



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA**

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Tema: Optimización de las variables nutricionales para el crecimiento y producción del hongo *Pycnoporus* spp.

Informe Final Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo la obtención del Título de Ingeniera Biotecnóloga, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Maria Fernanda Ponce Monta

Tutor: Mg. Manoella Alejandra Sánchez Garnica

Ambato – Ecuador

Julio – 2025

APROBACIÓN DEL TUTOR

Mg. Manoella Alejandra Sánchez Garnica

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 20 junio de 2025



Mg. Manoella Alejandra Sánchez Garnica

0604079871

TUTOR

AUTORIA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, María Fernanda Ponce Monta, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Maria Fernanda Ponce Monta

050478658-3

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Maria Fernanda Ponce Monta

050478658-3

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:



Presidente del Tribunal



Dra. Helena Maritza De la Torre Olvera
No. 130965199-8



Dr. José Homero Vargas López
No. 180197804-8

Ambato, 07 julio de 2025

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi guía en cada paso, por darme la fuerza, la sabiduría y la fe para no rendirme cuando veía que todo se me desmoronaba.

A mis padres, por ser el corazón que me sostiene. Gracias por su amor incansable, por su entrega sin medida y por caminar a mi lado con tanta generosidad y esperanza. Todo lo que soy, es gracias a ustedes.

A mis hermanos, por ser mi inspiración diaria, mi apoyo constante y parte esencial de mi vida. A mi ñañita por ser mi pedacito de luz y amor sincero.

A mi amor, por abrazarme con el alma, por ser mi paz en medio del caos, y por creer en mí con tanta fuerza, incluso cuando yo me sentía frágil. Tu amor fue luz en mis días más oscuros.

A mis amigos, por llegar siempre en el momento justo, por su cariño sincero y por ser una fuente de motivación en los días buenos y en los no tan buenos. Cada uno, con su forma única de estar en este camino.

A mi tutora, por acompañarme con una sabiduría que daba calma, una confianza que me impulsaba por ver mi potencial en los momentos en que yo dudaba, y por ser esa voz serena que me ayudó a encontrar claridad. Su guía marcó mi vida mucho más allá de lo académico.

Esta tesis es para ustedes, que han dejado huella en mi vida y en mi corazón. Gracias por ser parte de este logro.

Con amor,

Fernanda.

AGRADECIMIENTOS

Primero a Dios, por darme la sabiduría necesaria, la valentía, la fuerza y la salud para recorrer este camino. Gracias, Dios mío, por sostenerme en cada paso de este camino.

A mis padres, María Tránsito y Luis Aníbal. No existen palabras suficientes para agradecerles. Gracias por cada sacrificio que solo ustedes conocen, por cada desvelo, por cada lágrima en silencio, por cada sonrisa que me regalaron para animarme. Ustedes son mi motor, mi razón de ser, y mi mayor orgullo. Esta victoria es tanto mía como suya.

A mis hermanos: Peter, mi ejemplo de vida, mi modelo a seguir, gracias por ser mi pilar, por inspirarme siempre con tu fortaleza y tu nobleza. A Rodolfo, Pablo, Geoconda y Camilo, gracias por estar ahí, por darme luz en mis días más grises, por ser ese abrazo que sostiene incluso a la distancia. A mi ñañita Kristel, mi corazón chiquito, gracias por ser mi inspiración diaria. A mis sobrinos Tiaguito, Stive y Pamela, por ser parte de mi vida y alegrar mi corazón con solo existir.

A Diego mi vida, gracias por creer en mí cuando yo misma dudaba, por levantarme con amor, amarme con paciencia, por llenarme de tranquilidad, de fe y de paz. Tu presencia fue mi motor, mi fe y mi impulso. A ti y a tu familia, gracias por cada palabra de aliento, por su cariño sincero y por hacerme sentir parte de ustedes. Su cariño ha sido un regalo.

A Mireya, mi hermana elegida por la vida y corazón. Gracias por tus consejos, por tu cariño incondicional, por compartir sueños, dudas, alegrías y miedos. Gracias por estar, por escuchar, por ser mi calma cuando el mundo temblaba y mi alegría cuando todo era claro. Gracias por escucharme sin juicios, por abrazarme con el alma y por hacerme sentir siempre acompañada. Te quiero con todo lo que soy TYYMAPSYPS.

A Pamela, gracias por ser esa voz sabía que llegaba justo cuando más la necesitaba. Por tu luz, tu compañía en mis momentos difíciles, por brindarme tu compañía. A mis amigos del alma: Franklin, Guayas, Anaís, Stalin, Vale, Tete, Shirley, Paul, Blady, Brigit, Jenny, Primo, Sebas y Jimmy. Gracias por estar presentes, por acompañarme en esta etapa con su cariño, por enseñarme a ver la vida desde diferentes perspectivas. Su amistad ha sido mi refugio, mi fuerza y muchas veces, mi salvación. Gracias por enseñarme a ver la vida

desde diferentes perspectivas, por compartir sueños, silencios y tantas conversaciones que me han hecho crecer. No es casualidad nuestra amistad; fue el destino, la vida, o quizás el corazón, el que nos reunió ¡Los adoro profundamente!

A mi tutora, Alejandra Sánchez. Gracias por más que una guía académica. Fue una luz para mi alma. Sus palabras sabias me acompañaron en los momentos de mayor incertidumbre y me ayudaron a confiar en lo que era y en lo que podía llegar a ser. Gracias por tu entrega, cariño y tu humanidad.

A la Universidad Técnica de Ambato, y en especial a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Gracias por ser mi segundo hogar, por brindarme un espacio para crecer, aprender, y conocer a personas maravillosas que hoy forman parte esencial de mi vida.

A Karen, gracias infinitas por ser mi confidente, mi refugio emocional, mi amiga del alma. En estos años compartimos más de lo que se puede decir, y todo lo vivido se guarda para siempre en nuestros corazones. Gracias por cada risa, cada desahogo, cada silencio lleno de cariño que solo nosotras podemos entenderlo.

A mis amigos de facultad: Damy, Chos, Bibi, Alan, Marcelo y Bruno. Gracias, por tanto. Por su amistad, por cada momento compartido, por las risas, los desvelos, los aprendizajes, las historias que guardo en mi corazón con infinito cariño. Ustedes fueron un regalo en este camino.

Y a mí misma, Fernanda... Gracias por no rendirte nunca, incluso cuando parecía más fácil hacerlo. Por cada desvelo, cada lágrima, cada esfuerzo y cada pequeño paso hacia adelante. Por levantarte con más fuerza después de cada caída, por confiar aun en medio de la duda, y por seguir apostando por tus sueños con el corazón lleno de esperanza. Estoy orgullosa de ti.

Gracias a todos ustedes, porque cada uno forma parte de la persona que soy.

Y eso... eso nunca cambiará. Los amo. Con el alma.

Gracias. Mil veces gracias.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
AUTORIA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN.....	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTOS.....	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS	ix
ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiv
INDICE DE ECUACIONES	xv
RESUMEN EJECUTIVO	xvi
ABSTRACT	xvii
CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 Antecedentes Investigativos.....	1
1.1.1 Género <i>Pycnopus</i>	2
1.1.1.1 Descripción de <i>Pycnopus</i>	2
1.1.1.2 Morfología y estructuras	4
1.1.2 Origen y usos	5
1.1.2.1 Distribución Geográfica de <i>Pycnopus</i>	5
1.1.2.2 Clasificación taxonómica	6
1.1.2.3 Usos y aplicaciones en biotecnología e industria.....	6
1.1.3 Metabolismo y crecimiento.....	7

1.1.3.1 Condiciones de crecimiento	8
1.1.3.2 Temperatura	8
1.1.3.3 Sustratos	8
1.1.3.4 Humedad	9
1.1.3.5 Mecanismos de degradación de compuestos lignocelulósicos	10
1.1.3.6 Producción de enzimas ligninolíticas (lacasas y peroxidasas)	10
1.1.4 Medios de cultivo	11
1.1.4.1 Características generales de los medios utilizados para el hongo	11
1.1.4.2 Importancia de la formulación de sustratos	12
1.1.4.3 Tipos de medios de cultivo para <i>Pycnoporus</i> (sólidos y líquidos)	12
1.2 Objetivos.....	14
CAPÍTULO II. – METODOLOGÍA	15
2.1. MATERIALES	15
2.1.1 Materiales de laboratorio.....	15
2.1.2 Equipos de laboratorio	16
2.1.3. Reactivos de laboratorio	16
2.2. MÉTODOS.....	17
2.1.1 OBTENCIÓN DEL MICELIO DEL HONGO <i>PYCNOPORUS</i> SPP. A PARTIR DE MUESTRAS SILVESTRES	19
2.1.1.1 Obtención de muestras del cuerpo fructífero de <i>Pycnoporus</i> spp.....	19
2.1.1.2 Preparación de material fúngico.....	19
2.1.1.3 Aislamiento de esporas de <i>Pycnoporus</i> spp. en un medio sólido.....	19
2.1.1.4 Cultivo líquido para obtención del micelio y la estructura vegetal del hongo <i>Pycnoporus</i> spp.	20
2.2.2 EXPERIMENTACIÓN DE DIFERENTES FORMULACIONES DE	

SUSTRATO PARA INDUCIR LA FRUCTIFICACIÓN DEL HONGO <i>PYCNOPORUS</i> SPP	20
2.2.2.1 Formulación e inducción de la fructificación al sustrato	20
2.2.2.2 Selección un sustrato óptimo de crecimiento del hongo <i>Pycnopus spp.</i>	21
CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
3.1. Aislamiento del hongo <i>Pycnopus spp.</i>	23
3.2. Crecimiento del micelio en cultivo liquido.....	26
3.3. Formulación de sustrato y comparación del efecto en la biomasa de <i>Pycnopus spp.</i>	32
3.4. Análisis de las propiedades fisicoquímicas del sustrato	34
3.5. Fructificación	36
CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	38
4.1 CONCLUSIONES	38
4.1 RECOMENDACIONES.....	39
MATERIAL DE REFERENCIA	40
ANEXOS.....	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de <i>Pycnoporus</i>	6
Tabla 2. Materiales instrumentarias de laboratorio	15
Tabla 3. Equipos de laboratorio.	16
Tabla 4. Reactivos de laboratorio	16
Tabla 5. Concentraciones de sustratos.	18
Tabla 6. Composición de sustratos y propiedades fisicoquímicas utilizadas en el cultivo de <i>Pycnoporus</i> spp.....	32
Tabla 7. Resumen comparativo entre tratamientos según las propiedades fisicoquímicas de los sustratos por tratamientos.....	34
Tabla 8. Presencia de fructificación macroscópica en los tratamientos evaluados de <i>Pycnoporus</i>	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación del hongo de <i>Pycnoporus</i> spp. en su entorno natural y en condiciones de crecimiento controlado en laboratorio.	3
Figura 2. Estructura y morfología de <i>Pycnoporus</i>	5
Figura 3. Diferentes procesos de producción de <i>Pycnoporus</i> en su primera fase	13
Figura 4. Aislamiento y desarrollo del micelio de <i>Pycnoporus</i> en medio PDA.....	23
Figura 5. Evaluación comparativa del control morfológico del hongo <i>Pycnoporus</i>	24
Figura 6. Desarrollo micelial del <i>Pycnoporus</i> spp. en medios sólido y líquido.	26
Figura 7. Tiempo de duplicación del crecimiento micelial de <i>Pycnoporus</i> spp. en medio líquido.....	28
Figura 8. Cinética de crecimiento de biomasa de <i>Pycnoporus</i>	30

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Cultivo en medio sólido de <i>Pycnoporus</i> spp. en cajas Petri.....	47
Anexo 2. Cultivo de <i>Pycnoporus</i> spp. en medio líquido.....	48
Anexo 3. Preparación de muestras para análisis de porosidad y contenido de humedad.	49
Anexo 4. Proceso de extracción de agua en sustratos para el análisis de contenido de humedad.	49
Anexo 5. Mezcla y homogenización de sustratos en fundas para inoculación.....	50
Anexo 6. Fructificación en el Tratamiento 4 de <i>Pycnoporus</i> spp.	51
Anexo 7. Mediciones de pH por tratamiento en triplicado.	52
Anexo 8. Determinación del contenido de humedad en los tratamientos experimentales.	52
Anexo 9. Producción de biomasa seca y tasa de crecimiento específico de <i>Pycnoporus</i> spp. por matraz	53
Anexo 10. Determinación del contenido de cenizas por tratamiento.	54
Anexo 11. Comparación de medias por prueba de Tukey para pH entre tratamientos....	54
Anexo 12. Fórmulas utilizadas para el cálculo de variables fisicoquímicas.	55
Anexo 13. Análisis gráfico y estadístico de la biomasa seca por tratamiento en cultivo líquido.....	56
Anexo 14. Comparación gráfica de las propiedades fisicoquímicas de los tratamientos	57
Anexo 15. Gráfico de intervalos de confianza (Tukey HSD) para el pH por tratamiento	58
Anexo 16. Comparación integrada de variables fisicoquímicas por tratamiento.	59

INDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1 . Cálculo de la biomasa seca por peso	22
---	----

RESUMEN EJECUTIVO

El hongo *Pycnoporus* spp. ha adquirido una relevancia creciente por sus aplicaciones en biotecnología, industria alimentaria y farmacología debido a sus propiedades enzimáticas y metabolitos bioactivos, como lacasas y compuestos antioxidantes. Sin embargo, la falta de protocolos estandarizados para su cultivo limita la producción a gran escala. Este estudio se centró en la optimización de variables nutricionales y ambientales para potenciar su crecimiento y producción en diferentes medios de cultivo, con énfasis en el uso de residuos lignocelulósicos como bagazo de caña de azúcar, aserrín de pino, paja de trigo y paja de arroz. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con cuatro tratamientos diferenciados por la formulación del sustrato, replicados cuatro veces, y se evaluaron variables como la colonización del micelio, la producción de biomasa seca y la fructificación. El aislamiento y propagación del micelio se llevó a cabo en medios sólidos (PDA) y líquidos bajo condiciones controladas de temperatura, humedad y pH. La cinética de crecimiento se evaluó mediante absorbancia, y se aplicaron análisis estadísticos (ANOVA y HSD de Tukey) para determinar diferencias significativas entre tratamientos. Los resultados mostraron que las formulaciones T3 y T4 presentaron mayores rendimientos de biomasa y estabilidad morfológica. En conclusión, la combinación de sustratos ricos en celulosa suplementados con fuentes de nitrógeno y condiciones de cultivo controladas favorece significativamente el desarrollo de *Pycnoporus* spp. Esta propuesta puede ser replicada en procesos industriales para la producción de enzimas y metabolitos bioactivos de alto valor añadido en áreas como la alimentaria, medioambiental y farmacéutica.

PALABRAS CLAVES

Pycnoporus spp., medios de cultivo, biotecnología, residuos lignocelulósicos, biomasa.

ABSTRACT

The fungus *Pycnoporus* spp. has gained increasing relevance for its applications in biotechnology, the food industry, and pharmacology due to its enzymatic properties and bioactive metabolites, such as laccases and antioxidant compounds. However, the lack of standardized protocols for its cultivation limits large-scale production. This study focused on the optimization of nutritional and environmental variables to enhance their growth and production in different culture media, with emphasis on the use of lignocellulosic residues such as sugarcane bagasse, pine sawdust, wheat straw, and rice straw. A completely randomized experimental design was used with four treatments differentiated by substrate formulation, replicated four times, and variables such as mycelial colonization, dry biomass production, and fructification were evaluated. Mycelium isolation and propagation were carried out in solid (PDA) and liquid-supplemented media under controlled conditions of temperature, humidity, and pH. Growth kinetics were evaluated by absorbance, and statistical analyses (ANOVA and Tukey's HSD) were applied to determine significant differences between treatments. The results showed that the T3 and T4 formulations presented higher biomass yields and morphological stability. In conclusion, the combination of cellulose-rich substrates supplemented with nitrogen sources and controlled culture conditions significantly favors the development of *Pycnoporus* spp. This proposal can be replicated in industrial processes for the production of enzymes and bioactive metabolites with high added value in areas such as food, environmental, and pharmaceutical.

Keywords

Pycnoporus spp., culture media, biotechnology, lignocellulosic residues, and biomass.

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes Investigativos

En la actualidad, el género *Pycnoporus* spp. ha captado la atención por sus aplicaciones en áreas tan diversas como la farmacéutica, la biotecnología y la industria alimentaria. Sus propiedades antibacterianas, antioxidantes y la capacidad de degradar ciertos compuestos son de gran interés en la fabricación de medicamentos y enzimas industriales (Valenzuela-Cobos et al., 2020). Sin embargo, su uso a gran escala está limitado por la falta de un protocolo estandarizado de cultivo, lo que impide su producción masiva y consistente en condiciones controladas. Esta situación se convierte en un obstáculo para aprovechar su potencial en industrias clave que buscan fuentes sostenibles de compuestos bioactivos. Es por esto que las investigaciones y producciones a pequeña escala no son reproducibles, lo que dificulta su adopción en procesos industriales (Miyauchi et al., 2020). Es necesario encontrar una alternativa que garantice el desarrollo óptimo de un medio de cultivo con las variables nutricionales y aspectos ambientales necesarios para la fructificación de *Pycnoporus* spp. en diferentes medios de cultivo, mejorando así su desarrollo y permitiendo una mejor adaptación en cuanto a su rendimiento (Miyauchi et al., 2020).

Según Aguilar et al., (2023). la fermentación de un sustrato sólido compuesto de un alto contenido de caldo de salvado de arroz, bajo condiciones iluminadas y a una temperatura de 28°C, para la producción de *P. sanguineus*, produce un crecimiento micelial óptimo con un período de fermentación. Algunas investigaciones sugieren que la explotación de sustratos lignocelulósicos, como el aserrín y los desechos de paja de arroz como fuente principal de carbono, combinados con nutrientes específicos, produce un crecimiento estable.

Un medio de cultivo optimizado con *Eichhornia crassipes*, desechos de aserrín, CuSO₄, ácido gálico y un 65% de humedad es esencial para evitar el crecimiento subdesarrollado en la producción de enzimas como Lacasa, producidas por el hongo *P. sanguineus* (Wang et al., 2017). Por ello, es imprescindible encontrar una alternativa viable mediante la combinación de sustratos ricos en nutrientes y condiciones controladas para mejorar tanto

el crecimiento del cuerpo fructífero como la producción enzimática, maximizando así su potencial biotecnológico en diferentes medios de cultivo.

Al optimizar las condiciones nutricionales, como el uso de sustratos lignocelulósicos como: aserrín, paja de arroz, madera, la suplementación de fuentes de nitrógeno, otros oligoelementos, y la regulación de factores ambientales como temperatura, humedad y pH en diferentes medios de cultivo, se podrá maximizar el crecimiento y desarrollo de biomasa de *Pycnoporus* spp., proporcionando su producción, consistencia y eficiencia en la generación de metabolitos (Aguilar et al., 2023). Esta investigación busca desarrollar un medio de cultivo optimizado para *Pycnoporus* spp., viabilizando los complementos nutricionales y condiciones ambientales específicas, además de la selección adecuada de sustratos, con estas condiciones se espera un aumento significativo en la producción de biomasa (Pię et al., 2021). El desarrollo de un protocolo de un medio de cultivo también permitirá el desarrollo de procesos de producción a gran escala de hongos, contribuyendo así a la extracción masiva de componentes bioactivos con propiedades antioxidantes y antimicrobianas para su aplicación en el área alimentaria, la cual aún no ha sido aprovechada con los beneficios del hongo.

1.1.1 Género *Pycnoporus*

El género *Pycnoporus* es perteneciente al filo Basidiomycota, se encuentran dentro de los hongos lignocelulolíticos más estudiados por la gran capacidad de degradar los compuestos orgánicos de la madera (Gauna et al., 2020). Este género es parte de las especies que son potenciales para explotación en el área biotecnológica debido a sus propiedades enzimáticas y metabólicas.

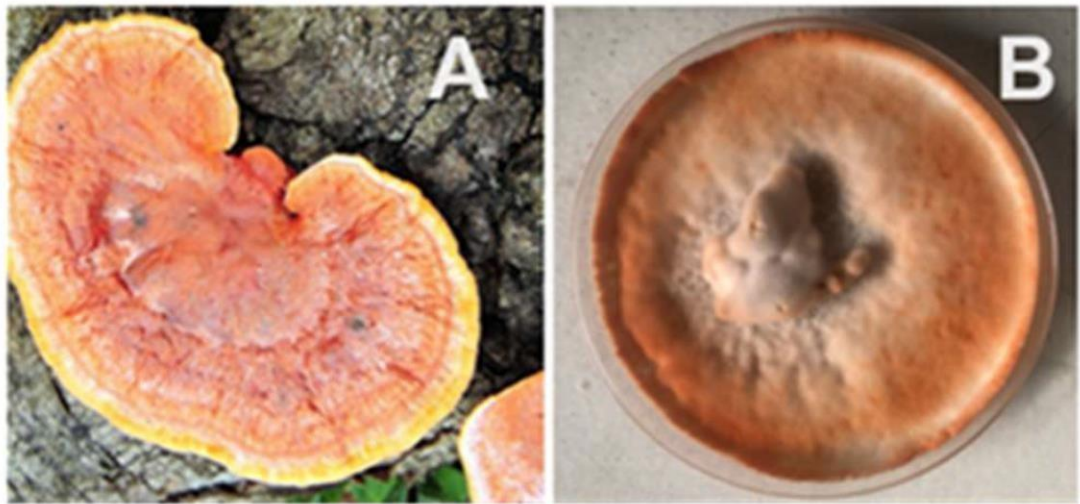
1.1.1.1 Descripción de *Pycnoporus*

El hongo *Pycnoporus* spp. son basidiomicetos característicos de podredumbre blanca, causantes de la descomposición de la madera (Miyauchi et al., 2020). Perteneciente a la familia de *Polyporaceae*, del género saprófito, comúnmente de tonalidad anaranjada brillante que les da un aspecto atractivo y llamativo, de textura rugosa y porosa y suele formar cuerpos fructíferos anuales en forma semicircular.

Estos hongos desarrollan un himenio poroso en la parte inferior de los cuerpos fructíferos que se encuentran en la madera de los árboles en descomposición produciendo, este himenio produce esporas para la reproducción del hongo (Schinagl et al., 2023b).

Figura 1

Representación del hongo de Pycnoporus spp. en su entorno natural y en condiciones de crecimiento controlado en laboratorio.



Nota: (A) Fructificación silvestre en su naturaleza, sobre madera en descomposición como sustrato. (B) Desarrollo de crecimiento micelial en condiciones *in vitro*. Fuente: (Cheute et al., 2024a).

Los hongos *Pycnoporus* spp. se centran distribuidos en regiones y zonas subtropicales y tropicales alrededor del mundo. La capacidad de este hongo para desarrollarse en estos hábitats está relacionado a las condiciones húmedas y cálidas que favorecen su crecimiento. Este desarrollo ocurre principalmente sobre la madera de árboles de angiospermas y en algunas ocasiones sobre coníferas, que proporcionan una fuente rica en sustrato para su descomposición (Miyauchi et al., 2020).

Este género de hongo tiene una gran importancia ecológica debido a su capacidad de degradación de lignina, uno de los componentes más difíciles de descomponer en la materia orgánica vegetal, este hongo tiene la capacidad de romper el complejo polímero, a través de la producción de enzimas, principalmente lacasa que facilita la degradación de

la lignocelulosa, ayudando así al aporte nutricional en los ecosistemas (Araújo et al., 2023).

1.1.1.2 Morfología y estructuras

El género *Pycnoporus* incluye hongos que se desarrollan sobre madera, pertenecientes a la familia Polyporaceae. Son fácilmente reconocibles por su color rojizo y su habilidad para descomponer compuestos como la lignina (Schinagl et al., 2023c). Estos hongos suelen crecer en madera muerta y juegan un papel crucial en la descomposición de materia orgánica dentro de los ecosistemas forestales.

- Morfología macroscópica

Los basidiomas o cuerpos fructíferos de *Pycnoporus* spp. tienen una forma semicircular o similar a un abanico y se adhieren lateralmente al sustrato que generalmente son troncos o ramas **Figura 1**. La parte superior de estos cuerpos es de un rojo brillante a naranja intenso, lo que los distingue de otros hongos políporos (Chaurasia, 2024a).

En la parte inferior, se encuentra una capa de poros finos, con aproximadamente 4 a 6 poros por milímetro, a través de los cuales el hongo libera sus esporas, el tejido del basidioma es coriáceo o leñoso, lo que le confiere resistencia y le permite permanecer en el sustrato durante períodos prolongados (Chaurasia, 2024a).

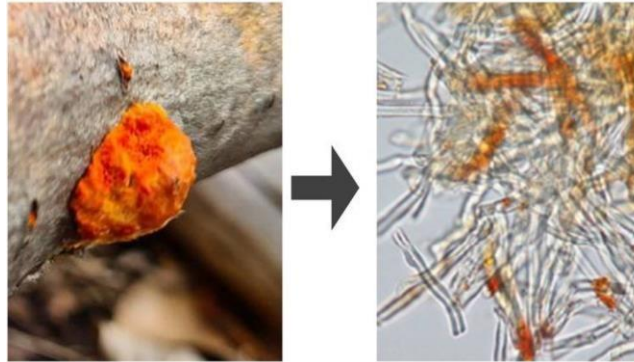
- Estructura microscópica

A nivel microscópico *Pycnoporus* spp. se caracteriza por un sistema hifal monomítico, compuesto únicamente por hifas generativas que son septadas, los basidios son estructuras alargadas que producen esporas sexuales denominadas basidiosporas, que son lisas elípticas y de tamaño pequeño **Figura 2**. Estas esporas se dispersan por el aire facilitando la colonización de nuevos sustratos. En algunas especies se pueden observar cistidios (Schinagl et al., 2023d).

La combinación de estas características macroscópicas y microscópicas permite identificar el género *Pycnoporus* en el entorno natural del mismo.

Figura 2

Estructura y morfología de Pycnoporus.



Nota: Vista macroscópica y microscópica de *Pycnoporus* spp., donde se observa su cuerpo fructífero sobre madera y su micelio con hifas septadas pigmentadas, como parte del proceso de identificación morfológica. Fuente: (Schinagl et al., 2023c).

1.1.2 Origen y usos

El género *Pycnoporus* son hongos que crecen sobre madera y se encuentran en todo el mundo, especialmente en zonas tropicales y subtropicales, estos hongos pertenecen al orden Polyporales y son fácilmente reconocibles por su distintivo color.

1.1.2.1 Distribución Geográfica de *Pycnoporus*

El género *Pycnoporus* se encuentra en diversas partes del mundo, en regiones tropicales, subtropicales y templadas, a excepción de la Antártida. Estas especies crecen principalmente sobre madera en descomposición, troncos caídos y restos de plantas leñosas, lo que demuestra su capacidad para descomponer materiales orgánicos (Cheute et al., 2024b).

La especie de *P. sanguineus* se halla mayormente en climas cálidos y húmedos de América Latina, el Caribe, África y el sudeste asiático y *P. cinnabarinus* se encuentra en regiones más templadas de Europa, Norteamérica y algunas partes de Asia (Chaurasia, 2024b). La presencia de estas especies está vinculada a la disponibilidad de madera en descomposición y a condiciones de humedad que favorecen su crecimiento y la formación de sus cuerpos fructíferos.

1.1.2.2 Clasificación taxonómica

Tabla 1

Clasificación de Pycnoporus

Nombre científico	<i>Pycnoporus</i>
Reino	Fungi
Subreino	Dikarya
División	Basidiomycota
Clase	Agaricomycetes
Orden	Agaricales
Familia	Polyporaceae
Género	<i>Pycnoporus</i>
Especie	<i>Pycnoporus sanguineus</i> , <i>Pycnoporus cinnabarinus</i> , <i>Pycnoporus xanthopus</i> , <i>Pycnoporus albomelleus</i> , <i>Pycnoporus zeae</i>

Fuente: (Araújo et al., 2023)

1.1.2.3 Usos y aplicaciones en biotecnología e industria

El género *Pycnoporus* se distingue por su capacidad de degradación de madera y materiales orgánicos, lo que genera interés en el área de la biotecnológico e industrial, principalmente a la producción de enzimas ligninolíticas como la lacasa, que resulta fundamental en procesos industriales orientados a la descomposición de compuestos como la lignina presente en la madera y otros residuos vegetales. Algunas de sus aplicaciones son:

- **Biodegradación y biorremediación:** *Pycnoporus* es valorado por su potencial en la biorremediación ya que se emplean para degradar contaminantes tóxicos como compuestos fenólicos, pesticidas y herbicidas en suelos y aguas contribuyendo así a la descontaminación ambiental (Feng et al., 2021a).

- **Industria papelera y textil:** En la industria papelera la lacasa producida por *Pycnoporus cinnabarinus* se utiliza para el blanqueo de pulpa, lo que permite reducir el uso de cloro y otros agentes químicos, en la industria textil la lacasa facilita la degradación de compuestos fenólicos presentes en los tintes, mejorando los procesos de teñido y lavado, ofreciendo alternativas menos contaminantes frente a los métodos tradicionales (Rawal et al., 2023).
- **Producción de biocombustibles:** El uso de *Pycnoporus* en la obtención de biocombustibles también es relevante, ya que su capacidad para descomponer la lignina de la biomasa vegetal, las enzimas producidas mejoran la eficiencia de los pretratamientos de biomasa, facilitando la producción de biocombustibles como el etanol (Feng et al., 2021b).
- **Medicina y farmacología:** Especies como *P. sanguineus* que presentan propiedades antioxidantes, antitumorales y antimicrobianas, con los metabolitos secundarios derivados de estos hongos y su potencial para el desarrollo de nuevos tratamientos contra enfermedades como el cáncer, infecciones bacterianas y fúngicas, trastornos asociados al estrés oxidativo (Lim et al., 2024a).
- **Agricultura y control biológico:** *Pycnoporus* es empleado para mejorar la calidad del suelo mediante la descomposición de materia orgánica, acelerando el ciclo de nutrientes, usándolos como agentes de control biológico frente a enfermedades fúngicas en plantas, gracias a la producción de compuestos antimicrobianos que inhiben su desarrollo (Lim et al., 2024b).

1.1.3 Metabolismo y crecimiento

Estos organismos presentan un metabolismo complejo que involucra tanto el metabolismo primario, esencial para su crecimiento y desarrollo, como el metabolismo secundario, responsable de la producción de compuestos bioactivos y pigmentos característicos. De acuerdo con Dos Santos et al., (2023) su sistema enzimático es particularmente notable, incluyendo celulasas y hemicelulasas para la degradación de celulosa y hemicelulosa, aunque su característica más distintiva radica en la producción de enzimas lignolíticas, principalmente lacasas y peroxidasas, que les confieren la

capacidad de degradar la lignina. Según **Pineda-Insuasti et al., (2017)**, el metabolismo secundario de *Pycnoporus* resulta especialmente relevante debido a la producción de diversos metabolitos, incluyendo ácidos fenólicos, quinonas y pigmentos, siendo la cinabarina responsable de su característico color naranja-rojizo. Estos metabolitos secundarios no solo cumplen funciones ecológicas, sino que también exhiben propiedades antibacterianas, antifúngicas y antioxidantes.

1.1.3.1 Condiciones de crecimiento

El desarrollo de *Pycnoporus* spp., depende de diversos factores nutricionales y ambientales que inciden tanto en su fase vegetativa como en su etapa de fructificación, controlar estas condiciones resulta fundamental para mejorar su cultivo en condiciones in vitro, particularmente cuando se pretende aprovechar su potencial en aplicaciones biotecnológicas.

1.1.3.2 Temperatura

La temperatura es un factor crítico que ejerce una profunda influencia sobre el metabolismo y crecimiento de *Pycnoporus*. Este parámetro actúa como un regulador fundamental de las actividades metabólicas y el crecimiento de estos hongos, siendo un factor determinante en la velocidad de las reacciones enzimáticas y la expresión de genes relacionados con la producción de metabolitos de interés (**Cheute et al., 2024**). En general, estos hongos se desarrollan a temperaturas moderadas, alrededor de los 30°C, aunque algunas especies pueden tolerar un rango más amplio (**Meng et al., 2022**).

1.1.3.3 Sustratos

El sustrato representa un factor de suma importancia, de acuerdo con **Suwannarach et al., (2022)**, no solo constituye la fuente de nutrientes sino también el soporte físico para el desarrollo del hongo. La composición química del sustrato, particularmente su contenido de lignina, celulosa y hemicelulosa, así como la disponibilidad de nutrientes adicionales, determina en gran medida la eficiencia del crecimiento fúngico y la producción de enzimas específicas. Además, la estructura física del sustrato afecta la accesibilidad del micelio a los nutrientes y la transferencia de oxígeno, factores importantes para el metabolismo aerobio de estos organismos. Estudios

en medios líquidos y sólidos como **Aguilar et al., (2023)**, han demostrado que ciertos sustratos como almidón, extracto de malta, maltosa, metilcelulosa, sacarosa, dextrosa, y caldo suplementado con extracto de levadura y/o fosfolípidos, así como salvados de maíz, trigo y arroz, y residuos agroindustriales como el bagazo de caña de azúcar, aserrín, y cáscaras de arroz, los cuales aumentan significativamente la producción de biomasa y de compuestos bioactivos.

1.1.3.4 Humedad

La humedad desempeña un papel fundamental en el desarrollo de *Pycnoporus* spp., tanto durante su fase vegetativa como en la reproductiva, en su entorno natural estos hongos se desarrollan sobre madera en descomposición en zonas cálidas y húmedas, lo que demuestra la preferencia por ambientes con alta humedad relativa. Varias investigaciones indica que el micelio de *Pycnoporus* alcanza su máximo desarrollo cuando la humedad relativa se mantiene entre el 70 % y el 90 %, rango que también favorece la producción de enzimas ligninolíticas como la lacasa, que son fundamentales para la descomposición de lignina y otros compuestos orgánicos complejos (**Schinagl et al., 2023e**). Este hongo al cultivarse sobre sustratos sólidos como residuos agrícolas debe mantener la humedad entre el 60 % y el 75 %, lo que permite una colonización eficiente del micelio sin generar condiciones anaeróbicas que pueden obstaculizar su desarrollo.

Según **Schinagl et al., (2023)** en la formación de cuerpos fructíferos la humedad debe ser mayor del 85 %, una humedad insuficiente provoca la desecación del micelio superficial y restringe la aparición de estructuras reproductivas, mientras que condiciones adecuadas de humedad junto con una buena aireación estimula su fructificación. El manejo preciso de la humedad resulta especialmente importante en cultivos in vitro, por lo que se sugiere el uso de cámaras de incubación equipadas con humidificadores o sistemas manuales de nebulización para mantener la humedad constante durante todo el proceso de cultivo (**Schinagl et al., 2023e**). La regulación de estos parámetros permite optimizar tanto el crecimiento micelial como la actividad enzimática de *Pycnoporus*.

1.1.3.5 Mecanismos de degradación de compuestos lignocelulósicos

El género *Pycnoporus* encargados de pudrición blanca tienen la capacidad de descomponer materiales lignocelulósicos gracias a enzimas especializadas que actúan sobre los componentes de la pared celular vegetal como la celulosa, hemicelulosa y lignina. Esta característica es esencial para la degradación del carbono en los ecosistemas.

La descomposición de la lignocelulosa por parte de *Pycnoporus spp.* se realiza mediante un sistema enzimático extracelular formado por enzimas hidrolíticas y oxidativas, estas enzimas hidrolítica celulasas y hemicelulasas rompen los enlaces glucosídicos de la celulosa y hemicelulosa, liberando azúcares simples como glucosa y xilosa. Posterior, la lignina por su naturaleza resistente requiere la acción de enzimas oxidativas, como lacasa, la lignina peroxidasa (LiP) y el manganeso peroxidasa (MnP). Estas enzimas generan radicales libres capaces de romper los enlaces éter y carbono-carbono de la estructura lignínica, facilitando así su fragmentación y posterior mineralización (**Miyauchi et al., 2020b**).

Dentro de este grupo enzimático, la lacasa producida por *Pycnoporus cinnabarinus* y *Pycnoporus sanguineus* es objeto de numerosos estudios debido a su elevada eficiencia catalítica, estabilidad y versatilidad para actuar sobre diversos sustratos fenólicos. La acción de estas enzimas permite a *Pycnoporus spp.* degradar biomasa vegetal de manera eficiente, incluso bajo condiciones ambientales variables, lo que es importante para el desarrollo de tecnologías sostenibles (**Gauna et al., 2021**). Además, que la producción de estas enzimas puede incrementarse mediante el uso de sustratos lignocelulósicos como bagazo de caña, aserrín o cáscaras vegetales, lo que representa una ventaja significativa para procesos industriales de bajo costo.

1.1.3.6 Producción de enzimas ligninolíticas (lacasas y peroxidases)

Los hongos ligninolíticos como los del género *Pycnoporus spp.*, se caracterizan por la capacidad para sintetizar enzimas que descomponen compuestos resistentes como la lignina, un polímero complejo y difícil de degradar presente en las paredes celulares vegetales. Entre estas enzimas las más relevantes son lacasas, la lignina peroxidasa (LiP)

y el manganeso peroxidasa (MnP) formando parte del sistema extracelular oxidativo que facilita la despolimerización de la lignina, promoviendo así la biodegradación de residuos lignocelulósicos (Salinas Sánchez et al., 2022a).

En la investigación de **Pernía et al., (2021)** menciona que las lacasas (EC 1.10.3.2) son oxidasas que catalizan la oxidación de compuestos fenólicos y aromáticos, reduciendo simultáneamente el oxígeno molecular a agua. Especies como *P.s cinnabarinus* y *P. sanguineus* son reconocidas por su elevada producción de lacasas, incluso sin la necesidad de inductores externos. Estas enzimas son ampliamente estudiadas por su eficacia en la degradación de tintes, fenoles, pesticidas y otros contaminantes industriales, además de su potencial aplicación en las industrias papelera, textil y en procesos de biorremediación. Por otro lado, las peroxididasas ligninolíticas, como la lignina peroxidasa (LiP; EC 1.11.1.14) y el manganeso peroxidasa (MnP; EC 1.11.1.13), utilizaron peróxido de hidrógeno (H₂O₂) como cofactor para oxidar las estructuras no fenólicas de la lignina, ampliando su espectro de acción en comparación con las lacasas (**Cheute et al., 2024c**).

La inducción de la producción enzimática se desarrolla mediante el uso de sustratos lignocelulósicos como aserrín, bagazo de caña, hojas secas o cáscaras vegetales. Además, condiciones de cultivo con pH ácido (4.5–6.0), temperaturas moderadas (25–30 °C) y fuentes de nitrógeno orgánico, como peptona o extracto de levadura, favorecen la producción de estas enzimas.

1.1.4 Medios de cultivo

La evaluación de diferentes medios de cultivo para *Pycnoporus* es esencial, debido a que se debe evaluar el crecimiento y la producción de la biomasa y el cuerpo fructífero del hongo, estos medios conforman factores importantes para su desarrollo, favoreciendo principalmente al crecimiento micelial, producción de metabolitos secundarios y enzimas ligninolíticas (**Aguilar et al., 2023b**). Para esto es necesario tener en cuenta los componentes y nutrientes generales que constituye cada medio utilizado en el cultivo.

1.1.4.1 Características generales de los medios utilizados para el hongo

El crecimiento fructífero del hongo y el desarrollo de la actividad metabólica se deben a factores como una fuente adecuada de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales

que proporcionen nutrición equilibrada para el crecimiento, además debe mantener un pH entre 6.5 y 9.0 y una buena humedad de 70% aproximadamente, son condiciones óptimas para que el medio de cultivo sea el apropiado para que el hongo integre todas esas características para su desarrollo (**Schinagl et al., 2023a**). Además, el medio ideal para *Pycnoporus* debe tener una buena aireación, especialmente en medios de cultivo sólidos, evitando todo tipo de contaminaciones por otros microorganismos o contaminaciones cruzadas, también se debe observar una buena textura del medio lo que puede influir en la morfología del micelio y la producción de sus metabolitos.

Estos medios de cultivo deben tener fuentes disponibles de glucosa, fructosa, maltosa, almidón, sacarosa, extracto de malta y dextrosa, en la composición básica de los medios se deben emplear extractos vegetales como almidón o extractos de papa, harina de trigo, siendo el medio final uno sólido o líquido, dependiendo el objetivo experimental (**Henske et al., 2018**).

1.1.4.2 Importancia de la formulación de sustratos

Al desarrollar la formulación adecuada, con las concentraciones requeridas para el crecimiento del hongo según las necesidades nutricionales se establecen sustratos óptimos y así poder mantener la influencia en la velocidad del desarrollo y producción de la biomasa micelial (**Portz et al., 2022a**).

Los residuos de origen agroindustrial son una fuente adecuada y rica en lignina y celulosa, que se utilizan como sustratos para el cultivo de hongos basidiomicetos, en el caso del cultivo de *Pycnoporus* se produce una mezcla entre aserrín de pino, cascarilla de arroz y gabazo de caña de azúcar, siendo los más eficientes en la producción de metabolitos de interés, y por ende su aumento en la fructificación del hongo (**Portz et al., 2022a**).

1.1.4.3 Tipos de medios de cultivo para *Pycnoporus* (sólidos y líquidos)

El género de *Pycnoporus* se puede cultivar tanto en medios líquidos y sólidos, dependiendo del propósito del cultivo, la selección del medio de cultivo interfiere directamente el rendimiento del hongo y la producción de sus metabolitos (**Figura 3**).

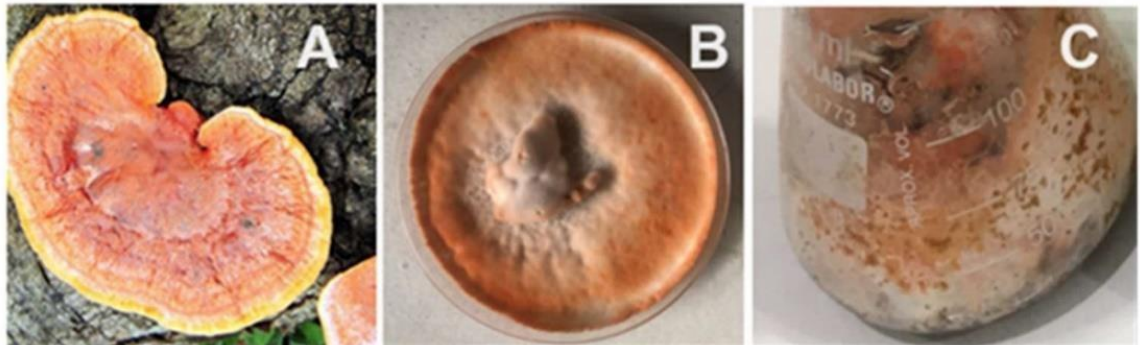
- **Cultivos en medio líquido:** Principalmente se utiliza esta clase de medio con diferentes nutrientes como glucosa, sacarosa, almidón de papa (PDA) y nitrógeno,

el cual es ideal para producción de su biomasa inicial, favoreciendo a un crecimiento homogéneo del micelio y controlando las condiciones ambientales necesarias, para posterior purificación del hongo en una segunda fase (Aguilar et al., 2023c).

- **Cultivos en medio sólido:** Este cultivo se basa en el crecimiento del hongo sobre un sustrato sólido, el cual contiene una mínima cantidad de agua presente, se lo utiliza para simular condiciones ambientales similares a las de su naturaleza común y realizar su proceso de descomposición, siendo estos sustratos residuos agrícolas suplementados o no con otro tipo de nutrientes adicionales (Meng et al., 2022a).

Figura 3

Diferentes procesos de producción de Pycnoporus en su primera fase.



Nota: A: Cuerpo fructífero de *Pycnoporus* spp. en su hábitat natural. B: Crecimiento micelial en medio sólido. C: Cultivo en matraz con medio líquido. Fuente: (Cheute et al., 2024d).

1.2 Objetivos

Objetivo General

Optimizar un protocolo para el cultivo y fructificación del hongo silvestre *Pycnoporus* spp. a partir del uso de sustratos específicos óptimos para su desarrollo *in vitro*.

Objetivos Específicos

- Obtener el micelio del hongo *Pycnoporus* spp. a partir de muestras silvestres.
- Experimentar diferentes formulaciones de sustrato para inducir la fructificación del hongo *Pycnoporus* spp.

CAPÍTULO II. – METODOLOGÍA

2.1. MATERIALES

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo de forma experimental, realizándose la parte práctica en los laboratorios académicos pertenecientes a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. En las tablas 2,3 y 4 se presentan los materiales, reactivos y equipos utilizados durante la fase experimental y el desarrollo de la investigación.

2.1.1 Materiales de laboratorio.

Tabla 2

Materiales instrumentarias de laboratorio.

Material	Cantidad
Placas Petri	50
Frascos Erlenmeyer (250-500 mL)	10
Probetas volumétricas (100 mL)	3
Vasos de precipitado (250 y 50 mL)	5
Micropipetas	2
Tubos eppendorf	50
Tubos de ensayo con tapa de rosca	20
Embudos de filtración	3
Papel filtro	10

2.1.2 Equipos de laboratorio

Tabla 3

Equipos de laboratorio.

Equipos	Cantidad
Autoclave	1
Espectrofotómetro	1
Incubadora con control de humedad	1
Agitador mecánico	1
Balanza analítica	1
Refrigerador	1
Baño maría	1
Baño ultrasónico	1

2.1.3. Reactivos de laboratorio

Tabla 4

Reactivos de laboratorio

Material	Cantidad
Etanol 70%	2 L
Hipoclorito de sodio (1-2%)	500 mL
Tween 80 al 0,1%	100 mL
Agua destilada	5 L
Agar papa dextrosa (PDA)	1 Kg
Peptona	1 Kg
Dextrosa	1 Kg
Carbonato de calcio	500 g
Aserrín de pino	10 kg

Paja de arroz	8 kg
Paja de trigo	8 kg
Bagazo de caña de azúcar	10 kg
Bolsas de polipropileno	100 unidades
Papel aluminio	5 rollos

2.2. MÉTODOS

Diseño experimental

Para el desarrollo de este proyecto de investigación, se estableció un factor principal: tipos de sustratos a diferentes concentraciones, cada uno evaluado a través de 4 réplicas definidas. Esto permitió una exploración exhaustiva de sus efectos individuales y combinados sobre el crecimiento y desarrollo de *Pycnoporus* spp.

En la investigación de **Schinagl et al., (2023)** la temperatura óptima para la evaluación del crecimiento de *Pycnoporus* spp. es de 32.7°C, esta condición favorece tanto la colonización del sustrato como el inicio de la fructificación. La evaluación a este nivel térmico resultó clave para determinar la capacidad de adaptación del hongo al ambiente en combinación con el sustrato utilizado.

Según el análisis de **Schinagl et al., (2023)** el porcentaje de humedad óptima para el crecimiento del hongo es de 68% considerando que la humedad es un factor crucial para el desarrollo de *Pycnoporus* spp, este nivel permitió que la tasa de crecimiento del hongo se intensifique y así, que la capacidad del crecimiento sea uniforme.

Se utilizaron como sustratos el bagazo de caña, la paja de trigo, la paja de arroz y el aserrín de pino, todos estos residuos lignocelulósicos fueron seleccionados gracias a su composición rica en carbono, hemicelulosa y lignina, que son clave para el crecimiento, cada uno de los sustratos ofrecen características que influyen en el metabolismo del hongo (**Meng et al., 2022; Aguilar et al., 2023**).

Además, implementó un diseño completo al azar (DCA). Este enfoque es ideal para estudiar no solo los efectos principales de cada factor, sino también las posibles

interacciones entre ellos. Con un total de 4 diseños únicos, esto permitieron evaluar cómo las condiciones experimentales influyen en las variables de respuesta seleccionadas, como la producción de biomasa o el tiempo de desarrollo.

Cada combinación de los niveles de los factores se replicó 4 veces para garantizar la validez estadística de los resultados y reducir la variabilidad experimental. Esto resultó en un total de 16 unidades experimentales, que fueron distribuidas aleatoriamente para minimizar sesgos y maximizar la confiabilidad de los datos. A continuación, se detalla el diseño a utilizar:

Tabla 5

Concentraciones de sustratos.

Sustrato	Sustrato A (%)	Sustrato B (%)	Sustrato C (%)	Sustrato D (%)
Bagazo de caña (Residuo 1)	75	15	5	5
Paja de trigo (Residuo 2)	10	70	5	15
Paja de arroz (Residuo 3)	10	5	75	10
Aserrín de pino (Residuo 4)	5	10	10	75
TOTAL		100		

2.1.1 OBTENCIÓN DEL MICELIO DEL HONGO *PYCNOPORUS* SPP. A PARTIR DE MUESTRAS SILVESTRES.

2.1.1.1 Obtención de muestras del cuerpo fructífero de *Pycnoporus* spp.

Los cuerpos fructíferos de *Pycnoporus* spp. utilizados en este trabajo de investigación fueron adquiridos en una tienda comercial. Esta especie de hongo, comúnmente se halla en troncos y ramas en descomposición, es conocida por crecer en zonas con alta biodiversidad como áreas andinas.

La metodología que se usó para esta investigación se centró en el aislamiento del cuerpo fructífero, se llevó un proceso de desinfección de la superficie utilizando alcohol al 70%, luego se procedió a realizar un corte de una porción del hongo con bisturí estéril entre 5 y 10 gramos, colocaron en recipientes estériles para mantener la viabilidad del hongo, evitando contaminaciones con otros microorganismos (Schinagl et al., 2023b).

Se obtendrán aislamientos de cultivos puros y se conservarán en los laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología (FCIAB) con números de referencia.

2.1.1.2 Preparación de material fúngico

Se realizó una desinfección sumergiendo las muestras en una solución de hipoclorito de sodio (1.5%) durante 5 minutos, posterior se procedió a enjuagar 3 veces con agua estéril, se sometió a 1 minuto en alcohol al 70% y finalmente se enjuagó 3 veces en agua destilada. El material desinfectado se cortó en trozos pequeños entre 2 cm para facilitar el aislamiento de esporas.

2.1.1.3 Aislamiento de esporas de *Pycnoporus* spp. en un medio sólido

Para el aislamiento de las esporas se utilizó la metodología propuesta por **dos Santos et al. (2023)**, las esporas principalmente se obtuvieron del interior de los basidiocarpos del hongo, tomando una muestra del tejido, posterior se trasladó a 4 placas Petri con un medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) y harina de trigo integral. La incubación de las cajas Petri fueron durante 14 días a una temperatura entre 27-28 °C. Una vez desarrollado el hongo luego se realizaron las resiembras a un medio de cultivo líquido para la purificación del hongo (**Dinakarkumar et al., 2024**).

2.1.1.4 Cultivo líquido para obtención del micelio y la estructura vegetal del hongo *Pycnoporus* spp.

Para cultivar *Pycnoporus* spp. en un medio líquido, se utilizó un medio Sabouraud. Este medio se elaboró mezclando 10 gramos de peptona y 40 gramos de dextrosa por cada litro de agua. El pH se ajustó a un rango óptimo entre 4.5 y 6.0 antes de esterilizarlo en una autoclave a 121 °C durante 15 minutos, siguiendo el protocolo descrito por **da Silva Soares et al. (2024)**.

Para inocular el cultivo inicial, las esporas se diluyeron en agua destilada estéril con 0.1 % de Tween 80, ajustando la concentración entre 10^5 y 10^6 esporas por mililitro. Luego, se transfirieron de 1 a 5 mL del inóculo al medio líquido contenido en matraces Erlenmeyer de 250 a 500 mL, manteniéndose siempre en condiciones estériles. Posteriormente, los matraces se incubaron a una temperatura de 25 a 30 °C, con agitación constante a una velocidad de 120 a 150 rpm para garantizar un crecimiento uniforme, siguiendo las recomendaciones de **Dinakarkumar et al. (2024)**.

El tiempo de incubación varió entre 7 y 14 días, dependiendo de la velocidad de desarrollo del hongo. Al finalizar esta etapa, el cultivo se transferirá a un medio enriquecido con los sustratos seleccionados.

2.2.2 EXPERIMENTACIÓN DE DIFERENTES FORMULACIONES DE SUSTRATO PARA INDUCIR LA FRUCTIFICACIÓN DEL HONGO *PYCNOPORUS* SPP.

2.2.2.1 Formulación e inducción de la fructificación al sustrato

En esta investigación, se pretendió identificar un sustrato óptimo que favoreció y potenció la fructificación del hongo *Pycnoporus* spp., con el fin de optimizar las condiciones de cultivo para su desarrollo efectivo en ambientes controlados. Se llevó a cabo un análisis de diversas formulaciones de sustratos y su impacto en las variables de crecimiento, desarrollo y producción del hongo, con el propósito de establecer un protocolo estandarizado que permitió reproducir de manera eficiente las condiciones necesarias para la fructificación de esta especie en el laboratorio (**Tabla 5**).

Para el sustrato de bagazo de caña, se secó a 90 °C durante tres días, seguido de una molienda hasta obtener un tamaño de partícula fino (1-2 mm) con el fin de aumentar el área de superficie para la colonización fúngica (**Ehis-Eriakha et al., 2023**), en el caso de suplementos nutricionales, el extracto de levadura se añadió para proporcionar nutrientes adicionales, como vitaminas y minerales, que son esenciales para el crecimiento fúngico (**Rech et al., 2020**). En el cultivo de *Pycnoporus*, la combinación de bagazo con cachaza se ha empleado en la optimización de condiciones del sustrato, mejorando su estructura física y facilitando un entorno más favorable para el desarrollo del micelio, especialmente en etapas iniciales de colonización. (**Abdullahi et al., 2023**).

2.2.2.2 Selección un sustrato óptimo de crecimiento del hongo *Pycnoporus* spp.

Para determinar el mejor sustrato para el crecimiento del hongo, de acuerdo con **Aguilar et al. (2023)**, se basa en la respuesta del hongo a diferentes sustratos, evaluando factores clave como:

- Tiempo de colonización

Durante la incubación, se hicieron observaciones regulares cada 48 horas para verificar el grado de colonización. El tiempo de colonización se registró desde el momento en que el hongo comenzó a crecer (proceso visible a partir del desarrollo de una capa blanca en la superficie del sustrato) hasta cuando cubrió completamente la superficie del sustrato. Un sustrato se considera completamente colonizado cuando el micelio cubre 100% de la superficie visible. Esto generalmente ocurre entre 10 y 15 días, dependiendo del tipo de sustrato (**Cesarino et al., 2024**).

- La biomasa seca

Al finalizar la colonización, se recogió el micelio formado. Para ello, se separó el sustrato colonizado de las partes no colonizadas. El micelio y el sustrato se secaron en una estufa de aire caliente. El proceso de secado se realizó a $60^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta que el peso se mantenga constante. Por último, una vez seca, se realizó el cálculo de la biomasa (**Mendoza et al., 2020**).

$$\text{Biomasa seca (g)} = \text{Peso final seco (g)} - \text{Peso del sustrato seco sin micelio(g)}$$

Ecuación 1

- Formación de cuerpos fructíferos.

Tras completar la colonización y realizar los ajustes en las condiciones ambientales (como la reducción de temperatura a $35-37 \pm 0,5$ °C y un aumento en la humedad relativa de 68%), se permitió que el hongo pase por el proceso de inducción de fructificación. Este proceso comenzó cuando los primeros primordios (pequeños brotes) emergieron a partir del micelio colonizado. Estos primordios continúan creciendo hasta convertirse en los cuerpos fructíferos, que tomaron entre 25 y 28 días para alcanzar su tamaño y forma finales. El color de los cuerpos fructíferos pasó de blanco a los tonos característicos de *Pycnoporus* spp. (rojo, naranja o marrón), indicando que están listos para la producción de esporas (Cesarino et al., 2024).

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Aislamiento del hongo *Pycnoporus spp.*

En la siguiente figura se muestra la purificación del hongo *Pycnoporus spp.* aislado en cajas Petri.

Figura 4

Aislamiento y desarrollo del micelio de Pycnoporus en medio PDA.



Nota: A: Crecimiento del micelio blanquecino en su fase inicial. B: Aparición de la pigmentación anaranjada característica del género en la etapa de adaptación al medio de cultivo.

La pigmentación anaranjada intensa y la estructura lignícola que caracteriza a *Pycnoporus spp.* sobre troncos en descomposición sirvieron como referencia para su identificación y selección como hongo de interés. Se realizó el aislamiento en condiciones in vitro, donde se evidenció un crecimiento micelial inicial de aspecto blanquecino y algodonoso, propio de una fase temprana de colonización y adaptación. Con el transcurso de los días, comenzó a manifestarse una pigmentación anaranjada en los márgenes de las placas, indicativa del avance en el desarrollo del micelio. Esta tonalidad se intensificó progresivamente desde las paredes hasta el centro del inóculo, alcanzando una coloración anaranjada característica. Este cambio visual fue interpretado como una señal positiva de colonización efectiva, asociada con la maduración del hongo **Anexo 1**.

El crecimiento del micelio de *Pycnoporus spp.* en medio PDA se caracterizó por un desarrollo morfológico que incluyó una transición de una coloración blanquecina hacia

una tonalidad anaranjada. Esta secuencia en la pigmentación constituyó un rasgo fenotípico característico (**Schinagl et al., 2023f**). El medio PDA, gracias a sus componentes y nutrientes simples como glucosa y extracto de papa, brindan un entorno favorable en la aceptación inicial del micelio al medio, generando un crecimiento abundante en los primeros días de incubación (**Rich Milton R. & Eduardo J., 2020**). A medida que el micelio completó su desarrollo en el medio, se mantuvieron constantes las condiciones de incubación (**Meng et al., 2022b**). El cambio de tonalidad de blanco a naranja fue un indicador visual de que la madurez del micelio se completó de manera favorable, constituyendo una evidencia de un aislamiento exitoso y de una adaptación efectiva a las condiciones in vitro.

El comportamiento del desarrollo micelial de *Pycnoporus spp.* en medio PDA, bajo condiciones constantes, coincidió con lo reportado en investigaciones recientes. En el presente estudio se observó que el crecimiento inicial presentó una textura algodonosa y blanquecina del micelio, seguida de un cambio progresivo hacia una pigmentación anaranjada. A su vez en la investigación de **Meng et al., (2022c)** se mostró que las cepas de *Pycnoporus sanguineus* cultivadas en medio PDA desarrollaron una coloración rojiza a partir del quinto día de incubación, característica de la producción de metabolitos secundarios como la cinnabarina. De igual manera, **Andrade et al., (2020)** mencionaron que la pigmentación liberada únicamente bajo condiciones específicas se debió a la constancia de temperatura entre 28 y 30 °C, así como a la disponibilidad adecuada de nutrientes, considerados factores esenciales en la presente investigación. A comparación con lo señalado por **Portz et al., (2022b)**, destacaron la estabilidad pigmentaria en medios lignocelulósicos, en esta investigación el medio PDA favoreció un crecimiento micelial uniforme y una pigmentación constante.

La figura muestra cómo la desinfección influye en el crecimiento del hongo *Pycnoporus*, evidenciando un desarrollo más limpio y uniforme en condiciones desinfectadas.

Figura 5

Evaluación comparativa del control morfológico del hongo Pycnoporus.



Nota: Se observa en la figura como influye la desinfección en el crecimiento del micelio. En la imagen B la placa evidencia el desarrollo uniforme y crecimiento radial sin contaminaciones. A diferencia, en la imagen A y C se evidencia contaminación, especialmente en la C, donde la ausencia de un proceso de desinfección afecta a la morfología del micelio.

El efecto del tratamiento sobre el hongo *Pycnoporus* evidencia el impacto del proceso de desinfección en la estructura de la fracción de la muestra original del hongo. Las muestras en cierto caso fueron previamente desinfectadas las cuales presentan un crecimiento homogéneo, además de que su morfología es densa, evidenciando la ausencia de posibles contaminantes. La contaminación de hongos oportunistas al no aplicarse una correcta desinfección provoca una rápida infección por microorganismos contaminantes, impidiendo el desarrollo del micelio de *Pycnoporus* spp.

Para **Lazim et al., (2016)** la aplicación de un protocolo microbiológico permitió identificar, mediante cambios morfológicos del micelio de *Pycnoporus*, los efectos de la contaminación ambiental y del estrés provocado por agentes desinfectantes, evidenciando su rol como bioindicador de viabilidad y alteraciones estructurales. Para **Chan Cupul et al., (2016)** los procesos de desinfección con etanol 70% e hipoclorito de sodio son esenciales para la supresión de las comunidades microbianas competitivas, asegurando así

la pureza del cultivo. Según Téllez (2016) el desarrollo de protocolos de control biológico permite una evaluación en la efectividad de *Pycnoporus sanguineus* permitiendo la inhibición del desarrollo de hongos fitopatógenos y la reducción en la proliferación de *Botrytis cinerea* y *Fusarium oxysporum*.

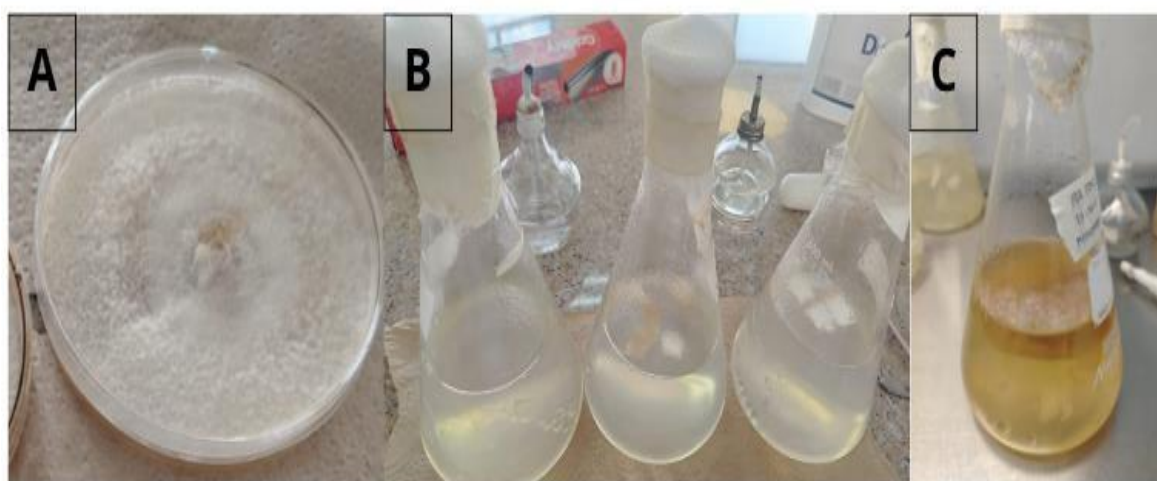
El enfoque de la presente investigación se centró en la morfología micelial como un bioindicador visual de contaminación en *Pycnoporus*. Rentería-Martínez et al., (2019) demostraron que las alteraciones estructurales en la textura y densidad de distintos hongos constituyeron indicadores confiables para identificar situaciones de estrés fúngico. Sin embargo, Cha et al., (2021) en su protocolo de desinfección, priorizaron la desinfección preventiva para suprimir contaminantes biológicos antes del aislamiento. No obstante, en el protocolo establecido en la presente investigación se optó por desinfectantes enzimáticos, los cuales redujeron el daño estructural en comparación con el hipoclorito y el etanol al 70 %, al tener un menor impacto sobre la viabilidad celular Figura 5-B.

3.2. Crecimiento del micelio en cultivo líquido

La figura ilustra el crecimiento del *Pycnoporus spp.* en medios sólido y líquido, evidenciando la capacidad del hongo para desarrollarse en ambas condiciones de cultivo.

Figura 6

Desarrollo micelial del Pycnoporus spp. en medios sólido y líquido.



Nota: La figura muestra la secuencia del cultivo micelial de *Pycnoporus* spp. en laboratorio. A: aislamiento inicial del micelio en medio sólido; B: Traspaso del inóculo a medio líquido en frascos Erlenmeyer; C: crecimiento del micelio en medio líquido.

La **Figura 6** mostró las fases clave del desarrollo del cultivo micelial de *Pycnoporus* spp. bajo condiciones controladas in vitro. En la imagen A se observó el aislamiento del micelio en medio PDA, con un crecimiento superficial característico. Esta etapa inicial permitió identificar fragmentos con mayor capacidad de desarrollo, los cuales continuaron su crecimiento en un entorno líquido enriquecido con nutrientes. El uso de esferas de vidrio generó un leve movimiento al interior del frasco, favoreciendo la dispersión del micelio sin comprometer su estructura. Finalmente, la imagen C evidenció que el crecimiento micelial fue proporcional al tiempo de incubación a 37,5 °C durante 15 días, observándose una biomasa densa, abundante y sedimentada de manera frágil.

Diversos estudios destacaron la influencia de factores nutricionales y físicos en el desarrollo y adaptación del hongo. En medios líquidos, se indicó que el uso de caldo de salvado de arroz con un pH óptimo favoreció significativamente la producción de biomasa micelial bajo condiciones de 28 °C, baja iluminación y agitación constante, lo que permitió alcanzar una alta concentración de micelio. En estos casos, se evidenció una marcada proliferación micelial en este tipo de medios (**Aguilar et al., 2023d**). En otro contexto, los medios sólidos como PDA han demostrado un crecimiento radial de *P. sanguineus*, cubriendo la superficie de la placa Petri completamente en el lapso de 4 a 5 días a 25±1°C (**Sánchez & Montoya, 2020**).

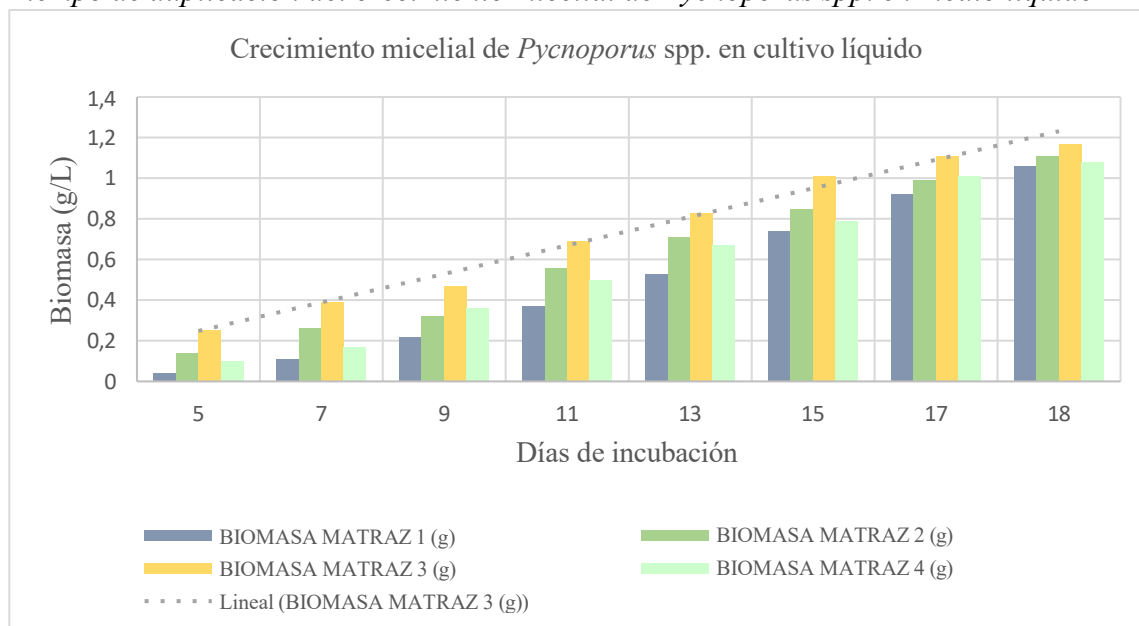
El crecimiento micelial observado en el presente estudio evidenció la eficacia del medio líquido suplementado con extracto de papa y dextrosa, lo cual incrementó la colonización y promovió una mayor densidad y homogeneidad del micelio. Este resultado coincidió con lo reportado (Fabros et al., 2023a), quienes señalan que gran parte de los hongos silvestres pueden desarrollarse eficazmente en cultivos sumergidos, beneficiándose del aporte nutricional y de la oxigenación que estos ofrecen. Por otra parte, **Portz et al., (2022b)** indican que la morfología del micelio puede variar según las condiciones físicas y nutricionales del entorno. De acuerdo con lo observado, la morfología del micelio en la

muestra suspendida en la superficie del medio presentó simultáneamente una coloración blanquecina y anaranjada. A su vez, **Ijoma & Tekere, (2017)** enfatizan que la adaptación del hongo también se atribuyó a las condiciones controladas de incubación mantenidas durante un rango constante de días, lo que favoreció la proliferación de la biomasa. En este caso, la incubación se mantuvo de forma parcial, evidenciando una buena adaptación del micelio a las condiciones establecidas **Anexo 2**.

La figura muestra el crecimiento de *Pycnoporus* spp. en medio líquido, destacando al matraz 3 por su mayor producción de biomasa.

Figura 7

Tiempo de duplicación del crecimiento micelial de Pycnoporus spp. en medio líquido



Nota: La gráfica muestra el tiempo de duplicación del crecimiento micelial de *Pycnoporus* spp. en cultivo líquido para cada uno de los cuatro matraces evaluados. El matraz 3 presentó el mayor tiempo de duplicación, mientras que el matraz 4 fue el más eficiente, indicando una mayor tasa de crecimiento.

La **Figura 7** muestra el crecimiento del micelio de *Pycnoporus* spp. en medio líquido, expresado como biomasa seca entre los días 5 y 18 de incubación. Se observa una tendencia creciente en todos los tratamientos, con variaciones en la velocidad de acumulación de biomasa entre los cuatro matraces. El matraz 3 presentó los valores más

altos en casi todos los puntos de muestreo, lo que indica un rendimiento superior en términos de desarrollo micelial. En contraste, el matraz 1 tuvo un crecimiento más moderado. La línea de tendencia aplicada al matraz 3 confirma su progresión constante. Estos resultados reflejan la capacidad adaptativa del hongo bajo condiciones líquidas y resaltan la eficiencia del tratamiento aplicado en el matraz 3 para promover la acumulación de biomasa.

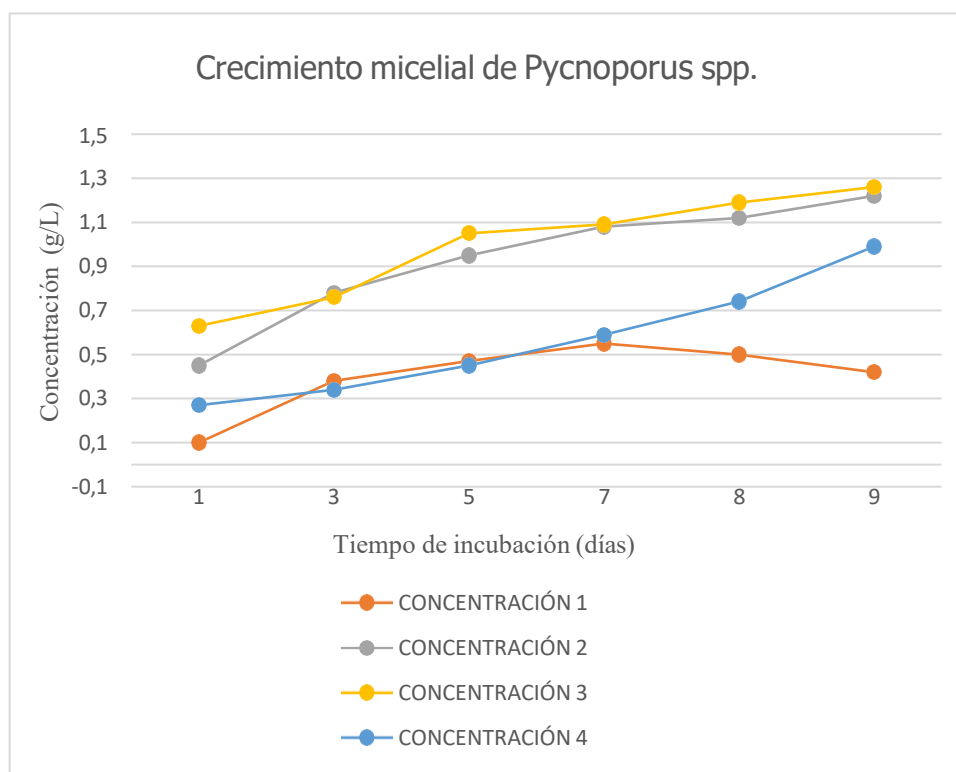
La biomasa seca del micelio de *Pycnoporus spp.* en cultivo líquido mostró un crecimiento progresivo y sostenido entre los días 5 y 18, alcanzando valores máximos de aproximadamente 1,17 g en el matraz 3. Este patrón es consistente con estudios recientes; **Aguilar et al., (2023)** reportaron un incremento de la biomasa de *P. sanguineus* en cultivos sumergidos, registrando valores de hasta 10,2 g/L tras 25 días de incubación. Del mismo modo, investigaciones sobre hongos filamentosos han demostrado que el peso seco es un método confiable para estimar la biomasa, siempre y cuando se realice correctamente la deshidratación y homogeneización de la muestra. La biomasa seca de *Pycnoporus spp.* mostró un incremento progresivo en cultivo líquido, similar a lo reportado por **Mendoza et al., (2020)** quienes destacaron que periodos de incubación prolongados favorecen la acumulación micelial. El matraz 3 presentó el mayor rendimiento, confirmando la utilidad de la biomasa seca como indicador fiable del crecimiento en medios líquidos.

En el presente estudio, la biomasa seca de *Pycnoporus spp.* alcanzó un valor máximo de aproximadamente 1,17 g en el matraz 3 al día 18 de incubación, superando los valores reportados por **Mendoza et al., (2020)**, quienes observaron un incremento de biomasa de 0,24 g a 0,51 g en cultivos sumergidos de *P. sanguineus* durante 25 días. Esta diferencia puede atribuirse tanto a las condiciones específicas del medio como a la formulación nutricional empleada, lo cual influyó directamente en la eficiencia del crecimiento micelial. Asimismo, **Aguilar et al., (2023e)** registraron concentraciones de hasta 10,2 g/L de biomasa seca bajo condiciones controladas en agitación constante, destacando que los parámetros físicos del sistema pueden acelerar o limitar la acumulación fúngica. De igual forma, estudios como el de **Fabros et al., (2023b)**, confirmaron que medios líquidos enriquecidos favorecen la proliferación micelial en especies lignocelulolíticas **Anexo 3**.

Las Figuras A y B muestran el crecimiento de *Pycnoporus spp.* según concentración y absorbancia, destacando mayor eficiencia en ciertos matraces.

Figura 8

Cinética de crecimiento de biomasa de *Pycnoporus spp.*



Nota: La gráfica muestra la concentración de *Pycnoporus spp.*. Los matraces 2 y 3 destacaron por su mayor crecimiento, el matraz 1 presentó una disminución desde el día 5 y el matraz 4 mantuvo un ascenso constante.

Las gráficas A y B muestran la cinética de crecimiento de *Pycnoporus spp.* evaluada mediante absorbancia a 620 nm y concentración estimada de biomasa durante el periodo de incubación. En ambas representaciones, los matraces 2 y 3 reflejaron un comportamiento similar, con un crecimiento progresivo y sostenido a lo largo del tiempo, alcanzando los valores más altos hacia el final del ensayo. En contraste, el matraz 1 presentó una disminución evidente a partir del día 5, lo que sugiere una posible fase de declive temprano. Por otro lado, el matraz 4 mostró una tendencia ascendente continua, aunque con valores más moderados, manteniendo una curva estable hasta el día 9.

Con base en la cinética de crecimiento representada en la **Figura 8**, se evidenció un comportamiento diferencial entre los cuatro matraces, evaluado mediante absorbancia a 620 nm. En hongos como *Pycnoporus*, el crecimiento se valoró en términos de concentración celular o densidad óptica (Aguilar et al., 2023f). La fase lag representó el período de adaptación del micelio al nuevo medio, seguida por la fase exponencial, en la cual las células se dividieron y la biomasa se incrementó rápidamente (**Andlar et al., 2018**). Posteriormente, en la fase estacionaria, el crecimiento neto se interrumpió debido al agotamiento de nutrientes o a la acumulación de metabolitos que inhibieron el desarrollo, lo que afectó la producción de enzimas extracelulares (**Shanmugasundaram et al., 2019b**). Finalmente, en la fase de descenso, la biomasa se redujo como consecuencia de procesos de apoptosis. Diversos estudios evidenciaron que, en el crecimiento de hongos, existió una variabilidad en la cinética según el inóculo y el tipo de medio utilizado, lo que enfatizó la importancia del monitoreo constante durante el cultivo **Anexo 4** .

Durante la fase exponencial, los resultados mostraron que en los matraces 2 y 3 se alcanzaron valores de absorbancia de hasta 1.3 entre los días 1 y 5, lo que indicó un crecimiento micelial sostenido de *Pycnoporus spp.* en medio PDB. Este comportamiento coincidió con lo reportado por **Shanmugasundaram et al., (2019)**, quienes señalaron que el crecimiento óptimo de *P. sanguineus* en medio líquido alcanza una densidad óptica cercana a 1.2 bajo condiciones aerobias. De manera similar **Rajoriya et al., (2021)** destacaron que la fase logarítmica en medios lignocelulósicos, entre los días 2 y 6, presentó una cinética comparable a la observada en esta investigación. En contraste, el matraz 1 evidenció una disminución significativa en el día 5, lo que sugiere una posible inhibición metabólica o condición de estrés. En este sentido, **Andlar et al., (2018)** indicaron que en cultivos fúngicos sometidos a limitaciones nutricionales puede generarse una acumulación de metabolitos secundarios que afecta negativamente el desarrollo micelial.

3.3. Formulación de sustrato y comparación del efecto en la biomasa de *Pycnoporus spp.*

Se evaluaron distintas formulaciones de sustratos para el cultivo de *Pycnoporus spp.*, considerando su composición y propiedades fisicoquímicas. La tabla resume los tratamientos aplicados.

Tabla 6

*Composición de sustratos y propiedades fisicoquímicas utilizadas en el cultivo de *Pycnoporus spp.**

Tratamiento	Aserrín (g)	Paja de trigo (g)	Bagazo (g)	Cascarilla de arroz (g)	
M1	408	90	91	91	
M2	90	408	91	91	
M3	91	91	408	90	
M4	91	90	91	408	

Tratamiento	pH	Porosidad (%)	Cenizas (%)	Carbono (%)	Humedad (%)
M1	6,04	61,2	7,45	92,6	62,8
M2	6,25	66,2	8,23	91,8	65,1
M3	6,57	68,2	8,5	91,5	67,4
M4	6,06	57,7	4,63	95,4	65,2

Nota: Representa las proporciones de sustratos utilizados en cada tratamiento, así como sus propiedades fisicoquímicas. El tratamiento M4, con mayor proporción de cascarilla de arroz, contiene propiedades que influye directamente en el desarrollo micelial de *Pycnoporus spp.*.

La **Tabla 1** presenta el análisis comparativo de la biomasa seca generada por *Pycnoporus spp.* en los cuatro tratamientos formulados con distintas combinaciones de sustratos. En la sección superior se detallan las cantidades de aserrín, paja de trigo, bagazo y cascarilla de arroz utilizadas en cada tratamiento **Anexo 5**, mientras que la sección inferior incluye los valores fisicoquímicos de cada formulación. Entre los parámetros evaluados se encuentran el pH, la porosidad, el contenido de cenizas, carbono y humedad, todos ellos

factores que pueden influir directamente en la eficiencia del crecimiento micelial y en la acumulación de biomasa.

La caracterización de los sustratos en los tratamientos M1 a M4 revela que las propiedades fisicoquímicas como el pH, la humedad y la porosidad influyen directamente en el rendimiento de *Pycnoporus spp.* **Anexo 6**. Estas variables afectan la aireación, la retención de agua y la disponibilidad de nutrientes en el sustrato, condicionando el desarrollo micelial. La combinación de residuos lignocelulósicos utilizados permitió establecer diferencias claras en la producción de biomasa. Para confirmar estos resultados, se aplicaron análisis estadísticos **Anexo 7**, mediante ANOVA y prueba de Tukey, que demostraron diferencias significativas entre tratamientos (**Correa-Pacheco et al., 2018**). Los gráficos de error estándar facilitaron la comparación entre medias ajustadas, fortaleciendo la interpretación de la variabilidad intergrupala (**Rivas Rosero, 2018**). Además, el uso de diagramas de cajas permitió visualizar la distribución y simetría de los datos, así como la presencia de valores atípicos (**Salinas Sánchez et al., 2022b**). Estas herramientas fueron fundamentales para validar el efecto de las formulaciones sobre el comportamiento fúngico, tal como se ha reportado en otros estudios con hongos ligninolíticos **Anexo 8 (Rentería-Martínez et al., 2018)**.

Los tratamientos T3 y T4 presentaron los mejores resultados en la producción de biomasa seca de *Pycnoporus spp.*, destacando por el uso de bagazo (T3) y cascarilla de arroz (T4) como sustratos principales. Según la **Tabla 2**, ambos tratamientos mostraron mayor contenido de humedad, carbono y porosidad, condiciones que favorecen la colonización micelial **Anexo 9**. En las gráficas A, B y C se evidencia que T3 y T4 alcanzaron los valores promedio más altos de biomasa (1,26 g y 1,13 g, respectivamente) y menor desviación estándar ($\pm 0,03$), lo que indica estabilidad entre réplicas. La prueba ANOVA mostró diferencias significativas entre tratamientos ($F = 52,65$; $p < 0,0001$), confirmadas mediante el análisis de Tukey (ver Figuras D y E **Anexo 10**). Estas herramientas estadísticas permiten validar la influencia del tipo de sustrato en el rendimiento micelial (**Manterola et al., 2018**). Además señalan **Schimpf & Schulz (2016)**, que el uso de boxplots permite identificar valores extremos y evaluar la distribución de datos, mientras

que (Portz et al., 2022b) destacan que estos métodos son esenciales en estudios de eficiencia biotecnológica con hongos ligninolíticos.

3.4. Análisis de las propiedades fisicoquímicas del sustrato

Comparación de las propiedades fisicoquímicas de sustratos, el tratamiento M3 y M4 muestran mejores características.

Tabla 7

Resumen comparativo entre tratamientos según las propiedades fisicoquímicas de los sustratos por tratamientos.

Tratamiento	pH	Significancia	Porosidad (%)	Cenizas (%)	Carbono (%)	Humedad (%)
M1(A)	6,04 ± 0,02	a	61,2	7,45	92,6	62,8
M2(B)	6,25 ± 0,00	a	66,2	8,23	91,8	65,1
M3(C)	6,57 ± 0,26	b	68,2	8,50	91,5	67,4
M4(D)	6,06 ± 0,24	a	57,7	4,63	95,4	65,2

Nota: Los valores promedios de las principales características fisicoquímicas de los sustratos. Estos parámetros caracterizan la estructura, composición orgánica y capacidad de retención de humedad según los tratamientos de los sustratos para el mejor desarrollo de *Pycnoporus*.

La **Tabla 10** resume las propiedades fisicoquímicas de los tratamientos aplicados, destacando diferencias en el pH entre grupos según el análisis de Tukey HSD. El tratamiento M3(C) presentó un pH significativamente mayor ($6,57 \pm 0,26$) respecto a M1(A), M2(B) y M4(D), los cuales no mostraron diferencias significativas entre sí, como lo indican las letras de significancia. Además, M3 registró los valores más altos en porosidad (68,2 %) y humedad (67,4 %), lo que sugiere una estructura más aireada y una

mayor capacidad de retención hídrica, condiciones favorables para el crecimiento de *Pycnoporus spp.* Por otro lado, M4 presentó el mayor contenido de carbono (95,4 %) y el valor más bajo de cenizas (4,63 %), lo cual también puede influir positivamente en la eficiencia del desarrollo micelial. Estos parámetros confirman que las propiedades fisicoquímicas del sustrato afectan directamente el rendimiento biológico del hongo **Anexo 11.**

La comparación de los valores de pH en los tratamientos M1 a M4 mediante la prueba de Tukey permitió identificar diferencias significativas entre M1 y M3, así como entre M3 y M4 ($p < 0,05$), mientras que los demás pares no presentaron diferencias estadísticas. Esto indica que el tratamiento M3 posee un pH significativamente mayor, lo cual puede favorecer el crecimiento micelial **Anexo 12.** Según **Makarenkova et al., (2021)**, las variaciones en el pH del sustrato influyen directamente en la producción enzimática de hongos ligninolíticos. Asimismo, factores como porosidad y humedad influyen en la disponibilidad de oxígeno y agua para el micelio, afectando su rendimiento **Anexo 13 (Zhou et al., 2018)**. En la **Tabla 3** se observa que M3 presentó los valores más altos de porosidad (68,2 %) y humedad (67,4 %), condiciones óptimas para el desarrollo de *Pycnoporus spp* **Anexo 14 - Anexo 15.**

Los valores de pH promedio obtenidos en tu estudio ($M3/C = 6,57 \pm 0,26$) se alinean con los hallazgos de Portz et al. (2024), quienes cultivaron *P. sanguineus* en compost de aserrín y bagazo, reportando un pH óptimo alrededor de 6,0–6,5 para un crecimiento eficiente (Portz et al., 2024). Asimismo, la influencia del tamaño de partícula en el sustrato fue confirmada por Portz et al., (2022c), quienes observaron que granulometrías menores ($< 500 \mu m$) favorecen producción de biomasa y pigmentos como la cinnabarina en *P. sanguineus*. En términos de estabilidad enzimática y actividad del micelio, se ha reportado que enzimas ligninolíticas, como la lacasa de *Trametes versicolor* presentan mayor estabilidad en rangos de pH entre 4,0 y 6,0 (**Uber et al., 2025**), lo cual coincide con tu tramo de pH (6,06–6,57) que favoreció mejor porosidad y humedad en M3 **Anexo 16.** Estos resultados respaldan que formulaciones con medio pH adecuado y humedad controlada permiten optimizar el crecimiento y producción de metabolitos en hongos

ligninolíticos, todo esto se realizó aplicando las fórmulas correspondientes según el análisis requerido **Anexo 17**.

3.5. Fructificación

La tabla resume la respuesta de fructificación macroscópica observada en cada tratamiento. Se destaca T4 como el único que presentó desarrollo visible del cuerpo fructífero.

Tabla 8

*Presencia de fructificación macroscópica en los tratamientos evaluados de *Pycnoporus**

Tratamiento	Fructificación	Nivel de fructificación	Observación
1	No	1	Solo micelio; sin estructuras reproductivas.
2	No	2	Micelio esparcido, sin fructificación visible.
3	No	1	Colonización inicial del sustrato.
4	Si	3	Fructificación activa; pigmentación rojiza visible (Ver anexo).

Nota: Se registra presencia visual de cuerpos fructíferos únicamente en el tratamiento T4. Los tratamientos T1, T2 y T3 mostraron crecimiento micelial parcial, sin desarrollo evidente de estructuras reproductivas.

La **Tabla 4** presenta la bolsa correspondiente al tratamiento T4, en la cual se evidenció la formación del cuerpo fructífero de *Pycnoporus spp.* visible por la coloración rojiza y el crecimiento superficial del micelio. Este tratamiento fue el único que logró inducir la fructificación bajo las condiciones evaluadas, mientras que en los demás solo se observó desarrollo micelial sin estructuras reproductivas. Este resultado resalta la eficacia del sustrato utilizado en T4 para estimular el ciclo reproductivo del hongo (Ver anexo).

La fructificación en hongos basidiomicetos, como *Pycnoporus spp.*, dependen de múltiples factores físicos y químicos del sustrato, entre ellos la disponibilidad de nutrientes, la relación carbono/nitrógeno, la estructura del sustrato y la aireación. La formación de cuerpos fructíferos es generalmente inducida cuando el micelio ha colonizado completamente el medio y se expone a estímulos como reducción de nutrientes, luz, humedad elevada y temperaturas específicas (**Pelkmans et al., 2016**). Estudios en hongos lignocelulósicos han demostrado que la formulación del sustrato es determinante para alcanzar una fructificación eficiente, siendo fuentes ricas en celulosa y con buena porosidad más favorables (**Carrasco et al., 2018**). En particular, la baja concentración de sales y un buen equilibrio hídrico en el sustrato han sido asociados a una mayor inducción de cuerpos fructíferos (**Fernández-Fueyo et al., 2019**). Aunque en esta investigación el tratamiento T4 generó fructificación visible, esto se atribuye a una combinación más adecuada de condiciones fisicoquímicas, como se ha documentado en estudios con otros hongos blancos responsables de degradación de lignina.

Durante la evaluación experimental, solo el tratamiento T4 logró inducir fructificación visible, lo que sugiere que su formulación contenía una combinación favorable de propiedades fisicoquímicas, como mayor contenido de carbono (95,4 %), menor porcentaje de cenizas (4,63 %) y una humedad equilibrada (65,2 %). Esta respuesta contrasta con los tratamientos T1, T2 y T3, en los que no se observó formación del cuerpo fructífero, a pesar de presentar altos valores de porosidad **Anexo 16**. Resultados similares fueron reportados por **Suwannarach et al., (2022)**, quienes concluyeron que un contenido de carbono por encima del 90 % junto con baja carga mineral favorece la inducción de fructificación en hongos lignocelulósicos. Asimismo, **Carrasco et al., (2018)** observaron que formulaciones con alta relación C/N y estructura porosa balanceada incrementan la eficiencia reproductiva en especies de interés biotecnológico. De manera complementaria, **Lin et al., (2022)** destacaron que factores como la disponibilidad de oxígeno, la retención de humedad y la calidad estructural del sustrato desempeñan un rol clave en la diferenciación del micelio hacia estructuras reproductivas.

CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

Se logró optimizar las variables nutricionales y ambientales para el cultivo de *Pycnoporus spp.* en diferentes medios de cultivo, destacándose que las formulaciones T3 (mayor concentración de bagazo de caña) y T4 (mayor concentración de cascarilla de arroz) permitieron un crecimiento micelial robusto y una biomasa superior. El tratamiento T4 fue el único que mostró fructificación visible, evidenciando su potencial para escalado industrial.

El proceso de aislamiento en medio PDA permitió una colonización eficiente del micelio, con transición de color blanco a naranja como indicador de viabilidad. El protocolo de desinfección fue clave para evitar contaminaciones y mantener la morfología característica de *Pycnoporus spp.* En medios líquidos suplementados con peptona y dextrosa, se alcanzó una biomasa máxima de 1,27 g en el día 18 de incubación, destacando el matraz 3 por su eficiencia. Los análisis de absorbancia confirmaron la cinética de crecimiento esperada en fases logarítmicas sostenidas.

El tratamiento M4 (mayor concentración de cascarilla de arroz) fue el que indujo fructificación visible en *Pycnoporus spp.*, gracias a su alto contenido de carbono, baja proporción de cenizas y adecuada humedad. Estas condiciones generaron un entorno favorable para la diferenciación del micelio, consolidando a T4 como la formulación más prometedora para protocolos de producción reproductiva en contextos industriales.

4.1 RECOMENDACIONES

Se recomienda implementar la formulación del tratamiento T4 a escala semindustrial, considerando condiciones controladas de humedad, temperatura y aireación, con el fin de validar su viabilidad técnica y productiva en contextos de cultivo extensivo de *Pycnoporus spp.*

Se sugiere complementar futuras investigaciones con análisis enzimáticos y metabolómicos, tales como espectrofotometría o cromatografía líquida, que permitan cuantificar la producción de lacasas y metabolitos bioactivos durante el crecimiento micelial y la fructificación.

Se aconseja evaluar nuevas combinaciones del sustrato base de cascarilla de arroz con fuentes suplementarias de nitrógeno o compuestos minerales, con el objetivo de potenciar el rendimiento de biomasa y mejorar la consistencia en la inducción de cuerpos fructíferos.

MATERIAL DE REFERENCIA

- Aguilar, J. S., Dulay, R. M. R., Kalaw, S. P., & Reyes, R. G. (2023a). Optimal liquid culture conditions and bioactivity of *Pycnoporus sanguineus*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 13,(4), 096-104. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2023.51227>
- Andlar, M., Rezić, T., Marđetko, N., Kracher, D., Ludwig, R., & Šantek, B. (2018). Lignocellulose degradation: An overview of fungi and fungal enzymes involved in lignocellulose degradation. *Engineering in Life Sciences*, 18(11), 768-778. <https://doi.org/10.1002/elsc.201800039>
- Andrade, W. E. G., Insuasti, J. A. P., & Checa, A. (2020). *Banco de recursos genéticos para Pycnoporus spp.* 3.
- Carrasco, J., Zied, D. C., Pardo, J. E., Preston, G. M., & Pardo-Giménez, A. (2018). Supplementation in mushroom crops and its impact on yield and quality. *AMB Express*, 8(1), 146. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0678-0>
- Cha, H.-J., Chiang, M. W. L., Guo, S.-Y., Lin, S.-M., & Pang, K.-L. (2021). Culturable Fungal Community of *Pterocladiella capillacea* in Keelung, Taiwan: Effects of Surface Sterilization Method and Isolation Medium. *Journal of Fungi*, 7(8), 651. <https://doi.org/10.3390/jof7080651>
- Chan Cupul, W., Heredia Abarca, G. P., Rodríguez Vázquez, R., 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. <https://doi.org/10.20937/RICA.2016.32.03.08>
- Chaurasia, B. (2024a). A Review on *Pycnoporus sanguineus* Based Biotechnological Approaches for Bioremediation of Industrial Waste. *Kavaka*, 60(Special Issue), 138-145. <https://doi.org/10.36460/Kavaka/60/sp/2024/138-145>
- Cheute, V. M. S., Uber, T. M., dos Santos, L. F. O., Backes, E., Dantas, M. P., Contato, A. G., Castoldi, R., de Souza, C. G. M., Corrêa, R. C. G., Bracht, A., & Peralta, R. M. (2024a). Biotransformation of Pollutants by *Pycnoporus* spp. in Submerged and

- Solid-State Fermentation: Mechanisms, Achievements, and Perspectives. *Biomass*, 4(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/biomass4020015>
- Cheute, V. M. S., Uber, T. M., dos Santos, L. F. O., Backes, E., Dantas, M. P., Contato, A. G., Castoldi, R., de Souza, C. G. M., Corrêa, R. C. G., Bracht, A., & Peralta, R. M. (2024b). Biotransformation of Pollutants by *Pycnoporus* spp. in Submerged and Solid-State Fermentation: Mechanisms, Achievements, and Perspectives. *Biomass*, 4(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/biomass4020015>
- Correa-Pacheco, Z. N., Bautista-Baños, S., Hernández-López, M., & Marquina-Valle, M. Á. (2018). Evaluación de nanoformulaciones en el desarrollo in vitro de hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 36(3). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1803-2>
- dos Santos, D. M. R. C., Albuquerque, F., Silva, T. P., Ferreira, A. N., Machado, S. S., da Luze, J. M. R., & Pereira, H. J. V. (2023). Production, Purification, Characterization, and Application of Halotolerant and Thermostable Endoglucanase Isolated from *Pycnoporus sanguineus*. *Waste and Biomass Valorization*, 14(10), 3211-3222. <https://doi.org/10.1007/s12649-023-02175-8>
- Fabros, J. A., Lazo, M. K. M., Magpantay, J. E. S., Abon, M. D., Dulay, R. M. R., Kalaw, S. P., Reyes, R. G., Fabros, J. A., Lazo, M. K. M., Magpantay, J. E. S., Abon, M. D., Dulay, R. M. R., Kalaw, S. P., & Reyes, R. G. (2023a). The effect of nutritional and physical factors on the growth of *Trametes versicolor* (L.) Lloyd and its mycochemical and cytotoxic properties. *Studies in Fungi*, 8(1). <https://doi.org/10.48130/SIF-2023-0018>
- Feng, M., Zhou, J., Yu, X., Wang, H., Guo, Y., & Mao, W. (2021a). Bioremediation of triphenyl phosphate by *Pycnoporus sanguineus*: Metabolic pathway, proteomic mechanism and biotoxicity assessment. *Journal of Hazardous Materials*, 417, 125983. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125983>
- Gauna, A., Larran, A. S., Feldman, S. R., Permingeat, H. R., & Perotti, V. E. (2020). Secretome characterization of the lignocellulose-degrading fungi *Pycnoporus sanguineus* and *Ganoderma applanatum* (p. 2020.09.22.308908). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.09.22.308908>

- Gauna, A., Larran, A. S., Feldman, S. R., Permingeat, H. R., & Perotti, V. E. (2021). Secretome characterization of the lignocellulose-degrading fungi *Pycnoporus sanguineus* and *Ganoderma resinaceum* growing on *Panicum prionitis* biomass. *Mycologia*, 1-14. <https://doi.org/10.1080/00275514.2021.1922249>
- Henske, J. K., Springer, S. D., O'Malley, M. A., & Butler, A. (2018). El análisis de expresión diferencial basado en sustrato revela el control de las enzimas degradadoras de biomasa en *Pycnoporus cinnabarinus*. *Biochemical Engineering Journal*, 130, 83-89. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2017.11.015>
- Ijoma, G. N., & Tekere, M. (2017). Potential microbial applications of co-cultures involving ligninolytic fungi in the bioremediation of recalcitrant xenobiotic compounds. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 14(8), 1787-1806. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1269-3>
- Lazim, A. M., Azman, I., Yusoff, S. F. M., Hassan, N. I., Fazry, S., & Arip, M. N. M. (2016). Síntesis y caracterización del recubrimiento de madera de poliacrilamida-almidón de tubérculo de *Dioscorea hispida* sp. Y su fácil inhibición hacia *Pycnoporus sanguineus* y *Coptotermes curvignathus*. *Progress in Organic Coatings*, 99, 182-190. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2016.05.022>
- Lim, C. L., Yang, C.-H., Pan, X.-Y., Tsai, H.-Y., Chen, C.-Y., & Chen, W.-L. (2024a). Different wavelengths of LED irradiation promote secondary metabolite production in *Pycnoporus sanguineus* for antioxidant and immunomodulatory applications. *Photochemical & Photobiological Sciences: Official Journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology*, 23(5), 987-996. <https://doi.org/10.1007/s43630-024-00569-8>
- Lin, R., Zhang, L., Yang, X., Li, Q., Zhang, C., Guo, L., Yu, H., & Yu, H. (2022). Responses of the Mushroom *Pleurotus ostreatus* under Different CO₂ Concentration by Comparative Proteomic Analyses. *Journal of Fungi*, 8(7), 652. <https://doi.org/10.3390/jof8070652>
- Makarenkova, G., Balode, V., Zala, D., Azena, E., Rapoport, A., & Muiznieks, I. (2021). Effect of Pretreated Colza Straw on the Growth and Extracellular Ligninolytic Enzymes Production by *Lentinula edodes* and *Ganoderma lucidum*. *Fermentation*, 7(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/fermentation7030157>

- Manterola, C., Grande, L., Otzen, T., García, N., Salazar, P., Quiroz, G., Manterola, C., Grande, L., Otzen, T., García, N., Salazar, P., & Quiroz, G. (2018). Confiabilidad, precisión o reproducibilidad de las mediciones. Métodos de valoración, utilidad y aplicaciones en la práctica clínica. *Revista chilena de infectología*, 35(6), 680-688. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182018000600680>
- Mendoza, W. C., Dulay, R. M. R., Valentino, M. J. G., & Reyes, R. G. (2020). Mycelial biomass and biological activities of Philippine mushroom *Pycnoporus sanguineus* in time-course submerged culture. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 8(5), 88-93. <https://doi.org/10.7324/JABB.2020.80512>
- Meng, D., Shao, X., Luo, S.-P., Tian, Q.-P., & Liao, X.-R. (2022a). Pigment production by a newly isolated strain *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L7 in solid-state fermentation. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1015913>
- Miyauchi, S., Hage, H., Drula, E., Lesage-Meessen, L., Berrin, J.-G., Navarro, D., Favel, A., Chaduli, D., Grisel, S., Haon, M., Piumi, F., Levasseur, A., Lomascolo, A., Ahrendt, S., Barry, K., LaButti, K. M., Chevret, D., Daum, C., Mariette, J., ... Rosso, M.-N. (2020). Conserved white-rot enzymatic mechanism for wood decay in the Basidiomycota genus *Pycnoporus*. *DNA Research: An International Journal for Rapid Publication of Reports on Genes and Genomes*, 27(2), dsaa011. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsaa011>
- Pelkmans, J. F., Lugones, L. G., & Wösten, H. A. B. (2016). 15 Fruiting Body Formation in Basidiomycetes. En J. Wendland (Ed.), *Growth, Differentiation and Sexuality* (pp. 387-405). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-25844-7_15
- Pernía, B., Urbina, H., González, M., Sena, L., Villasana, Y., & Naranjo-Briceño, L. (2021). *Trametes coccinea* IDEA, un hongo súper productor de lacasa aislado de un lago natural de asfalto: Tolerancia y biotransformación de hidrocarburos policíclicos aromáticos. *Bionatura*, 3(3), 1924-1934. <https://doi.org/10.21931/RB/2021.06.03.7>
- Pięt, M., Zając, A., Paduch, R., Jaszek, M., Frant, M., Stefaniuk, D., Matuszewska, A., & Grzywnowicz, K. (2021). Chemopreventive activity of bioactive fungal fractions

- isolated from milk-supplemented cultures of *Cerrena unicolor* and *Pycnoporus sanguineus* on colon cancer cells. *3 Biotech*, *11*(1), 5. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02591-w>
- Portz, T. M., Mioranza, T. M., Stangarlin, J. R., & Kuhn, O. J. (2022a). Substrate with lignocellulosic residues for *Pycnoporus sanguineus* cultivation. *Revista Caatinga*, *35*, 243-253. <https://doi.org/10.1590/1983-21252022v35n201rc>
- Rajoriya, S., Saharan, V. K., Pundir, A. S., Nigam, M., & Roy, K. (2021). Adsorption of methyl red dye from aqueous solution onto eggshell waste material: Kinetics, isotherms and thermodynamic studies. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, *4*, 100180. <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2021.100180>
- Rawal, R. S., Mehant, A., & Suman, S. K. (2023). Deciphering ligninolytic enzymes in the secretome of *Pycnoporus* sp. And their potential in degradation of 2-chlorophenol. *Environmental Science and Pollution Research International*, *30*(40), 92830-92841. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-28932-9>
- Rech, G., Lopes Da Silva, L., Silva, K., Mendes Silva, T., Fontana, R. C., Salvador, M., Parmegiani Jahn, M., & Camassola, M. (2020). Lipid-lowering effect of *Pinus* sp. Sawdust and *Pycnoporus sanguineus* mycelium in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Food Biochemistry*, *44*(8). <https://doi.org/10.1111/jfbc.13247>
- Rentería-Martínez, M. E., Guerra-Camacho, M. Á., Ochoa-Meza, A., Moreno-Salazar, S. F., Meza-Moller, A. del C., Guzmán-Ortíz, J. M., Rentería-Martínez, M. E., Guerra-Camacho, M. Á., Ochoa-Meza, A., Moreno-Salazar, S. F., Meza-Moller, A. del C., & Guzmán-Ortíz, J. M. (2019). Descripción y comparación entre morfotipos de *Fusarium brachygibbosum*, *F. falciforme* y *F. oxysporum* patogénicos en sandía cultivada en Sonora, México. *Revista mexicana de fitopatología*, *37*(1), 16-34. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1808-1>
- Rentería-Martínez, M. E., Guerra-Camacho, M. Á., Ochoa-Meza, A., Moreno-Salazar, S. F., Varela-Romero, A., Gutiérrez-Millán, L. E., & Meza-Moller, A. D. C. (2018). Análisis filogenético multilocus del complejo fúngico asociado a pudrición radicular de sandía en Sonora, México. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, *36*(2). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1710-1>

- Rich Milton R., D., & Eduardo J., D. J. (2020). The successful cultivation of Philippine wild mushroom *Pycnoporus sanguineus* (BIL7137) using rice straw and sawdust-based substrate. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*. <https://doi.org/10.7324/JABB.2020.80509>
- Rivas Rosero, C. A. (2018). Estudio comparativo de la acción *Pycnoporus sanguineus* sobre tres residuos lignocelulósicos para la obtención de biomasa fúngica en fermentación en estado sólido. *SATHIRI*, 7, 207. <https://doi.org/10.32645/13906925.359>
- Salinas Sánchez, S. D., López-Sandin, I., Hernández-Luna, C. E., Contreras-Cordero, J. F., Méndez-Zamora, G., Hernández-Martínez, C. A., Gutiérrez-Soto, G., Salinas Sánchez, S. D., López-Sandin, I., Hernández-Luna, C. E., Contreras-Cordero, J. F., Méndez-Zamora, G., Hernández-Martínez, C. A., & Gutiérrez-Soto, G. (2022a). Uso de cepas de *Pycnoporus sanguineus* para la producción de enzimas con potencial uso en la industria de la panificación. *Biotecnia*, 24(1), 62-68. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v24i1.1529>
- Sánchez, Ó. J., & Montoya, S. (2020). Assessment of Polysaccharide and Biomass Production from Three White-Rot Fungi by Solid-State Fermentation Using Wood and Agro-Industrial Residues: A Kinetic Approach. *Forests*, 11(10), 1055. <https://doi.org/10.3390/f11101055>
- Schimpf, U., & Schulz, R. (2016). Industrial by-products from white-rot fungi production. Part I: Generation of enzyme preparations and chemical, protein biochemical and molecular biological characterization. *Process Biochemistry*, 51(12), 2034-2046. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.08.032>
- Schinagl, C. W., Siewert, B., Hammerle, F., Spes, G., Peintner, U., Schlierenzauer, M., & Vrabl, P. (2023a). Growth, morphology, and formation of cinnabarin in *Pycnoporus cinnabarinus* in relation to different irradiation spectra. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 22(12), 2861-2875. <https://doi.org/10.1007/s43630-023-00493-3>
- Shanmugasundaram, P., Saroj Kumar, S., Ubaid, R., Mahasampath Gowri, S., Easwaramoorthy, D., & Hemalatha, S. (2019b). Novel curcumin analogs act as antagonists to control nosocomial infection causing *Pseudomonas aeruginosa*.

Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 20, 101238.
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101238>

- Suwannarach, N., Kumla, J., Zhao, Y., & Kakumyan, P. (2022). Impact of Cultivation Substrate and Microbial Community on Improving Mushroom Productivity: A Review. *Biology*, 11(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/biology11040569>
- Téllez-Téllez, M. (2016). Mycosphere Essay 11: Fungi of *Pycnoporus*: morphological and molecular identification, worldwide distribution and biotechnological potential. *Mycosphere*, 7(10), 1500-1525. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/si/3b/3>
- Uber, T. M., de Oliveira Pateis, V., Cheute, V. M. S., dos Santos, L. F. O., de Figueiredo Trindade, A. R., Contato, A. G., dos Santos Filho, J. R., Corrêa, R. C. G., Castoldi, R., de Souza, C. G. M., Bracht, A., & Peralta, R. M. (2025). Immobilization of *Trametes versicolor* Laccase by Interlinked Enzyme Aggregates with Improved pH Stability and Its Application in the Degradation of Bisphenol A. *Reactions*, 6(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/reactions6010009>
- Valenzuela-Cobos, J. D., Grijalva-Endara, A., Marcillo-Vallejo, R., & Garcés-Moncayo, M. F. (2020). Production and characterization of reconstituted strains of *Pleurotus* spp. Cultivated on different agricultural wastes Producción y caracterización de cepas reconstituídas de *Pleurotus* spp. Cultivadas en diferentes residuos agrícolas. 19(3).
- Zhou, S., Zhang, J., Ma, F., Tang, C., Tang, Q., & Zhang, X. (2018). Investigation of lignocellulolytic enzymes during different growth phases of *Ganoderma lucidum* strain G0119 using genomic, transcriptomic and secretomic analyses. *PLOS ONE*, 13(5), e0198404. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198404>

ANEXOS

Anexo 1

Cultivo en medio sólido de Pycnopus spp. en cajas Petri



Nota: Registro de crecimiento micelial de *Pycnopus cinnabarinus* en medio PDA durante la fase de aislamiento y propagación en condiciones de laboratorio. Se observó el desarrollo concéntrico del micelio blanco con pigmentación rojiza característica en el centro de las colonias.

Anexo 2

Cultivo de Pycnoporus spp. en medio líquido.



Nota: Crecimiento micelial de *Pycnoporus spp.* en medio líquido bajo condiciones de incubación. Se formó una capa superficial de micelio con pigmentación rojiza característica, asociada a la producción de metabolitos secundarios. Este cultivo fue utilizado como inóculo para la preparación de los tratamientos en sustrato sólido.

Anexo 3

Preparación de muestras para análisis de porosidad y contenido de humedad.



Nota: Muestras representativas de cada tratamiento colocadas en vasos de precipitado para determinar el contenido de porosidad. El procedimiento consistió en el secado de sustratos previamente pesados, seguido del cálculo de la densidad aparente y real, como parte de la caracterización fisicoquímica de los tratamientos.

Anexo 4

Proceso de extracción de agua en sustratos para el análisis de contenido de humedad



Nota: Muestras de los tratamientos colocadas en embudos con papel filtro durante el proceso de escurrido, como parte del análisis de contenido de humedad. Posteriormente,

los residuos húmedos fueron secados y pesados para calcular el porcentaje de agua presente en el sustrato, utilizando la diferencia entre el peso húmedo y seco.

Anexo 5

Mezcla y homogenización de sustratos en fundas para inoculación



Nota: Proceso de mezcla y envasado de los sustratos formulados para cada tratamiento. Las fundas contienen diferentes concentraciones de aserrín, paja de trigo, bagazo de caña y cascarilla de arroz, preparadas según la proporción de cada tratamiento experimental antes de la inoculación con *Pycnoporus spp.*

Anexo 6

Fructificación en el Tratamiento 4 de Pycnoporus spp.



Nota: Tratamiento 4 en el que se evidenció la formación de cuerpos fructíferos de *Pycnoporus spp.*, visibles por la pigmentación rojiza característica sobre el micelio y el sustrato. Este fue el mejor tratamiento en el que se observó una respuesta morfológica reproductiva bajo las condiciones del ensayo, confirmando la eficacia de su formulación para inducir fructificación.

Anexo 7

Mediciones de pH por tratamiento en triplicado.

Tratamiento	pH			pH promedio
	pH1	pH2	pH3	
M1	5,93	6,02	6,18	6,04
M2	6,61	6,08	6,05	6,25
M3	6,5	6,55	6,65	6,57
M4	6,02	6,04	6,13	6,06

Nota: Valores de pH medidos en tres repeticiones independientes por cada tratamiento, realizados con una suspensión 1:2 de sustrato en agua destilada. El valor promedio fue utilizado para el análisis estadístico y la caracterización fisicoquímica de cada formulación.

Anexo 8

Determinación del contenido de humedad en los tratamientos experimentales.

Contenido de agua			
Muestra	Peso húmedo (g)	Peso seco (g)	Humedad (%)
M1	156,17	58,16	62,8
M2	181,97	63,48	65,1
M3	146,23	47,68	67,4
M4	145,83	50,68	65,2

Nota: Valores de pesos húmedos y secos obtenidos por tratamiento, utilizados para calcular el porcentaje de humedad según la relación entre la pérdida de agua y el peso inicial de la muestra. Este análisis permitió caracterizar la capacidad de retención de agua de cada sustrato previo al proceso de inoculación.

Anexo 9

Producción de biomasa seca y tasa de crecimiento específico de Pycnoporus spp. por matraz.

BIOMASA				
DÍA	MATRAZ 1 (g)	MATRAZ 2 (g)	MATRAZ 3 (g)	MATRAZ 4 (g)
5	0,04	0,14	0,25	0,1
7	0,11	0,26	0,39	0,17
9	0,41	0,32	0,51	0,36
11	0,62	0,46	0,69	0,5
13	0,81	0,51	0,83	0,67
15	1,01	0,68	0,97	0,88
17	1,14	0,82	1,19	1,05
18	1,18	0,96	1,27	1,13
TASA DE CRECIMIENTO ESPECIFICO (μ)				
Interval				
día	Matraz 1 (μ)	Matraz 2 (μ)	Matraz 3 (μ)	Matraz 4 (μ)
7 a 9	0,6578	0,10382	0,1341	0,3752
9 a 11	0,2068	0,18145	0,1511	0,1643
11 a 13	0,1337	0,05159	0,0924	0,1463
13 a 15	0,1103	0,14384	0,0779	0,1363
15 a 18	0,0605	0,09361	0,1022	0,0883

Nota: Datos correspondientes al crecimiento micelial evaluado por peso seco en cuatro matraces durante ocho días. La biomasa fue registrada cada 48 horas, y a partir de estos valores se calculó la tasa de crecimiento específico (μ) por intervalos, permitiendo estimar la eficiencia del crecimiento del hongo en medio líquido.

Anexo 10

Determinación del contenido de cenizas por tratamiento.

Cenizas				
Muestra	Peso crisol vacío (g)	Peso muestra en crisol (g)	Peso crisol + ceniza (g)	% Ceniza
M1	26,64	4,16	26,95	7,45
M2	39,39	4,01	39,72	8,23
M3	25,89	4,47	26,27	8,50
M4	36,04	3,89	36,22	4,63

Nota: Pesos registrados durante el proceso de calcinación de los sustratos en mufla. El porcentaje de cenizas fue calculado con base en la diferencia entre el peso del crisol con cenizas y el crisol vacío, en relación con el peso de la muestra seca, reflejando el contenido de materia inorgánica de cada tratamiento.

Anexo 11

Comparación de medias por prueba de Tukey para pH entre tratamientos.

Prueba de Tukey:

```
Multiple Comparison of Means - Tukey HSD, FWER=0.05
=====
group1 group2 meandiff p-adj  lower  upper  reject
-----
M1      M2      0.2033 0.5268  -0.258 0.6647  False
M1      M3      0.5233 0.0274   0.062 0.9847  True
M1      M4      0.02   0.999  -0.4414 0.4814  False
M2      M3      0.32   0.1971 -0.1414 0.7814  False
M2      M4     -0.1833 0.603  -0.6447 0.278   False
M3      M4     -0.5033 0.0333  -0.9647 -0.042   True
-----
```

Nota: Resultados de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (HSD, $\alpha = 0.05$) aplicada a los valores promedio de pH por tratamiento. Se identificaron diferencias

estadísticamente significativas entre M1–M3 y M3–M4 ($p < 0.05$), lo que indica que el tratamiento M3 presentó un pH significativamente mayor en comparación con M1 y M4. En el resto de las comparaciones no se observaron diferencias significativas.

Anexo 12

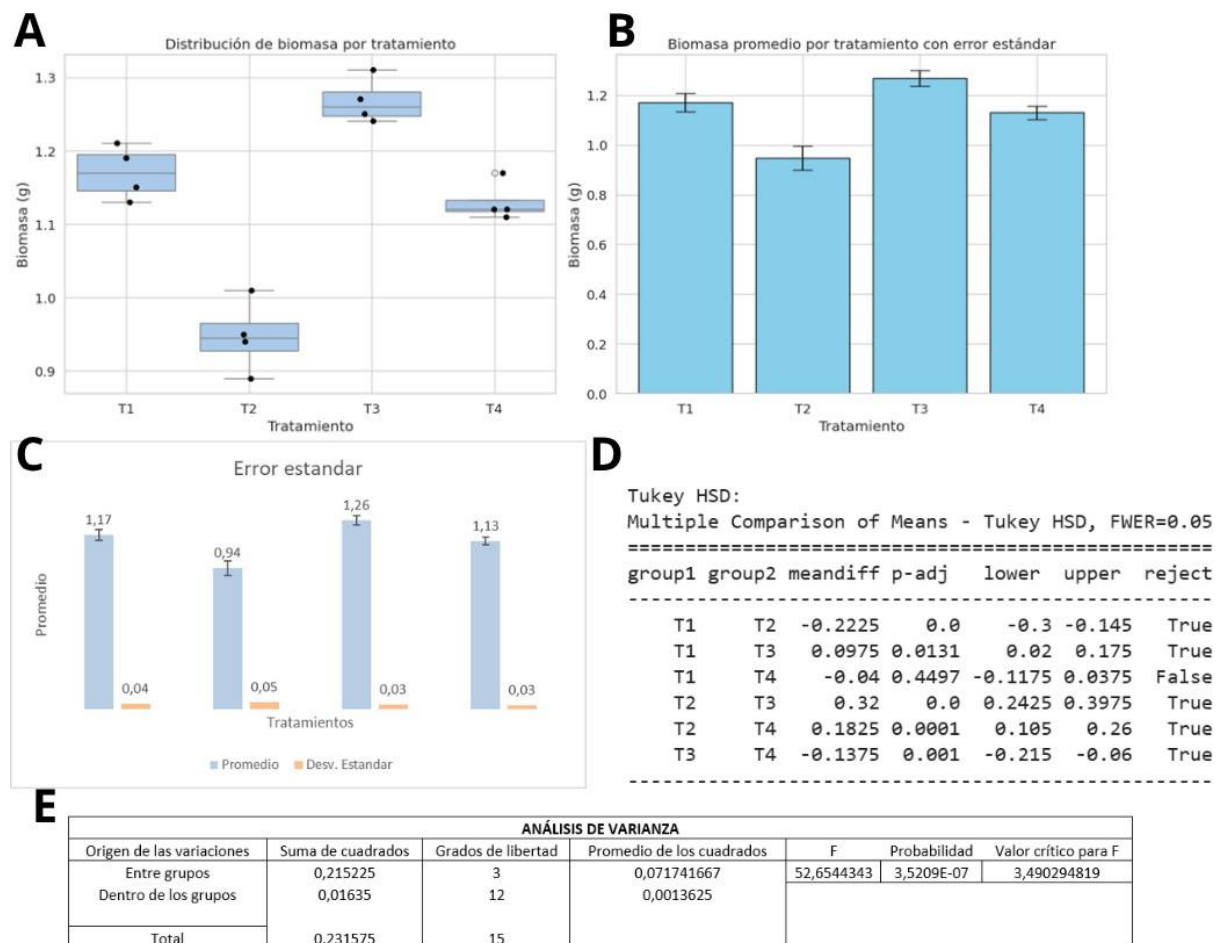
Fórmulas utilizadas para el cálculo de variables fisicoquímicas.

Variable	Formula
Porosidad (%)	$\textbf{Porosidad} = [1 - (\frac{\textit{Densidad aparente}}{\textit{Desidad real}})] * 100$
Humedad (%)	$\textbf{Humedad} = [\frac{(\textit{Peso húmedo} - \textit{Peso seco})}{\textit{Peso húmedo}}] * 100$
Cenizas (%)	$\textbf{Cenizas} = [\frac{(\textit{Peso final del crisol con ceniza} - \textit{Peso crisol vacío})}{\textit{Peso muestra}}] * 100$
Carbono (%)	$\textbf{Carbono} = 100 - \textit{Ceniza} (\%)$

Nota: Relación de fórmulas aplicadas para determinar porosidad, contenido de humedad, porcentaje de cenizas y carbono en los sustratos. Estas expresiones matemáticas permitieron la caracterización comparativa de cada tratamiento previo a la inoculación con *Pycnoporus spp.*

Anexo 13

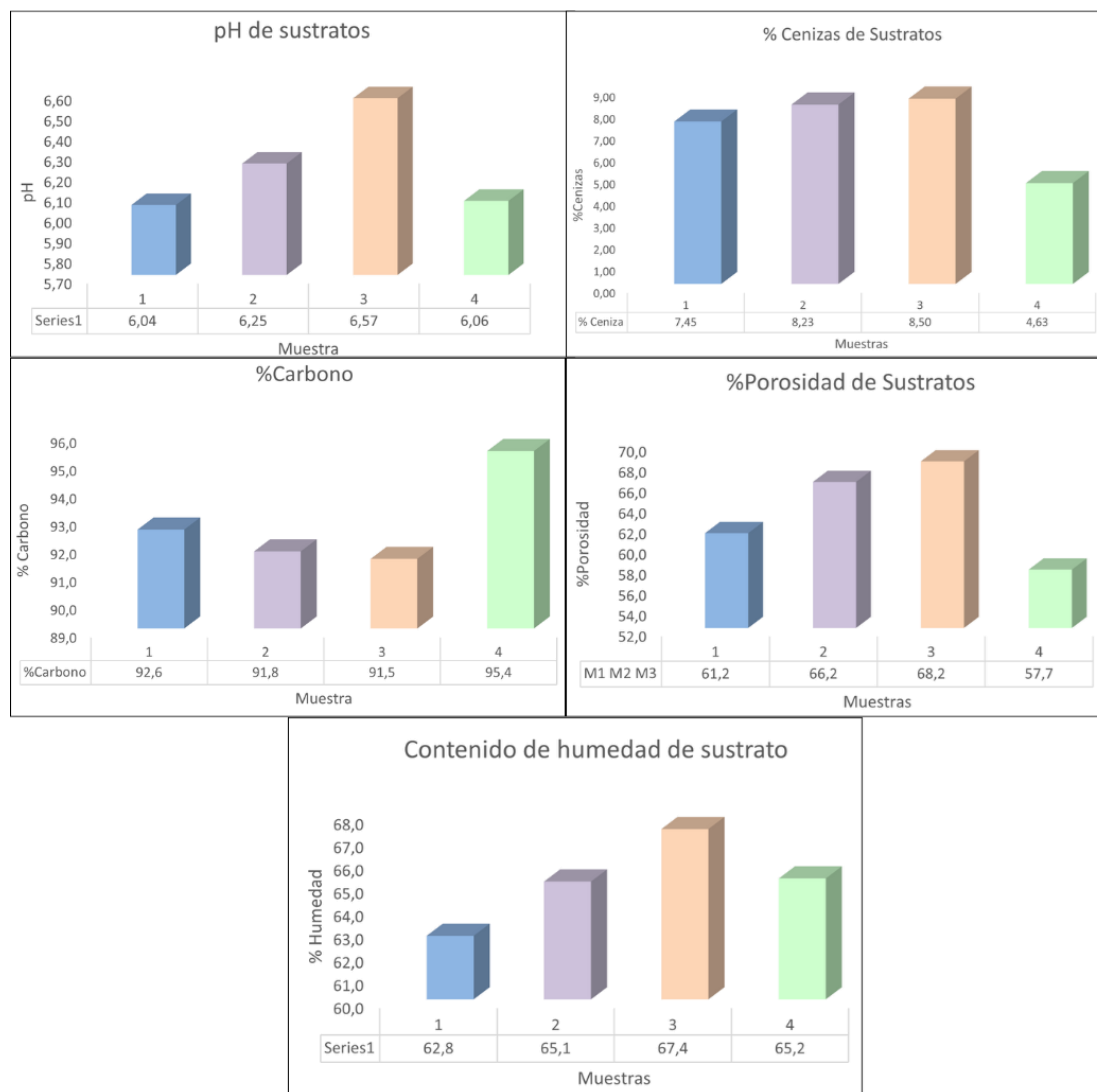
Análisis gráfico y estadístico de la biomasa seca por tratamiento en cultivo líquido.



Nota: Conjunto de resultados que representa la evaluación de la biomasa seca generada en los tratamientos experimentales. A) Distribución de biomasa por tratamiento mediante boxplot; B) Promedios con error estándar; C) Comparación del error estándar individual; D) Prueba de Tukey con diferencias significativas entre tratamientos; E) Análisis de varianza (ANOVA) que confirma diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) en la biomasa entre tratamientos. El tratamiento T3 presentó el mayor rendimiento.

Anexo 14

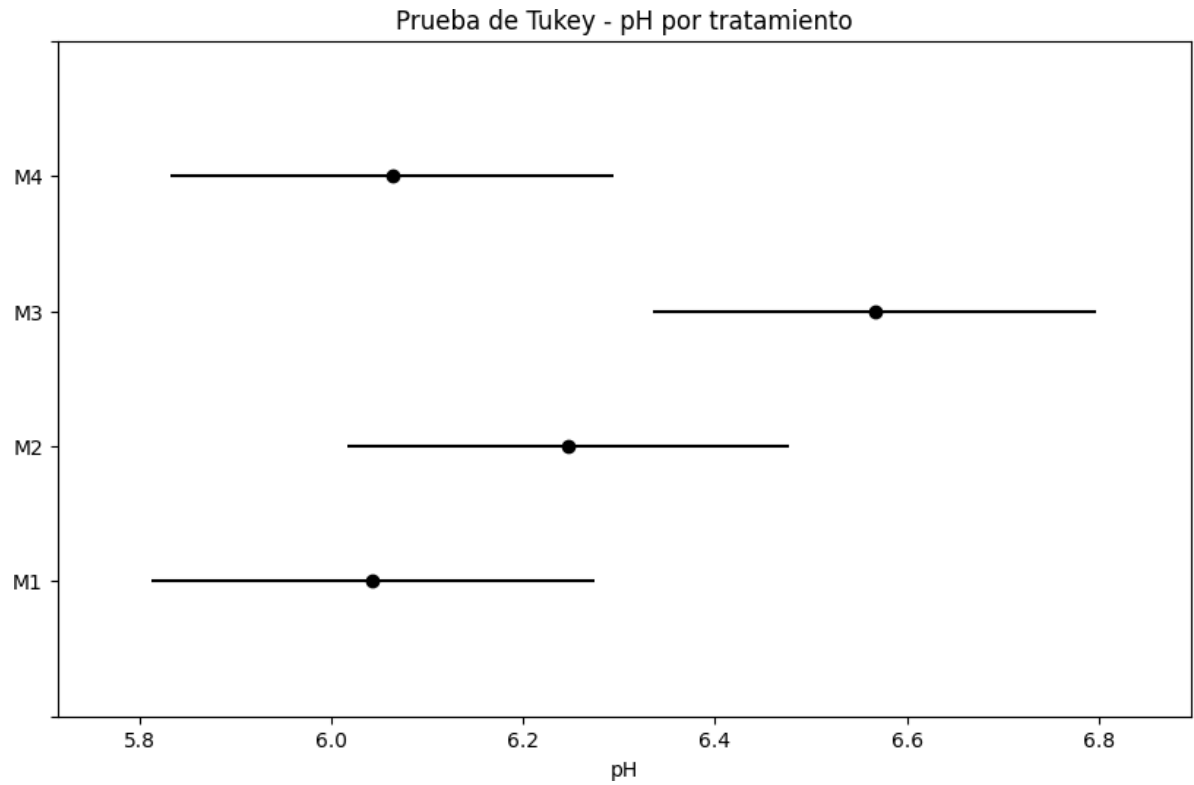
Comparación gráfica de las propiedades fisicoquímicas de los tratamientos.



Nota: Gráficos de barras comparativos de las variables fisicoquímicas evaluadas para cada tratamiento: pH, contenido de cenizas, carbono, porosidad y humedad. Los resultados muestran diferencias entre tratamientos, especialmente en el contenido de carbono (mayor en M4), porosidad (mayor en M3) y pH (más elevado en M3), factores que pudieron influir en el comportamiento del crecimiento y fructificación del hongo *Pycnoporus spp.*

Anexo 15

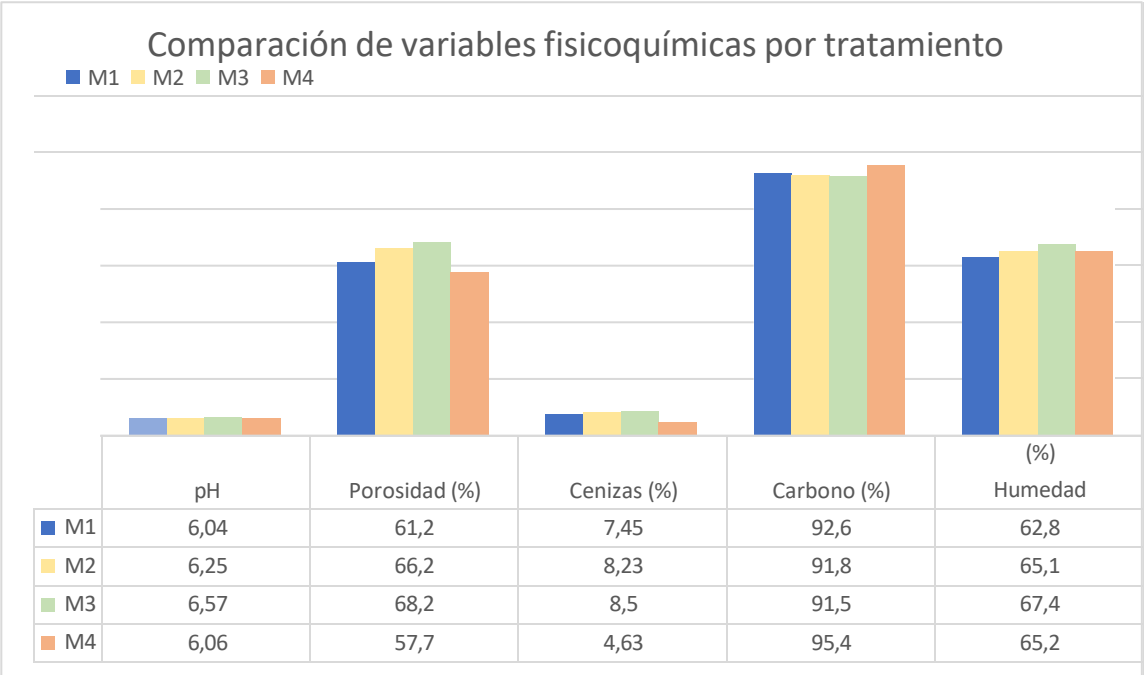
Gráfico de intervalos de confianza (Tukey HSD) para el pH por tratamiento.



Nota: Visualización de la prueba de Tukey para el pH promedio por tratamiento. Se muestran los intervalos de confianza al 95 % para cada grupo. Las diferencias significativas se reflejan en la no superposición de los intervalos. El tratamiento M3 presentó un pH significativamente mayor frente a M1 y M4.

Anexo 16

Comparación integrada de variables fisicoquímicas por tratamiento.



Nota: Gráfico de barras agrupadas que representa los valores promedio de pH, porosidad, cenizas, carbono y humedad en los cuatro tratamientos. Esta visualización permite contrastar el comportamiento fisicoquímico de cada mezcla, destacando el mayor porcentaje de carbono en M4, la mayor porosidad y humedad en M3, y la mayor acidez (menor pH) en M1.