

**EFFECTO DE SEIS MEDIOS DE CULTIVO SOBRE EL
CRECIMIENTO DE TRES CEPAS DE
*Pisolithus tinctorius*¹**

por Guadalupe Santiago-Martínez²,
Lucía Varela³,
Arturo Estrada-Torres² y
Victoria Cuaxilo²

**EFFECT OF SIX CULTURE MEDIA ON GROWTH PARAMETERS
OF THREE STRAINS OF *Pisolithus tinctorius***

ABSTRACT

Three strains of *Pisolithus tinctorius* were grown on six agar media including potato dextrose agar (PDA), modified Melin and Norkrans agar (MNM), Ingsted's medium (ING), Sabouraud's agar (SAB), Hagem's medium (HG) and malt extract agar (EMA). Diameter of colonies was measured every 48 h during 28 days. Diameter and dry weight of colonies were measured at the end of the assay. Mean growth rates were calculated as the slopes of data adjusted to the linear model. Two strains showed higher mean growth rates and final sizes on PDA, and ING media, while the other one grew more vigorously on MNM and ING media. The three strains produced higher dry weight on SAB agar. There is not correlation between values of final diameters and dry weights of the colonies, i.e. higher colonial sizes on ING and MNM media correspond with low dry mass production.

KEY WORDS: Strains, culture media, *Pisolithus tinctorius*, growth testing.

RESUMEN

Se realizaron pruebas de crecimiento con tres cepas de *Pisolithus tinctorius* en seis medios nutritivos. Los diámetros coloniales fueron medidos cada 48 h durante 28 días. El diámetro y el peso seco de la colonia fueron medidos al final del ensayo. Las velocidades medias de crecimiento de las colonias fueron calculadas como las pendientes de los datos ajustados a un modelo lineal. Dos de las cepas presentaron mayor velocidad media y diámetro final en los medios de papa dextrosa agar e Ingsted; la tercera, creció mejor en los medios de Melin y Norkrans Modificado e Ingsted. Las tres cepas produjeron un mayor peso seco en el medio de Sabouraud. Al comparar los valores de biomasa con el diámetro final se observó que no hubo correlación entre dichos parámetros, ya que en los medios de Ingsted y Melin y Norkrans modificado se observó mayor diámetro final pero escasa producción de biomasa.

PALABRAS CLAVE: Cepas, medio de cultivo, *Pisolithus tinctorius*, pruebas de crecimiento.

¹ Este trabajo forma parte del proyecto SELECCIÓN DE HONGOS ECTOMICORRÍZICOS PARA PRODUCCIÓN DE INOCULANTES EN EL ESTADO DE TLAXCALA, financiado por CONACyT, convenio número 4690-N9406.

² Laboratorio de Micología, Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Km 10.5 carretera Texmelucan-Tlaxcala, 90122, Ixtacuixtla, Tlax.

³ Laboratorio de Ecología Microbiana, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Carpio y Plan de Ayala, 11340, México, D. F.

Recibido: 3 de agosto, 1995. Aceptado: 27 de septiembre, 1995.

Solicitud de sobretiros: Guadalupe Santiago-Martínez².

INTRODUCCIÓN

La erosión es uno de los problemas que afecta gran parte del territorio mexicano, manifestándose por el avance de la desertificación, especialmente en áreas densamente pobladas y con escasos recursos económicos y tecnológicos (Valdés *et al.*, 1983).

Una alternativa para detener este proceso es la reintroducción de plantas forestales que eviten la pérdida de suelo. No obstante, la mayoría de las plantas de interés forestal forman una asociación mutualista obligada con hongos ectomicorrizógenos, los cuales les facilitan la captación de sales minerales y agua. La ausencia de tales microorganismos en los suelos es, muchas veces, la causa del fracaso de los programas de reforestación (Marx, 1977; Honrubia *et al.*, 1992).

Se ha observado que algunos factores ambientales influyen sobre el establecimiento y persistencia de plantas micorrizadas en el campo, considerándose como los más importantes la disponibilidad de nutrimentos, temperatura, pH y potencial del agua en el suelo (Hormilla *et al.*, 1994).

Por otro lado, la tolerancia de los hongos ectomicorrizógenos a condiciones ambientales adversas como sequía, altas temperaturas, acidificación del suelo y presencia de metales pesados varía entre las diferentes especies (Hormilla *et al.*, 1994). Estas propiedades podrían ser utilizadas como un criterio para la selección de hongos ectomicorrizógenos en programas de reforestación y forestación ya que, la inoculación de las plantas con el hongo adecuado podría mejorar su desarrollo y aumentar su sobrevivencia en el campo (Castellano y Molina, 1989). Sin embargo, la falta de estudios sobre las condiciones de crecimiento de los hongos ectomicorrizógenos mexicanos y de su potencialidad en los programas de reforestación, limita en la actualidad su uso en los viveros del país. Por ello, el objetivo del presente trabajo es conocer la dinámica de crecimiento de dos cepas mexicanas de *Pisolithus tinctorius* en seis medios de cultivo y de una cepa procedente de Estados Unidos, misma que ha sido utilizada en algunos ensayos hechos en viveros mexicanos (Estrada-Torres y Valdés, 1986; Quintos y Valdés, 1987; Valdés *et al.*, 1983).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico: Las cepas de *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker *et* Couch utilizadas en este estudio se encuentran depositadas en el cepario de hongos ectomicorrizógenos (TLAX) del Centro de Investigación en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala y corresponden a las cepas TLAX 11 y TLAX 13 procedentes de Oaxaca, México y TLAX 12 de Estados Unidos.

Fase experimental: El micelio crecido en cajas de petri durante tres semanas se cuadrículó con un bisturí estéril, cortando cuadros de 4 a 5 mm por lado, mismos que se transfirieron a cajas Petri de 90 mm por 10 mm, con los medios de cultivo que se utilizan cotidianamente en la manipulación de cepas de hongos ectomicorrizógenos: papa dextrosa agar (PDA) (Bioxon, Becton Dickinson de México), Ingestad (ING) (Mason, 1980), Melin y Norkrans Modificado (MNM) y Hagem (HG) (Molina y Palmer, 1982); y otros medios convencionalmente usados en trabajos micológicos: extracto de malta agar (EMA) (Bioxon, Becton Dickinson de México), y Sabouraud (SAB) (Bioxon, Becton Dickinson de México). El pH de los medios fue determinado antes del ensayo. Para cada medio se sembraron cinco repeticiones. Las cajas de petri así preparadas se

incubaron en la oscuridad a 25°C. Para verificar si el desarrollo de las cepas indujo algún cambio en el pH de los medios, este parámetro fue medido al final del ensayo en el caso de las cepas TLAX 12 y TLAX 13.

Evaluación de resultados: Para evaluar la velocidad media de crecimiento, se midió el diámetro de cada colonia cada tercer día durante 28 días, estos datos fueron sometidos a pruebas de regresión lineal (Reyes, 1985) para obtener la pendiente de la curva de crecimiento y de esta manera tener el promedio de crecimiento del hongo en milímetros por día. Al final de este período se midió el diámetro final y la producción de biomasa a través del peso seco de la colonia. Este último se obtuvo modificando la técnica propuesta por Chapman *et al.* (1990) y Oort (1981), y consistió en eliminar el agar por medio de calentamiento en baño maría, enjuagando la colonia con agua caliente y secando posteriormente a 60°C hasta obtener peso constante. Para observar la relación existente entre el diámetro colonial final y la biomasa, los valores de estos parámetros para cada medio y cepa fueron graficados en diagramas de dispersión (Reyes, 1985).

Para verificar si existían diferencias estadísticamente significativas entre las cepas estudiadas, los diferentes medios de cultivo empleados o su interacción, se efectuaron análisis de varianza bifactoriales (ANAVA) y pruebas de intervalos múltiples de Tukey con los valores de: velocidad media de crecimiento, diámetro colonial final y peso seco final de las colonias (Montgomery, 1984).

RESULTADOS

Velocidad media de crecimiento: Los valores de velocidad media de crecimiento se muestran en la tabla 1 y las figuras 1 a 3. El ANAVA indicó que existen diferencias significativas tanto entre las cepas como entre los medios de cultivo probados ($\alpha = 0.01$). La cepa que presentó la mayor velocidad media de crecimiento fue la TLAX 11 (Fig. 1), en tanto en la que se observó la menor fue en la cepa norteamericana (TLAX 12) (Fig. 2). Los medios de cultivo en los que se observaron las mayores velocidades medias de crecimiento fueron el PDA y el ING, mientras en EMA se registraron las menores. El ANAVA también mostró una interacción altamente significativa entre las cepas y los medios de cultivo ($\alpha = 0.01$). Los medios en los que la cepa TLAX 11 presentó su mayor tasa de crecimiento fueron el SAB, el PDA y el ING, en tanto que en EMA se observó el valor más bajo (Fig. 1). La cepa de los Estados Unidos tuvo su mayor velocidad media en MNM, y las menores en EMA y SAB (Fig. 2). Para la otra cepa mexicana (TLAX 13), los valores más altos de velocidad de crecimiento correspondió a los medios de PDA e ING, no registrándose crecimiento en los medios de MNM y HG (Fig. 3).

Diámetro colonial final: Los diámetros coloniales medidos al final del experimento se muestran en la tabla 2. Al igual que para la velocidad media de crecimiento, el ANAVA indicó que existen diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0.01$) entre las cepas, los medios de cultivo y la interacción entre ambos factores. Las cepas mexicanas exhibieron mayores diámetros coloniales que la cepa extranjera (Figs. 1-3), no obstante, la cepa TLAX 13 no logró desarrollarse en MNM y HG. Los medios en los que se obtuvieron mayores diámetros coloniales finales fueron el PDA y el ING, en tanto los menores se registraron en EMA. Para la cepa TLAX 11, se obtuvo un mayor diámetro en los medios de PDA, ING y SAB, siendo en EMA en donde se encontró el menor diámetro colonial. La cepa TLAX 13 presentó sus mayores diámetros en los medios PDA e

ING. La cepa extranjera (TLAX 12) tuvo mayor diámetro final en los medios MNM, ING y PDA, en tanto los menores diámetros se observaron en EMA y SAB.

Producción de biomasa: Los valores de biomasa medida al final del ensayo se muestran en la tabla 3 y en la figura 4. El ANAVA de estos datos también mostró diferencias significativas ($\alpha = 0.01$) entre las cepas, los medios de cultivo y su interacción. La cepa TLAX 13 produjo la mayor cantidad de biomasa, en tanto no se registraron diferencias entre las cepas TLAX 11 y TLAX 12. En el medio SAB se produjo la mayor cantidad de biomasa, mientras en MNM, EMA y HG se registraron las menores producciones de biomasa. La cepa TLAX 11 tuvo su mayor biomasa en el medio SAB, obteniéndose valores más bajos en HG, MNM, EMA e ING. La cepa TLAX 12 presentó sus mayores valores de biomasa en los medios de SAB y PDA y los más bajos en HG, EMA, MNM e ING. La cepa TLAX 13 tuvo alta producción de biomasa en SAB y PDA, produciendo escaso micelio en EMA.

Correlación biomasa-diámetro colonial final: Los diagramas de dispersión que muestran la relación entre la biomasa y el diámetro colonial final se muestran en las figuras 5-7. Para la cepa TLAX 11 (Fig. 5), se observa que se obtuvieron los mayores diámetros de la colonia en los medios SAB, PDA e ING, pero mientras que en el primero la producción de biomasa fue muy alta (400 mg), en el segundo apenas se aproxima a los 200 mg y en el último se produjeron menos de 100 mg. Igualmente, en los medios EMA, MNM y HG se obtuvieron biomazas similares, pero en los dos últimos medios de cultivo el valor de diámetro colonial superó en casi el doble al valor obtenido en EMA.

En el caso de la cepa TLAX 13, el diagrama de dispersión (Fig. 7) muestra que no existe correlación entre el diámetro de la colonia y su biomasa, ya que en SAB y EMA se obtuvieron diámetros coloniales similares, pero en el primero la biomasa producida superó los 300 mg en tanto que el segundo apenas sobrepasó los 50 mg. Para esta misma cepa, los diámetros de las colonias en PDA e ING superaron significativamente al obtenido en SAB (Tabla 2). Sin embargo, la biomasa producida en este último fue mayor que la obtenida en ING y similar a la de PDA.

Para la cepa estadounidense (Fig. 6), las biomazas producidas en SAB y PDA son similares pero el diámetro colonial obtenido en el segundo medio supera al del primero. Por otro lado, las biomazas en EMA, HG y MNM son similares (Tabla 3) pero los diámetros coloniales obtenidos en estos medios son diferentes entre sí (Tabla 2). En SAB y EMA se obtuvieron diámetros coloniales similares (Tabla 2) pero la biomasa del primero superó casi cuatro veces a la producida en el segundo (Tabla 3). Una situación parecida se encontró al comparar PDA y MNM, en donde los diámetros coloniales fueron estadísticamente iguales pero las biomazas fueron significativamente diferentes (Tablas 2 y 3).

pH: En la tabla 4 se incluyen los datos del pH medido antes y después del ensayo para las cepas 12 y 13. Puede observarse que, salvo en el EMA, el pH de los medios disminuyó con el crecimiento de los hongos. En algunos casos como el ING este parámetro decreció hasta en más de dos unidades.

DISCUSIÓN

En general, existe una buena correlación entre el diámetro de la colonia evaluado al final del ensayo y la velocidad media de crecimiento medida como la extensión radial de la colonia por día. Debe considerarse que este parámetro fue calculado como la pendiente obtenida al ajustar los datos a un modelo lineal. Así, al comparar dos pares de datos, una mayor velocidad de crecimiento corresponde casi siempre con un mayor diámetro colonial final o viceversa.

En cuanto a la relación existente entre la biomasa y el diámetro colonial final, los diagramas de dispersión (Figs. 5 - 7) muestran claramente que no existe ninguna correlación entre estos parámetros, ya que los mayores diámetros coloniales no siempre corresponden con la mayor cantidad de biomasa producida. Este resultado es importante si se considera que frecuentemente se emplea el diámetro colonial como el único parámetro para evaluar el crecimiento colonial (Mata, 1987; Acosta-Urdapilleta *et al.*, 1988; Mata y Guzmán, 1989; Salmones *et al.*, 1990; Cuaxilo, 1991). En otros casos, también se ha utilizado la caracterización de las colonias como un criterio extra para evaluar el crecimiento de los hongos (Martínez-Carrera *et al.*, 1986; Mata, 1990; Salmones *et al.*, 1990), sin embargo, este procedimiento podría ser subjetivo, sobretodo cuando se trata de seleccionar las mejores condiciones de cultivo.

La evaluación de la producción de biomasa puede dar una mejor idea del efecto de los medios de cultivo sobre las colonias, ya que en ocasiones el diámetro colonial final puede ser grande pero la colonia puede tener un desarrollo laxo o postrado sobre el medio. Así, la combinación de los tres parámetros de crecimiento considerados aquí podría dar un mejor argumento para la selección de los medios o las condiciones de cultivo.

De acuerdo con el análisis estadístico bifactorial efectuado a los resultados de peso seco, el medio de cultivo que más favorece el desarrollo de las cepas de *Pisolithus tinctorius* es el SAB, ya que en dicho medio se obtuvo la mayor producción de biomasa para las tres cepas, aunque sólo en el caso de la cepa TLAX 11 este hecho se correlacionó con un diámetro colonial grande. El PDA también puede considerarse como un medio favorable para las cepas aquí estudiadas, encontrándose en los tres casos alta producción de biomasa y diámetros coloniales grandes. El medio menos favorable para el crecimiento de *Pisolithus tinctorius* fue el EMA, ya que las tres cepas tuvieron escasa producción de biomasa y diámetros coloniales pequeños (Tabla 2 y 3).

En cuanto a las cepas probadas en este ensayo, las cepas mexicanas presentaron valores de diámetro colonial final estadísticamente más altos que los encontrados para la cepa extranjera. Asimismo, la velocidad de crecimiento de la cepa TLAX 11 fue mayor que el de las otras dos cepas. La cepa TLAX 13 produjo la mayor cantidad de biomasa. No obstante, esta cepa no se desarrolló en los medios de HG y MNM, por lo que la cepa más prometedora en cuanto a su manejo en el laboratorio es la TLAX 11.

Los análisis de varianza bifactoriales muestran que gran parte de la variación encontrada en los ensayos realizados está explicada por la interacción entre las cepas y los medios de cultivo, es decir que las tres cepas no responden de igual forma en los diferentes medios (Figs. 8-10). Este hecho es muy importante, ya que esto nos indica que no podemos recomendar un solo medio para todas las cepas que se logren aislar, aún cuando sean de la misma especie. En el caso de los hongos ectomicorrizógenos, frecuentemente se recomienda utilizar los medios de MNM y HG; en el primero de ellos, la cepa procedente de Estados Unidos alcanzó su mayor diámetro colonial,

pero no sucedió lo mismo para las cepas mexicanas, las cuales tuvieron su mayor crecimiento radial en ING.

Al parecer, uno de los componentes de los medios utilizados que mayor influencia tuvo sobre el crecimiento de las cepas probadas fue la dextrosa, ya que precisamente en los medios con mayor contenido de este compuesto (SAB=40 g y PDA=20 g) fueron en los que se obtuvo mayor producción de biomasa. A pesar de ser medios utilizados específicamente para hongos ectomicorrizógenos, en MNM y HG hubo menor crecimiento que en los medios antes señalados y esto puede deberse a sus menores contenidos de dextrosa (10 y 5 g respectivamente). El EMA y el ING tienen el mismo contenido de azúcar que el MNM. En el primero, se obtuvieron valores similares que en el último, pero en el ING el desarrollo de las hongos fue más vigoroso siendo comparable en ocasiones con los crecimientos obtenidos en medios con mayores contenidos del carbohidrato, por lo que es posible que exista una interacción entre el contenido de dextrosa y el pH del medio o los otros componentes del mismo. Estos resultados concuerdan con los datos de Oort (1981), quien al comparar medios con diferente concentración de dextrosa (BAF y medio de Modest) encontró que los crecimientos de algunas especies de *Lactarius* se desarrollaban mejor en el medio con mayor contenido de azúcar. Asimismo, al variar la concentración de dextrosa del medio, se observó que algunos aislamientos incrementaban su crecimiento al aumentar el contenido del carbohidrato. No obstante, la concentración de otros elementos como las fuentes de nitrógeno pueden influir en el efecto que tiene la concentración de dextrosa.

Para evaluar si la concentración de azúcar es el elemento determinante en la producción de biomasa en los medios ensayados, sería recomendable igualar los contenidos de este elemento en los diferentes medios de cultivo. Asimismo, podría ser de utilidad realizar pruebas con diferentes concentraciones de dextrosa en uno o dos medios, ya que esto podría dar información sobre las demandas de carbohidratos requeridos por los diferentes hongos y los efectos que un medio con altas concentraciones de carbohidratos pudiera tener sobre sus propiedades simbióticas.

Los medios nutritivos donde crecieron mejor las cepas presentaron pH desde 5.3 (SAB) hasta 5.7 (PDA e ING). En contraste, el medio con pH más ácido fue el EMA (4.7) mismo en donde el crecimiento radial y el peso seco fueron más pobres. Obviamente, el pH de los medios también pudo tener un efecto importante sobre el crecimiento de las cepas probadas, pues, casi en todos los casos, los hongos bajaron el pH de los medios, pero la modificación de este parámetro varió de un medio a otro.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen infinitamente al Dr. Mario Honrubia de la Universidad de Murcia y a la M. en B. Rebeca Ramírez de la Facultad de Química, UNAM., las valiosas sugerencias y recomendaciones hechas al presente trabajo.

LITERATURA CITADA

- Acosta-Urdapilleta, L., G. Bustos-Zagal, D. Portugal, 1988. Aislamientos y caracterización de cepas de *Pleurotus ostreatus* y su cultivo en residuos agroindustriales en el estado de Morelos. *Rev. Mex. Mic.* 4:13-20.

- Castellano, M. A. y R. Molina, 1989. Mycorrhizas. In: T. D. Landis, R. W. Tinus, S. E. McDonald, J. P. Barnett (eds.), *The Container Tree Nursery Manual. The Biological Component: Nursery Pest and Mycorrhizas*. USDA Forest Service, Washington, pp. 101-167.
- Chapman, W. K., S. M. Berch, T. M. Ballard, 1990. *In vitro* growth of ectomycorrhizal fungi on dilute agar. *Mycologia* 82:526-527.
- Cuaxilo, L. V., 1991. *Desarrollo de tres cepas del hongo ectomicorrizico Laccaria bicolor (Maire) Orton aislada de los bosques de La Malintzin sobre medios de cultivo a base de espirulina*. Tesis de Licenciatura. Depto. de Ingeniería y Tecnología. Universidad Autónoma de Tlaxcala, Apizaco.
- Estrada-Torres A., M. Valdés, 1986. El crecimiento y la micorrización de plántulas de pino inoculadas con *Pisolithus tinctorius* en el semillero o en el envase de trasplante. *Biotica* 11:137-142.
- Honrubia, M., P. Torres, G. Díaz, A. Cano, 1992. *Manual para Micorrizar Plantas en Viveros Forestales*. ICONA. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. LUCDEME VIII. Monografías 54, Murcia.
- Hormilla S., M. K. Duñabeitia, J. M. Becerril, P. Cabrerizo, J. I. Peña. 1994. Growth of several ectomycorrhizal fungi in response to different pure culture conditions. *Fourth European Symposium on Mycorrhizas*. Estación Experimental del Zaidín. C. S. I. C. Granada, 11-14 July, 1994. Abstracts p. 195.
- Martínez-Carrera, D., M. Sobal, M. Quirarte, 1986. Obtención y caracterización de híbridos de cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus*. *Rev. Mex. Mic.* 2:227-238.
- Marx, D. H., 1977. Tree host range and world distribution of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*. *Can. J. Microbiol.* 23:217-223.
- Mason, P. A., 1980. Aseptic synthesis of sheathing (ecto-) mycorrhizas. In: D. S. Ingram, J. P. Helgeson (eds.), *Tissue Culture Methods for Plant Pathologist*. Blackwell Scientific Publications, London, pp. 173-178.
- Mata, G., 1987. Comportamiento de una cepa extranjera de *Flammulina velutipes* en tres medios de cultivo. *Rev. Mex. Mic.* 3:39-46.
- Mata, G., 1990. *Cultivo del hongo comestible Lentinus boryanus en el laboratorio y su comparación con el shiitake japonés Lentinus edodes*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM, México, D. F.
- Mata, G., G. Guzmán, 1989. Caracterización de cepas mexicanas del hongo comestible *Lentinus boryanus* y determinación de su patrón de sexualidad. *Rev. Mex. Mic.* 5:81-95.
- Molina R., J. G. Palmer, 1982. Isolation, maintenance and pure culture manipulation of ectomycorrhizal fungi. In: N. C. Schenk (ed.), *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. American Phytopathological Society, St. Paul, pp. 115-129.
- Montgomery, D.C. 1984. *Design and Analysis of Experiments*. John Wiley & Sons, New York.
- Oort, A. J. P. 1981. *Nutritional requirements of Lactarius species, and cultural characters in relation to taxonomy*. Nort-Holland, New York.
- Quintos, M., M. Valdés, 1987. El desarrollo de la micorriza y el crecimiento de plántulas de pino real (*Pinus engelmannii*) al inocularse con *Pisolithus tinctorius*. *Rev. Lat-amer. Microbiol.* 29:189-192.
- Reyes C. P., 1985. *Bioestadística Aplicada*. Trillas. México, D. F.
- Salmones, D., V. Álvarez, G. Mata, G. Guzmán, 1990. Estudio de una cepa mexicana de *Laetiporus sulphureus* (polyporaceae) bajo diferentes condiciones de cultivo en el laboratorio. *Rev. Mex. Mic.* 6:253-257.
- Valdés, M., F. Piña, R. Grada, 1983. Inoculación micorrizica y crecimiento de plántulas de pino en suelo erosionado. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 18:65-70.

Tabla 1. Velocidad media de crecimiento mm/día de las cepas crecidas en diferentes medios nutritivos.

CEPA		PDA	EMA	SAB	ING	MNM	HG	\bar{x}_{cepas}
TLAX 11	\bar{x}	3.18	0.44	3.18	2.88	1.20	1.20	2.01
	δ	0.19	0.05	0.18	0.16	0.14	0.12	
		a	h	a	a	fg	fg	a
TLAX 12	\bar{x}	1.66	0.98	1.00	1.80	2.16	1.38	1.49
	δ	0.15	0.18	0.05	0.14	0.48	0.11	
		de	g	fg	cd	bc	ef	c
TLAX 13	\bar{x}	2.54	1.24	1.20	2.38	No creció	No creció	1.84
	δ	0.05	0.11	0.16	0.11			
		b	fg	fg	b			b
\bar{x}_{medios}	\bar{x}	2.46	0.90	1.79	2.35	1.68	1.29	
		a	d	b	a	b	c	

\bar{x} Promedio de 5 repeticiones

δ Desviación estándar

Medias de tratamientos, cepas o medios de cultivo con la misma letra no presentan diferencias significativas ($\alpha=0.01$).

Tabla 2. Diámetro colonial final (mm) de las cepas en diferentes medios nutritivos.

CEPA		PDA	EMA	SAB	ING	MNM	HG	\bar{x}_{cepas}
TLAX 11	\bar{x}	87.6	20.0	81.6	82.8	39.6	40.0	58.6
	δ	4.3	2.3	13.1	5.2	1.8	4.1	
		a	g	a	a	ef	ef	a
TLAX 12	\bar{x}	53.6	33.2	35.8	55.2	58.0	44.2	46.7
	δ	3.1	4.0	2.6	3.6	5.7	4.1	
		cd	f	ef	c	c	de	b
TLAX 13	\bar{x}	69.6	41.6	41.4	69.2	No creció	No creció	55.4
	δ	0.9	3.4	4.6	3.0			
		b	ef	ef	b			a
\bar{x}_{medios}	\bar{x}	70.3	31.6	52.9	69.7	48.8	42.1	
		a	d	b	a	bc	c	

\bar{x} Promedio de 5 repeticiones

δ Desviación estándar

Medias de tratamientos, cepas o medios de cultivo con la misma letra no presentan diferencias significativas ($\alpha=0.01$).

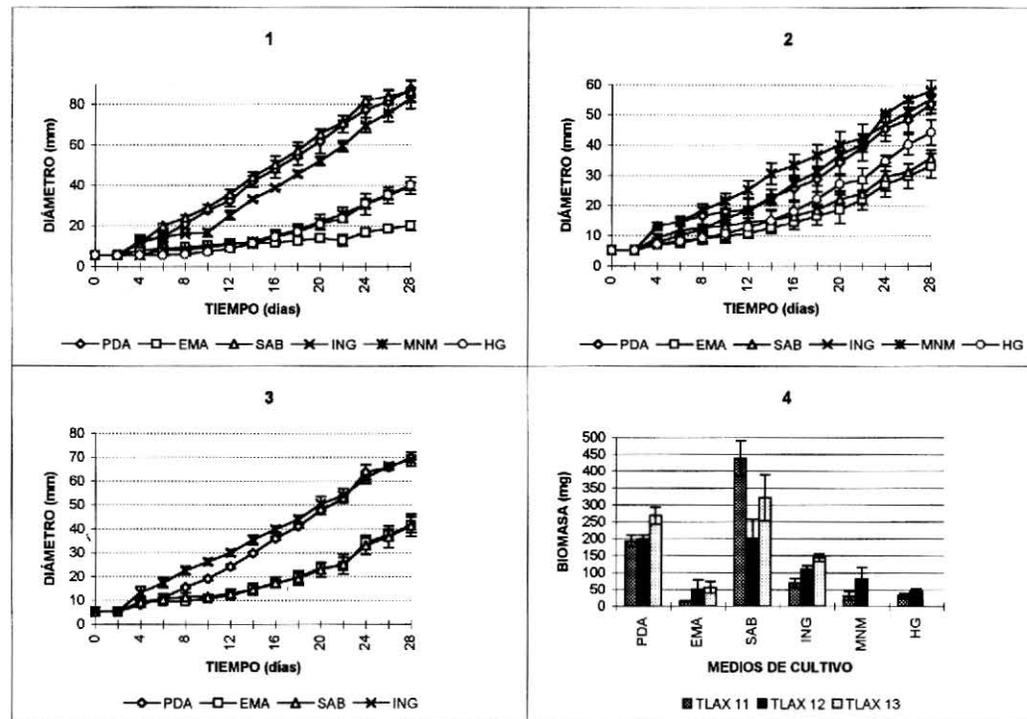
Tabla 3. Biomasa final (mg) de las cepas crecidas en diferentes medios nutritivos.

CEPA		PDA	EMA	SAB	ING	MNM	HG	\times_{cepas}
TLAX 11	\bar{x}	193.0	14.2	438.1	69.3	30.8	31.3	129.5
	δ	17.5	2.1	51.9	13.3	14.4	7.2	
		d	h	a	fgh	gh	gh	b
TLAX 12	\bar{x}	199.4	51.1	200.7	109.5	81.5	43.4	114.3
	δ	10.8	27.6	55.5	10.5	34.0	8.9	
		d	fgh	cd	ef	efg	fgh	b
TLAX 13	\bar{x}	267.3	56.3	320.8	144.3	No creció	No creció	197.2
	δ	24.9	17.2	68.0	11.9			
		bc	fgh	b	de			a
\times_{medios}	\bar{x}	219.9	40.5	319.9	107.7	56.2	37.3	
		b	d	a	c	d	d	

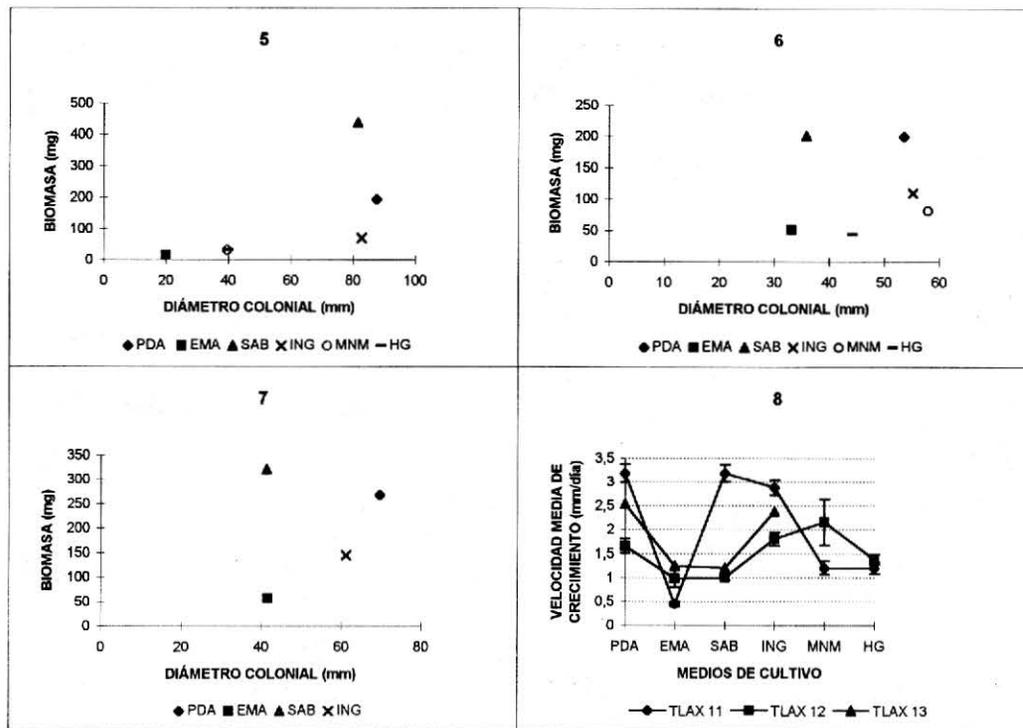
 \bar{x} Promedio de 5 repeticiones δ Desviación estándarMedias de tratamientos, cepas o medios de cultivo con la misma letra no presentan diferencias significativas ($\alpha=0.01$).

Tabla 4. pH de las cepas en los diferentes medios nutritivos.

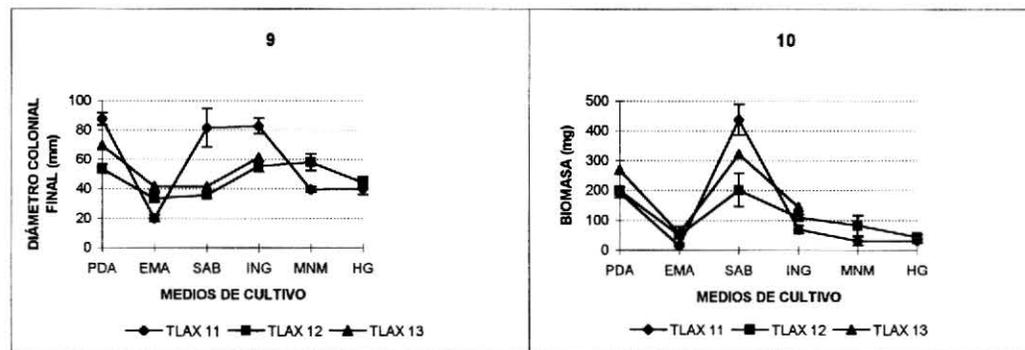
MEDIO DE CULTIVO	pH INICIAL	pH FINAL S/INÓCULO	pH FINAL TLAX 12	pH FINAL TLAX 13
PDA	5.73	5.62	5.59	5.52
EMA	4.72	4.57	4.8	4.59
SAB	5.33	5.02	4.7	4.31
ING	5.65	5.21	3.2	3.93
MNM	5.86	5.8	4.31	
HG	5.46	5.34	4.27	3.7



Figs. 1-4. 1: Crecimiento de la cepa TLAX 11 en los diferentes medios nutritivos; 2: Crecimiento de la cepa TLAX 12 en los diferentes medios nutritivos; 3: Crecimiento de la cepa TLAX 13 en los diferentes medios nutritivos; 4: Biomasa (mg) producida por las cepas de *Pisolithus tinctorius* en los diferentes medios nutritivos.



Figs. 5-8, 5: Correlación entre la biomasa y el diámetro colonial, cepa TLAX 11; 6: Correlación entre la biomasa y el diámetro colonial, cepa TLAX 12; 7: Correlación entre la biomasa y el diámetro colonial, cepa TLAX 13; 8: Interacción entre los medios de cultivo y las tres cepas de *Pisolithus tinctorius* con respecto a la velocidad de crecimiento.



Figs. 9-10. 9. Interacción entre los medios de cultivo y las tres cepas de *Pisolithus tinctorius* con respecto al diámetro colonial; 10: Interacción entre los medios de cultivo y las tres cepas de *Pisolithus tinctorius* con respecto a la producción de biomasa.