos de homogeneidad entre las varianzas de las diferencias entre todos los posibles pares de medio de cultivo y la normalidad de los errores por medio de la prueba de esfericidad de Mauchly y Shapiro-Wilk, respectivamente; b) aplicar la prueba de épsilon Greenhouse y Geisser o el enfoque multivariante, en los casos donde no se cumpla el supuesto de esfericidad; y c) aplicar el modelo estadístico $y_{ij} = \mu + \pi_i + \tau_j + \varepsilon_{ij}$.

Para cada $i = 1, \dots, n$ y $j = 1, \dots, J$ en la ecuación, y_{ij} es la respuesta del crecimiento del diámetro micelial del sujeto i en el j -ésimo nivel del factor o medio del cultivo j , μ es la media general de la variable respuesta, π_i es el efecto aleatorio asociado al sujeto el cual es constante en todas las

repeticiones, τ_j es el efecto fijo en el j-ésimo nivel del medio del cultivo, y ε_{ij} es el error experimental asociado al sujeto i bajo el tratamiento j . Se asume que los efectos aleatorios π_i son normales $N(0, \sigma_\pi^2)$ independientes, los errores aleatorios ε_{ij} son normales $N(0, \sigma_\varepsilon^2)$ independientes y los efectos aleatorios π_i y los errores aleatorios ε_{ij} son independientes. Se asume que los efectos fijos τ_j satisfacen la restricción de que la suma de estos sea igual a 0. $\sum_{j=1}^t \tau_j = 0$. Dicho modelo se aplicó para comparar las medias de las variables; es decir, evaluar sus diferencias y probar las siguientes hipótesis.

H_0 : el efecto de los medios de cultivo MYPA, CYM y EMS es el mismo en el crecimiento del diámetro micelial *versus* H_1 : al menos uno es diferente.

Las pruebas de hipótesis se realizaron con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$ y la comparación entre medias mediante el método de Bonferroni (Morell, 2014) con el software SPSS (IBM Corp. Released, 2012).

Determinación de la dinámica del crecimiento micelial

La dinámica del crecimiento del diámetro fúngico o aumento de biomasa micelial está en función de los parámetros de fermentación e inclusive frente a situaciones de estrés (Deacon, 2006; Huang *et al.*, 2010). Varios modelos se han aplicado para describir la cinética del crecimiento del diámetro micelial en distintos tipos de cultivo, como el modelo lineal, exponencial, modelo logístico, como también, modificaciones de éstos (Viniegra-González *et al.*, 1993; Mitchell *et al.*, 2004). Para la determinación de la dinámica del crecimiento del diámetro promedio micelial se utilizó la ecuación diferencial propuesta por Sarikaya y Ladisch (1997).

$$\frac{dD}{dt} = \mu_1 D - k_1 D^2$$

Donde: D = diámetro de crecimiento micelial (mm), t = tiempo (días), μ_1 = la tasa específica de crecimiento (días^{-1}), K = es el diámetro máximo de crecimiento micelial (mm) y $k_1 = \frac{\mu_1}{K}$ = es el factor de retención de crecimiento. Cuando el crecimiento del D es pequeño, el factor $k_1 D^2$ es insignificante, por lo que la población microbiana tiene un crecimiento exponencial. Sin embargo, si la cobertura de la superficie por biomasa microbiana es grande, la tasa de crecimiento del micelio se reducirá como resultado de la competencia de una población en crecimiento por un sustrato limitado; es decir, el efecto de la competencia estaría relacionado solo con la longitud de hifas.

El modelo de la dinámica del crecimiento micelial, obtenido de la integración de $\frac{dD}{dt}$, ajustado a los datos fue: $D(t) = \frac{K}{1 + C e^{-\mu_1 t}}$ donde: $C = \frac{c}{k_1}$, y c es la constante de integración. El punto en el que la población $D(t)$ crece rápidamente de un tiempo a otro se obtuvo en el instante en que $D'(t)$ es máximo y $D''(t) = 0$:

$$\frac{d^2 D}{dt^2} = \frac{d(\mu_1 D - k_1 D^2)}{dt} = 0 \text{ tal que } D(t)_{\text{máx}} = \frac{K}{2}$$

Y esto sucedió cuando t es igual a: $\frac{K}{2} = \frac{K}{1+Ce^{-\mu_1 t}}$ tal que $t_{\text{máx}} = \frac{\ln(C)}{\mu_1}$. Finalmente, la producción excedente o número de individuos agregados a la población de un tiempo a otro, se obtuvo mediante: $\frac{dD}{dt} = \mu_1 \left(\frac{K}{2}\right) - k_1 \left(\frac{K}{2}\right)^2$ tal que $\frac{dD}{dt_{\text{máx}}} = \frac{\mu_1 K}{4}$.

Los parámetros K , C y μ_1 se obtuvieron; a través, del ajuste modelo logístico a los datos experimentales por medio del algoritmo de Marquardt con el software Curve Expert versión 1.3 (Hyams, 2003).

Resultados y discusión

Determinación del crecimiento del diámetro micelial

En el Cuadro 1, se muestran los resultados obtenidos del crecimiento promedio del diámetro micelial del hongo *Totalcozcatl* en los tres medios de cultivo. El crecimiento promedio neto del micelio fue 88.5, 78.3 y 89.5 mm, para el medio de cultivo MYPA, CYM y EMS, respectivamente. Diferenciando entre los medios de cultivo, en EMS se alcanzó un diámetro promedio máximo de crecimiento de 90 mm a los 16 días, seguido de MYPA y CYM con 89 y 78.8 mm, respectivamente, en el mismo período de tiempo.

Cuadro 1. Crecimiento del diámetro promedio del micelio del hongo *Totalcozcatl*, en los tres medios de cultivo, expresado en (mm).

Medio de cultivo	Días de medición								
	0	2	4	6	8	10	12	14	16
MYPA	0.05	8.5	20.8	35	50.4	64.8	77	85.3	89
CYM	0.05	7.4	15.3	27.4	38.9	51.9	59.9	71.1	78.8
EMS	0.05	9.3	23	36.2	50.6	66	88.3	90	90

Con base a la variabilidad observada durante el desarrollo del micelio y los datos ajustados, la Figura 1 muestra que el desarrollo en diámetro promedio micelial del hongo *Totalcozcatl* fue más favorable en el medio de cultivo EMS, logrando colonizar la caja Petri en un período de 14 días, seguido del MYPA y del CYM.

Análisis de varianza de medias repetidas de una vía (Anova-MR-1V) para medios de cultivo

Con la finalidad de determinar si los medios de cultivo tienen algún efecto en el crecimiento promedio del diámetro micelial del hongo *Totalcozcatl*, se aplicó la técnica estadística del Anova-MR-1V a los datos experimentales. El medio de cultivo correspondió al factor categórico con tres niveles; es decir, los medios de cultivo: 1-MYPA, 2-CYM y 3-EMS, respectivamente. El crecimiento del diámetro promedio del micelio se definió como la variable dependiente; es decir, caja petri 1. Efecto del MYPA, caja petri 2. Efecto del CYM y caja petri 3. Efecto del EMS. El tamaño de la muestra fue de ocho, que son veces que se tomaron los datos.

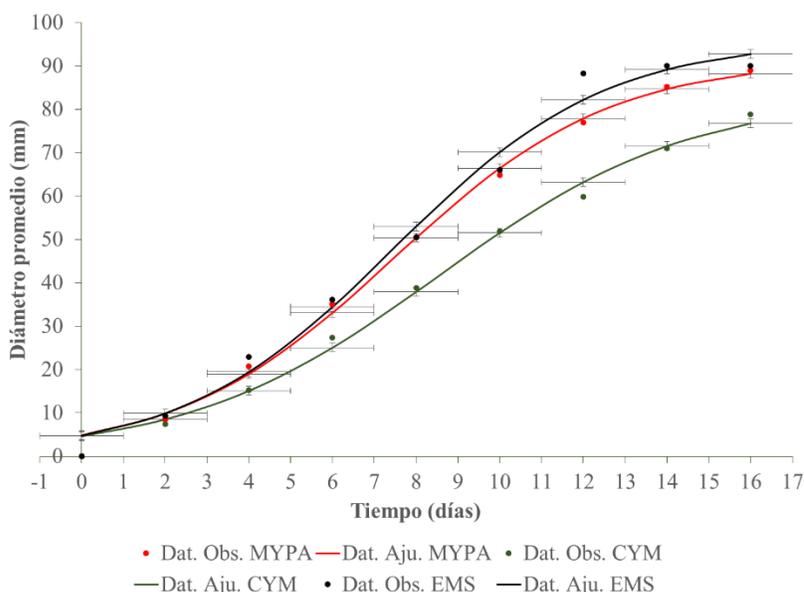


Figura 1. Desarrollo del diámetro promedio micelial de cepas de hongo Totolcozcatl, cultivadas en tres medios de cultivo. MYPA= extracto de malta-extracto de levadura-polipeptona-agar; CYM= peptona de carne-dextrosa-extracto de levadura-agar bacteriológico; y EMS= extracto de malta- salvado.

En el Cuadro 2, los resultados de la prueba de esfericidad de Mauchly indican que las varianzas de las diferencias entre cada dos niveles del factor no son iguales. Esto significa que la matriz de varianzas y covarianzas no es circular o esférica, dado que el nivel crítico asociado al estadístico (significancia: 0.014) no es mayor que 0.05. En consecuencia, se utilizó el estadístico F univariado, aplicando un índice corrector llamado épsilon, el cual expresa el grado en que la matriz de varianzas-covarianzas se aleja de la esfericidad. En condiciones de esfericidad perfecta, épsilon debe de valer 1. Épsilon fue estimado mediante el estadístico de Greenhouse-Geisser y Huynh-Feldt, siendo la primera de ellas más conservadora. Épsilon también se estimó con el valor límite inferior, el cual expresa el valor que adoptaría en el caso de incumplimiento extremo del supuesto de esfericidad.

Cuadro 2. Resultados de la prueba de esfericidad de Mauchly.

Efecto dentro de los sujetos	Estadístico W de Mauchly	Aproximación de Ji-Cuadrada	GL	p	Epsilon		
					Greehouse-Geisser	Huynh-Feldt	Límite inferior
Tratamientos	0.239	8.586	2	0.014	0.568	0.604	0.5

Gl= grado de libertad; p= significancia.

Por lo anterior, se hizo la corrección de los grados de libertad de F (tanto en el numerador como en el denominador) multiplicándolos por el valor estimado de épsilon. En consecuencia, en el Cuadro 3, los resultados obtenidos en los cuatro estadísticos F indican que se rechaza la hipótesis nula, dado que el nivel crítico asociado a cada una de las pruebas es menor que 0.05, esto significa que existen diferencias estadísticamente significativas en el desarrollo del hongo en al menos uno de los tres medios de cultivo.

Cuadro 3. Prueba de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados Tipo III	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	Significancia
Tratamiento	Esfericidad asumida	727.85	2	363.92	21.06	0
	Greenhouse-Geisser	727.85	1.136	640.85	21.06	0.002
	Huynh-Feldt	727.85	1.208	602.35	21.06	0.001
	Límite inferior	727.85	1	727.85	21.06	0.003
Error (tratamiento)	Esfericidad asumida	241.972	14	17.28		
	Greenhouse-Geisser	241.972	7.95	30.44		
	Huynh-Feldt	241.972	8.458	28.61		
	Límite inferior	241.972	7	34.57		

Comparación de medias por medio de la prueba de Bonferroni

Los resultados obtenidos de las comparaciones dos a dos entre los medios de cultivo de acuerdo con los niveles críticos asociados a cada comparación indican que únicamente existen diferencias significativas entre el medio de cultivo 2 con respecto al 1 y 3, mientras que entre 1 y 3 no hay diferencias (Cuadro 4). Este primer análisis indicó que los medios de cultivo MYPA y EMS son los más favorables para el desarrollo del crecimiento del diámetro promedio micelial del hongo Totolcozcatl que el CYM.

Cuadro 4. Comparación de medias entre los medios de cultivo.

Tratamiento (I)	Tratamiento (J)	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Significancia ^b	95% intervalo de confianza para la diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
1	2	10.006*	1.81	0.003	4.344	15.669
	3	-2.831	1.306	0.201	-6.916	1.254
2	1	-10.006*	1.81	0.003	-15.669	-4.344
	3	-12.838*	2.825	0.008	-21.672	-4.003
3	1	2.831	1.306	0.201	-1.254	6.916
	2	12.838*	2.815	0.008	4.003	21.672

^b= ajuste para comparaciones múltiple= Bonferroni.

Las diferencias encontradas en el crecimiento del diámetro entre los tres medios empleados se asocian a la composición química de estos. El medio EMS posee características nutritivas que favorecen el desarrollo de la especie, ya que proporciona nutrientes como maltosa, glucosa y el salvado de trigo, que suministra celulosa, polisacáridos y hemicelulosa, que, en el hábitat natural del hongo, la celulosa está siempre presente en la materia en descomposición (Mateo, 2018). Esto favorece que los hongos incrementen la ramificación de sus hifas y por consiguiente, la cantidad de biomasa y el área superficial del micelio (Harris, 2008). Por el contrario, si los nutrientes son limitados, el micelio tiende a ser menos ramificado (Prosser y Tough, 1991).

Determinación de la dinámica del crecimiento micelial

El modelo ajustado a los datos de crecimiento medido como diámetro promedio micelial del hongo Totolcozcatl, en los tres medios de cultivo fue el logístico, lo cual coincidió con lo expuesto por Sarikaya y Ladisch (1997), quienes mencionan que las mediciones del diámetro micelial presentan un buen ajuste con un modelo logístico, aunque, este ajuste resulta mejor cuando se utiliza el área de las colonias como variable.

De acuerdo con Madigan *et al.* (2004), este comportamiento característico del desarrollo microbiano, evidencia tres etapas. La primera es de latencia, asociada a la síntesis de enzimas que permiten la utilización de los nutrientes del medio de cultivo. La segunda es exponencial, obteniéndose en ésta el punto de crecimiento máximo ($D(t)_{\text{máx}} = \frac{K}{2}$) y la tercera es estacionaria, donde la velocidad de crecimiento disminuye debido, posiblemente, a la menor disponibilidad de nutrientes y es donde se alcanza el máximo crecimiento (K). En los tres modelos ajustados, sus coeficientes de determinación R^2 fueron próximos a 0.99 (Figura 2, 3 y 4).

Respecto a la dinámica del desarrollo del diámetro del micelio del hongo Totolcozcatl en el medio MYPA, en la Figura 2, el modelo ajustado indica que su máximo crecimiento, conocido también como capacidad de carga, se consiguió en $K = 91.51$ mm, en un período de 16 días. Mientras que el punto en que las hifas crecen rápidamente de un tiempo a otro fue $D(t)_{\text{máx}} = \frac{K}{2} = \frac{91.51}{2} = 45.76$ mm y se alcanzó en $t_{\text{máx}} = \frac{\ln(C)}{\mu_1} = \frac{\ln(17.88)}{0.39} = 7.48$ días. La producción excedente o el máximo número de hifas o ramificaciones agregados al micelio; es decir, el crecimiento óptimo del diámetro promedio del micelio fue $\frac{dD}{dt}_{\text{máx}} = \frac{\mu_1 K}{4} = \frac{0.39 * 91.51}{4} = 8.83$ mm y análogamente se logró a los 7.48 días y tiene lugar en $\frac{K}{2} = 45.76$.

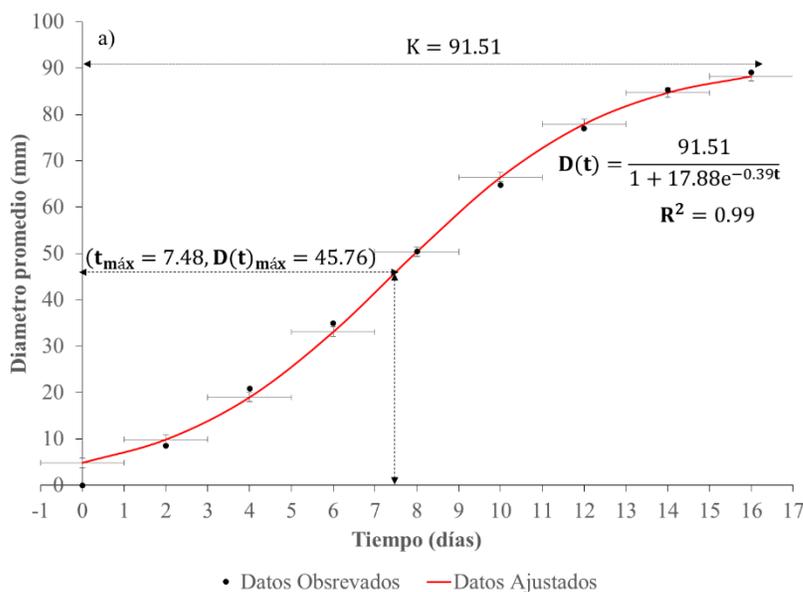


Figura 2a. Desarrollo del diámetro promedio micelial de cepas de hongo Totolcozcatl cultivadas en el medio cultivo MYPA.

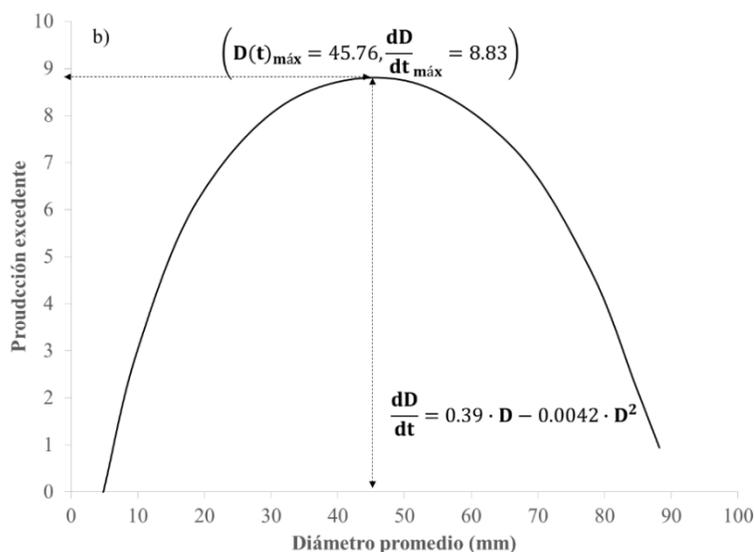


Figura 2b. Producción excedente o número de hifas agregadas al micelio de un tiempo a otro, en función del tamaño de su población.

De acuerdo con Madigan *et al.* (2004), al inicio, la suficiencia de recursos, en espacio y alimento, permite crecer a las hifas en número e individualmente casi sin restricciones, de manera geométrica, ya que cada unidad de diámetro incrementada significa una disminución en la disponibilidad de los recursos. En consecuencia, la velocidad con que venía creciendo las hifas se reduce paulatinamente hasta que todos los recursos del medio de crecimiento son consumidos tan rápido como se producen, y el micelio deja de crecer.

Este punto se le conoce como capacidad de carga tal y como ya se mencionó anteriormente (K ; Figura 2a). Si se considera solo el número de hifas (biomasa) que se agrega al micelio de un tiempo a otro (producción excedente), éste aumentó en las primeras etapas, alcanzando un máximo y comenzó a disminuir de manera simétrica a la parte inicial, llegando a cero cuando el tamaño del micelio alcanzó el valor de K ($D(t)_{máx} = \frac{K}{2}$) (Figura 2a). El mayor número posible de hifas que pudo sumarse al micelio durante un lapso determinado (máxima productividad o máximo crecimiento neto) igualmente se obtiene justo a la mitad de K ($\frac{dD}{dt}_{máx} = \frac{\mu_1 K}{4}$) (Figura 2b).

El modelo ajustado a los datos experimentales con el medio de cultivo CYM y EMS (Figura 3 y 4) indican que su capacidad de carga y el punto de máximo crecimiento resultó cerca de ($K=83.23$ mm y $D(t)_{máx}=41.61$ mm) 9% y ($K=95.95$ mm y $D(t)_{máx}=47.97$ mm) 5% menor y mayor que la correspondiente al MYPA, respectivamente (Figura 3a y Figura 4a). Mientras que la producción excedente o número de hifas, agregadas al micelio de un tiempo a otro fue $\frac{dD}{dt}_{máx} = 6.86$, para el sustrato CYM, y $\frac{dD}{dt}_{máx} = 9.59$, para el sustrato EMS, resultando cerca del 22 y 9 % menor y mayor que el MYPA, respectivamente (Figura 3b y Figura 4b). Finalmente, el tiempo en que las hifas crecen rápidamente fue $t_{máx}=7.48$ para el medio CYM y $t_{máx}=7.37$ para el medio EMS, resultando cerca del 15% y 1 % mayor y menor, respectivamente, que en MYPA.

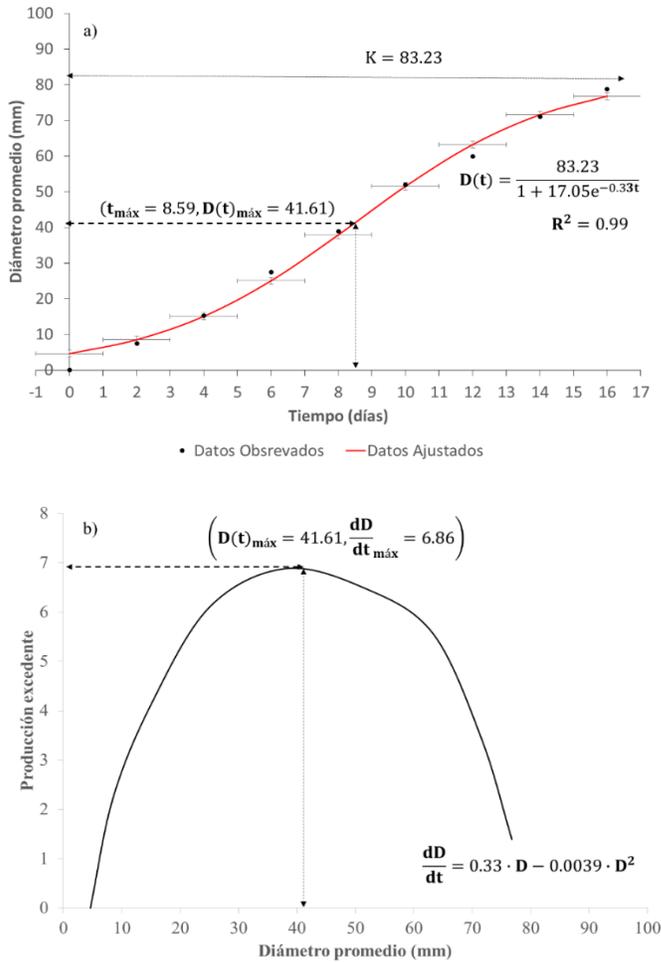


Figura 3. a) desarrollo del diámetro promedio micelial de cepas de hongo Totalcozcatl cultivadas en el medio cultivo CYM; y **b)** producción excedente o número de hifas agregadas al micelio de un tiempo a otro, en función del tamaño de su población.

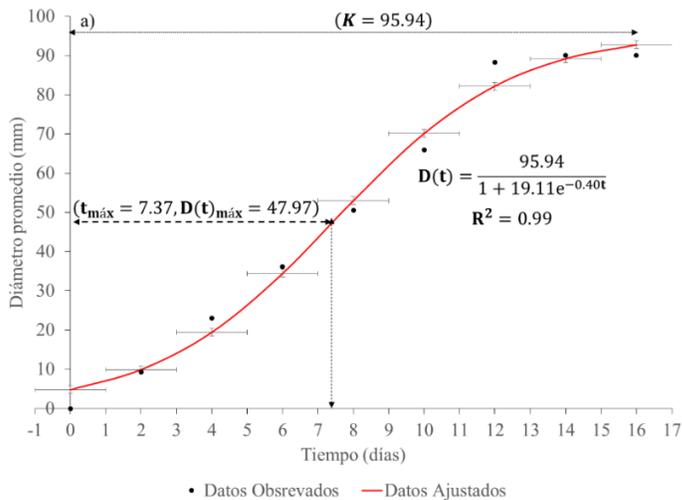


Figura 4a. Desarrollo del diámetro promedio micelial de cepas de hongo Totalcozcatl cultivadas en el medio cultivo EMS.

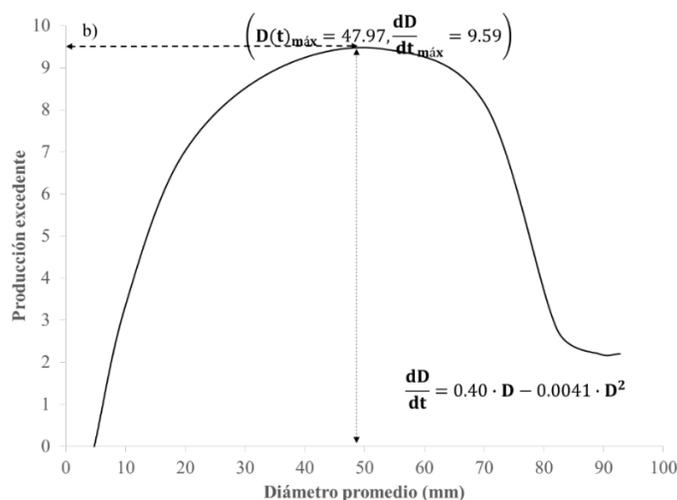


Figura 4b. Producción excedente o número de hifas agregadas al micelio de un tiempo a otro, en función del tamaño de su población.

Conclusiones

Los modelos matemáticos ajustados que explican el crecimiento micelial en cada medio de cultivo, en términos de bondad de ajuste, revelaron un alto porcentaje de la variabilidad de los logaritmos de los recuentos o mediciones de las hifas en el tiempo. Asimismo, estas funciones permitieron estimar: punto de máximo crecimiento (K) del micelio (en diámetro), punto en el que las hifas crecen rápidamente de un tiempo a otro, producción excedente o número de hifas agregadas al micelio en cada medio de cultivo y menor tiempo en que se alcanza ésta. Con base a estos resultados, se concluye que el medio EMS es el medio más viable para el proceso de inducción de cultivo del hongo Totolcozcatl.

Literatura citada

- Alvarado-Castillo, G.; Mata, G. y Benítez-Badillo, G. 2015. Importancia de la domesticación en la conservación de los hongos silvestres comestibles en México. *Bosque*. 36(2):151-161.
- Alvarado-Castillo, G.; Mata, G.; Pérez-Vázquez, A.; Martínez-Carrera, D.; Nava-Tablada, M. E. Gallardo-López, F. y Osorio-Acosta, F. 2012. Formación de esclerocios en *Morchella esculenta* y *M. cónica*, *in vitro*. *Rev. Mex. Micol.* 35:35-41.
- Ardón, L. C. E. 2007. La producción de los hongos comestibles. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. Tesis Maestría. 213 p.
- Contreras, C. L. E. U.; Vázquez, G. A. y Ruan-Soto, F. 2018. Etnomicología y venta de hongos en un mercado del noroeste del estado de Puebla, México. *Scientia Fungorum*. 47:47-55.
- Davis, C. S. 2002. *Statistical methods for the analysis of repeated measurements*. Springer, San Diego, California. 416 p.
- Deacon, J. 2006. *Fungal biology*. Institute of Cell and Molecular Biology. University of Edinburgh, UK. Blackwell Publishing 4th (Ed). 371 p.
- Harris, S. D. 2008. Branching of fungal hyphae: regulation, mechanisms and comparison with other branching systems. *Mycologia*. 100(6):823-832.

- Huang, D. L.; Zeng, G. M.; Feng, C. L.; Hu, S.; Zhao, M. H.; Lai, C.; Zhang, Y.; Jiang, X. Y. and Liu, H. L. 2010. Mycelial growth and solid-state fermentation of lignocellulosic waste by white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* under lead stress. *Chemosphere*. 81(9):1091-1097.
- Hyams, D. 2003. Curve Expert 1.3. A comprehensive curve fitting system for Windows. USA. IBM Corp. Released. 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY.
- Madigan, M. T; Martinko, J. M. y Parker, J. 2004. Biología de los microorganismos. 10ª (Ed.). Prentice Hall-Pearson Education, Madrid, España. 1011 p.
- Mateo, N. 2018. Contribución a la conservación del hongo “totolcozcatl” *Entoloma abortivum* (Berk. & Curtis) Donk en remanentes de bosque de niebla. Programa de Maestría en Ciencias en Agroforestería para el Desarrollo Sostenible. Departamento de Suelos, Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, México. Tesis de Maestría. 91 p.
- Mitchell, D. A.; Von Meien, O. F.; Krieger, N. and Dalsenter, F. D. 2004. A review of recent developments in modeling of microbial growth kinetics and intraparticle phenomena in solid-state fermentation. *Bio. Eng. J.* 17(1):15-26.
- Morell, E. B. 2014. Bioestadística básica para investigadores con SPSS. Madrid, España. Bubok Publishing, SL. 105 p.
- Pilz, D.; Molina, R.; Amaranthus, M.; Castellano, M. and Weber, N. S. 1996. Forest fungi and ecosystem management. *In: managing forest ecosystems to conserve fungus diversity and sustain wild mushroom harvests* USDA, Forest Service. Pacific Northwest Research Station. PNW-GTR-371. 86-94 pp.
- Prosser, J. I. and Tough, A. J. 1991. Growth mechanisms and growth kinetics of filamentous microorganisms. *Critical Rev. Biotechnol.* 10(4):253-274.
- Ríos, R. R. A. y Ruiz, R. L. 1993. Aislamiento y cultivo del hongo comestible *Pleurotus afin ostreatus* (jacq. ex Fr) Kumm en Tingo María. *Folia Amazónica.* 5(1-2):5-14.
- Sánchez, J. E. y Mata, G. 2012. Cultivo y aprovechamiento de macromicetos. Una tendencia global en crecimiento. *In: Sánchez, J. E. and Mata, G. (Eds.). Hongos comestibles y medicinales en Iberoamérica: investigación y desarrollo en un entorno multicultural* Tapachula, Chiapas, México. 365-376 pp.
- Sarikaya, A. and Ladisch, M. R. 1997. An unstructured mathematical model for growth of *Pleurotus ostreatus* on Lignocellulosic material in solid-state fermentation systems. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 62(1):71-85.
- Viniegra-González, G.; Saucedo-Castañeda, G.; López-Isunza, F. and Favela-Torres, E. 1993. Symmetric branching model for the kinetics of mycelial growth. *Biotechnol. Bioeng.* 42(1):1-10.