Hongos Comestibles y Medicinales en Iberoamérica









investigación y desarrollo en un entorno multicultural





ECOSUR

INECOL
Instituto de Ecología, A.C.

José E. Sánchez V.
Gerardo Mata
EDITORES

Hongos Comestibles y Medicinales en Iberoamérica:

investigación y desarrollo en un entorno multicultural

José E. Sánchez
Gerardo Mata
EDITORES

ECOSUR

INECOL
Instituto de Ecología, a.c.

Los textos que conforman este libro fueron sometidos a dictamen anónimo. Se omiten los nombres de los dictaminadores por consideraciones de ética profesional y de procedimientos de arbitraje.

Primera edición. 2012

D.R. © El Colegio de la Frontera Sur
Carretera Antiguo Aeropuerto S/N
C.P. 30700
Tapachula, Chiapas
www.ecosur.mx

ISBN 978-607-7637-73-8
Impreso y hecho en México
Printed and made in Mexico

Publicación arbitrada por el Comité Editorial de El Colegio de la Frontera Sur.

Publicación arbitrada por el Comité Editorial de El Instituto de Ecología .

Impreso en México/Printed in Mexico

ÍNDICE

PROLOGO 7

INTRODUCCIÓN

La producción iberoamericana de hongos comestibles en el contexto internacional.
R. H. Andrade Gallegos, G. Mata y J. E. Sánchez. 9

CAPITULO I
LOS HONGOS SILVESTRES

1.1 Los hongos comestibles ectomicorrizicos y su biotecnología.
J. Pérez Moreno. 19

1.2 Los hongos silvestres comestibles en Yoricostio, México.
M. Gómez Peralta y V. Zamora Equihua. 29

1.3 Los hongos comestibles silvestres del estado de México: propuesta para su aprovechamiento.
C. Burrola Aguilar, R. Garibay Orijel y M. Hernández Téllez. 39

CAPITULO II
RECURSOS GENÉTICOS DE MACROMICETOS

2.1 Organización y preservación de microorganismos en Brasil.
N.B. Colauto y G. A. Linde. 53

2.2 Ceparios de hongos en México.
D. Salmones y G. Mata. 69

2.3 Método de conservación acuosa del micelio de hongos.
J. López Alcalá, J. M. A. Barba Chávez, A. E. Márquez Ortega, M. C. Sánchez Gómez y J. I. López Cruz. 79

2.4 Comparación filogenética de dos cepas de *Calvatia pachyderma* (Lycoperdaceae).
M. C. Sánchez Gómez, J. M. A. Barba Chávez, J. I. López Cruz y Á. E. Márquez Ortega. 87

CAPITULO III
SOBRE EL GÉNERO *AGARICUS*

3.1 Suplementación de la composta después de la 1a, 2a ó 3a cosecha para mejorar la producción de hongos *Agaricus bisporus*.
D. J. Royse y J. E. Sánchez. 99

3.2 Sustrato con composteo reducido para el cultivo de *Agaricus bisporus*: búsqueda de una tecnología para el medio rural.
J. E. Sánchez y D. J. Royse. 107

3.3 Avances sobre el cultivo del "Cogumelo-do-sol" en Brasil.
N. Barros Colauto y G. Andrea Linde. 121

3.4 *Agaricus subrufescens* un hongo comestible y medicinal de gran potencial en México.
G. Mata y J. M. Savoie. 137

CAPITULO IV
GÉNERO *PLEUROTUS*

4.1 Cultivo de setas *Pleurotus* en España.
F. J. Gea Alegría. 145

4.2 El despunte de caña de azúcar, sustrato altamente eficiente para la producción de *Pleurotus ostreatus*.

S. Jaramillo Mejía y E. Albertó. 155

4.3 Efecto de la cascarilla de algodón y el aserrin de encino sobre el rendimiento de *Pleurotus eryngii*.
C. Márquez Mota, H. Leal Lara y R. Ramírez Carrillo. 163

4.4 Productores de setas *Pleurotus* spp. en el estado de Morelos, México.
L. López Eustaquio, V. M. Mora y D. Portugal. 173

4.5 Elaboración de abono bocashi con la paja obtenida del cultivo de *Pleurotus pulmonarius*.
R. Gaitán-Hernández, M. Mata-Rosas, A. Julián Carlos y E. C. Muñoz. 181

CAPITULO V
OTROS HONGOS COMESTIBLES

5.1 Logros y desafíos de la producción masiva de cuitlacoche *Ustilago maydis* en México.
V. T. Castañeda de León y H. Leal Lara. 193

5.2 Aspectos del cultivo de *Grifola frondosa*.
A. L. Rendón Ramírez, L. Acosta Urdapilleta, F. A. Medrano Vega y E. Villegas Villarreal 207

5.3 Optimización de condiciones para el cultivo de "shiitake".
L. P. Curiel Pérez, C. J. Morales Olivares, E. G. Sánchez Marín, R. Ramírez Carrillo y H. Leal Lara. 217

5.4 Cultivo de *Lentinula edodes* en aserrín de jacaranda con nutrientes.
I. N. Manero Colín, M. de L. Acosta-Urdapilleta, E. Montiel Arcos y F. A. Medrano-Vega 229

5.5 Requerimientos fisiológicos que inciden en el crecimiento micelial y la degradación del sustrato por *Agrocybe aegerita*.
R. De León, D. Lau, R. Vallejo y C. Klee. 241

5.6 Adaptación al cultivo intensivo del hongo silvestre *Polyporus tenuiculus* (Basidiomycetes, Polyporales) en sustratos formulados y en troncos.
E. Albertó y A. Omarini. 255

5.7 Cultivo de hongos comestibles silvestres en Guatemala: investigación y transferencia de tecnología.
M. del C. Bran, R. Cáceres y O. Morales. 269

5.8 El cultivo de hongos en México: una industria con posibilidades de diversificación.
G. Mata, R. Gaitán-Hernández y D. Salmones. 281

CAPITULO VI
OTROS USOS DE LOS MACROMICETOS

6.1 Propiedades medicinales de los hongos comestibles.
G. Valencia del Toro, M. E. Garín Aguilar. 297

6.2 Productos inmunocéuticos derivados del hongo comestible-medicinal *Pleurotus* sp. cultivado sobre pulpa de café en Cuba.
H. J. Morris Quevedo, G. Llauradó Maury, Y. Lebeque Pérez, R. Fontaine Álvarez, R. C. Bermúdez Savón, N. García Oduardo y A. Gutiérrez Muñoz. 309

6.3 Actividad antibacteriana de extractos de cepas híbridas y parentales de *Pleurotus* spp.
G. Valencia del Toro, M. E. Garín Aguilar, A. Cuadros Moreno, L. Aguilar Doroteo y E. Durán Páramo. 319

6.4 Cultivo de *Pycnoporus sanguineus* en aserrín de pino, encino y cedro.
L. Acosta-Urdapilleta, F. A. Medrano Vega y E. C. Villegas Villarreal. 329

6.5 Pigmentos antimicrobianos de *Pycnoporus sanguineus*.
L. Acosta-Urdapilleta, F. A. Medrano Vega y E. C. Villegas Villarreal. 339

6.6 Elaboración de productos con hongos.
J. N. Naranjo, C.J. Herrera, N. Almaraz y J. N. Uribe. 349

CAPITULO VII
PERSPECTIVAS

7.1 El papel de las instituciones de investigación en el sector champiñonero: vinculación como un requisito para el desarrollo. 361
J. C. Sucarrats.

7.2 Cultivo y aprovechamiento de macromicetos. Una tendencia global en crecimiento.
J. E. Sánchez y G. Mata.
365

Índice de género y especies de hongos 377

Índice analítico 387

PRÓLOGO

Los macromicetos u hongos macroscópicos conforman un grupo especial del Reino de los Hongos que adquiere cada día mayor relevancia. En efecto, existe en el mundo un claro interés por el conocimiento y la domesticación de estos organismos, toda vez que se descubren cada día mayores posibilidades de beneficio para la humanidad a partir de ellos. Si de la totalidad de especies de hongos estimadas sobre la tierra, una cuarta parte pertenecen a este grupo (lo que hace una estimación de alrededor de 400 mil especies), es evidente que aún queda muchísimo por conocer. Los avances actuales de la humanidad han permitido cultivar sólo un centenar. Es claro entonces, que con 0.025% de estos organismos domesticados –mas no todos ellos bien conocidos- la rama de la micotecnología dedicada al cultivo de los macromicetos aún no inicia su expansión, mas bien se encuentra en fase de latencia o incubación y se esperaría que abundantes descubrimientos y grandes desarrollos y beneficios se concretaran en un futuro no muy lejano, en base a investigación y se difundieran mediante capacitación, transferencia y apropiación del conocimiento.

Fue este interés, y a la vez la falta de conocimiento, los que motivaron a la Sociedad Mexicana de Micología, El Colegio de la Frontera Sur, el Instituto de Ecología, A.C. y la Secretaría de Pueblos Indios, a organizar en la ciudad de San Cristóbal de las Casas, Chiapas, durante los días 24-27 de abril de 2010 el "Taller Iberoamericano sobre Cultivo de Hongos Comestibles". El objetivo de este evento fue conocer el estado del arte que se guarda en esta basta región, así como fomentar la discusión del tema por especialistas. A pesar de haber sido organizado en una época de crisis económica mundial, al evento acudieron un buen número de cultivadores, investigadores y estudiantes procedentes de países como Argentina, Brasil, Cuba, Guatemala, España, Estados Unidos y México. Aunque no todos los países geográficamente involucrados estuvieron representados en el evento, dada la amplitud de la temática tratada, y el nivel de discusión alcanzado, puede decirse que el esfuerzo logró cristalizar sus objetivos. Como un testimonio de dicha reunión y como un apoyo para aquellas personas que no pudieron estar físicamente en el evento, el presente documento muestra una selección de los trabajos presentados, los cuales resumen de alguna manera, una parte de la actividad que se desarrolla en esta importante región del mundo. Región que comparte aspectos biológicos, históricos, culturales, económicos, lingüísticos y académicos.

Los temas tratados durante el taller superaron el planteamiento inicial ya que, además de tratar estrictamente el tema de cultivo de hongos comestibles, se abordaron temas como la situación y el potencial de los hongos silvestres. También se trataron diferentes aspectos de varios hongos de interés medicinal y funcional, y aún temas sobre manejo postcosecha de los hongos, entre otros. Estos tópicos no estaban contemplados inicialmente, pero resultaron indispensables para conformar una mejor perspectiva sobre la situación que guarda el cultivo y el aprovechamiento de los macromicetos en Iberoamérica.

En estos tiempos de penuria alimentaria, de pobreza extrema y –contradictoriamente- de obesidad, en los cuales grandes consorcios, políticas globalizantes y muchos intereses impiden que la agricultura provea de alimentos para todos, inicia su desarrollo una tecnología alternativa dedicada a domesticar macromicetos. El hecho de estar relativamente poco desarrollada, pone en igualdad de condiciones de competitividad a moros y sarracenos y es entonces buen momento y oportunidad para iniciarse en una actividad que de seguro aportará grandes beneficios. Es menester sin embargo, no sólo hacer más investigación, sino también la difusión del conocimiento para que el beneficio sea colectivo. Queda, entonces, mucho por estudiar, mucho por descubrir. El presente libro es sólo un recuento de lo conocido a nivel Iberoamérica, aunque también se incluye un resumen final con la perspectiva del conocimiento mundial sobre estos organismos y la manera en que encaja el aporte de Iberoamérica en un entorno globalizado.

Queremos hacer patente nuestro agradecimiento a todas las personas que participaron y asistieron al Taller Iberoamericano de Hongos Comestibles, así como a los patrocinadores del evento. Su contribución hizo posible

conjuntar toda la información contenida en este libro. Por otra parte, no queremos dejar pasar la oportunidad para extender nuestro mayor agradecimiento a la Dra. Karina Guillén, al M.C. René Andrade Gallegos, a los doctores Sigfrido Sierra Galván y Joaquín Cifuentes Blanco por la revisión crítica de todos los capítulos de este libro. Así mismo, extendemos nuestro mayor agradecimiento a Fabiola Roque Velázquez, por el apoyo otorgado en la parte final de la edición, el formateo, la paginación y la elaboración de los índices analítico y de especies. También agradecemos al personal de Informática y del Sistema Bibliotecario de Ecosur, la puesta en línea del libro.

Finalmente, nuestro reconocimiento al Departamento de Difusión y Comunicación de ECOSUR y al Comité de Administración del overhead de la Unidad Tapachula por el financiamiento que hizo posible la versión impresa.

Los editores

INTRODUCCIÓN

LA PRODUCCIÓN IBEROAMERICANA DE HONGOS COMESTIBLES EN EL CONTEXTO INTERNACIONAL

René H. Andrade Gallegos*, Gerardo Mata** y José E. Sánchez*

*El Colegio de la Frontera Sur. Apdo. Postal 36, Tapachula, Chiapas, México
**Instituto de Ecología. Antigua Carretera a Coatepec, Xalapa, Ver. México

RESUMEN

Se hace un recuento del conocimiento, la historia, la producción y la infraestructura que en cuanto a cultivo de hongos comestibles se tiene en Iberoamérica. Existen varias regiones que cuentan con un conocimiento tradicional ancestral sobre hongos silvestres comestibles, como en España, México, Guatemala, Perú, Chile y Argentina. Los hongos más cultivados comercialmente son el champiñón *Agaricus bisporus*, las setas *Pleurotus* spp. y el shiitake *Lentinula edodes*, este último sólo en algunos países. Existen también otros hongos comestibles que son producidos típicamente en algunas regiones o países, como la trufa negra *Tuber melanosporum* en España, el cogumelo do sol *A. subrufescens* en Brasil y el cuitlacoche *Ustilago maydis* en México.

Palabras clave: tecnología fúngica, micotecnología, hongos cultivados, desarrollo rural.

INTRODUCCIÓN

Sin lugar a dudas, dentro de las regiones económicas y geopolíticas que actualmente definen al mundo, Iberoamérica ha sido una de las que más ha tardado en adherirse al desarrollo tecnológico de la micocultura. Dados los lazos históricos, culturales y el lenguaje común, que unen fuertemente a Latinoamérica y la península ibérica, en este libro se presenta una perspectiva de los avances en esta vasta región del orbe. Tanto en la península ibérica como en Latinoamérica existen comunidades con una tradición definida por el consumo de hongos silvestres comestibles y en ambas regiones, el cultivo de los hongos comestibles dio inicio de manera parecida y contemporánea. Así, en España existen regiones que cuentan con una tradición ancestral en el conocimiento y consumo, como Cataluña y el País Vasco, mientras que en el lado occidental del océano Atlántico, sobresalen ciertas regiones -de México y Guatemala en Mesoamérica y de Chile, Perú y Argentina en América del Sur- que poseen un conocimiento tradicional importante sobre este tipo de hongos (Boa 2004). Este conocimiento tradicional llega a ser tan importante en algunos casos, como México, donde se tienen registrados más hongos silvestres comestibles, que en China, país que tradicionalmente es considerado como poseedor de una gran tradición por el consumo y el cultivo de hongos comestibles (J. Pérez Moreno *Com Pers*). A pesar de todo ese conocimiento, no fue sino hacia el segundo tercio/mediados del siglo pasado que el cultivo de estos hongos comenzó a darse de manera comercial en Iberoamérica, sobretodo en zonas donde ya había el conocimiento tradicional previo. En la península ibérica, España, por ejemplo, empezó a cultivar champiñones comercialmente a principios de los años 1960´s (Rodríguez Buleo 2003) y *Pleurotus* a mediados de los 1980´s (Gea, en este mismo libro). Por el contrario, Portugal se había caracterizado por tener poca tradición por el cultivo de hongos comestibles (Souza 2010), aunque en la actualidad existen algunas plantas de cultivo en ese país (J. G. Ferreira Batista *Com. Pers.*). En Latinoamérica, el champiñón fue el primer hongo cultivado comercialmente en 1941 (aunque desde 1933 se hacían ensayos a pequeña escala) y *Pleurotus* en los años 1970, ambos hongos en México (Martínez Carrera *et al*. 1991). El champiñón empezó a ser cultivado después

en Argentina (1941), Colombia (1950) y Brasil (1951) para luego extenderse a otros países del área (Lahmann y Rinker 1995, Lahmann 2007).

La falta de estadísticas oficiales en la mayoría de los países iberoamericanos es un problema recurrente, esto deriva en cierta manera, de la baja producción de hongos –por lo tanto en reducido impacto económico nacional-, en la incorporación de los datos de producción en otros rubros como hortalizas y el poco control estadístico sobre las actividades económicas. Esta situación ocasiona problemas cuando se trata de hacer análisis retrospectivos y sobre la situación actual. A continuación se presentan algunos de los datos disponibles para esta importante región.

IBEROAMÉRICA Y EL MUNDO

En la Tabla 1 se muestran datos sobre extensión, población y producción de hongos comestibles de la extensa región iberoamericana, y su comparación con China y los Estados Unidos, que son los dos países con mayor producción de hongos comestibles en el mundo. En extensión territorial, la superficie iberoamericana es mayor que la de Estados Unidos y China juntos, sin embargo está menos poblada que China y la cantidad de hongos producidos es infinitamente más pequeña que la de cualquiera de esos dos países. En efecto, la producción de hongos comestibles de Iberoamérica representa sólo 2.3% de la producción China en este rubro. En cuanto a consumo anual *per capita*, también Iberoamérica cuenta con el nivel más bajo. Aunque el consumo de España es ligeramente inferior al de Estados Unidos (1.2 y 1.7 kg por persona/año, respectivamente; Pardo 2005, Lucier 2003), la mayoría de países iberoamericanos tienen consumos muy por debajo de estos niveles; por ejemplo, en Chile se estiman 200g por persona/año, consumo que es considerado el más alto de Sudamérica (Cordero-Tononi s/a). En otros países, el consumo *per capita* de hongos comestibles es cercano a cero, como sería el caso de Cuba, Nicaragua, entre otros. Al comparar internamente la situación en cuanto a la producción de hongos comestibles en España y en Latinoamérica, se ve que España produce dos veces más que los países latinoamericanos en su conjunto (Figura 1) y que en ambas regiones, los hongos mayoritariamente cultivados son el champiñón y las setas *Pleurotus* spp.

Tabla 1. Datos comparativos de superficie, población y producción de hongos comestibles de Iberoamérica (IA) con China y Estados Unidos (2002)

	Superficie (10^6 km^2)	Población (10^6)	Producción hongos (10^6 t)	Consumo anual per capita de hongos comestibles (kg)
China	9.6	1,322	8.76	10.0*
EUA	9.8	304.5	0.38	1.77**
IA	21.6	618	0.212	variable

*Dato para algunas ciudades Chinas como Peking, Shangai y Guangzhou. S.T. Chang *Com. Pers*.
**Lucier *et al*. 2003.

Cabe señalar que los hongos en China y en varios países asiáticos son considerados ingredientes comunes en muchos de sus platillos, además de que el desarrollo de las técnicas de cultivo de estos organismos tiene sus orígenes en esos países. Esta situación concede a estas regiones una gran riqueza culinaria y cultural. En los países latinoamericanos con tradición micófaga, se aprecia que en las zonas donde existen más grupos étnicos nativos es donde se realizan las recolectas de hongos silvestres para consumo y para venta.

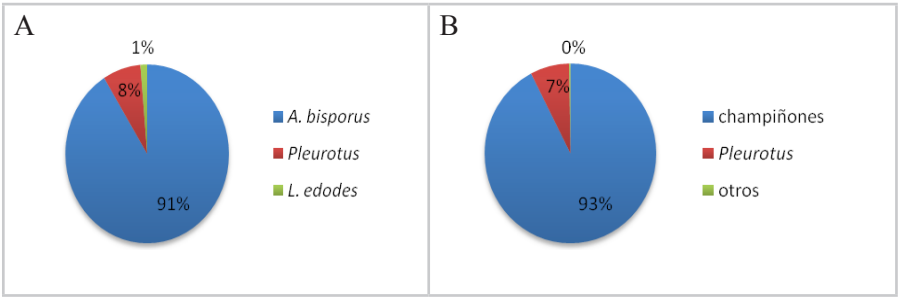


Figura 1. Importancia relativa de las especies de hongos comestibles más cultivados en (año 2002 de referencia): A) América Latina (total producido 65,458 t) y B) España (total 136,625 t) (Lahman 2007 y F.J. Gea *Com. Pers.*).

En la actualidad, en esta vasta región del globo, el cultivo de hongos comestibles es una actividad en crecimiento, aunque desigual entre países. Se considera una actividad con mucho potencial, en la cual ha habido en los últimos treinta años, un crecimiento sostenido. Si bien dicho crecimiento no alcanza el nivel logrado por China, que ha sido excepcionalmente elevado, sí se compara con el del resto del mundo, aunque justo es decir que las cantidades producidas por los países europeos y norteamericanos son muy superiores a la iberoamericana (Figura 2).

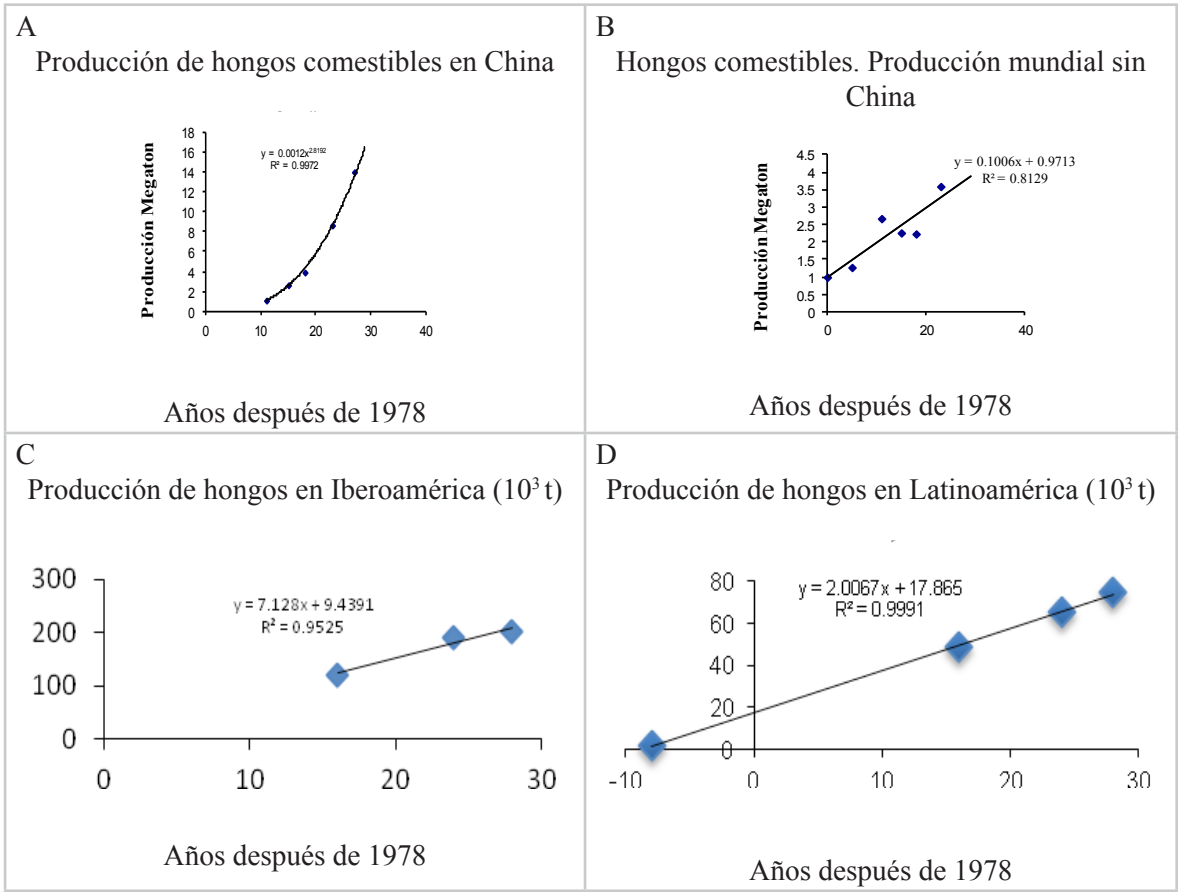


Figura 2. Crecimiento de la producción de hongos comestibles en: A) China, B) en el mundo, sin contar China, C) Iberoamérica, D) América Latina. Fuente: Van Griensven 2008, Lahmann 2007, F.J. Gea, *Com. Pers.*

LOS HONGOS CULTIVADOS

La distribución de la producción por países en Iberoamérica (Tabla 2) es muy heterogénea. España es el país que más produce champiñones y setas, aunque en cuanto a producción de shiitake, es rebasado por Brasil. Se observa que el desarrollo actual de la producción no tiene relación con el inicio del cultivo en el país. Así, por ejemplo, el cultivo de champiñones comenzó en México en 1933, sin embargo España que inició este cultivo casi 30 años después, tenía en el año 2002 una producción 3.6 veces mayor. Para el año 2009, considerando el crecimiento de la producción en ambos países, las estimaciones se mantenían en esos niveles (España 131,974 t y México 43,595 t), (FAO 2010, Martínez Carrera y López Martínez de Alva 2010). Lo mismo se observa en el caso de la producción brasileña, que inició en 1951, pero que actualmente es mayor que la colombiana y la argentina, que empezaron antes.

Tabla 2. Producción comercial estimada de *A. bisporus*, *Pleurotus* spp. y *Lentinula edodes* (2002) en países de Iberoamérica (toneladas)

País	Año de Inicio del Cultivo	Champiñón	Setas	Shiitake
Argentina	1941	1,500	88	8
Bolivia	1989	10	2	2
Brasil	1951	6,885	350	800
Chile	1959	4,872	36	0
Colombia	1950	6,312	9.5	3.6
Ecuador	1967	625	3	0
Perú	1960	750	3	0
Venezuela	1969	1,320	12	0
Costa Rica	1969	90	3	3
Guatemala	1960	80	30	15
México	1933	37,230 (45,260)[1]	4,380 (2,190)[1]	30 18.2
España[2]	1960	136,625	10,000	350
Portugal[3]	?	1,000		
Total		197,299	14,916.5	1,211.6

Fuente: Lahmann 2007, Lahmann y Rinker (2004), [1]D. Martínez-Carrera et al. (2007), [2]FJ. Gea (*Com. Pers*), [3]FAO (2010).

En base a su volumen de producción, el segundo hongo comestible cultivado de importancia en Iberoamérica son las setas (nombre popular con el que se designa a las especies del género *Pleurotus* en México y algunos países de América Latina, a diferencia de España en donde se llama "seta" a cualquier hongo comestible). Su producción alcanza 7.5% de la producción regional de champiñón; sin embargo, hay países que comparativamente producen más, como Guatemala (37.5% de su producción de champiñones), Bolivia (20%) y México (11.5%). El país con la producción más alta de *Pleurotus* spp. en la región es España, que en el año 2002 produjo 10 mil toneladas (Tabla 2). Los histogramas de la Figura 3 muestran la importancia de España dentro de la comunidad Europea como productor de setas, ya que es el segundo productor, después de Italia; mientras que en Latinoamérica, los más grandes productores son México y Brasil.

En Iberoamérica existen ciertas regiones en las cuales se cultivan hongos que son típicos de ellas y que son poco o nada cultivados en otras partes del mundo. Es el caso de Brasil, donde se cultiva el "Cogumelo do sol" *Agaricus subrufescens* Peck (*A. blazei* Murrill), que en 2005 alcanzó una producción de 35 t (Colauto y Linde, en este mismo libro); de España, donde se inocula con éxito el hongo micorrícico *Tuber melanosporum*

Vittad., en plantas huéspedes para la producción de trufas (con producción variable, que en años benignos puede alcanzar una producción de 80 t, De Román y Boa 2004), y el caso de México donde se cultiva y vende fresco y enlatado, en base a una fuerte tradición por el consumo, unas 500 toneladas (suma aproximada de silvestres y cultivados) de cuitlacoche *Ustilago maydis* (DC.) Corda (H. Leal *Com. Pers*, Figura 4).

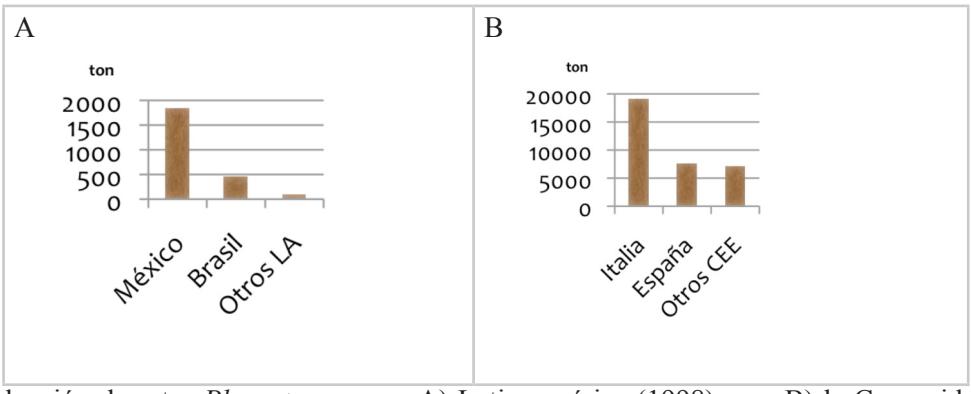


Figura 3. Producción de setas *Pleurotus* spp. en A) Latinoamérica (1998) y en B) la Comunidad Económica Europea (año de 1997).

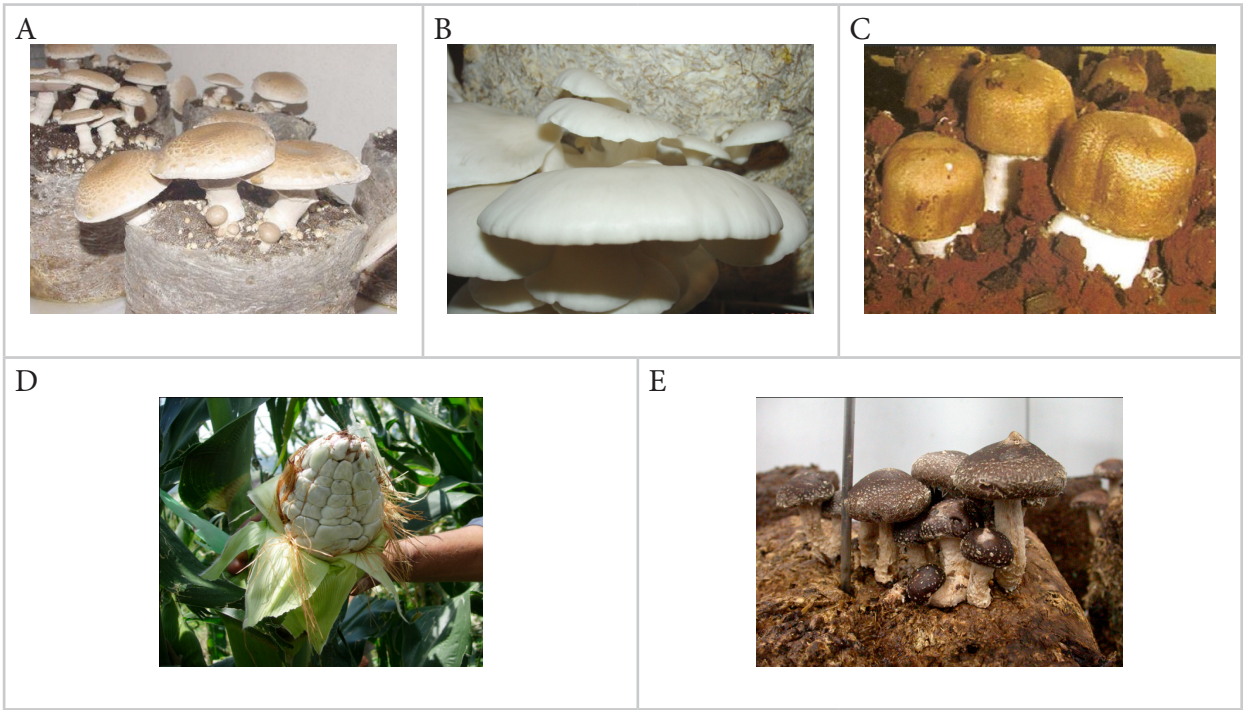


Figura 4. Hongos comestibles cultivados en Iberoamérica: A) champiñón oscuro "Portobello" *Agaricus bisporus*, B) setas *Pleurotus ostreatus*, C) cogumelo do sol *Agaricus subrufescens* (foto cortesía de Dr. Nelson Colauto), D) cuitlacoche *Ustilago maydis* (foto cortesía de Dr. Hermilo Leal), E) shiitake *Lentinula edodes* (foto G. Mata).

INFRAESTRUCTURA

El aspecto económico también ha influido en el establecimiento y desarrollo de las empresas dedicadas al cultivo de hongos comestibles en cada uno de los países iberoamericanos. En este rubro, la infraestructura llega

a jugar un papel fundamental –sobretodo en el caso del champiñón- así como las condiciones climáticas de los sitios de cultivo, que propician que algunas especies sean más factibles de cultivar que otras.

Para el caso del champiñón, tanto la maquinaria empleada como la ubicación en zonas con temperaturas menores a 20ºC –temperatura requerida por el hongo- son condiciones muy importantes para el éxito del cultivo. Es el caso de las regiones de Cuenca y La Rioja, en España, o del altiplano mexicano, que han permitido un desarrollo muy notable de las industrias de este rubro. Así, en el centro de México donde se tienen las mayores empresas del país que cultivan *A. bisporus* (J.E. Lange) Imbach (Querétaro, Toluca, Guadalajara), se conjugan características de latitud y altura sobre el nivel del mar que permiten condiciones climáticas benignas para el desarrollo del champiñón. Es así, por ejemplo, que en la región de Vila Real y Braghanza en Portugal, pretenden hacerse inversiones tendientes a incrementar la producción de hongos de 40 a 100 t/día, lo que aumentaría de 15 a 35 veces su producción actual (http://www.ionline.pt/conteudo/9855-maior-unidade-producao-cogumelos-da-europa-vai-abrir-em-vila-real).

Las especies de *Pleurotus*, al ser menos exigentes que las del género *Agaricus*, pueden ser, además, cultivadas en otras latitudes y aún a altitudes cercanas al nivel del mar. Así es de hecho, en España y China; o en las montañas de Perú y al sur del trópico de Capricornio en Chile y Argentina, en el hemisferio sur. Dada la biología, los hábitos de crecimiento de *Pleurotus* spp. y una menor tecnificación de su cultivo, las instalaciones para la producción de este hongo pueden ser de pequeña escala. Por ello es frecuente ver que pequeños productores se apropian de la tecnología y desarrollan el cultivo sin grandes inversiones; sin embargo, dado que esta actividad es relativamente reciente en Iberoamérica, los cultivadores iberoamericanos tienen mucho que aprender de sus colegas chinos, quienes en base a tradición y experiencias propias, motivados por una demanda creciente y sostenida, han sabido optimizar recursos para trabajar en condiciones rústicas generalmente más eficientes.

PERSPECTIVAS

El potencial que presentan los hongos comestibles y medicinales en Iberoamérica es muy difícil de cuantificar; sin embargo, se considera de gran importancia por la diversidad de hongos involucrada en esta región. La situación actual, regida por una economía globalizada, que exige de innovación en las actividades productivas y que plantea la búsqueda de alimentos más sanos y la existencia de consumidores más informados, presenta a la vez una oportunidad y un peligro para los hongos silvestres. De desarrollarse actividades de colecta organizada con fines comerciales -como promueven algunas empresas externas para satisfacer un mercado creciente- deben hacerse con mucho cuidado, basadas en estudios previos y normas y políticas que eviten la predación. En este sentido, el conocimiento que tienen las comunidades nativas y los resultados de investigaciones locales son muy valiosas y pueden contribuir a la conservación de los recursos.

El cultivo de hongos en Iberoamérica es una actividad tecnológica y económica con menos de un siglo de iniciada que, inclusive, no se ha establecido en varios países de la región. Los volúmenes de producción alcanzados son aún reducidos si se comparan con los alcanzados por otras regiones del mundo, como el sudeste asiático, la Unión Europea o el norte de América, o bien con la población global de los países iberoamericanos; sin embargo, se observa que el crecimiento ha sido constante y tiene la misma tendencia observada a nivel mundial. Dado que es una actividad que utiliza recursos poco aprovechados con beneficios ecológicos, económicos y sociales, es previsible que sigan aumentando la producción, el rendimiento y las áreas donde se producen.

Aun considerando los logros alcanzados a nivel mundial, en cuanto a ciencia y tecnología de hongos comestibles, se observa que el avance logrado hasta hoy, sigue siendo reducido, sobretodo si se compara con los logros alcanzado por la agricultura, actividad que lleva ya más de diez mil años de existencia y que ha proveído a la

humanidad de la mayoría de satisfactores.

El cultivo de macromicetos es pues, una actividad reciente en Iberoamérica. Seguramente que los hongos comestibles -los macromicetos en general- como parte importante del Reino de los Hongos, tienen mucho por aportar a la región y a la humanidad. Es deseable y esperable que en el futuro la investigación y el desarrollo tecnológico presenten alternativas de aprovechamiento en cuanto a nuevos hongos, nuevos sustratos, métodos novedosos de cultivo, así como un aprovechamiento más integral de los hongos mismos, y de las partes que les constituyen, o los productos que estos organismos son capaces de producir. El desarrollo de estrategias propias de la región es un tema de suma importancia para impulsar la industria del cultivo de los hongos en general. La obtención de nuevas cepas adaptadas a las condiciones de cultivo y a la tecnología disponibles en los distintos países es una de las prioridades de mayor urgencia, ya que es necesario contar con cepas con buen crecimiento en zonas subtropicales y tropicales, adaptadas a los sustratos locales y resistentes a las plagas y enfermedades de la región. Sin duda alguna, entre las nuevas especies cuya producción tendrá un crecimiento importante en la región, se encuentran las de los hongos medicinales que pueden aportar opciones de diversificación para el sector del cultivo de hongos.

Dadas las características del sistema investigación-producción-consumo de los hongos comestibles, es posible el desarrollo en dos sentidos: a) en cuanto a la producción tecnificada con objetivos de exportación y generación de divisas y b) como estrategia de desarrollo comunitario, hacia la satisfacción de necesidades locales.

Las explotaciones dedicadas al cultivo de hongos comestibles necesitan relativamente poco espacio, lo que optimiza la producción por metro cuadrado de terreno. Por otra parte, la forma de cultivar los hongos presenta la posibilidad de controlar todas las variables de producción. Esto es un incentivo para la producción orgánica de alimentos. Siendo así, los países iberoamericanos tienen en esta actividad, una opción valiosa de desarrollo económico, con capacidad de incidir en la alimentación, la salud, la agricultura, la biorremediación, la industria, etc. Por otra parte, como actividad productiva, el cultivo de hongos comestibles puede ser una estrategia útil para disminuir la migración y para motivar la participación de la mujer en la vida económica de sus comunidades.

REFERENCIAS

AEAT (s/a) Estadísticas de Comercio Exterior de España. Agencia Estatal de Administración Tributaria. Madrid, España.

Boa E (2004) *Los hongos silvestres comestibles. Perspectiva global de su uso e importancia para la población.* FAO. 161p.

Chang ST (2006) The World Mushroom Industry: Trends and Technological Development. International Journal of Medicinal mushrooms. 297-314. DOI: 10.1615/IntJMedMushr.v8.i4.10. http://dl.begellhouse.com/journals/708ae68d64b17c52.html.

Cordero Tononi N (s/a) On its own two feet. Mushroom Bussines. http://www.mushroombusiness.com/content/articles/detail/274/on-its-own-two-feet 9 de febrero 2011.

De Román M, Boa E (2004) Collection, marketing and cultivation of edible fungi in Spain. *Micol. Apl. Internat*. 16(2):25-33.

FAO (2010) Food and Agriculture Organization. Faostat. http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor. Diciembre 31, 2010.

Lahmanno (2007) Evolución de la industria del champiñón *Agaricus bisporus* en Latinoamérica. En: Sánchez J.E., Royse D.J. y Leal Lara H. (eds) *Cultivo, Mercadotecnia e inocuidad alimenticia de Agaricus bisporus*. ECOSUR, Tapachula. 161-167.

Lahmann O, Rinker DL (2004) Mushroom practices and production in Latin America 1994-2002. *Mush. Sci.* 16: 681-686.

Lahmann O, Rinker D (1995) Historical development of commercial mushroom production in Central and South America. *Mush. Sci.* 14:459-466**.**

Lucier G, Allshouse J, Lin BH (2003) Factors affecting U.S. mushroom consumption. Electronic Outlook Report from the Economic Research Service. USDA. www.ers.usda.gov 4 de enero 2011.

Martínez-Carrera D, Leben R, Morales P, Sobal M, Larqué-Saavedra A (1991) Historia del cultivo comercial de los hongos comestibles en México. *Ciencia y Desarrollo* 96: 33-43.

Martínez-Carrera D, Morales P, Sobal M, Bonilla M, Martínez W (2007). México ante la globalización en el siglo XXI: el sistema de producción consumo de los hongos comestibles. Capítulo 6.1, 20 pp. En: *El Cultivo de Setas Pleurotus* spp. *en México*. Sánchez JE, Martínez-Carrera D, Mata G, Leal H (eds). ECOSUR-CONACYT, México, D.F. ISBN 978-970-9712-40-7.

Martínez-Carrera D, López Martínez de Alva L (2010) Historia del cultivo comercial de hongos comestibles en México II: éxitos y fracasos durante el período 1991-2009. En: Martínez Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora VM (eds) *Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción- consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y perspectivas en el siglo XXI*. Red Latinoamericana de hongos comestibles y medicinales. Puebla, México. 513-551.

Pardo IM (2005) El champiñón: aspectos económicos en la comarca de la Manchuela. En: Avances en la tecnología de la producción comercial del champiñón y otros hongos cultivados 3. Actas de las IV Jornadas técnicas del Champiñón y otros hongos comestibles en Castilla-La Mancha. Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha y Diputación provincial de Cuenca. Quintanar del Rey. 101-116.

Rodríguez Buleo JA (2003) Cultivo de champiñón y setas en Villanueva de la Jara. http://www.villanuevadelajara.com/champinon.html, 17 diciembre 2010.

Souza Dias E (2010) Mushroom cultivation in Brazil: challenges and potential for growth. *Ciência e agrotecnologia* 34 (4) 795-803. doi: 10.1590/S1413-70542010000400001. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-70542010000400001&script=sci_arttext.

Van Griensven L (2008) Mushrooms: Cause and Cure. Keynote lecture. *6th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products*. Bonn, Germany.

CAPITULO 1

LOS HONGOS SILVESTRES

1.1 LOS HONGOS COMESTIBLES ECTOMICORRIZICOS Y SU BIOTECNOLOGÍA

Jesús Pérez-Moreno

Microbiología, Edafología, Colegio de Postgraduados, Km 36.5 carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado de México. CP 56230.
jperezm@colpos.mx, jepemo@yahoo.com.mx

RESUMEN

La ectomicorriza es una simbiosis mutualista, de gran importancia ecológica, que se establece entre más de siete mil especies de hongos y centenares de especies de árboles de importancia forestal. México es un importante reservorio tanto de géneros de hongos como de plantas ectomicorrízicas. En el país se han registrado más del cuarenta por ciento de los géneros de hongos ectomicorrízicos conocidos a nivel mundial y la mayor diversidad de especies a nivel internacional de importantes géneros de árboles ectomicorrízicos como pinos o encinos. Dentro de los hongos ectomicorrízicos existen especies comestibles de gran valor en el mercado nacional y algunas que tienen amplias perspectivas de uso a nivel internacional como miembros de los géneros *Amanita, Boletus, Cantharellus* y *Tricholoma*. Actualmente, se ha iniciado el desarrollo biotecnológico de inoculación de especies forestales nativas de México con hongos comestibles ectomicorrízicos en los géneros *Laccaria, Hebeloma* y *Suillus.* Por estas razones dichos hongos constituyen un recurso forestal no maderable de gran importancia potencial para la conservación de los bosques de México. Esto es de particular importancia en el país por sus grandes tasas de deforestación histórica que han prevalecido en las últimas décadas.

Palabras clave: hongos comestibles silvestres, *Hebeloma, Laccaria,* bosques, inoculación.

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas más serios que enfrenta la humanidad actualmente, es el cambio global y una de las causas principales de dicho fenómeno es la enorme emisión de gases invernadero a la atmósfera. Esta se encuentra originada por varios factores dentro de los cuales se incluye la masiva deforestación que existe en diversos países, como México. Entre 1990 y 2005, el país perdió en promedio más de 318, 000 hectáreas anualmente y ocupó el quinto lugar en deforestación a nivel mundial (FAO 2006). Actualmente, existe una corriente internacional vinculada con la utilización de recursos forestales no maderables para la conservación de los bosques. Dentro de ellos se encuentran los hongos comestibles silvestres. Se ha demostrado en diversos países europeos, asiáticos y sudamericanos, que la utilización de diversas especies de hongos puede llegar a ser un factor fundamental en la conservación de masas forestales y en algunos casos llegar a tener un valor económico superior a la madera. En México el potencial de utilización de diversas especies de hongos comestibles ectomicorrízicos, como fuente de alimento o de mejoramiento económico, y como consecuencia de un factor de transformación social en áreas rurales y de conservación ambiental, es enorme. Sin embargo, los estudios ecológicos y biotecnológicos de este importante recurso forestal, a pesar de su gran relevancia en el país, se encuentra en su infancia. En este capítulo se analiza inicialmente la importancia ecológica y biogeográfica de los hongos ectomicorrízicos. Posteriormente se discuten algunos aspectos económicos de diversas especies de hongos comestibles ectomicorrízicos y se analizan algunos estudios biotecnológicos efectuados en México.

MICORRIZA Y HONGOS ECTOMICORRÍZICOS

Una de las simbiosis terrestres más importantes establecidas entre hongos y plantas es la micorriza. Interesantemente, el vocablo micorriza fue acuñado en 1885, por Anton B. Frank (1885) para referirse a las estructuras

formadas entre las raíces de árboles colonizadas por uno de los hongos ectomicorrízicos comestibles, de mayor importancia comercial a nivel internacional: las trufas (*Tuber* spp.). Estos son hongos que tradicionalmente han tenido un alto valor económico por su enorme importancia gastronómica en países mediterráneos como Italia, España y Francia y que se asocian principalmente con encinos. Desde el punto de vista funcional, el principal beneficio de los simbiontes involucrados en la simbiosis micorrízica es el intercambio nutrimental, los hongos reciben carbono de las plantas hospederas y estas reciben principalmente fósforo y nitrógeno a través del micelio externo de los hongos (Smith y Read 2008). Más de un siglo de investigación ha documentado la "ocurrencia" de la simbiosis micorrízica, sin embargo el reto actual es tratar de entender la "función" de esta asociación (Read y Pérez-Moreno 2003). Esta necesidad ha sido percibida en las definiciones presentes de las simbiosis micorrízicas por ejemplo Smith y Read (1997) describieron una micorriza como "… una simbiosis en la cual un micelio externo de un hongo proporciona nutrientes derivados del suelo a las raíces de plantas…". Esta definición enfatiza la importancia de uno de los más relevantes componentes de la simbiosis, el micelio externo micorrízico (Pérez-Moreno y Read 2000, 2001a,b). Los principales tipos de micorrizas considerados por Smith y Read (2008) son las ectomicorrizas, las ectendomicorrizas y las micorrizas arbuscular, arbutoide, monotropoide, ericoide y orquideoide. Dentro de ellas las que tienen una mayor distribución geográfica en el planeta son la micorriza arbuscular y la ectomicorriza. La simbosis ectomicorrízica es establecida entre alrededor de 7,750 especies de hongos principalmente Basidiomycetes y Ascomycetes, y centenares de especies de angiospermas y gimnospermas leñosas (Rinaldi *et al.* 2008). En esta simbiosis los hongos asociados envuelven a las raíces formando una estructura conocida como manto (o vaina). Las hifas crecen hacia afuera a partir de este manto en el sustrato y hacia el interior entre las células radicales formando un sistema intercelular complejo llamado "red de Hartig" (Smith y Read 2008). Por lo tanto, las estructuras diagnósticas de la simbiosis ectomicorrízica son: i) un manto fúngico; ii) la red de Hartig y iii) el micelio externo que emerge de las raíces.

Distribución geográfica de los hongos ectomicorrízicos

La ectomicorriza es característica de importantes grupos de árboles los cuales incluyen notablemente Pinaceae, Cupresaceae, Dipterocarpaceae, Fagaceae, Betulaceae y Salicaceae. De hecho, la ectomicorriza es una de las simbiosis terrestres más prominentes y ecológicamente cruciales en el mantenimiento de los ecosistemas forestales templados y boreales del planeta (Tabla 1) así como en vastas áreas de regiones forestales subtropicales y tropicales (Tabla 2). En el hemisferio norte la ectomicorriza forma un cinturón que se extiende desde el lejano oriente (comprendiendo partes de Japón), cruza toda la antigua Unión Soviética, Europa y cubre vastas áreas de Norteamérica incluyendo enormes regiones de Alaska, Canadá, Estados Unidos de América y se extiende hasta Centroamérica (Read *et al.* 2004). En las áreas tropicales (Pérez-Moreno y Read 2004) la ectomicorriza ha sido estudiada principamente en: i) amplias áreas dominadas por miembros de dipterocarpaceae en el sureste asiático principalmente en Indonesia y en Malasia; ii) en Africa Central y Occidental, donde es localmente abundante con leguminosas Caesalpinoides de la tribu Amersthieae; y iii) en algunas zonas neotropicales. En total más de 55 géneros de plantas tropicales distribuidos en América, Africa, Asia y Australia han sido considerados ectomicorrízicos (Tabla 2). En México la ectomicorriza es de enorme interés estructural y funcional en ecosistemas templados, subtropicales y tropicales. Aunque los estudios de la simbiosis ectomicorrízica se encuentran en su infancia, el país es un importante reservorio de géneros de árboles de enorme importancia forestal, como los pinos y los encinos. México ocupa el primer lugar en biodiversidad de los géneros *Pinus* y *Quercus* con 72 taxa y 151 especies, respectivamente. Adicionalmente, el país alberga más de 40% de los géneros de hongos ectomicorrízicos conocidos a nivel mundial (Pérez-Moreno *et al.* 2011).

Tabla 1. Géneros de hongos y plantas que establecen simbiosis ectomicorrízicas en biomas templados y boreales

Hongos	Plantas
Basidiomycotina *Amanita, Boletus, Clavulina, Cantharellus, Gomphus, Chroogomphus, Hygrophorus, Laccaria, Lactarius, Leccinum, Lyophyllum, Lycoperdon, Ramaria, Rozites, Russula, Suillus, Tricholoma, Xerocomus*	*Abies, Alnus, Betula, Corylus, Eucalyptus, Fagus, Larix, Picea, Pinus, Populus, Pseudotsuga, Quercus, Salix, Tsuga*
Ascomycotina *Helvella, Tuber, Gyromitra, Terfezia, Elaphomyces, Tuber, Peziza, Otidea, Sarcosphaera, Tarzetta*	*Abies, Betula, Corylus, Eucalyptus, Fagus, Helianthemum, Larix, Pinus, Populus, Pseudotsuga, Quercus, Salix, Tsuga*

Fuente: modificado de Smith y Read (2008).

LOS HONGOS COMESTIBLES ECTOMICORRÍZICOS

Aspectos económicos

Dentro de las especies de hongos ectomicorrízicos se incluyen centenares de especies de hongos comestibles. Dichos hongos constituyen un recurso forestal no maderable, de enorme importancia a nivel internacional para la conservación forestal, ya que son una fuente alimenticia o una alternativa de ingreso económico para las comunidades locales. Especialmente se ha demostrado la importancia de hongos ectomicorrízicos comestibles en el mantenimiento de bosques en diversas áreas de España, Italia, China, Korea y Chile (Pérez-Moreno *et al*. 2010). El comercio internacional de los hongos silvestres comestibles está cotizado anualmente en billones de dólares (Hall *et al*. 2003, Yun y Hall 2004). Algunas de las especies de dichos hongos silvestres pueden alcanzar precios exorbitantes. Dentro de los más cotizados se encuentran el matsutake (*Tricholoma* spp.) y las trufas (*Tuber* spp.). Las trufas son hongos, con un fuerte aroma y sabor, que crecen de manera subterránea, por lo que para encontrar sus esporomas se utilizan generalmente perros entrenados. Estos hongos constituyen un ingrediente fundamental de alto valor económico en diversas cocinas europeas como la española, francesa, alemana e italiana, así como en la asiática, principalmente en China. Un ejemplo del alto valor de algunas trufas, que puede ser considerado como un fenómeno social de cierta importancia, ocurrió el 29 de noviembre de 2008. Ese día, una trufa blanca (*Tuber magnatum*) fue subastada en doscientos mil dólares americanos en Italia, como si fuera una piedra preciosa. Este precio fue pagado por un magnate chino tal y como había ocurrido en 2007 cuando otro ejemplar de trufa blanca de 1.5 kg fue vendido a Stanley Ho en 330,000 dólares (Pérez-Moreno *et al*. 2010). Otros ejemplos están constituidos por el comercio internacional de *Cantharellus cibarius* Fr. y del matsutake, los cuales están cotizados anualmente en 1,600 y 500 millones de dólares, respectivamente (Hall *et al*. 2003). Dentro de las razones que podrían explicar estos fenómenos se encuentra principalmente el hecho de que estos hongos han constituido ingredientes, insustituibles a la fecha, de enorme importancia culinaria en gastronomías principalmente de países europeos y asiáticos de gran poder económico. Asimismo, la mayoría de estas especies no han podido ser cultivados, por lo que su consumo depende de su recolección natural.

Tabla 2. Géneros de plantas y hongos que establecen simbiosis ectomicorrízicas en biomas tropicales y subtropicales

Leguminosae *Acacia, Afzelia, Aldinia, Anthonota, Aphanocalyx, Berlinia, Brachystegia, Dicymbe, Didolotia, Eperua, Gilbertiodendron, Inga, Instia, Isoberlinia, Julbernardia, Macrolobium, Microberlinia, Monopetalanthus, Ormosia, Paraberlinia, Paramacrolobium, Pericopsis, Tetraberlinia*	*Amanita, Cantharellus, Gyrodon,Gyroporus, Inocybe, Lactarius, Porphyrellus, Russula, Boletellus, Scleroderma, Sclerogaster, Strobilomyces, Xerocomus*
Casuarinaceae *Casuarina, Allocasuarina*	*Amanita, Elaphomyces, Hysterangium, Laccaria, Paxillus, Pisolithus, Scleroderma, Thelephora*
Dipterocarpaceae *Anisoptera, Dipterocarpus, Dryobalanopus*, *Hopea, Marquesia, Monotes, Shorea, Vateria*	*Amanita, Boletus, Cantharellus, Cenococcum, Geastrum, Lactarius, Russula, Scleroderma*
Euphorbiaceae *Uapaca*	*Amanita, Austrogautieria, Boletellus, Cantharellus, Coltricia, Elasmomyces, Lactarius, Pulveroboletus, Russula, Scleroderma, Tubosaeta, Xerocomus*
Fagaceae *Castaneopsis, Quercus, Lithocarpus, Pasania,*	*Boletus, Boletellus, Gyroporus, Leccinum, Tylopilus*
Gnetaceae *Gnetum*	n.r.
Myrtaceae *Campomanesia, Eucalyptus, Eugenia,Melaleuca, Tristania*	*Cenococcum, Hebeloma, Laccaria, Pisolithus, Scleroderma, Setchelliogaster*
Nyctaginaceae *Neea, Pisonia, Torrubia*	Thelephoraceae
Poaceae *Bambusa*	*Laccaria*
Polygonaceae *Coccoloba*	*Cantharellus*
Pinaceae *Pinus*	*Amanita, Boletus, Coltricia, Gyroporus, Hebeloma, Pisolithus, Rhizopogon, Scleroderma, Suillus, Thelephora, Tylopilus*
Proteaceae *Faurea*	n.r.
Sarcolaenaceae *Sarcolaena, Leptolaena, Schizolaena*	*Amanita*
Sapotaceae *Glycoxylon*	n.r.
Sapindaceae *Allophyllus, Nephelium*	n.r.

Fuente: modificado de Pérez-Moreno y Read (2004). n.r. = micobiontes no reportados, los registros están basados en la presencia de manto y red de Hartig en las raíces de las plantas evaluadas.



Figura 1. Hongos comestibles ectomicorrízicos cuyo comercio internacional está valuado en billones de dólares anualmente: A) *Amanita caesarea s.l.* de Durango; B) *Cantharellus cibarius s.l.* de Texcoco, estado de México; C) *Boletus edulis s.l.* del Cofre de Perote, Veracruz; D) *Ramaria* spp. de Ozumba, estado de México; E*) Tuber indicum* de Yunnan, China; F)*Tricholoma magnivelare* (matsutake) de Oaxaca.

Dentro de las especies de hongos ectomicorrízicos cultivados actualmente, de manera masiva, se encuentran solamente las trufas (principalmente *Tuber melanosporum* Vittad. y *T. uncinatum* Chatin) (Renowden 2005, Reyna 1992). En el caso específico de México se conocen más de 200 especies de hongos silvestres comestibles, de las cuales alrededor de 50% establecen ectomicorrizas con árboles de importancia forestal (Villarreal y Pérez-Moreno 1989). Dentro de ellas algunas tienen valor en mercados internacionales tales como: *Amanita*

caesarea s.l., Boletus edulis s.l., Cantharellus cibarius y Tricholoma magnivelare (Peck) Redhead, (Figura 1). En los mercados internacionales la forma de comercialización de estos hongos es muy variable, e incluye hongos frescos, deshidratados, congelados o altamente industrializados en patés, aceites de olivo o bebidas alcohólicas (Pérez-Moreno *et al.* 2010). Por ejemplo el matsutake es comercializado entero, rebanado, troceado o pulverizado en diversas presentaciones las cuales incluyen las siguientes: i) fresco; ii) deshidratado; iii) salado; iv) congelado; v) en salmuera; vi) liofilizado; vii) en conservas y viii) en té. La comercialización internacional de los hongos comestibles silvestres y productos derivados es efectuada por compañías de China, Estados Unidos, Francia, Italia, Inglaterra, Suiza, Hong Kong, Sudáfrica, Singapur y Canadá (Tabla 3).

Tabla 3. Ejemplos de compañías que comercializan productos relacionados con hongos ectomicorrízicos comestibles

Compañía	Ciudad y País	Actividad
Micología forestal y aplicada	Barcelona, España	Árboles micorrizados con trufas (*Tuber* spp.)
Wine and truffle	Manjimup, Australia	Ecoturismo vinculado con trufas y vinos
Truffles Australis	Tasmania, Australia	Asesoría para establecer plantaciones con trufas
Woodford truffles	Sudáfrica	Asesoría para establecer plantaciones con trufas
Mycorrhizal Systems UK.	Inglaterra	Árboles micorrizados con trufas
Garlandtuffles Trufas Arotz	Estados Unidos de América	Árboles micorrizados con trufas, micoturismo y libros
	España	Venta de trufas frescas y procesadas, y hongos silvestres incluyendo porcini (*Boletus edulis* s.l.)
Sichuani masel import and export	Sichuan, China	Exportadores de *Boletus, Cantharellus* y *Tuber.*
Kunming Wenyi Mushrooms & Foods	Kunming, Yunnan, China	Exportadores de matsutake, *Cantharellus, Boletus* congelados, frescos o secos
New Tiger International	Flushing, NY Estados Unidos	Comercialización de *Boletus, Cantharellus, Tuber* y matsutake
Eylíl Gida	Antalya, Turquía	Comercialización de *Boletus* y matsutake
Kunming Fong Sung	Kunming, China	Comercialización de *Cantharellus, Tuber, Sarcodon* y matsutake

Fuente: modificado de Pérez-Moreno *et al.* (2010).

Aspectos biotecnológicos

La biotecnología de los hongos comestibles ectomicorrízicos se inició, al menos desde el siglo XVIII, cuando se efectuaron intentos para utilizar hongos específicos para formar ectomicorrizas en plántulas de encinos en Europa. El objetivo inicial de dichas inoculaciones fue incrementar la producción natural de trufas. Las trufas frescas o secas eran colocadas en los "cajetes" donde las plántulas de los encinos eran sembradas en nuevas plantaciones (Malencon 1938, Trappe 1977). Interesantemente esto ocurrió mucho antes de que el mismo vocablo "micorriza" fuera acuñado, hecho que ocurrió en 1885 (Frank 1885). Desde esta fecha, hasta finales de

1970 el interés de la aplicación práctica de los hongos micorrízicos, en general, se concentró principalmente en la utilización de los hongos ectomicorrízicos en la producción forestal (Mikola 1980). Las fuentes principales de inóculo que han sido utilizadas, estuvieron constituidas en un inicio, por las esporas o los esporomas molidos, frescos o secos, y después por cultivos miceliales (Brundrett *et al.* 1996). Actualmente, en la preparación de inoculantes comerciales basados en hongos ectomicorrízicos, se continúan utilizando diversas especies no comestibles de hongos Gasteromycetes, dentro de los géneros *Pisolithus, Scleroderma* y *Rhizopogon,* y algunos Agaricales, dentro de los cuales se incluyen algunas especies comestibles en los géneros *Laccaria* y *Suillus.* Tanto las esporas como los cultivos miceliales de dichos hongos han sido utilizados para inocular semillas o plantas de importancia forestal tanto en regiones templadas como tropicales (Mikola 1980, Brundrett *et al.* 1996). A la fecha existen diversas compañías a nivel mundial que efectúan la comercialización de algunos productos relacionados con los hongos comestibles ectomicorrízicos los cuales incluyen por ejemplo árboles micorrizados con trufas (Tabla 3). Liu *et al.* (2009) consideraron que es posible el cultivo de *Lactarius volemus* al utilizar como fuente de inóculo esporomas triturados y mezclados en soluciones aplicadas directamente a plantaciones en Yunnan, China en las cuales efectuaron cortes en las raíces para promover el crecimiento de nuevas ectomicorrizas.

En México, en el Colegio de Postgraduados, en Texcoco, estado de México, se han efectuado durante las últimas dos décadas diversas investigaciones con el fin de utilizar cepas nativas de hongos ectomicorrízicos comestibles en plantaciones principalmente de pinos y eucaliptos, y en programas de reforestación. Los hongos que han sido estudiados han incluido principalmente especies de *Amanita, Boletus, Laccaria, Hebeloma* y *Suillus* (Pérez-Moreno 1992, Pérez-Moreno *et al.* 2002, Martínez-Reyes *et al.* 2002, Perea-Estrada *et al.* 2009, Carrasco-Hernández *et al.* 2011). Como fuentes de inóculo se han utilizado tanto esporas como micelio de especies de hongos nativos de diversas partes de México. Como resultado de dichas investigaciones, a la fecha se tienen algunos avances tanto con la inoculación a base de micelio como de esporas de hongos ectomicorrízicos.

Por ejemplo, se ha observado un evidente efecto en el crecimiento de especies tales como *Pinus hartwegii*, *P. patula, P. montezumae, P. pseudostrobus* y *P. greggii* con la inoculación de diversas especies comestibles de los géneros *Suillus, Laccaria* y *Hebeloma*. Se ha encontrado que la inoculación con dichos hongos ectomicorrízicos origina un incremento en los contenidos nutrimentales de dichas plantas, incluyendo nitrógeno, fósforo y potasio, en relación a las plantas no inoculadas. Este incremento en crecimiento vegetal, y en términos nutrimentales, ha estado asociado generalmente con una colonización ectomicorrízica de las especies inoculadas, la cual dependiendo de las combinaciones de hongos, plantas y sustratos empleados ha sido en algunas ocasiones abundante y en otras escasa. Se ha observado también, en algunas ocasiones, una abundante producción de micelio externo asociado con las raíces así como la formación de esporomas de los hongos inoculados, lo que constituye una evidencia del éxito de los métodos empleados (Figura 2). A pesar de estos prometedores resultados iniciales, la investigación biotecnológica de los hongos comestibles ectomicorrízicos de México constituye un área con un gran potencial de desarrollo en las próximas décadas por su enorme importancia ambiental y aplicada.

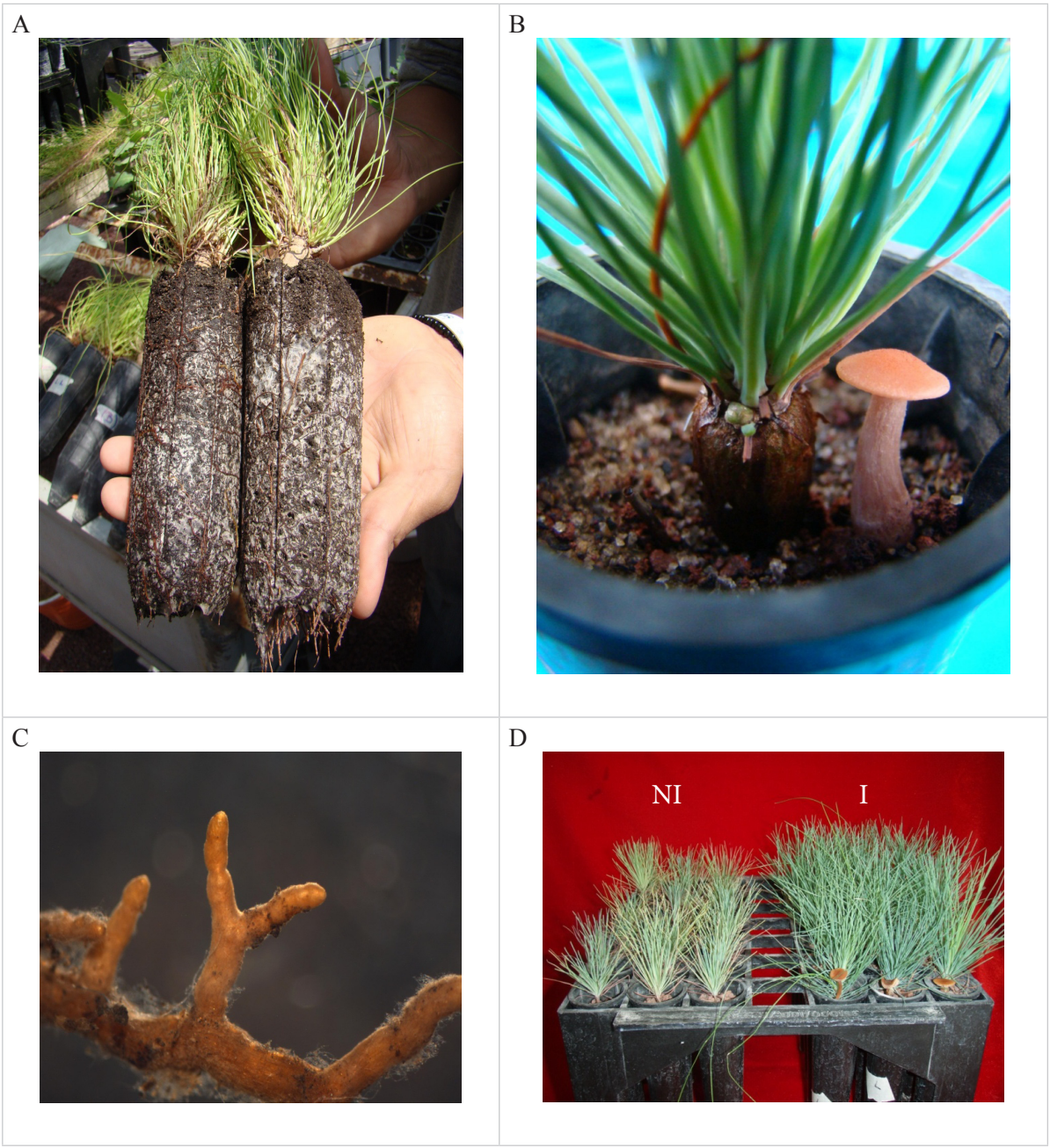


Figura 2. Biotecnología de hongos comestibles ectomicorrízicos. A) *Pinus montezumae* inoculados con *Hebeloma mesophaeum*, mostrando conspicuo micelio externo; B) Formación de esporoma de *Laccaria laccata* en asociación con *P. montezumae* inoculado con esporas del mismo hongo; C) Ectomicorriza de *Laccaria laccata* con *P. pseudostrobus*; D) Efecto de la inoculación con *Laccaria laccata* en el crecimiento de *P. montezumae*; NI= plantas no inoculadas, I= plantas inoculadas.

CONCLUSIONES

Los hongos comestibles ectomicorrízicos constituyen un importante componente que podría contribuir a la conservación de los ecosistemas forestales. Adicionalmente, debido a que existe un mercado internacional, valuado en billones de dólares anualmente, el manejo de dichos hongos podría contribuir a las economías locales y ser un factor de transformación social de enorme relevancia en áreas aledañas a los bosques en México, tal

y como ha sido demostrado en otros países. Sin embargo, adicional a un mayor conocimiento biotecnológico tendiente a la utilización de este importante recurso forestal no maderable, en el país hace falta una mayor organización social y vinculación de los grupos científicos, con empresarios, gobierno y comunidades.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo financiero del proyecto FOMIX VERACRUZ 108654 "Identificación, aislamiento y cultivo de hongos micorrícicos del Cofre de Perote, Veracruz, y pruebas de micorrización con plántulas de pino bajo condiciones controladas". La fotografía 1a es cortesía del M.C. Leonardo García Rodríguez del INIFAP-Durango y la 2b de la Dra. Magdalena Martínez-Reyes del Colegio de Postgraduados, el resto de las fotografías son autoría de JPM. Se agradece también a la M.C. Violeta Carrasco Hernández, por la síntesis de la micorriza mostrada en la imagen 2c y al estudiante de maestría del Colegio de Postgraduados Mario Jiménez Ruiz por la recolecta de los especímenes mostrados en la Figura 1e.

REFERENCIAS

Brundrett M, Bougher N, Dell B, Grove T, Malajczuk N (1996) *Working with mycorrhizas in forestry and agriculture.* Australian Center for International Agricultural Research. Canberra, Australia. 374 pp.

Carrasco-Hernández V, Pérez-Moreno J, Espinosa-Hernández V, Almaraz-Suárez JJ, Quintero-Lizaola R, Torres Aquino M (2011) Contenido de nutrientes e inoculación con hongos ectomicorrízicos comestibles en dos pinos neotropicales. *Revista Chilena de Historia Natural* 84:83.96

FAO (2006). *Global Forest Resources Assessment 2005. Progress towards sustainable forest management*. FAO Forestry paper 147. Roma, Italia.

Frank AB (1885) Ueber die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Baume durch unterirdische Pilze (On the root-symbiosisdepending nutrition through hypogeous fungi of certain trees). *Ber. Deut. Bot. Gesell.* 3: 128-145 (translated by JM Trappe, *Proc. 6th N. Amer. Conf. Myc*.:18-25).

Hall IR, Stephenson SL, Buchanan PK, Yun W, Cole ALJ (2003) *Edible and poisonous mushrooms of the world.* Crop & Food Research. Christchurch, New Zealand. 371 p.

Liu PG, Yu FQ, Wang XH, Zheng HD, Chen J, Chen JY, Tian XF, Xie XD, Shi XF, Deng XJ (2009) The cultivation of *Lactarius volemus* in China. *Acta Botanica Yunnanica* Suppl. 16: 115-116.

Malencon G (1938) Les truffes européennes. *Revue de Mycologie* 3 : 1-92.

Martínez-Reyes M, Pérez-Moreno J, Aldrete A, Cetina-Alcala VM (2002) Potencial biotecnológico de especies mexicanas de hongos etomicorrízicos comestibles para inoculantes forestales a base de esporas. En: Pérez-Moreno J, Alvarado-López J, Ferrera-Cerrato R (eds) *Producción y control de calidad de inoculantes agrícolas y forestales.* Colegio de Postgraduados y Comité Mexicano de Inoculantes Agrícolas y Forestales. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 103-104.

Mikola P (ed) (1980) *Tropical mycorrhizal research.* Oxford University Press, Oxford, UK.

Perea-Estrada VM, Pérez-Moreno J, Villarreal-Ruiz L, Isla de Bauer ML, Trinidad-Santos JA, Tijerina-Chávez L, Cetina-Alcala VM (2009) Humedad, adición de nitrógeno, hongos ectomicorrízicos comestibles en el crecimiento de pino. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32: 93-102.

Pérez-Moreno J (1992) Aspectos ecológicos, aislamiento de cepas, síntesis de micorriza y pruebas "in vitro" contra patógenos de diversos hongos ectomicorrízicos del Parque Nacional Zoquiapan, Edo. de México. Tesis de Maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México.

Pérez-Moreno J, Read DJ (2000) Mobilization and transfer of nutrients from litter to tree seedlings via the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. *New Phytologist* 145: 301-309.

Pérez-Moreno J, Read DJ (2001a) Exploitation of pollen by mycorrhizal mycelial systems with special reference to nutrient recycling in boreal forests. *Proceedings of the Royal Society of London B* 268: 1329-1335.

Pérez-Moreno J, Read DJ (2001b) Nutrient transfer from soil nematodes to plants: a direct pathway provided by the mycorrhizal mycelial network. *Plant, Cell and Environment* 24: 1219-1226.

Pérez-Moreno J, Read DJ (2004) Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. *Interciencia* 29: 239-247.

Pérez-Moreno J, Alvarado-Lopez J, Ferrera-Cerrato R (eds) (2002) *Producción y control de calidad de inoculantes agrícolas y forestales.* Colegio de Postgraduados y Comité Mexicano de Inoculantes Agrícolas y Forestales. Montecillo,

Texcoco, Estado de México.107 pp.

Pérez-Moreno J, Lorenzana-Fernandez A, Carrasco-Hernandez V, Yescas-Perez A (2010) *Los hongos comestibles silvestres del Parque Nacional Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos*. Colegio de Postgraduados, CONACyT, SEMARNAT. 167 p.

Pérez-Moreno J, Lorenzana-Fernández A, Medel-Ortíz R, Ferrera-Cerrato R, Mata Montes de Oca G (2011) Los hongos ectomicorrícicos de México: una perspectiva global. En*:* Alvarez Sánchez J, Alarcón A, Rodriguez Guzmán MP (eds) *Biodiversidad microbiana de México*. SUBNARGEM, SAGARPA, México, D.F. (en prensa).

Read DJ, Pérez-Moreno J (2003) Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems - a journey towards relevance? *New Phytologist* 157 : 475-492.

Read DJ, Leake JR, Pérez-Moreno J (2004) Mycorrhizal fungi as drivers of ecosystem processes in heathland and boreal forest biomes. *Can. J. Bot.* 82: 1243-1263.

Renowden G (2005) *The truffle book*. Limestone Hills Publishing. New Zeland.

Reyna DS (1992) *La trufa*. Agogías. Mundi Prensa.

Rinaldi AC, Comandini O, Kuyper TW (2008) Ectomycorrhizal fungal diversity: separating the wheat from the chaff. *Fungal Diversity* 33: 1–45.

Smith SE, Read DJ (1997) *Mycorrhizal symbiosis*. 2nd Edition. Academic Press. London.

Smith SE, Read DJ (2008) *Mycorrhizal symbiosis*. 3a edition. Academic Press. London.

Trappe JM (1977) Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. *Annual Review of Phytopathology* 15: 203-222.

Villarreal L, Pérez-Moreno J (1989) Los hongos comestibles silvestres de México, un enfoque integral. *Micología Neotropical Aplicada* 2: 77-114.

Yun W, Hall IR (2004) Edible ectomycorrhizal mushrooms: challenges and achievements. *Can. J. Bot.* 82: 1063-1073.

1.2 LOS HONGOS SILVESTRES COMESTIBLES EN YORICOSTIO, MÉXICO

Marlene Gómez Peralta y Vitalina Zamora Equihua

Herbario de la Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
Edificio "R" Ciudad Universitaria, C.P. 58030. Morelia Michoacán, México
margom@zeus.umich.mx, vickkyzamora@hotmail.com

RESUMEN

El acercamiento de la Universidad Michoacana con un grupo de campesinos, interesados en la conservación del bosque y con disposición para el trabajo en equipo, conjugó intereses para desarrollar un proyecto de aprovechamiento de recursos en plantaciones forestales aparentemente improductivas. Este proyecto está basado en organismos carismáticos como los hongos silvestres, cuyo aprovechamiento además de que genera ingresos económicos ayuda a mantener el bosque. Se reúne la experiencia de seis años de trabajo con el grupo de campesinos en torno al aprovechamiento de hongos silvestres comestibles. Se ha generado conocimiento científico y ha habido una valoración del potencial de aprovechamiento de los hongos; se ha propiciado una organización social e incursionado en el micoturismo; se registró el comportamiento de la producción y diversidad de los hongos y se indican los ingresos obtenidos por la Asociación de Recolectores de Hongos Silvestres Comestibles Yoricostio, "La Villita" S.C. de R.L., en las actividades que desarrollan. Esta experiencia demuestra que la organización comunitaria para el aprovechamiento de los recursos del bosque, en este caso los hongos, es posible y es un complemento a la economía rural, sin dejar de lado, las actividades tradicionales.

Palabras clave: aprovechamiento de hongos, plantaciones forestales, organización comunitaria, producción natural, micoturismo.

INTRODUCCIÓN

En Michoacán, como en muchos otros lugares, los bosques templados enfrentan dos grandes problemas: la tala forestal y el cambio de uso del suelo con fines agropecuarios. En este contexto, la reforestación para recuperar zonas boscosas es poco atractiva para las comunidades, pues no genera ingresos monetarios y las plantaciones para aprovechamiento forestal tienen el inconveniente de ser aparentemente improductivas en los primeros años.

Yoricostio (que significa en idioma P´urhépecha "lloraderos de agua" por la abundancia de manantiales en la región), es una de las cinco tenencias del municipio de Tacámbaro de Codallos, Michoacán. El clima predominante es templado subhúmedo con lluvias en verano y la vegetación de la zona es bosque mixto de pino-encino, aunque el área de estudio corresponde a plantaciones forestales de coníferas (León 2007) y presenta altitudes que van de los 2 315 a los 2 515 m.

La principal actividad productiva fue, hasta hace relativamente poco, el aprovechamiento de recursos madereros (que fue más intensa entre los años 1977 a 1998, por la presencia en la región de una empresa forestal), la ganadería y la agricultura de temporal; posteriormente se extendió el cultivo del aguacate a esta región, aumentando los problemas de deforestación, cambio de uso de suelo, tala clandestina y el consecuente agotamiento de los mantos acuíferos. Ante esta problemática, en el año 1983 y a iniciativa de Don Isidro Díaz Mondragón, líder natural y presidente de la Sociedad Cooperativa de Producción Forestal de Yoricostio, se inició la reforestación con *Pinus pseudostrobus* Lindl.*, P. michoacana* Martínez*, P. ayacahuite* Ehrenberg*, P. patula* Schiede ex Schltdl. & Cham. y *Cupressus lusitanica* Mill. Estas plantaciones a la fecha suman más de 1 200 hectáreas

en los alrededores de Yoricostio y otros municipios cercanos como Madero, Salvador Escalante y Acuitzio. La producción de las plántulas se inició en un vivero hace 28 años a iniciativa de la Sociedad Cooperativa de Producción Forestal de Yoricostio, para el año 1997 se implementó un segundo vivero. La producción inicial fue de 20 000 a 40 000 plantas al año; actualmente se producen de 150 000 a 200 000 plantas al año.

El tiempo que tiene que pasar desde que se inicia una plantación hasta la obtención de madera es muy largo y los resultados inmediatos poco rentables, por lo que es necesaria la búsqueda de fuentes de ingreso alternativas, que no estén basadas en la extracción inmediata de la madera. Ante esta problemática, los hongos silvestres constituyen una alternativa hasta hoy poco valorada y difundida: el aprovechamiento sustentable de los mismos con fines comerciales y turísticos.

APROVECHAMIENTO DE HONGOS SILVESTRES COMESTIBLES

Acercamiento con un grupo de campesinos de Yoricostio

En el año 2004, personal del Herbario de la Facultad de Biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), estableció contacto con Don Isidro Díaz Mondragón, persona que mantenía la inquietud de encontrar una forma de aprovechar las plantaciones forestales mientras éstas eran aptas para la producción de madera. De este modo inició el proyecto "Aprovechamiento de hongos silvestres comestibles en plantaciones forestales de Yoricostio" (2004-2006). En los años siguientes (2007-2010), se continuó con este proyecto, bajo el nombre: "Ordenamiento territorial y aprovechamiento de Recursos Forestales no Maderables", financiados por la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH.

Reconocimiento de las especies de hongos silvestres comestibles.

Los campesinos de la comunidad de Yoricostio han vivido en contacto con el bosque y aún permanece entre sus costumbres el consumo de hongos silvestres, sin embargo, hay una marcada pérdida de conocimiento tradicional, ya que sólo reconocían como comestibles dos especies: *Amanita caesarea* (Scope.: Fr.) Pers. y *Russula* o *Lactarius* parasitado con *Hypomyces lactifluorum* (Schwein.) Tul. & C. Tul.

En el año 2004, en recorridos de un día a la semana durante la temporada de lluvias (julio a octubre), se capacitó a un grupo de campesinos sobre reconocimiento de las especies comestibles presentes en las plantaciones forestales. Con base en la observación detallada de las partes de los hongos, formas, colores, olores y sustratos donde se desarrollan. Con la finalidad de minimizar el impacto de la recolección y mantener la producción natural, se capacitó también sobre la forma apropiada de colecta (evitar daños al micelio, no colectar ejemplares muy jóvenes o muy maduros).

Para fomentar el consumo y el aprovechamiento de especies que no reconocían como comestibles, se prepararon diferentes platillos, inicialmente se añadían hongos a comidas cotidianas, posteriormente, los hongos fueron el ingrediente principal. Al final de la temporada los platillos hechos con hongos obtuvieron la aceptación entre el grupo de campesinos participantes, así como entre vecinos y familiares cercanos a quienes se les invitaba a la degustación; la preparación de platillos sólo se realizaba como parte de las actividades del proyecto, pero en los años siguientes, fueron incorporándolos a la dieta familiar.

Durante la primera temporada de lluvias, se lograron reconocer 12 especies comestibles en las plantaciones: Llano Grande, El Bejuco y La Agüita; se recolectaron un total de 39.471 kg que se utilizaron para fomentar su consumo, resultando *Laccaria* spp. (*L. amethystina* (Huds.) Cooke*, L. bicolor* (Maire) P.D. Orton, *L. laccata*

(Scop.) Cooke) y *Clitocybe gibba* (Pers.) P. Kumm. las especies más productivas, con 16.55 kg de la primera y 15.66 kg de la segunda especie, las otras especies con menor producción fueron: *Agaricus sylvaticus* J. Otto, *Amanita fulva* Fr., *A. vaginata* (Bull.) Lam., *Helvella crispa* (Scop.) Fr., *H. elastica* Bull**.** , *H. lacunosa* Fr**.** Aunque *Suillus granulatus* (L.) Roussel y *S. tomentosus* var. *discolor* A.H. Sm., Thiers & O.K. Mill. *,* presentaron buena producción, no fue registrada debido a que por su aspecto, no tuvo buena aceptación.

Potencial comercial de los hongos silvestres comestibles

Los hongos se conservan frescos muy poco tiempo, aún en refrigeración. En ocasiones la producción natural rebasa las cantidades de autoconsumo, por lo que es necesario promover métodos para conservarlos y que además aporten un valor agregado. Con miras a la comercialización futura, se implementó un taller de conservación y envasado para presentaciones en escabeche y salmuera; la carencia de infraestructura para una esterilización adecuada, ocasionó que éstas no fueran eficientes. Por lo que se realizaron pruebas de secado con deshidratadores solares y eléctricos. Debido a las condiciones ambientales propias de la temporada, los primeros no funcionaron, mientras que los segundos resultaron muy eficientes. Las pruebas de deshidratado con diferentes especies determinaron cuales de ellas mantenían un aspecto agradable, mayor porcentaje de desecación, mejor respuesta a la rehidratación y un sabor agradable al consumirse (Sandoval 2004).

Se determinó el potencial comercial de las especies que se encuentran en las plantaciones mediante una matriz de interacción calificando los siguientes criterios: producción, fenología, aceptación en la comunidad, aceptación en mercados regionales de las presentaciones en fresco, deshidratado y escabeche. De acuerdo con esta matriz, las especies con mejores resultados en la deshidratación, coincidieron con especies con buena producción (*Laccaria* spp. y *Clitocybe gibba*), buena aceptación para incorporación al consumo por parte de los campesinos, buena aceptación en fresco y deshidratado y período de fructificación de tres a cuatro meses. Por otro lado, las especies de *Suillus* a pesar de su alta producción y largo periodo de fructificación, tuvieron mala aceptación debido a su textura y a la presencia de larvas aún en estadios juveniles del cuerpo fructífero.

Para comparar el porcentaje de nutrimentos de las únicas especies utilizadas por los lugareños al inicio del proyecto (*Amanita caesarea* e *Hypomyces lactifluorum*) con las especies con mayor potencial de aprovechamiento *(Laccaria* spp. y *Clitocybe gibba)*, se realizaron los análisis bromatológicos fisicoquímicos que se indican en la Tabla 1, de acuerdo con los métodos indicados en las normas oficiales mexicanas NMX-F-083-S-1986, NMX-F-066-S-1978, NMX-F-068-S-1980 y NMX-F-089-S-1978.

Tabla 1. Comparación de análisis bromatológicos fisicoquímicos de especies utilizadas y especies propuestas para el aprovechamiento

Especie	Proteína (%)	Carbohidratos (%)	Grasas (%)
Amanita caesarea	19.33	30.17	8.85
Hypomyces lactifluorum	19.20	60.65	1.66
Laccaria (L. laccata, L. bicolor y L. amethystina)	32.78	43.68	2.0
Clitocybe gibba	41.88	41.74	0.59

Laccaria spp. (en la muestra analizada para lo que se menciona como *Laccaria*, se incluyeron ejemplares en la misma proporción de las tres especies) y *Clitocybe gibba* son las especies con mayor porcentaje de proteínas*,* lo anterior es un argumento para promover el aprovechamiento de estas especies, poco cotizadas tanto a escala local como regional, reforzar su aceptación entre los campesinos participantes en el proyecto y facilitar su comercialización hacia mercados regionales.

Organización social en torno a los hongos silvestres

El día 4 de abril del 2005, se creó la "Asociación de Recolectores de Hongos Silvestres Comestibles Yoricostio, "La Villita" S.C. de R.L., integrada principalmente por mujeres (Figura 1), para realizar actividades de recolección, procesamiento y comercialización de hongos y otros productos forestales no maderables. Durante este año y el siguiente se habilitó un espacio como taller de procesado, oficina y punto de venta. Se capacitaron en talleres (impartidos de manera voluntaria por personal de diferentes dependencias), como: diseño de menú a base de hongos silvestres; procesamiento de frutales silvestres y de traspatio (almíbares, mermeladas, ates, licores); elaboración de productos derivados de la ganadería de traspatio (cajetas y dulces de leche); y cursos de organización social.



Figura 1. Integrantes de la Asociación de recolectores. De izquierda a derecha: Anastacia Díaz Mondragón, Carmen Díaz Ponce, María Cruz Botello González, María Galdina Aguilar Salazar (Tesorera), Griselda González Díaz (Presidenta), Claudia Aguilar González, Bonifacio Aguilar Salazar, Isidro Díaz Mondragón (Vocal).

En 2006, se inició la venta formal de hongos y otros productos, en ese tiempo, el principal punto de venta fue la Facultad de Biología de la UMSNH y la exposición anual de Los Hongos de los Alrededores de Morelia en El Museo de Historia Natural de la UMSNH; con la difusión lograda en estos espacios, surgieron invitaciones para participar en muestras gastronómicas y exposiciones regionales. Actualmente, el principal punto de venta son las instalaciones de la Asociación en su comunidad.

Micoturismo, otra alternativa para la Asociación de Recolectores

El interés del público asistente a eventos donde se presentaban los integrantes de la Asociación de Recolectores, motivó el interés por conocer más sobre el proyecto y los sitios de recolección; surgió la idea de un recorrido ecoturístico y debido al éxito de éste, se decidió incursionar en el micoturismo, tomando como base las experiencias de países europeos en esta área y el conocimiento tradicional del valor medicinal, ceremonial y

alimenticio de los hongos que existe en México desde las culturas prehispánicas.

Con el micoturismo, la Asociación de Recolectores promueve la toma de conciencia sobre la problemática a la que se ven sometidas las zonas boscosas, que llevan a la disminución en la diversidad y abundancia de los hongos silvestres; a su vez, les permite diversificar los productos ofrecidos y aumentar sus fuentes de ingresos. A partir del 2006 se incorporaron los recorridos ecoturísticos, en la modalidad de "micoturismo", teniendo una gran aceptación por parte de un público de diversas edades, escolaridad y ocupaciones.

Para el recorrido micoturístico, se diseñaron tres senderos con diferente extensión y grado de dificultad. Los senderos contienen cada uno cinco estaciones con nombres en idioma Purépecha, que se aprovechan como momentos de aprendizaje con los siguientes contenidos educativos (Mendoza 2009):

Terekua (hongo): Qué es un macromicete y cómo se forman sus fructificaciones.
Echeri (la tierra): Cómo se relacionan los hongos con las plantas, y su función en el bosque.
Tikinche (*Clitocybe gibba*): Hongos comestibles, técnicas de identificación y colecta.
Jeramba (hongos tóxicos): Historias sobre los hongos, usos sagrados, medicinales y místicos.
Juata (bosque): Importancia de la conservación y actitudes que apoyan la conservación.

Los servicios que se ofrecen son transporte, desayuno campirano, recorrido, visita al taller de la Asociación, comida con platillos preparados con hongos silvestres, exhibición y venta de productos agroforestales.

PRODUCCIÓN NATURAL DE HONGOS SILVESTRES COMESTIBLES

Evaluación de la producción en plantaciones forestales

Con la finalidad de conocer el comportamiento de la producción, se realizaron muestreos semanales durante la temporada de lluvias del 2005, en las plantaciones Llano Grande, El Bejuco y La Agüita (de 23, 13 y 9 años respectivamente, en ese momento), registrando en cada plantación, en dos cuadrantes de 20 x 50 m la fenología y producción (peso en gramos) de las especies comestibles. En el año 2008 se sumaron a la evaluación dos plantaciones más: El Rodeo y Mesas Altas (de 11 y 12 años respectivamente, en ese momento), continuando con la evaluación de las cinco plantaciones en el 2009.

Las plantaciones forestales evaluadas tienen entre 12 y 27 años de edad, con especies de *Cupressus lusitanica, Pinus pseudostrubus, P. michoacana, P. patula* y *P. ayacahuite*, presentan una densidad entre 56 y 151 árboles por cuadrante, con diámetro de arbolado entre 18 y 33 cm y un porcentaje de cobertura del dosel entre 53 y 92.9%; se localizan en altitudes que van desde 2 315 a 2 515 m, con pendientes de12 a 19.5%, con porcentajes de herbáceas de 11.2 a 52.7% y un espesor de materia orgánica en el suelo entre 4.9 y 7.05 cm. De acuerdo con la edad de las plantaciones se manejó una escala considerando como plantaciones jóvenes las que tienen de 9 a 14 años de edad, plantaciones con edad media de 15 a 20 años y plantaciones con edad avanzada de más de 20 años.

Mediante un análisis con el paquete estadístico MVSP 3.0 y con el modelo DECORANA se relacionó la producción natural con variables dasométricas y químicas (para estas últimas, se realizaron análisis fisicoquímicos del suelo). Se observó que las especies de *Clitocybe, Laccaria* y *Suillus* están relacionadas con condiciones ambientales tales como: mayor espesor de materia orgánica, árboles de diámetros menores, mayor densidad del arbolado y dosel más cerrado, así como con concentraciones extremadamente ricas de P, K y materia orgánica y concentraciones ricas de N (de acuerdo con la clasificación que proponen los métodos de análisis de suelos de la Norma Oficial Mexicana-021-SEMARNAT-2000), estas características se encuentran en las plantaciones jóvenes del área, las cuales se realizaron sin asesoría técnica. Por lo tanto, en los rodales, los árboles están muy

próximos, presentan diámetros bajos (18 a 21 cm) y sin manejo forestal como podas o aclareos. Los sitios con menor producción son las plantaciones de edad media y avanzada (están relacionados con mayor porcentaje de herbáceas, doseles más abiertos, arbolado con menor densidad y diámetros mayores (León 2007).

Comparando la producción total registrada tanto en 2005 (para tres plantaciones), como en 2008 y 2009 (para cinco plantaciones), se puede decir que ésta estuvo sujeta a algunas variaciones. La mayor producción (18 kg de carpóforos por cuadrante de 200 m^2) se presentó en Mesas Altas en el año 2008. La Agüita y Llano Grande, registraron alta producción en 2008, siendo mayor que en 2005. De 2008 a 2009 presentaron un disminución, pero aún así fueron más productivos que en 2005. El Bejuco presentó una disminución de 2005 a 2008 y una mayor en 2009, al igual que Mesas Altas, sitio en que la disminución fue especialmente marcada (Figura 2).

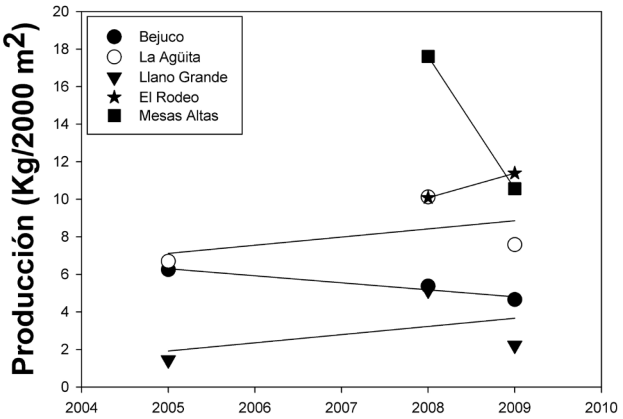


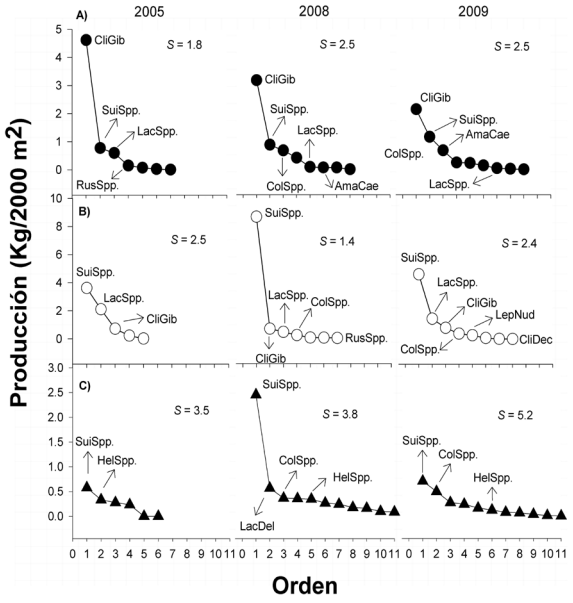
Figura 2. Tendencias anuales de la producción de carpóforos registrada.

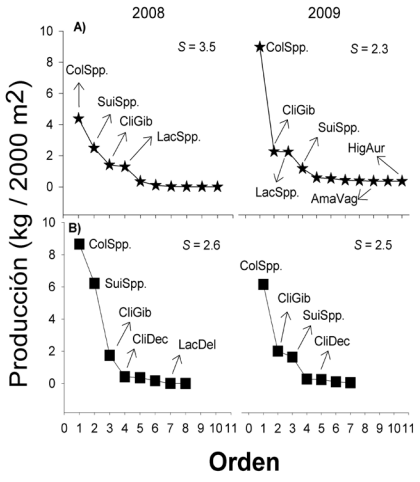
Con base en las tendencias de la producción y en las observaciones hechas en campo, en cuanto a la presencia de lluvias en los años evaluados (pues no existen estaciones meteorológicas cercanas), se observó que en el año 2008 la temporada de lluvias fue mas regular que en 2005 y 2009, esta última la más irregular de esos años. Los sitios con disminución en la productividad presentan disturbios como en El Bejuco (por personas ajenas que hacen recolección destructiva de *Amanita caesarea*); Llano Grande se encuentra al borde de la carretera y es utilizado como tiradero de basura; por otro lado, Mesas Altas se encuentra rodeada de campos de cultivo, sin cortina vegetal cercana (factor que no está presente en las otras plantaciones). es posible que esta situación, aunada a las bajas e irregulares lluvias de la temporada 2009 propiciaron la disminución en la producción.

Para determinar los cambios en la producción en las plantaciones forestales, se realizaron curvas de rango-abundancia (Magurran 1998). Para su construcción, se utilizó la producción anual (kg/2000 m^2) como estimador de abundancia de las especies presentes en los cuadrantes muestreados. Para esto, las especies de hongos registradas en cada temporada fueron ordenadas de menor a mayor usando los valores de producción total para cada año obtenidos durante la evaluación de cada una de las plantaciones y se calculó el índice de diversidad de Simpson (*S*). (Figura 3).

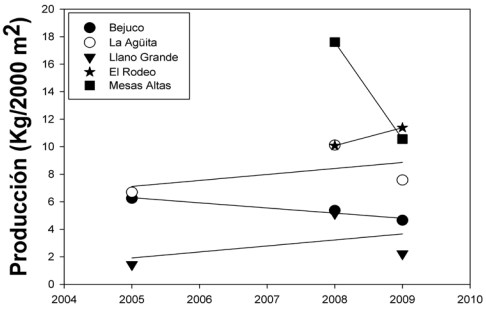
Respecto a las especies más productivas en los sitios, las curvas de rango-abundancia muestran que, en términos generales, en la producción de hongos silvestres comestibles, las especies dominantes corresponden a los géneros *Clitocybe, Laccaria, Suillus y Collybia*, mientras que las especies raras, con poca producción son: *Agaricus sylvaticus*, *Amanita caesarea, A. vaginata, Armillaria luteovirens* (Alb & Schwein.) Pouzar*, Lactarius deliciosus* (L.) Gray*, Lepista nuda* (Bull.) Cooke*, Helvella elastica, H. crispa, H. lacunosa,, Hygrophoropsis aurantiaca* (Wulfren) Maire*, Lyophyllum decastes* (Fr.) Singer*, Russula brevipes* Peck *y R. olivacea* (Schaeff.)

Fr. independientemente del año de evaluación de la producción de hongos.





Simbología	
AmaCae	*Amanita caesarea*
AmaVag	*Amanita vaginata*
CliDec	*Clitocybe deceptiva*
CliGib	*Clitocybe gibba*
ColSpp.	*Collybia butyracea, C. dryophilla*
HelSpp.	*Helvella elastica, H. crispa, H. lacunosa*
HigAur	*Higrophoropsis aurantiaca*
LacDel	*Lactarius deliciosus*
LacSpp.	*Laccaria laccata, L. amethystina, L. bicolor*
LepNud	*Lepista nuda*
RusSpp.	*Russula. brevipes y R. olivacea*
SuiSpp.	*Suillus granulatus, S. tomentosus* var. *discolor*



Nota: Las especies *Agaricus sylvaticus*, *Armillaria luteovirens* y *Lyophyllum decastes*, se tomaron en cuenta pero no alcanzan a aparecer en la gráfica porque su producción es muy baja.

Figura 3. Curvas de rango-abundancia de la producción de hongos silvestres comestibles en las plantaciones.

Se observa que tanto la riqueza como la diversidad de especies (S), tiende a incrementar en plantaciones de edad media y avanzada, siendo más marcado el incremento en la de mayor edad; mientras que en las plantaciones jóvenes hay un tendencia a la disminución de (S).

Sucesión de las especies silvestres comestibles

Durante los seis años que se ha trabajado en el área de estudio, se observaron cambios en cuanto al número de especies presentes y su producción natural. En las plantaciones jóvenes, la producción ha estado dominada por especies saprofíticas, principalmente de *Clitocybe* y *Collybia* y por especies micorrícicas como *Laccaria* spp. y *Suillus* spp. Las especies de *Suillus* tienen buena producción en plantaciones de todas las edades, ya que se encuentran entre las más productivas (Fig. 3), alcanzando promedios de 190 g hasta 4.81 kg de carpóforos por cuadrante.

De acuerdo con los análisis realizados, se hacen las siguientes observaciones: En las plantaciones de edad avanzada y media, hay una tendencia a la disminución en la producción y aumento en la diversidad, mientras que en las plantaciones jóvenes, hay una tendencia a aumentar la producción y disminuir la diversidad.

Es interesante mencionar que especies micorrízicas como *Amanita vaginata* y *A. caesarea* se presentaron en plantaciones jóvenes y de edad media, y de acuerdo con Carrera (2004) éstas son típicas de bosques maduros. Además de la aparición en los últimos años de especies saprofíticas como: *Collybia dryophilla* (Bull.) P. Kumm., *C. butyracea* (Bull.) P. Kumm., *Hygrophoropsis aurantiaca, Clitocybe deceptiva* H.G. Bigelow y *Lepista nuda*; las especies de *Collybia*, en el 2009 fueron las más importantes en producción en dos plantaciones.

INGRESOS ECONÓMICOS DEL APROVECHAMIENTO DE HONGOS SILVESTRES Y PRODUCTOS AGROFORESTALES

Las condiciones sociales y económicas de las comunidades rurales provocan que existan pocas oportunidades de empleo para sus habitantes, sobre todo para las mujeres. En esta experiencia, se demuestra que se pueden obtener ingresos económicos de plantaciones forestales jóvenes aparentemente improductivas, basadas en la recolección de recursos no maderables y el micoturismo.

Durante el año 2005 se inició la venta de hongos en fresco y deshidratado, posteriormente en 2006 se incorporaron otros productos y los recorridos micoturísticos (Figura 4).

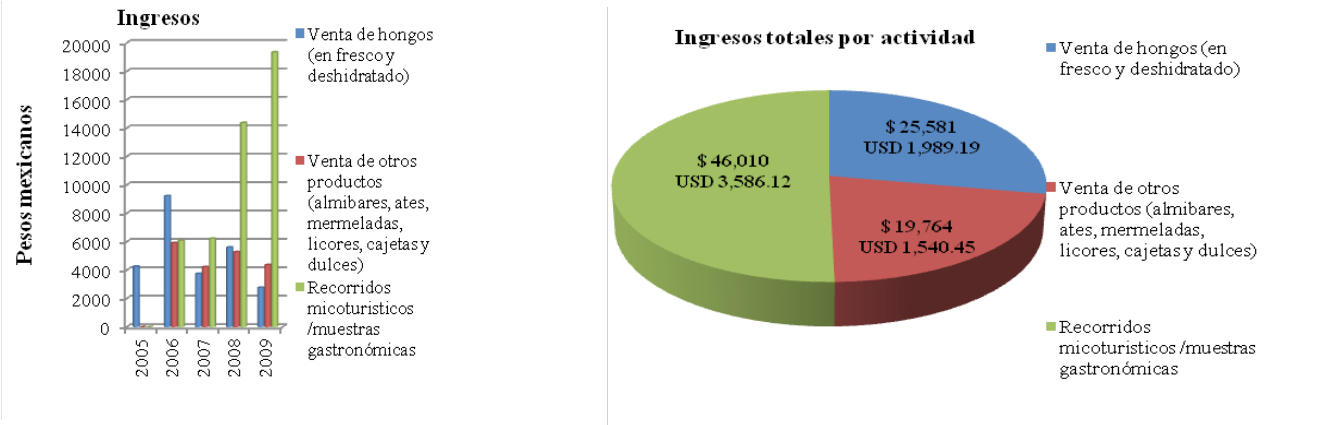


Figura 4. Ingresos de la Asociación de Recolectores: comparación anual por actividad e ingresos totales por actividad.

En los primeros años, la venta de hongos fue muy importante debido a que se realizaba en mercados externos, pero conforme se integraron otros productos (los cuales requieren inversión de tiempo para su elaboración) y la demanda micoturística aumentó, fue difícil continuar con la venta en espacios externos. En los años posteriores, cuando aumenta la demanda de visitantes, se observa una disminución en la venta de hongos, debido a que parte de las existencias de hongos se emplean en la elaboración de los platillos y el resto se vende a los turistas. Actualmente, la actividad micoturística se realiza en fines de semana, genera más ingresos y facilita la venta de

los productos sin tener que buscar mercados externos. Por lo mismo, se ahorra en gastos y tiempo de traslado, y permite a los campesinos realizar sus actividades cotidianas.

PERSPECTIVAS

Aunque la Sociedad Cooperativa ha crecido en cuanto a organización, responsabilidad y capacitación, aún existen retos, como mejorar las instalaciones del taller y del área de recorridos, diversificar la oferta comercial y turística, registrar la marca de sus productos y lograr la autosuficiencia a mediano plazo.

Uno de los principales problemas que enfrentan para su crecimiento es que al ser pequeños propietarios no tienen acceso a la mayoría de los apoyos económicos gubernamentales, situación que hace difícil el desarrollo de una microempresa.

RESEÑA FOTOGRÁFICA



Fotografías de Cecilia Criollo, Marlene Gómez Peralta y Vitalina Zamora Equihua.

AGRADECIMIENTOS

A la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH, por el financiamiento de los proyectos y a la Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL) en Michoacán por el apoyo brindado a través del Programa Apoyo a Proyectos Productivos. Así como a la M.C. Isela Zermeño y al M.C. Moisés Méndez por el análisis de los datos de la producción y la redacción de este apartado y al Biól. Zirahuén Ortega Varela por la revisión y sugerencias hechas al manuscrito.

REFERENCIAS

Carrera NA (2004) Inoculación de hongos ectomicorrízicos en *Pinus patula* Schlt.*et* Cham. y *Pinus greggi* Engelm. en invernadero. Tesis de Maestría en Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. 195 pp.

León JDF (2005) Producción natural de hongos silvestres comestibles de Yoricostio, Mpio. de Tacámbaro, Michoacán,

México. Tesis de licenciatura. Facultad de Biología, UMSNH. Morelia, Michoacán. 72 pp.

Magurran AE (1988) *Diversidad ecológica y su medición.* Ediciones Vedra. S.A. Barcelona, España. 200 pp.

Mendoza GG (2007) Ecoturismo: Una alternativa para el conocimiento y conservación de hongos silvestres en Yoricostio, Tácambaro, Michoacán, México. Tesis de licenciatura. Facultad de Biología, UMSNH. Morelia, Michoacán. 79 pp.

Sandoval HS (2004) Alternativas de aprovechamiento de hongos silvestres que se comercializan en los mercados de Morelia, Michoacán, México. Tesis de licenciatura. Facultad de Biología, UMSNH. Morelia, Michoacán. 58 pp.

Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Norma Mexicana NMX-F-083-S-1986. Alimentos- Determinación de Humedad en productos alimenticios. Dirección General de Normas. 14 de julio de 1986. México.

Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Norma Mexicana NMX-F-066- S-1978. Alimentos- Determinación de Cenizas en alimentos. Dirección General de Normas. 3 de noviembre de 1978. México.

Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Norma Mexicana NMX-F-089- S-1978. Alimentos. Determinación de extracto etéreo (Método Soxhlet) en alimentos. Dirección General de Normas. 3 de noviembre de 1978. México.

Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Norma Mexicana NMX-F-068- S-1980. Alimentos- Determinación de Proteínas. Dirección General de Normas. 4 de agosto de 1980. México.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Norma Oficial Mexicana- 021-SEMARNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación. 31 de diciembre de 2002. México.

1.3 LOS HONGOS COMESTIBLES SILVESTRES DEL ESTADO DE MÉXICO: PROPUESTA PARA SU APROVECHAMIENTO

Cristina Burrola-Aguilar*, Roberto Garibay-Orijel** y Marivel Hernández-Téllez***

*Centro de Investigación en Recursos Bióticos, Universidad Autónoma del Estado de México
Instituto Literario No. 100. Col. Centro. Toluca, México 50000 México
** Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México
Circuito exterior s/n, Ciudad Universitaria, Apartado postal 70-233, 04510, D.F., México
***Centro Interamericano de Recursos del Agua, Universidad Autónoma del Estado de México
Instituto Literario No. 100. Col. Centro. Toluca, México 50000 México
cba@uaemex.mx

RESUMEN

En México se consumen aproximadamente 300 especies de hongos silvestres. Estos recursos tienen una considerable importancia ecológica y económica. No obstante, la destrucción de los ecosistemas forestales ha restringido su hábitat poniendo en riesgo su aprovechamiento y los beneficios que las comunidades han obtenido de ellos a través del tiempo. Por lo tanto, resulta importante rescatar el conocimiento que tienen los pobladores sobre los hongos comestibles silvestres, que por tradición han formado parte de su dieta y representan una fuente de ingresos complementaria durante la temporada de lluvias. El objetivo de este trabajo es hacer una propuesta para el aprovechamiento de los hongos comestibles del Estado de México, a partir de una revisión bibliográfica de inventarios locales y el establecimiento de un modelo integral que involucra variables relacionadas a la disponibilidad ecológica del recurso y al conocimiento tradicional sobre los hongos comestibles. Estos datos son integrados en un Sistema de Información Geográfica para reconocer las zonas actuales y potenciales de aprovechamiento del recurso.

Palabras clave: recursos forestales no maderables, manejo sustentable, conocimiento tradicional, SIG.

INTRODUCCIÓN

Los Hongos Comestibles Silvestres (HCS) constituyen un Recurso Forestal No Maderable (RFNM) de importancia ecológica, cultural y económica para las comunidades rurales. Su recolecta forma parte de los patrones de subsistencia de las poblaciones que viven en zonas cercanas a los bosques; durante la temporada de lluvias dicha actividad representa una fuente alternativa de ingresos, tanto para autoconsumo como para la comercialización (SEMARNAT 2008). Sin embargo en México este recurso no ha sido utilizado en todo su potencial y los beneficios económicos son limitados por falta de organización, procesamiento, regulación y conocimiento científico y tecnológico (Garibay-Orijel *et al.* 2009).

El recurso micológico es un tesoro para los habitantes de zonas cercanas a los bosques, pero está expuesto a diversos problemas como la urbanización de zonas boscosas. Debido al desmesurado crecimiento de la población, se observa una disminución de los recursos que las comunidades rurales aledañas han utilizado a través del tiempo. Desde el punto de vista cultural, el etnoconocimiento de las comunidades indígenas de estas zonas está en constante proceso de erosión por la imposición de modelos que no toman en cuenta sus usos y costumbres. Resulta alarmante la velocidad a la que está quedando enterrado y olvidado el conocimiento tradicional adquirido a través de la historia y que se manifiesta en el tipo de apropiación de los recursos naturales por parte de los grupos indígenas y mestizos rurales.

A nivel mundial, se utilizan más de 1100 especies de HCS, las cuales son recolectadas para la alimentación y

beneficio económico en más de 80 países del mundo (Boa 2004). En México, existe un profundo conocimiento por los hongos y se ha reportado el consumo de cerca de 300 especies (Garibay-Orijel *et al.* 2006), que por tradición han formado parte de la dieta alimenticia y representan una importante fuente de ingresos durante la temporada de lluvias.

El Estado de México es una de las entidades con mayor conocimiento sobre los HCS, pero la información al respecto se encuentra dispersa. Se cuenta con varios trabajos sobre la diversidad fúngica, como los de Chio *et al.* (1988, 1989) quienes realizaron una revisión bibliográfica de 1940 a 1985 donde incluyeron un total de 459 especies de macromicetos para todo el Estado; el trabajo de Frutis *et al.* (1985) sobre 50 nuevos registros de macromicetos en la entidad; Tejocote (2005) quien elaboró un listado taxonómico de 345 especies de Agaricales depositados en la colección de macromicetos del Herbario Nacional MEXU del Instituto de Biología de la UNAM y del Acervo Micológico del Centro de Investigación en Recursos Bióticos de la UAEMéx, así como trabajos que presentan inventarios taxonómicos o etnomicológicos locales como los de Estrada-Torres y Aroche (1987), Colón (1987), Nava y Valenzuela (1997), Juárez (1999), Mariaca *et al.* (2001), Pérez-Moreno *et al.* (2008), Estrada *et al.* (2009), Guzmán *et al.* (2009) y Franco y Burrola (2010). Estas son las referencias que se usaron en este trabajo para obtener el inventario de los HCS para el Estado de México.

En cuanto al conocimiento sobre la ecología de poblaciones y comunidades de HCS, existen muy pocos estudios sobre el tema, se pueden citar los realizados en Veracruz (Villarreal y Guzmán 1986), Valle de México (Zamora-Martínez y Nieto de Pascual 1995), Tlaxcala (Montoya 2005), Oaxaca (Garibay-Orijel *et al*. 2009) y para el Estado de México en la localidad de Santa Catarina del Monte (Villarreal-Ruiz 1996). Este tipo de trabajos deberían ser el fundamento para planear el aprovechamiento de este recurso.

Es evidente que los estudios sobre los HCS se han realizado desde la perspectiva de la biología, ecología o etnomicología, pero son pocos los ejemplos donde se integre la información para generar estrategias de aprovechamiento. Recientemente se ha incrementado el interés sobre el valor de los HCS y de su ordenamiento en beneficio de la población y del ambiente; incluso se han implementado programas nacionales los cuales han producido un conocimiento sólido de las especies fúngicas consumidas en algunos países (Boa 2004). Un claro ejemplo lo presenta el Programa de las Naciones Unidas para el Medio ambiente (UNEP 2002), con el "Proyecto de comercialización de productos forestales no maderables: factores de éxito y fracaso de los hongos en la comunidad de Cuajimoloyas, Oaxaca". En este trabajo se expone la experiencia de la comunidad de los Pueblos Mancomunados de Oaxaca sobre la recolección y comercialización de los HCS (Bandala *et al.* 1997).

Debido a esto, resulta importante rescatar el conocimiento que tienen los pobladores de las comunidades sobre los recursos forestales no maderables, particularmente de los HCS. Es claro que realizar una investigación sobre el uso y aprovechamiento de los HCS y difundir regionalmente los resultados puede contribuir de manera importante a valorar y proteger el bosque. Además de generar herramientas y estrategias de aprovechamiento sustentable así como el monitoreo de especies de importancia para la comunidad. El objetivo de este trabajo es hacer una propuesta para el aprovechamiento de los hongos comestibles del Estado de México, a partir de una revisión bibliográfica de inventarios locales y el establecimiento de un modelo integral que involucra variables relacionadas a la disponibilidad ecológica del recurso (abundancia, biomasa, frecuencia temporal y espacial); al conocimiento tradicional de los hongos comestibles (frecuencia de mención, frecuencia de consumo, economía). Estos datos son integrados en un Sistema de Información Geográfica para reconocer las zonas actuales y potenciales de aprovechamiento del recurso.

MATERIALES Y MÉTODOS

Zona de estudio

La zona estudiada fue el municipio de Amanalco, localizado a 19°15' de latitud norte y 100°01' de longitud oeste a 2320 msnm (Figura 1). El municipio se sitúa en la parte central de la porción occidental del Estado de México (INAFED 2005). En este lugar se realizó un estudio ecológico y etnomicológico para recopilar las variables de importancia para el aprovechamiento de los HCS.



Figura 1. Ubicación de la zona de estudio.

Riqueza de HCS del Estado de México

Con el fin de conocer la diversidad de hongos comestibles del Estado de México, se llevó a cabo una revisión a partir del registro de 234 especies reportadas en la literatura consultada. Se elaboró un inventario con las especies reportadas para Nanchititla (Nava y Valenzuela 1997), Nevado de Toluca (Colón 1987, Franco y Burrola 2010), Sierra Nevada (Pérez-Moreno *et al*. 2008, Estrada *et al.* 2009), Valle de Bravo (Juárez 1999), Valle de Toluca (Mariaca *et al.* 2001) e información para el Estado de México en general (Guzmán *et al.* 2009).

Estudio ecológico

De junio a octubre del 2008 y 2009 se aplicó un muestreo de HCS con sitios elegidos aleatoriamente y diferentes cada vez. Como referencia para elegir a las unidades de muestreo (UM), se consideraron a los caminos rústicos adyacentes al bosque y se estableció una zona Buffer de 3 km a partir de los caminos, con ayuda del Software Arc View GIS 3.2. Se establecieron 602 UM de 400 x 400 m. Las unidades de muestreo fueron numeradas y se seleccionaron a partir de una tabla de números aleatorios. Posteriormente, se ubicaron en el campo con la ayuda de un sistema de posicionamiento global (Garmin GPS). En cada UM seleccionada se establecieron 2 transectos. El primero se ubicó en el vértice derecho de la UM y el segundo a 50 m a la izquierda del primero. La posición de los transectos fue siempre de sur a norte. Los transectos se ubicaron en el campo con un flexómetro de 30 m y una brújula. Se usaron transectos rectangulares con 100 m de largo y 4 m de ancho (Figura 2). En total se muestrearon 142 transectos, en los cuales se contabilizaron los esporomas de los HCS y se evaluaron la riqueza, abundancia y diversidad. La diversidad entre sitios se comparó con el índice de Diversidad de Shannon-Wiener (H´).

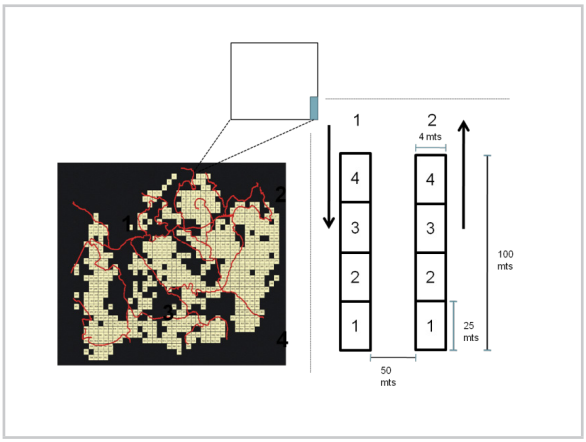


Figura 2. Diseño del muestreo. Se presentan las 602 Unidades de Muestreo (UM). En el extremo derecho se indica la distribución de los transectos, ubicados de sur a norte.

Estudio etnomicológico

En 2008 se llevó a cabo un estudio en el mercado dominical de Amanalco, para determinar las especies de hongos consumidas por los pobladores de la región. Se realizaron 10 visitas quincenales durante los meses de junio a noviembre y se entrevistaron a las "hongueras" respecto a la procedencia de los hongos. En cada puesto se obtuvo una muestra de hongos para su determinación taxonómica. Además se recolectaron esporomas en los bosques de la región, los cuales fueron fotografiados, etiquetados e identificados taxonómicamente. Para obtener información sobre el conocimiento y usos de los HCS, se aplicaron 102 cuestionarios basados en un cuestionario guía, un listado libre y un catálogo de fotografías que sirvió como estímulo visual para el reconocimiento de los HCS.

Áreas de distribución actual y potencial de los HCS

Para la obtención de las áreas de distribución a partir de los SIG, se elaboraron mapas de distribución actual y potencial de las especies de HCS. Como un ejemplo se presenta el mapa para *Helvella crispa*. Los registros de las especies fueron analizados con Sistemas de Información Geográfica (SIG) con los Software Idrisi Taiga (Clark 2009) y Arc View 3.2 (ESRI 2000). La distribución potencial fue obtenida mediante la técnica multivariada de modelado por Distancia de Mahalanobis (D^2) mediante Idrisi Taiga, para predecir la probabilidad de ocurrencia del hábitat potencial para *H. crispa*. Las variables pronosticadoras fueron altitud, exposición, humedad, temperatura media y vegetación; así como el registro de la presencia de la especie mediante GPS. Se seleccionaron las probabilidades 0.5-0.8 como hábitat adecuado y de 0.8-1.0 como el hábitat ideal para la especie. El área de predicción fue considerada para la región de Amanalco y el Parque Nacional Nevado de Toluca, con el fin de ejemplificar el potencial fúngico en un área mayor que la muestreada.

RESULTADOS

Riqueza de HCS del Estado de México: El Estado de México muestra una riqueza de 234 especies de HCS reportadas en 8 inventarios (Tabla 1). De la lista de especies, 89% corresponde a Basidiomycetes, 22% a Ascomycetes y 3% a Mycetozoa. En cuanto a las familias más representadas se encuentran Tricholomataceae con 33%, Gomphaceae con 27%, Russulaceae con 24% y Boletaceae con 22%. Los géneros con mayor número de especies son *Ramaria* (23), *Russula* (15), *Boletus* (12) y *Amanita* (10). Las especies más citadas en los inventarios son *Cantharellus cibarius* y *Lycoperdon perlatum.* De acuerdo a su forma de vida 144 son ectomicorrízicas, 79 saprobias, 6 saprobias-mixotróficas y 5 parásitas. Es de hacer mención de que algunas de estas especies, citadas en la bibliografía, son sinonímias de otras tantas que se encuentran en la misma lista.

Por ejemplo: *Collybia dryophila* actualmente es sinónimo de *Gymnopus dryophilus*, *Helvella pityophila* su nombre correcto es *Helvella crispa* var. *Pithyophila, Neolentinus suffrutescens* su nombre válido es *Neolentinus lepideus*, entre otras.

Tabla 1. Especies de Hongos Comestibles Silvestres reportadas para el Estado de México

Agaricus arvensis Schaeff. [1,9]	*B. clavipes* (Peck) Pilát & Dermek [6]
A. augustus Fr. [1,7,9]	*B. edulis* Bull. [1,2,4,5,6,7,8,9]
A. bisporus (J.E. Lange) Pilát [8]	*B. erythropus* Krombh. [1]
A. campestris Schwein. [4,5,6,7,9]	*B. frostii* J.L. Russell [3,4]
A. placomyces Peck [7]	*B. luridus* Shaeff. [1,2,6,8,9]
A. sylvaticus Schaeff. [1,2,6,9]	*B. pinicola* Rea [3]
A. sylvicola (Vittad.) Peck [1,2,4]	*B. pinophilus* Pilát & Dermek [1,2,3,6,7,9]
A. subrutilescens (Kauffman) Hotson & D.E. Stuntz [2]	*Bovista* aff. *aestivalis* (Bonord.) Demoulin [2]
Aleuria aurantia (Pers.) Fuckel [1]	*B.* aff. *plumbea* Pers. [2]
Amanita caesarea (Scop.) Pers. [1,2,3,4,5,6,7,9]	*Calocera viscosa* (Pers.) Fr. [2]
A. crocea (Quél.) Singer [3,4,6,9]	*Calvatia cyathiformis* (Bosc) Morgan [1,5,9]
A. franchetti (Boud.) Fayod [6]	*Cantharellus cibarius* Fr. [1,2,3,4,5,6,7,8,9]
A. fulva (Schaeff.) Fr. [1,3,4,5,6]	*C. tubaeformis* Fr. [4]
A. gemmata (Fr.) Gillet [5]	*Chalciporus piperatus* (Bull.) Bataille [5]
A. rubescens Pers. [1,2,3,4,6,7,8,9]	*Chroogomphus rutilus* (Schaeff.) O.K. Mill. [9]
A. tecomate Guzmán & Ram.-Guill. [9]	*Clavaria zollingeri* Lév. [2]
A. tuza Guzmán [1,6,9]	*Clavariadelphus pistillaris* (L.) Donk [1,9]
A. vaginata (Bull.) Lam. [1,3,4,5,6]	*C. truncatus* (Quél.) Donk [1,2,9]
A. vaginata var. *punctata* (Cleland & Cheel) E.-J. Gilbert [7]	*Clavicorona pyxidata* (Pers.) Doty [1,3,4]
Ampulloclitocybe clavipes (Pers.) Redhead, Lutzoni, Moncalvo & Vilgalys [6]	*Clavulina cinerea* f. *cinerea* (Bull.) J. Schröt. [1,2,5,6,7]
Armillaria mellea (Vahl) P. Kumm. [1,3,4,5,6,7,9]	*C. cinerea* f. *sublilascens* (Bourdot & Galzin) Bon & Courtec. [6]
A. ostoyae (Romagn.) Herink [9]	*C. coralloides* (L.) J. Schröt. [6]
Auricularia auricula (L.) Underw. [1,4,9]	*C. cristata* (Holmsk.) J. Schröt. [2]
A. cornea Ehrenb. [9]	*C. rugosa* (Bull.) J. Schröt. [4]
A. fuscosuccinea (Mont.) Henn. [1]	*Clitocybe* aff. *geotropa* (Bull.) Quél. [2]
A. polytricha (Mont.) Sacc. [1]	*C. clavipes* (Pers.) P. Kumm. [1,3]
Boletellus ananas (M.A. Curtis) Murrill [4]	*C. gibba* (Pers.) P. Kumm. [2,3,5,6,7,9]
B. betula (Schwein.) E.-J. Gilbert [4]	*C. squamulosa* (Pers.) Fr. [2]
B. russellii (Frost) E.J. Gilbert [3,4]	*Collybia butyracea* (Bull.) P. Kumm. [3,9]
Boletus aestivalis (Paulet) Fr. [7,9]	*C. cookei* (Bres.) J.D. Arnold [9]
B. aff. *aereus* Bull. [6]	*C. dryophila* (Bull.) P. Kumm. [2,3,5,7,9]
B. appendiculatus Peck [2]	*C. polyphylla* (Peck) Singer ex Halling [3]
B. barrowsii Thiers & A.H. Sm. [2]	*Cortinarius violaceus* (L.) Gray [6]
B. chrysenteron Bull. [1,3]	*Craterellus cornucopioides* (L.) Pers. [1]

Continúa Tabla 1

Cronartium quercuum (Berk.) Miyabe ex Shirai [9]	*Hypomyces lactifluorum* (Schwein.) Tul. [1,4,5,6,7,9]
Daldinia concentrica (Bolton) Ces. & De Not. [1,3]	*H. macrosporus* Seaver [6,7,9]
Enteridium lycoperdon (Bull.) M.L. Farr [9]	*Hysterangium separabile* Zeller [9]
Entoloma clypeatum (L.) P. Kumm. [6,7,9]	*Laccaria amethystina* Cooke [3,4,6,7,9]
E. giganteum (Schwein.) Singer [9]	*L. bicolor* (Maire) P.D. Orton [1,3,4,6,7,9]
Fistulina guzmanii Brusis [9]	*L. laccata* (Scop.) Cooke [1,2,4,6,7,9]
Flammulina velutipes (Curtis) Singer [1,6]	*L. ochropurpurea* (Berk.) Peck [6]
Floccularia luteovirens (Alb. & Schwein.) Pouzar [7]	*L. proxima* (Boud.) Pat. [1,3,6]
Fuligo septica (L.) F.H. Wigg. [1]	*L. proximella* Singer [6]
Gautieria chilensis Zeller & C.W. Dodge [9]	*Lactarius aurantiacus* (Pers.) Gray [2]
Gomphus floccosus (Schwein.) Singer [1,2,6,7,8,9]	*L. corrugis* Peck [4]
Gomphus kauffmanii (A.H. Sm.) Corner [2]	*L. deliciosus* (L.) Gray [1,2,3,4,6,7,8,9]
Guepinia helvelloides (DC.) Fr. [2]	*L. indigo* (Schwein.) Fr. [1,3,4,5,6,7,9]
Gymnopus dryophilus (Bull.) Murrill [6]	*L. piperatus* (L.) Pers. [1,4]
Gyromitra infula (Schaeff.) Quél. [1,2,7,9]	*L. salmonicolor* R. Heim & Leclair [1,6,7,9]
Hebeloma aff. *birrus* (Fr.) Gillet [2]	*L. scrobiculatus* (Scop.) Fr. [1,2]
H. alpinum (J. Favre) Bruchet [6]	*L. subdulcis* (Pers.) Gray [1]
H. fastibile (Pers.) Quél. [7,9]	*L. volemus* (Fr.) Fr. [4]
H. leucosarx P.D. Orton [6]	*Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill [1,9]
H. mesophaeum (Pers.) Quél. [2,6]	*Leccinum chromapes* (Frost) Singer [4]
Helvella acetabulum (L.) Quél. [2,5,9]	*Lentinula boryana* (Berk. & Mont.) Pegler [4,9]
H. atra J. Koening [9]	*Lentinus crinitus* (L.) Fr. [9]
H. compressa (Snyder) N.S. Weber [2]	*Leotia lubrica* (Scop.) Pers. [9]
H. crispa (Scop.) Fr. [1,2,3,6,7,8,9]	*Lepista nuda* (Bull.) Cooke [4]
H. elastica Bull. [1,2,6,9]	*Leucoagaricus* aff. *rubrotinctus* (Peck) Singer [6]
H. lacunosa Afzel. [1,2,4,5,6,7,8,9]	*Lycogala epidendrum* (J.C. Buxb. ex L.) Fr. [9]
H. macropus (Pers.) P. Karst. [5]	*Lycoperdon candidum* Pers. [5,9]
H. pityophila Boud. [2]	*L. perlatum* Pers. [1,2,3,4,5,6,7,8,9]
Hydnangium carneum Wallr. [9]	*L. pyriforme* Schaeff. [1,2,4,5,6,9]
Hydnum imbricatum L. [1,5]	*L. umbrinum* Hornem. [1,4]
H. repandum L. [2,4]	*Lyophyllum* aff. *connatum* (Schumach.) Singer [2]
Hygrophoropsis aurantiaca (Wulfen) Maire [1,3,4,5,6,7]	*L.* aff. *loricatum* (Fr.) Kühner ex Kalamees [6]
Hygrophorus aff. *eburneus* (Bull.) Fr. [2]	*L. decastes* (Fr.) Singer [1,2,5,6,7,9]
H. aff. *gliocyclus* Fr. [2]	*Macrolepiota procera* (Scop.) Singer [4]
H. aff. *lindtneri* M.M. Moser [7]	*Marasmius oreades* (Bolton) Fr. [5]
H. chrysodon (Batsch) Fr. [1,2,6,7,9]	*Melanoleuca melaleuca* (Pers.) Murrill [1,2,7,9]
H. erubescens var. *persicolor* (Rick) Bon [7]	*M. polioleuca* (Fr.) G. Moreno [6]
H. hypothejus (Fr.) Fr. [1,6]	*Morchella angusticeps* Peck [1,5,7,9]
H. purpurascens Gonn. & Rabenh. [4,6]	*M. conica* Pers. [2,7,9]
H. russula (Schaeff.) Kauffman [1,6]	*M. costata* J.C. Schmidt & Kunze [7]

Continúa Tabla 1

M. crassipes (Vent.) Pers. [1]	*R. vinosimaculans* Marr & D.E. Stuntz [7]
M. elata Fr. [2,4,6,7]	*Retiboletus griseus* (Frost) Manfr. Binder & Bresinsky [6]
M. esculenta (L.) Pers. [1,2,6,7,9]	*Rhizopogon ochraceorubens* A.H. Smith [9]
Mycena leaiana var. *leaiana* (Berk.) Sacc. [2]	*Russula* aff. *fragilis* Fr. [2]
M. pura (Pers.) P. Kumm. [1]	*R. alutacea* (Fr.) Fr. [9]
Neolentinus suffrutescens (Brot.) T.W. May & A.E. Wood [9]	*R. brevipes* Peck [1,2,3,4,5,6]
Pleurotus cornucopiae (Paulet) Rolland [6]	*R. cyanoxantha* (Schaeff.) Fr. [1,3,4,6,8]
P. dryinus (Pers.) P. Kumm. [4]	*R. delica* Fr. [6,7,9]
P. opuntiae (Durieu & Lév.) Sacc. [5]	*R. densifolia* Secr. ex Gillet [4]
P. smithii Guzmán [9]	*R. mariae* Peck [4]
Pluteus cervinus var. *cervinus* P. Kumm. [1,3,6]	*R. mexicana* Burl. [6]
Psathyrella aff. *candolleana* (Fr.) Maire [2]	*R. nigricans* (Bull.) Fr. [1]
P. spadicea (Schaeff.) Singer [1,6,7,9]	*R. olivacea* (Schaeff.) Fr. [1,6,9]
Pseudofistulina radicata (Schwein.) Burds. [9]	*R. persicina* Krombh. [8]
Pseudohydnum gelatinosum (Scop.) P. Karst. [1]	*R. queletii* Fr. [1]
Ramaria aff. *myceliosa* (Peck) Corner [2]	*R. rosea* Pers. [5]
R. aff. *apiculata* (Fr.) Donk [7]	*R. sanguinaria* (Schumach.) Rauschert [2]
R. aff. *cacao* (Coker) Corner [7]	*R. xerampelina* (Schaeff.) Fr. [1,4,7]
R. aff. *gelatinosa* Holmsk. [6]	*Sarcodon imbricatus* (L.) P. Karst. [3]
R. aurea (Schaeff.) Quél. [2,5]	*S. scabrosus* (Fr.) P. Karst. [2,4]
R. botrytis (Pers.) Ricken [1,2,5]	*Sarcosphaera coronaria* (Jacq.) J. Schröt. [2,9]
R. cystidiophora (Kauffman) Corner [6]	*Schizophyllum commune* Fr. [3,4,9]
R. fennica var. *fennica* (P. Karst.) Ricken [6]	*Sparassis crispa* Wulfen: Fries [9]
R. flava (Schaeff.) Quél. [1,2,9]	*Strobilomyces confusus* Singer [1,3,4]
R. flavescens (Schaeff.) R.H. Petersen [2]	*S. floccopus* (Vahl) P. Karst. [3,5]
R. flavobrunnescens sensu Reid & Austwick [5]	*Suillus* aff. *guzmanii* G. Moreno, Band.-Muñoz & Montoya [7]
R. formosa (Pers.) Quél. [2]	*S. brevipes* (Peck) Kuntze [1,2,5]
R. holorubella (G.F. Atk.) Corner [6]	*S. flavogranulatus* A.H. Sm., Thiers & O.K. Mill. [7]
R. maculospora R.H. Petersen [7]	*S. granulatus* (L.) Roussel [1,4,5,9]
R. pallida (Schaeff.) Ricken [6]	*S. luteus* (L.)Roussel [1,3,9]
R. rasilispora Marr & D.E. Stuntz [6,7]	*S. pseudobrevipes* A.H. Sm. & Thiers [6]
R. rubiginosa Marr & D.E. Stuntz [6,7]	*S. tomentosus* (Kauffman) Singer [1]
R. rubrievanescens Marr & D.E. Stuntz [6,7]	*Tremella lutescens* Fr. [9]
R. sanguinea (Coker) Corner [2,6]	*Tremellodendron schweinitzii* (Peck) G.F. Atk. [1,3,4]
R. stricta (Pers.) Quél. [5,6]	*Tremellodendropsis tuberosa* (Grev.) D.A. Crawford [2]
R. stricta var. *concolor* Corner [6]	*Tricholoma* aff.*bufonium* (Pers.) Gillet [2]
R. subbotrytis (Coker) Corner [6]	*T. equestre* (L.) P. Kumm. [2,4,6,7,8]

Continúa Tabla 1

T. magnivelare (Peck) Redhead [4]	*Tuber murinum* R. Hesse [9]
T. populinum J.E. Lange [2]	*Tylopilus* aff. *porphyrosporus* (Fr. & Hök) A.H. Sm. & Thiers [2]
T. saponaceum var. *saponaceum* (Fr.) P. Kumm. [6]	*T. felleus* (Bull.) P. Karst. [3]
T. sejunctum (Sowerby) Quél. [3,4,7]	*Ustilago maydis* (D.C.) Corda [5,6,8,9]
T. ustale (Fr.) P. Kumm. [7]	*Vascellum pratense* (Pers.) Kreisel [2]
T. vaccinum (Schaeff.) P. Kumm. [1]	*Xerula radicata* (Relhan) Dörfelt [6]

1Nevado de Toluca1 (Colón 1987), 2Nevado de Toluca2 (Franco y Burrola 2010), 3Valle de Bravo (Juárez 1999), 4Nanchititla (Nava y Valenzuela 1997), 5Acambay (Estrada-Torres y Aroche 1987), 6Sierra Nevada1 (Pérez-Moreno *et al.* 2008), 7Sierra Nevada2 (Estrada, *et al.* 2009), 8Valle de Toluca (Marica *et al.* 2001) y 9Estado de México (Guzmán *et al*. 2009).

Estudio ecológico: Se registraron un total de 3773 fructificaciones correspondientes a 91 especies, en 13 tipos de vegetación. El bosque de *Abies-Pinus* presentó la más alta diversidad (H´=4.094) con 60 taxa. El bosque de *Cupressus-Pinus* mostró los valores más bajos de diversidad (H´=1.609) con cinco taxa. Los tipos de vegetación con mayor similitud en su composición de especies fueron *Abies-Pinus* y *Pinus-Abies* (66%), con 37 hongos similares de un promedio de 57 especies, la riqueza en ambos bosques fue de 60 y 54 respectivamente. Por otro lado el bosque de *Cupressus-Pinus* alcanzó sólo 10% de similitud con los demás tipos de vegetación.

Las especies más características de los bosques de *Abies* y *Abies-Pinus* de Amanalco fueron: *Helvella crispa*, *Gomphus floccosus, H. lacunosa, Clitocybe gibba, Lactarius deliciosus, Russula brevipes* y *Cantharellus cibarius*. En el bosque de *Pinus-Quercus* las especies más representativas fueron *Hygrophoropsis aurantiaca*, *Cantharellus cibarius*, *Clitocybe gibba*, *Helvella crispa* y *H. lacunosa*. En el bosque de *Cupressus* y *Cupressus-Pinus* se encontraron *Clitocybe gibba, Helvella crispa, H. lacunosa* y *Lyophyllum decastes*. En el bosque de *Quercus* y *Quercus-Pinus* se presentaron con mayor frecuencia *Ramaria* spp. y *Amanita fulva.*

Los meses con mayor presencia de especies de HCS fueron agosto y septiembre.

Estudio etnomicológico: Se registraron un total de 147 nombres tradicionales de HCS, que corresponden con 55 especies. Los géneros mejor conocidos fueron: *Ramaria, Helvella, Morchella, Agaricus, Lyophyllum* y *Russula*. Los HCS con mayor frecuencia de mención en Amanalco fueron: *Helvella crispa, H. lacunosa, H. sulcata, Amanita caesarea, Lyophylum decastes, Boletus edulis, Clitocybe gibba, C. squamulosa, Russula brevipes, Ramaria* spp*., Laccaria laccata, Lactarius deliciosus, Gomphus floccosus, Morchella* spp. y *Sparassis crispa*. Los hongos más comprados, de más alto valor comercial y más vendidos, se relacionan con el listado de frecuencia de mención. Los hongos que utiliza la población con mayor frecuencia son los clavitos *Lyophylum decastes*, gachupines *Helvella* spp., orejas *Russula brevipes*, olotes *Morchella* spp. y patitas de pájaro *Ramaria* spp. En relación al uso, 44% de los entrevistados se dedica a la recolecta e invierten un total de 5 a 7 horas al día en este proceso. El 55% recolecta de 1-3 kg, 26% 4-6 kg y sólo 15% recolecta de 10-15 kg, y esto se debe a la explotación continua del recurso y a la explotación forestal a la que se ve sometido Amanalco. El 93% de los entrevistados reconoce que los HCS se distribuyen principalmente en bosques de ocote (*Pinus*), oyamel (*Abies*) y encino (*Quercus*) y que crecen en los bosques preferentemente de julio a septiembre (de acuerdo a 61 menciones). El 70% de la población entrevistada conoce y usa los hongos, reforzando así su importancia, aunque conforme pasa el tiempo este conocimiento se está perdiendo porque ya no se transfiere a las siguientes generaciones quienes tienen poco interés en él.

Áreas de distribución actual y potencial de los HCS: Se obtuvo una imagen en formato raster (Figura 3) donde cada píxel tiene un valor entre 0 y 1, que representa la probabilidad de que cada píxel contenga hábitat similar al de los sitios donde se detectó a *Helvella crispa.* El vector se obtuvo de las características del hábitat de 10

sitios donde se registró la presencia de la especie (sitios de hábitat de presencia de la especie). De un total de 1762 km2 (área total de la Figura 3), la cual comprende al municipio de Amanalco y a la región del Nevado de Toluca, se determinó el hábitat ideal para *H.crispa*, con 10.99 km^2 y el hábitat adecuado con 25.75 km^2, que corresponde al 0.6 y 1.5% del área total respectivamente.

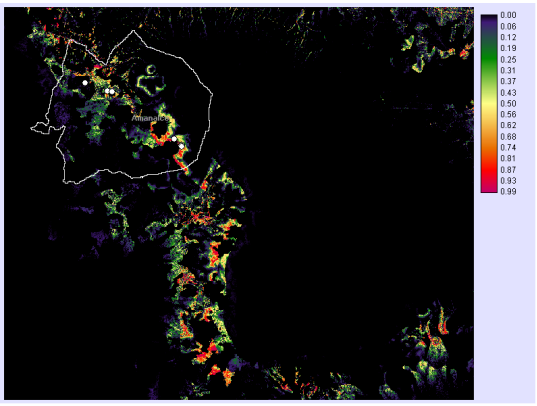


Figura 3. Probabilidad de hábitat ideal para *Helvella crispa*. En rojo, lugares con mayor probabilidad.

Propuesta del modelo de aprovechamiento de los hongos comestibles: El modelo propuesto incluye la interrelación de las variables ecológicas, del conocimiento tradicional, fisiográficas y las áreas de distribución actual y potencial. El conjunto de estas variables permiten desarrollar estrategias para el aprovechamiento de los HCS por parte de las comunidades de la región. Para los pobladores de Amanalco, quienes tienen amplio conocimiento tradicional de los HCS y del medio ambiente, este tipo de información puede permitir el desarrollo de estrategias para la explotación de los HCS. La elaboración de mapas de distribución actual y potencial mediante SIG de los HCS de interés para la comunidad (por ejemplo: *Amanita caesarea, Helvella crispa, H. lacunosa* y *Morchella* spp.) permite localizar las poblaciones productivas. Dicha información puede ser el punto de partida para el uso sustentable de los HCS. En la Figura 4 se esquematizan los diferentes temas propuestos para la estructuración del modelo.

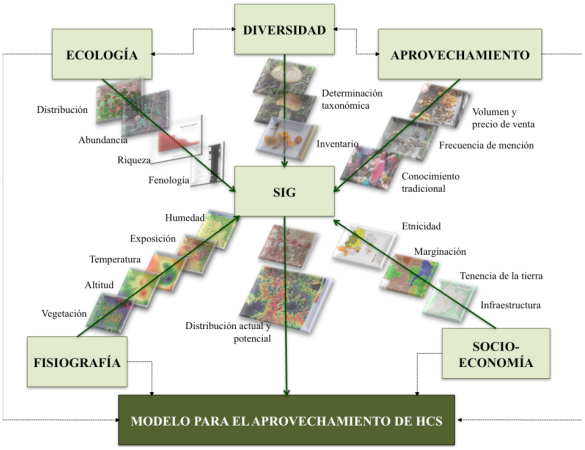


Figura 4. Modelo de Aprovechamiento de Hongos Comestibles Silvestres, mediante la utilización de un Sistema de Información Geográfica (SIG).

CONCLUSIONES

El Estado de México muestra una riqueza considerable de hongos comestibles silvestres, las 234 especies reportadas hasta ahora hacen de la entidad una de las zonas con mayor potencial para el aprovechamiento de

este recurso en México. Aunado a esto, el conocimiento tradicional que tienen los habitantes de las comunidades, permite que se puedan implementar alternativas de manejo sustentable que mejoren las condiciones de vida de la población, propiciando la conservación y el mejoramiento de las bases materiales de desarrollo, es decir de los recursos naturales. El desarrollo de estudios sobre la biología, ecología y etnomicología de los HCS, así como de los procesos de desarrollo local que los involucren, puede constituir la base para su aprovechamiento y en un futuro propiciar una fuente económica y productiva para las comunidades rurales.

El presente estudio muestra que el uso de datos de imágenes de satélite, altura, exposición, pendiente e índice de vegetación en conjunto con los Sistemas de Información Geográfica posibilitan la elaboración y comparación de mapas de riqueza de especies así como la predicción de áreas de distribución. Si adicionalmente a estos modelos se incorporara la información sobre la ecología de las especies, el aprovechamiento, la venta, aspectos socioculturales e infraestructura se podrían desarrollar herramientas poderosas con potencial para la toma de decisiones de manejo de especies de HCS.

Para el desarrollo de este tipo de trabajos es necesario integrar equipos multidisciplinarios capaces de generar y transferir los conocimientos micológicos básicos encaminados a la conservación, manejo y aprovechamiento de los recursos de las comunidades.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Autónoma del Estado de México por el financiamiento de esta investigación (UAEM 2690/2008U). A Orlando Montiel, Alfredo Ruíz y Silvestre Núñez por su apoyo en el trabajo de campo y laboratorio.

REFERENCIAS

Bandala V, Montoya L, Chapela I (1997) Wild edible mushrooms in México: A Challenge and Opportunity for Sustainable Development. En*:* Palm ME, Chapela IH (eds.) *Mycology in sustainable development: Expanding Concepts Vanishing Borders.* North Carolina, Parkway Publishers Inc. Boone. pp 76-90.

Boa E (2004) *Los hongos silvestres: Perspectiva global de su uso e importancia para la población.* Roma, FAO. 161 pp.

Clark Labs (2009) IDRISI Taiga software Student, User's Guide. Clark University Worcester, Massachusetts.

Chio RE, Frutis I, Guzmán G (1988) Hongos del Estado de México. I. Especies citadas en la bibliografía: Ascomycetes, Tremellales y Aphyllophorales. *Rev Mex Mic.* 4**:** 97-113.

Chio RE, Frutis I, Guzmán G, Bandala VM (1989) Hongos del Estado de México. II. Especies citadas en la bibliografía: Agaricales. *Rev. Mex. Mic.* 5**:** 125-148.

Colón L (1987) Estudio florístico ecológico de los hongos (macromicetos) en el parque nacional Nevado de Toluca. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México. Estado de México. 96 pp.

ESRI (2000) Environmental Systems Research Institute, Inc. ArcView GIS Version 3.2a Using ArcView GIS. New York.

Estrada-Torres A, Aroche RM (1987) Acervo etnomicológico en tres localidades del municipio de Aczambay, Estado de México. *Rev Mex Mic.* 3**:** 109-131.

Estrada E, Guzmán G, Cibrián D, Ortega R (2009) Contribución al conocimiento etnomicológico de los hongos comestibles silvestres de mercados regionales y comunidades de la Sierra Nevada (México). *Interciencia* 34**:** 25-33.

Franco S, Burrola C (2010) Los hongos comestibles en el Nevado de Toluca. En*:* Franco S, Burrola C (eds.) *Los hongos comestibles del Nevado de Toluca.* Toluca, México, Universidad Autónoma del Estado de México. pp 59-136.

Frutis I, Chio RE, Estrada A (1985) Nuevos registros de macromicetos del estado de México. *Rev. Mex. Mic.* 1**:** 285-300.

Garibay-Orijel R, Cifuentes J, Estrada-Torres A, Caballero J (2006) People using macro- fungal diversity in Oaxaca, Mex. *Fung. Divers.* 21**:** 41-67.

Garibay-Orijel R, Martínez-Ramos M, Cifuentes J (2009) Disponibilidad de esporomas de hongos comestibles en los bosques de pino-encino de Ixtlán de Juárez, Oaxaca. *Rev. Mex. Biod.* 80**:** 521- 534.

Guzmán G, Medel R, Ramírez F (2009) Hongos. En*:* Ceballos G, List R, Garduño G, López R, Muñozcano M, Collado

E, Eivin J (eds.) *La diversidad biológica del Estado de México. Estudio de Estado.* Toluca, Gobierno del Estado de México. pp 251-260.

Juárez MN (1999) Contribución al estudio taxonómico de los macromicetos (Fungi) y su distribución en el municipio de Valle de Bravo, Estado de México. Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 64 pp.

Mariaca R, Silva LC, Castaños CA (2001) Proceso de recolección y comercialización de hongos comestibles silvestres en el Valle de Toluca, México. *Ciencia Ergo Sum* 8**:** 30-40.

Montoya A (2005) *Aprovechamiento de los hongos silvestres comestibles en el Volcán La Malinche, Tlaxcala.* Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F. 154 pp.

Nava R, Valenzuela R (1997) Los macromicetos de la Sierra de Nanchititla. *Polibotánica.* 21-36.

Pérez-Moreno J, Martínez-Reyes M, Yescas-Pérez A, Delgado-Alvarado A, Xoconostle-Cázares B (2008) Wild Mushroom Markets in Central Mexico and a Case Study at Ozumba. *Econom. Bot.* 62**:** 425-436.

SEMARNAT (2008) *Manual que establece los criterios técnicos para el aprovechamiento sustentable de recursos forestales no maderables de clima templado-frío.* México, D.F., Subsecretaría de Fomento y Normatividad Ambiental, Dirección General del Sector Primario y Recursos Naturales Renovables. 125 pp.

StatSoft (2007) Statistica (data analysis software system), version 8.0.

Tejocote M (2005) Distribución del Orden Agaricales del Estado de México aplicando el sistema de Información Biótica. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México. 61 pp.

UNEP (2002) *Proyecto de Comercialización de Productos Forestales No Maderables.* Cambridge, University Press. 43 pp.

Villarreal-Ruiz L (1996) *Los Hongos Silvestres: Componentes de la Biodiversidad y Alternativa para la Sustentabilidad de los Bosques Templados de México.* Montecillo, Estado de México. 88 pp.

Villarreal L, Guzmán G (1986) Producción de los hongos comestibles silvestres en los bosques de México III. *Rev. Mex. Mic.* 2**:** 259-277.

Zamora-Martínez M, Nieto-de-Pascual P (1995) Natural production of wild edible mushrooms in the southwestern rural territory of Mexico City, Mexico. *For. Ecol. Manag.* 72**:** 13-20.

CAPITULO 2

RECURSOS GENÉTICOS DE MACROMICETOS

2.1 ORGANIZACIÓN Y PRESERVACIÓN DE MICROORGANISMOS EN BRASIL

Nelson Barros Colauto y Giani Andrea Linde

Universidad Paranaense, Laboratorio de Biología Molecular
Campus I de Umuarama, Umuarama-PR, Brasil
CEP 87502-210
nbc@unipar.br

RESUMEN

La organización y la preservación de microorganismos son fuentes valiosas y fundamentales para el desarrollo biotecnológico. Con el fin de asegurar una óptima viabilidad a largo plazo, y estabilidad genética de microorganismos bioprospectados, es necesario apoyar colecciones de cultivos eficientes y sistemas de información para preservar e intercambiar microorganismos en beneficio de la humanidad. Las colecciones de cultivos de microorganismos en Brasil están dispersas en varias instituciones, por lo que el Ministerio de Ciencia y Tecnología y el Centro de Referencia sobre Información Ambiental (CRIA, por sus siglas en portugués) crearon el Sistema de Información para Colecciones de Interés Biotecnológico (SICol), que apoya a los Centros de Recursos Biológicos (CRBs) en todo el país para centralizar toda la información sobre colecciones de cultivos y proveer asistencia para la identificación de microorganismos, preservar material de la biodiversidad brasileña y facilitar el intercambio de cepas dentro del país y al exterior. En lo que se refiere a colecciones de cultivos de basidiomicetos en Brasil, algunos grupos de investigación han estado trabajando con su preservación y es un área que necesita más inversión e iniciativas.

Palabras clave: basidiomicetos, hongos, colección de cultivos, conservación del germoplasma.

INTRODUCCIÓN

La preservación de microorganismos es importante para asegurar su viabilidad óptima a largo plazo y su estabilidad genética, principalmente cuando se han hecho esfuerzos de bioprospección y se han seleccionado microorganismos para ser utilizados en aplicaciones nuevas o cuando el objetivo es preservarlos para usos futuros. Las técnicas de mantenimiento e identificación correctas son un factor clave para el éxito y el manejo seguro de microorganismos. Solo microorganismos viables y caracterizados con precisión permiten el desarrollo de bioprocesos y productos reproducibles. El control de la pureza y la identificación son necesarios para lograr rendimientos óptimos y productos bien definidos, así como la seguridad del personal. Por todas estas razones expuestas, los microorganismos requieren métodos especiales de preservación.

La preservación de microorganismos -una fuente fundamental de valor para las compañías biotecnológicas- es importante para el almacenamiento a largo plazo, para las colecciones de cultivos, para productores de inóculo y para el transporte de cepas. Las técnicas moleculares, en lugar de las técnicas clásicas, han estado utilizándose recientemente para la identificación de microorganismos. Las técnicas modernas permiten la identificación rápida, precisa, simple y a precio razonable de microorganismos y están siendo adoptadas en microbiología y en estudios ambientales y biotecnológicos.

Los hongos tienen un importante papel en el ciclo de nutrientes y el mantenimiento del ecosistema a través de la degradación de la materia orgánica. Son usados en varios procesos biotecnológicos en la industria del papel, tratamiento de efluentes, producción de hongos comestibles, degradación de sustancias tóxicas y biocombustibles, entre otras. Aunque hay una gran cantidad de microorganismos disponibles en diversos ecosistemas, el

número de cepas usadas comercialmente es limitado. Los basidiomicetos en especial, están poco explorados como su potencial industrial en la producción de biocompuestos. Actualmente, el enfoque en la producción de basidiomicetos es el de un alimento funcional. El potencial de la diversidad de estos organismos y su uso en Brasil es desconocido y más relevante, cuando se considera la diversidad inexplorada del país y las áreas donde no es posible explorarla debido a la deforestación predatoria.

La preservación de la diversidad microbiana en colecciones de cultivos en todo el país es esencial. Se necesita inversión gubernamental y/o industrial constante para preservar la herencia biotecnológica nacional y la bioseguridad para el futuro desarrollo de material biológico prospectado.

Brasil ha tomado un paso importante hacia la preservación de la biodiversidad nacional con inversiones del Ministerio de Ciencia y Tecnología y del Centro de Referencia en Información Ambiental (CRIA), una organización de la sociedad civil de interés público. Los proyectos apoyados por el CRIA tales como Biota/Fapesp tratan de inventariar y caracterizar la biodiversidad en el Estado de São Paulo, en Brasil. Desde ahí, se emprendieron otras iniciativas, como el Sistema de Información de Colecciones de Interés Biotecnológico (SICol) para diseminar información sobre los Centros de Recursos Biológicos (CRB) de Brasil y servir como un elemento integrador para diferentes colecciones diferenciadas de interés biotecnológico, económico y aplicaciones industriales, principalmente relacionadas con preservación *ex-situ* de microorganismos. Esto permitió a las colecciones de cultivos organizarse mejor y convertirse en un CRB con información y entrenamiento para una amplia variedad de servicios especializados para preservar material biológico.

Aunque hay varios CRBs en Brasil, pocos están destinados a preservar basidiomicetos; en general, son pequeños y están asociados a investigadores en el área. Uno de los obstáculos para la preservación de estas colecciones de cultivos es la falta de recursos continuos. Al mismo tiempo, los basidiomicetos colectados son mantenidos en colecciones de estudio, porque no pueden ser enviados al extranjero debido a la ley sobre biopiratería, o enviados a CRBs autorizados para varios microorganismos, pero sin ser especializados en preservación de basidiomicetos. Sin embargo, la plataforma establecida para el mantenimiento y distribución de microorganismos es una base importante y fundamental para el desarrollo de CRBs específicos para basidiomicetos en el futuro próximo.

Colecciones de cultivos

Las colecciones de cultivos de microorganismos son centros de preservación de recursos genéticos *ex-situ*. Su función principal es la adquisición, caracterización, mantenimiento y distribución de microorganismos. Los diferentes tipos de colecciones de cultivos pueden ser clasificadas en colecciones de estudio, colecciones institucionales y colecciones de servicio, como se muestra en la Tabla 1. Las colecciones de servicio no solo trabajan con el mantenimiento de microorganismos, sino que más recientemente también con células autenticadas, reactivos biológicos certificados, librerías genómicas, plásmidos, virus y fragmentos de ADN clonado. Ellos también actúan como proveedores de servicios y centros de información especializados y de capacitación.

Debido a la complejidad del material que puede ser preservado y las nuevas técnicas moleculares, las colecciones de cultivos no sólo preservan células microbianas, sino también material biológico. Por material biológico se entiende cualquier material que contiene información genética y es capaz de autorreproducirse o puede ser reproducido en un sistema biológico. Esto incluye los organismos cultivables y células (librerías genómicas, plásmidos, virus y fragmentos de ADN clonados) y también organismos no cultivables, así como los datos asociados a estos organismos, principalmente moleculares, e información fisiológica y estructural relacionada con el material biológico.

Tabla 1. Tipos más comunes de colecciones de cultivos

Colección	Características
De estudio	Es generalmente manejada por un investigador con interés en determinado grupo de microorganismo en una institución de investigación o docencia. Adolece de procedimientos adecuados de control de calidad y mecanismos que aseguren sus sostenibilidad. Generalmente no cuentan con apoyo institucional o gubernamental.
Institucional	Es similar a una colección de estudio, pero más grande y dando servicio a varios investigadores de la misma institución. En general, estas colecciones no tienen curadores profesionales y/o apropiada práctica de documentación, gestión del patrimonio y oferta de servicios especializados con eficiencia y calidad.
De servicio	Generalmente tiene amplia tradición y curadores profesionales especializados, con sistemas de información que permiten el monitoreo y seguimiento de condiciones de proceso, conformidad de producto y registro de material biológico distribuido en la colección. En general, este tipo de colecciones es apoyado financieramente por el gobierno y/o compañías privadas en países industrializados.

La consolidación de las principales colecciones internacionales ocurrió en las últimas dos décadas del siglo 20. La organización de colecciones de microorganismos fue estimulada por la biotecnología que valoró el material biológico y aceleró la necesidad de desarrollar capacidad institucional (infraestructura y recursos humanos) para responder a las nuevas demandas asociadas con el almacenamiento de material biológico. En Brasil, la organización de las colecciones de microorganismos fue motivada sólo después de 1990. El retraso brasileño fue un reflejo de la falta de políticas adecuadas para el sector y la limitada demanda industrial de este material.

Historia y situación de las colecciones de cultivo brasileñas

En Brasil, la propuesta para la creación de una red de colecciones de cultivos fue hecha en la Segunda Conferencia Internacional de Colecciones de Cultivos, en la ciudad de São Paulo, en 1973, organizada por *The World Federation for Culture Collections* y la *Sociedade Brasileira de Microbiologia*. Después, en 1976 y 1977, fue propuesta la implementación de una Red Nacional de Colecciones de Cultivos de Referencia como infraestructura de apoyo para el Programa Nacional de Biotecnología.

Desde entonces, diferentes colecciones de cultivos fueron organizadas y, en 1986, Brasil contaba con 80 colecciones en 43 instituciones. La mayoría de ellas eran todavía colecciones de estudio sin curadores especializados ni apoyo financiero continuo. En 1987, en el *Programa Setorial de Coleções de Culturas*, 12 colecciones fueron apoyadas por el gobierno. Aunque era una iniciativa prometedora que seguía una tendencia mundial, no fue continuada debido a la crisis económica que afectó el país. De todas maneras, tres volúmenes fueron publicados en el Catálogo Nacional de Cepas y los datos de las colecciones estaban disponibles en línea.

Sólo en 2001, el Programa de Biotecnología y Recursos Genéticos del Ministerio de Ciencia y Tecnología de Brasil permitió la consolidación de una red de centros de servicio con amplias colecciones en las áreas de salud, agricultura, ambiente e industria; sin embargo, la interrupción gubernamental de este proceso no permitió la integración entre centros de referencia y autoridades depositarias de material biológico para patentes. En el mismo año, con el fin de proveer de material biológico para la industria biotecnológica, se creó el *Centro Brasileiro de Estocagem de Genes* (Centro Brasileño de Colecciones de Clones, BCCCenter) y se estructuró la *Coleção Brasileira de Microrganismos de Ambiente e Indústria* (Colección Brasileña de Microorganismos del

Ambiente e Industria, CBMAI) para atender la demanda de servicio especializado en este sector.

Las colecciones brasileñas estaban todavía dispersas en diferentes instituciones, y entonces, en 2002, fue fundado el CRIA (Figura 1). El CRIA es una asociación civil sin fines de lucro que tiene por objetivo diseminar el conocimiento científico y tecnológico, promover la educación de la ciudadanía y fomentar la preservación y el uso sustentable de los recursos naturales. La principal herramienta utilizada por el CRIA es el apoyo de proyectos (Tabla 2) cuyo principal objetivo sea diseminar información electrónicamente, como una herramienta de organización de la comunidad científica y tecnológica de Brasil. Trabaja específicamente en el área de información biológica de interés industrial y ambiental, e intenta a través de su trabajo, contribuir directamente en la preservación y uso racional de la biodiversidad en Brasil.

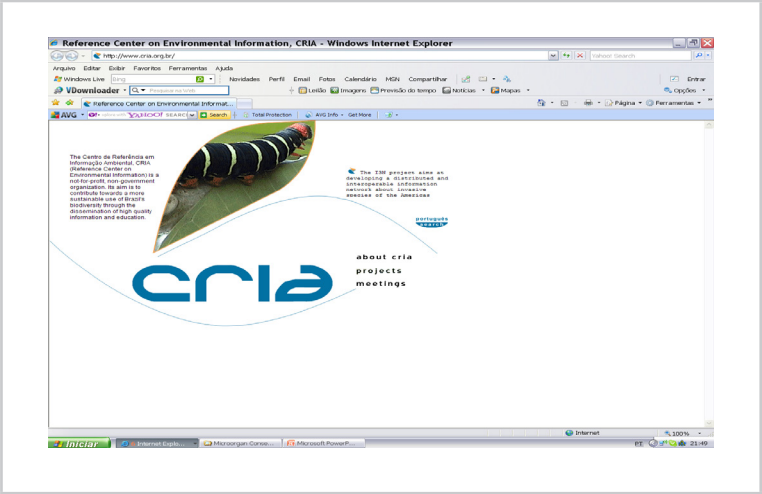


Figura 1. Portal cibernético del Centro de Referencia sobre Información Ambiental (CRIA).

Tabla 2. Proyectos apoyados por el Centro de Referencia sobre Información Ambiental (CRIA)

Proyecto	Tipo	Información
Biota/Fapesp El Instituto de Biodiversidad Virtual	Sitio en línea	Es el sitio en la red con información sobre los conceptos y estrategias del programa, las evaluaciones del Comité Científico Asesor, información sobre los proyectos, e instrucciones sobre cómo someter una propuesta a Fapesp (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – Fundación para la Investigación de São Paulo). http://www.biota.org.br/index
speciesLink	Sistema de información	Es un sistema de información distribuido para recuperar datos de colecciones biológicas. http://splink.cria.org.br/
INCT Herbario Virtual de Plantas y Hongos	Sistema de información	Su misión es proveer a la sociedad en general, autoridades públicas y especialmente a la comunidad científica, una infraestructura de datos de alta calidad disponible abiertamente al público. Esto incluye datos de herbarios de Brasil y datos repatriados de herbarios en colaboración del extranjero. http://inct.florabrasil.net/

CONTINÚA TABLA 2

SinBiota	Sistema de información	Es el sistema de información ambiental para el Estado de São Paulo/Brasil desarrollado para mantener datos de inventarios y recorridos llevados a cabo por los proyectos relacionados con el programa Biota/Fapesp. http://sinbiota.cria.org.br/
SICol Sistema de Información de Colecciones de interés Biotecnológico	Sistema de información	Es un producto del Programa Nacional de Biotecnología del Ministerio de Ciencia y Tecnología que tiene como objetivo diseminar información de colecciones microbianas en Brasil y servir como un elemento integrador de estas colecciones. http://sicol.cria.org.br/
OBIS en Brasil	Sistema de información	El nodo OBIS en Brasil: Atlántico Sudoccidental Tropical y Subtropical (WSAOBIS) es uno de los 3 nodos (Argentina, Brasil, y Chile) de la antigua RON Sudamericana (OBIS SA). Su implementación recibió financiamiento inicial de la fundación Alfred P. Sloan a través de Rutgers, de la Universidad Estatal de Nueva Jersey. La organización anfitriona es la USP con apoyo de PETROBRAS. El objetivo de este nodo es consolidar la contribución regional al portal de la OBIS, que es una de las iniciativas del Censo de la vida Marina (CoML). http://obisbr.cria.org.br/
Biota Neotropica Journal	Revista y artículos	Está estructurado dentro del programa Biota/Fapesp y publica resultados de investigación original relacionada o no con el programa, referida con la conservación y uso sustentable de la biodiversidad del Neotrópico. http://www.biotaneotropica.org.br/v10n4/en/
Bioline International	Revista y artículos	Es un servicio electrónico de publicación sin fines de lucro comprometido con proveer acceso abierto a las revistas de investigación de calidad publicadas en países en desarrollo. Es una iniciativa de colaboración de las bibliotecas de la Universidad de Toronto, Canada (Oficina Administrativa), el Centro de Referencia sobre Información Ambiental, Brasil (desarrollo de computadoras host y software) y Bioline/UK (liga). http://www.bioline.org.br/
Check List	Revista y artículos	Está dedicada a publicar listas de especies, mapas de distribución geográfica, y notas sobre distribución geográfica de cualquier taxa. http://www.checklist.org.br/
World Community Grid	Herramientas	Usa computación distribuida (tecnología grid) para establecer una infraestructura flexible y permanente que provea a los investigadores con un pool de poder computacional fácilmente accesible que pueda ser usado para resolver problemas que atacan a la humanidad. La tecnología grid reagrupa muchas computadoras individuales creando un gran sistema con poder computacional masivo que excede la potencia de unas pocas supercomputadoras. http://www.worldcommunitygrid.org/

CONTINÚA TABLA 2

Open Modeller	Herramientas	Es un recurso gratis de herramientas de modelaje de distribución espacial estática. Su desarrollo está siendo financiado por la Fundación para la Investigación del Estado de São Paulo (Fapesp). Su código fuente está disponible en sourceForge.net para todos los interesados. http://openmodeller.sourceforge.net/
speciesLink network	Herramientas	Es un proyecto responsable del desarrollo de una serie de herramientas de interés especial de las colecciones biológicas, como limpieza de datos y visualización. http://splink.cria.org.br/tools
BioGeomancer	Heramientas	Es una colaboración mundial de expertos en datos de historia natural y geoespacial. El objetivo primario del proyecto es maximizar la calidad y la cantidad de datos de biodiversidad que pueden ser mapeados en apoyo a investigación científica, planeación, conservación, y manejo. El proyecto promueve la discusión, maneja datos geoespaciales y datos estándares y desarrolla herramientas de software en apoyo de esta misión. http://www.biogeomancer.org/
incofish	Herramientas	Es un proyecto apoyado por la Comunidad Europea coordinado por el Leibniz Institut für Meereswissenschaften, Kiel, Alemania. Involucra 35 instituciones y empresas privadas de 22 naciones del mundo (12 Europeas, 12 Latinoamericanas, 6 Asiáticas, 5 Africanas). El papel del CRIA es desarrollar herramientas de mapeo. http://www.incofish.org/
DesktopGarp	Herramientas	Es un proyecto desarrollado en colaboración con el Centro de Investigación de la Biodiversidad, de la Universidad de Kansas. Es un paquete de software sobre investigación en biodiversidad y ecología que permite a los usuarios predecir, modelar y analizar la distribución geográfica de las especies silvestres. http://www.nhm.ku.edu/desktopgarp/
Lista de especies de la flora de Brasil	Herramientas	La Lista de Especies de la Flora Brasileña es un proyecto coordinado por el Jardín Botánico de Rio de Janeiro en colaboración con el CRIA. El CRIA es responsable del desarrollo y mantenimiento del sistema de información. El proceso completo de validación e inclusión de taxas nuevos hecho en línea por una red de más de 400 taxónomos de Brasil y del extranjero. http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/index?lang=pt
FLORA BRASILIENSIS	Herramientas	Tiene por objetivo crear un sistema de información en línea integrando imágenes de alta resolución de las 3811 placas con otros sistemas como el speciesLink network. Es apoyado por Fapesp, Natura y la Fundação Vitae. http://florabrasiliensis.cria.org.br/

CONTINÚA TABLA 2

FLORA BRASILIENSIS revisited	Herramientas	El sistema Flora brasiliensis revisited presenta los nombres de taxones como están aceptados por especialistas hoy, y de esta manera es una actualización de los nombres usados en Martius' Flora brasiliensis. Está siendo construido de manera colaborativa a través de Internet y el resultado esperado es un listado de plantas superiores de Brasil, complementada con datos adicionales e imágenes. http://flora.cria.org.br/
Catálogo Moure de abejas	Herramientas	La Universidad Federal de Paraná, en colaboración con el CRIA está estructurando un catálogo taxonómico en línea sobre abejas presentes en el Neotrópico. El proyecto es financiado por Finep, y es el resultado del trabajo realizado por el sacerdote Jesus Santiago Moure, quien desde el principio de su carrera académica en 1938 ha estado catalogando toda la información publicada sobre abejas en el Neotópico. http://moure.cria.org.br/
ITIS	Herramientas	Sistema Integrado de Información Taxonómica (Integrated Taxonomic Information System, ITIS) trata de crear una base de datos fácilmente accesible con información confiable sobre nombres de especies y su clasificación jerárquica. ITIS es un socio de Species 2000 y del Centro de Información sobre la Biodiversidad Global (Global Biodiversity Information Facility, GBIF). http://www.cbif.gc.ca/pls/itisca/taxaget?p_ifx=cria&p_lang=pt
Neofrug	Base de datos	La base de datos Neofrug guarda información sobre la interacción entre animales y plantas del Neotrópico. Esta es una iniciativa del Laboratorio de Interacciones Vertebrados-Plantas - Unicamp con el apoyo de Fapesp. http://www.cria.org.br/neofrug/
Fenologia	Base de datos	La base de datos Phenology guarda información sobre las diferentes fenofases de especies de la Estación Experimental de Silvicultura Tropical (Experimental Station of Tropical Silviculture) y la Reserva Ducke. Este es el resultado de una colaboración entre el Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico - CNPq, la Universidad Estatal Paulista - Unesp, el Instituto Nacional de Investigación de la Amazonia (National Institute for Amazon Research)- Inpa, y CRIA. http://fenologia.cria.org.br/

Biota/Fapesp (Figura 2) es un ejemplo de modelo de proyecto apoyado por el CRIA y Fapesp. Trata de preservar el potencial activo y económico de la biodiversidad y su utilización sustentable. Tiene por objetivo inventariar y caracterizar la biodiversidad del Estado de São Paulo. Además del inventario de la biodiversidad para su preservación, la información generada por investigadores del programa Biota/Fapesp está ligado a una base de datos cartográfica digital (Figura 3) a través del sistema SinBiota. Por lo tanto, no sólo puede ser seguida la biodiversidad por regiones en el mapa, sino también es posible observar la fluctuación de las especies en el tiempo. Por lo tanto, Biota/Fapesp provee información sobre mecanismos de difusión para la comunidad científica sobre la biodiversidad en el Estado de São Paulo, para la toma de decisiones y para la formulación de políticas educativas y ambientales.

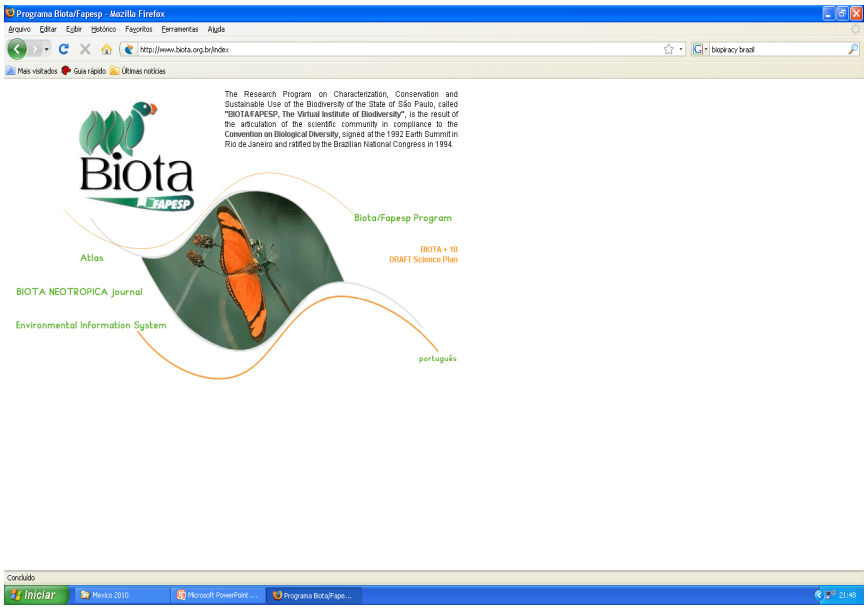


Figura 2. Portal cibernético del programa Biota/Fapesp.

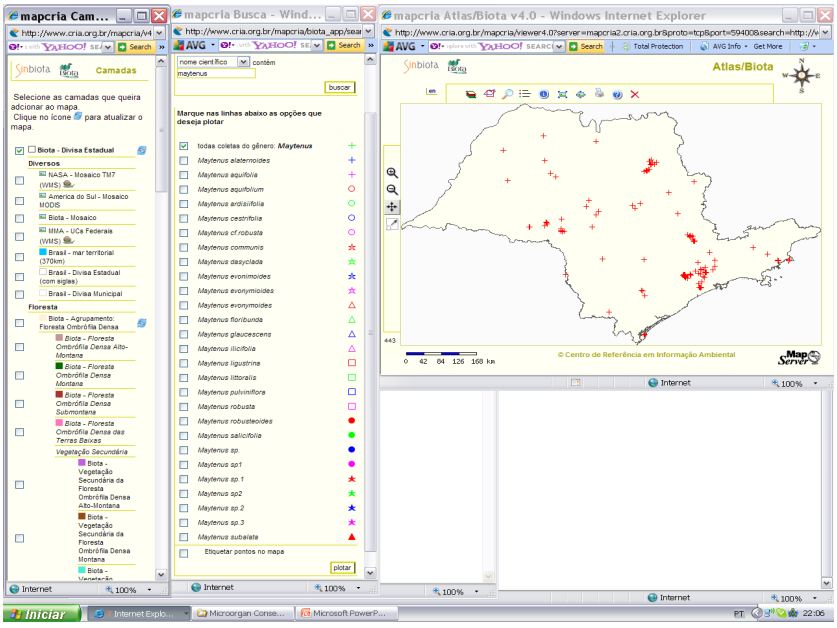


Figura 3. Consulta sobre el género de planta *Maytenus* en la base cartográfica digital del Estado de São Paulo, Brasil en el sitio del Sistema de Información Ambiental (SinBiota) - Biota/Fapesp.

El SICol es un proyecto apoyado por el CRIA que tiene por objetivo poner disponible en línea la información sobre colecciones de cultivos de microorganismos. El usuario de SICol puede integrar datos de cepas de microorganismos en colecciones nacionales y cruzar los datos con información de directorios taxonómicos (Species 2000), literatura científica (Scielo y PubMed) y bases de datos genómicos (GenBank), agregando valor al material biológico disponible en las colecciones brasileñas. Además, los avances en genómica y proteómica y

los estudios de bioprospección están generando nuevos materiales biológicos, desde genes hasta organismos, e incrementando la demanda por estudios computacionales *in silico*. Esta condición estimuló una nueva demanda de preservación con derechos de propiedad intelectual y la necesidad de integrar sistemas de información para cruzar datos de microorganismos con información científica y tecnológica.

A pesar de los avances que el CRIA y SICol representan sobre la formación y preservación de colecciones de material biológico en Brasil, debido a la falta de sistemas que garanticen la calidad del material biológico almacenado, en 2002, fue publicado el libro *Sistema de Avaliação da Conformidade de Material Biológico* (Sistema de Evaluación de la Conformidad del Material Biológico) del Programa Básico de Tecnología Industrial el Ministerio de Ciencia y Tecnología. La publicación recomienda una política de formación para construir las bases técnicas para evaluar la conformidad del material biológico almacenado. La certificación del material biológico estimula su uso en investigación científica e innovación tecnológica. La formación de una red integrada de colecciones de servicio, centros de referencia y reposición de material biológico certificado fue recomendada con un sistema de información integrada de colecciones de apoyo para complementar el establecimiento de autoridades depositarias de material biológico para patentes.

Después de cuatro años, en 2006, fue propuesta por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) la formación de la red global de CRBs. Los CRBs son centros de preservación, información y entrenamiento que ofrecen un amplio rango de servicios especializados para preservar material biológico. Considerando que material biológico es cualquier material que contiene información genética y que es capaz de autorreproducirse o ser reproducido en un sistema biológico. Esto incluye organismos y microorganismos cultivables; células humanas, animales y vegetales, partes replicables de esos organismos y células (librerías genómicas, plásmidos, virus, fragmentos de ADN clonado), así como organismos no cultivables y datos asociados con esos organismos – información molecular, fisiológica y estructural referida al material biológico. Por lo tanto, debido a la amplitud del material preservado, los CRBs se han convertido en centros de investigación y referencia para la investigación científica usando material certificado. Los CRBs brasileños son agrupados en el SICol, que integra varias colecciones diferenciadas de interés biotecnológico, económico y aplicación industrial. El SICol tiene varios CRBs (Tabla 3) y un catálogo virtual.

Debido a las solicitudes de los sectores académico y productivo, se listaron veintiséis colecciones de cultivo para la investigación, la mayoría de ellos sobre cultivos microbianos de procariotas y eucariotas, así como de germoplasma. Estas colecciones tienen curadores y formas de contacto facilitadas. Las siguientes instituciones destacan por sus servicios, toda vez que rutinariamente proveen cultivos microbianos y presentan controles de calidad para sus colecciones: CBMAI (CPQBA-Unicamp), FioCruz, Embrapa, IPT, Adolfo Lutz Institute, Instituto Biológico de São Paulo, Coleção de Culturas de Fitobactérias do Instituto Biológico de Campinas, Coleção de Fungos da UFPE. Algunas colecciones cuyos datos están parcial o totalmente informatizados están disponibles en Internet. Esencialmente las colecciones sirven al sector industrial por productos biotecnológicos, agrícolas (fitosanitarios) y ambientales (biorremediación).

Considerando los avances en biotecnología y bioeconomía, desde las colecciones de servicios certificados y las ya existentes autoridades, la OCDE propuso la definición de criterios para la acreditación de colecciones. A partir de normas internacionalmente aceptadas, criterios de calidad y operación estándar, los CRBs fueron adecuados para asegurar la bioseguridad legal y la armonización. De ahí, la Sociedad Brasileña de Microbiología publicó las *Recomendaciones para la Operación y Gestión de Colecciones de Cultivos de Microorganismos*, que son fundamentales para la adecuación de las colecciones de cultivo de estudio, institucional o servicio en CRBs. En Brasil, en 2010, varios CRBs trabajan suministrando información en línea sobre la biodiversidad brasileña, no solamente relacionada con microorganismos.

Tabla 3. Centros de Recursos Biológicos (CRB) disponibles en el Sistema de Información de Colecciones de Interés Biotecnológico (SICol)

Institución	CRB
Asociación Técnico Científica Paul Ehrilich (APABCAM); Programa avanzado de Biología Celular Aplicado a Medicina	Banco de Células do Río de Janeiro (BCRJ)
Embrapa Recursos Genéticos y Biotecnología	Colección de Cultivos de Fitopatógenos y Agentes de Control Biológico de Fitopatógenos (CFAF) Colección de Cultivos de Hongos Entomopatógenos (CCFE) Banco de Germoplasma de *Bacillus* spp. para Control Biológico (BGB)
Embrapa Agrobiología	Colección de Cultivos de Bacterias Diazotróficas (CCBD)
Embrapa Medio Ambiente	Recursos Genéticos de Interés Agrícola y Ambiental (RGIA)
Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias de Jaboticabal (UNESP)	Centro Brasileño de Almacenamiento de Clones (BCCCenter)
Fundación Oswaldo Cruz	Colección de Cultivos de Hongos del Instituto Oswaldo Cruz (CCF-IOC) Colección de Leishmania y Centro de Referencia Internacional de Leishmania (Leishmania-IOC) Colección de Bacterias (CBac) Colección de Cultivos del Género *Bacillus* y Géneros relacionados (CCGB) Banco de Embriones de Ratones Genéticamente Modificados (BEC) Colección de Microorganismos de Referencia del INCQS Fundación Oswaldo Cruz (INCQS) Colección Biológica del Centro de Investigación Leônidas y Maria Deane (CBCPqLMD)
Instituto Agronómico Centro de Citricultura Sylvio Moreira	Banco Activo de Germoplasma de *Citrus* (BAG-Citrus)
Instituto Biológico	Colección de Cultivos de Fitobacterias del Laboratorio de Bacteriología Vegetal (IBSBF)
Instituto Nacional de Investigaciones de la Amazonia	Colección de *Rhyzobium* (INPA SMS) INPA - Sector de Microbiología del Suelo
Universidad Estatal de Feira de Santana	Colección de Cultivos de Microorganismos de Bahia (CCMB)
Universidad Federal de Roraima	Colección de Cultivos del UFRR (CCRR)
Universidad Estatal de Campinas	Colección Brasileña de Microorganismos del Ambiente y la Industria (CBMAI)

Con el fin de organizar la formación de CRBs, el SICol provee los procedimientos necesarios para adaptar una colección de cultivos a un CRB (Figura 4), ajusta los procedimientos del laboratorio sobre microorganismos (Figuras 5 y 6) y, entre otros procedimientos, asegura la bioseguridad legal de las colecciones, así como su armonización. Para un CRB es necesario establecer un control de calidad en las colecciones para alcanzar están-

dares internacionales en la preservación de microorganismos e identificación e información sobre preservación de estudios *in silico*, librerías genómicas, chips de proteínas y microarrays. Es necesaria la concordancia con la legislación brasileña para distribuir cepas para tener un sistema de control de calidad, control taxonómico, viabilidad celular (antes y después de la preservación) pureza de cultivos, mantenimiento de la actividad biológica y otras características, así como control en el orden de cultivos.

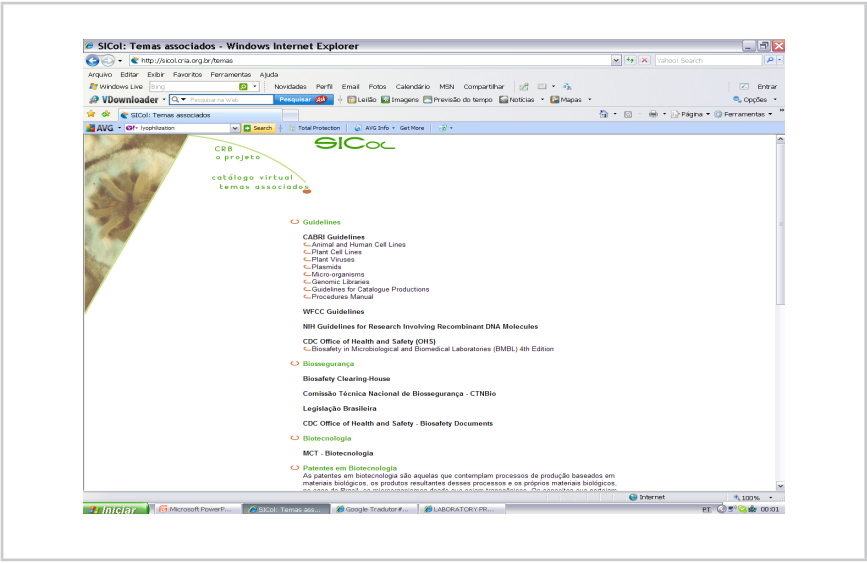


Figura 4. Guía para adaptar procedimientos de laboratorio disponible en el Sistema de Información sobre Colecciones de Interés Biotecnológico (SICol).

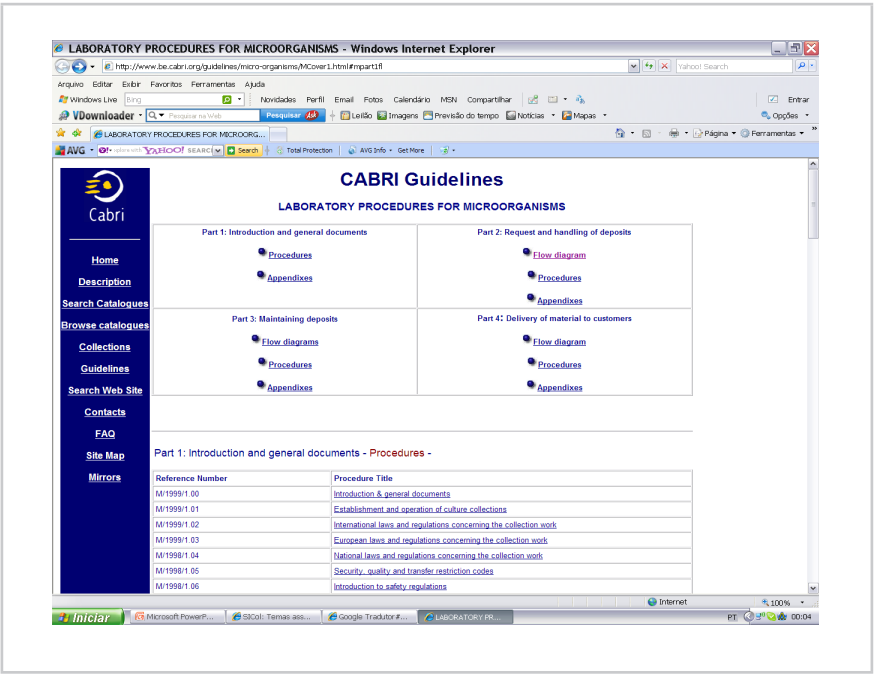


Figura 5. Procedimiento general para laboratorios de microorganismos, disponible en el Sistema de Información sobre Colecciones de Interés Biotecnológico (SICol) y basado en la guía de Acceso Común a la Información y los Recursos Biológicos (CABRI).

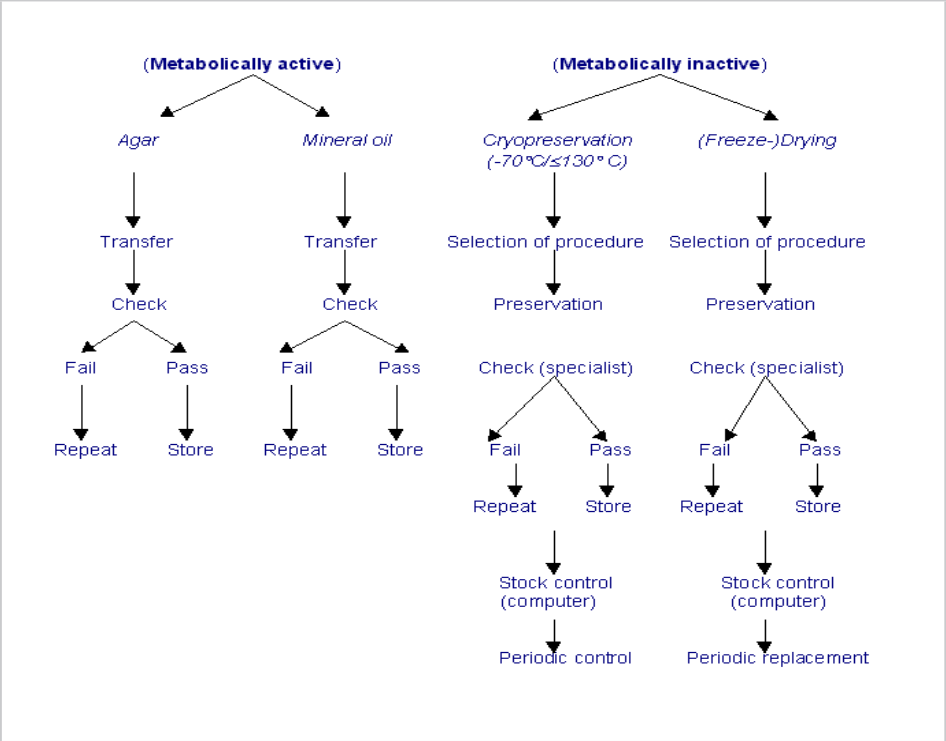


Figura 6. Procedimientos específicos de métodos de preservación de microorganismos para laboratorios, disponible en el Sistema de Información sobre Colecciones de Interés Biotecnológico (SICol) y basado en la guía sobre Acceso Común a la información y los Recursos Biológicos (CABRI).

Situación presente de las colecciones de cultivos de basidiomicetos en Brasil

En Brasil, las colecciones de cultivos de basidiomicetos son generalmente colecciones de estudio (Tabla 4) manejadas por investigadores en el área y estudiantes voluntarios de los proyectos de investigación. No hay todavía un CRB para basidiomicetos y las colecciones son muy pequeñas cuando se les compara con las de otros organismos. Por lo mismo, no es raro que el material biológico se pierda por manejo inadecuado.

Tabla 4. Colecciones de estudio que son mantenidas por investigadores e instituciones brasileñas

Institución	Responsable	Contacto
Universidad Paranaense	Nelson Barros Colauto	nbc@unipar.br
Universidad Estatal de Londrina	Luzia Doretto Paccola-Meireles	paccola@uel.br
Universidad Federal de Lavras	Eustáquio Souza Dias	esdias@ufla.br
Instituto de Botánica de São Paulo	Marina Capelari	mcapelariibot@yahoo.com
Instituto Biológico de São Paulo	Christiane Ceriani Aparecido	christianeceriani@biologico.sp.gov.br
Instituto Leonidas y Maria Deane - Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)	Ormezinda Celeste Cristo Fernandes	cfam@fiocruz.br
Embrapa	Arailde Fontes Urben	arailde@cenargen.embrapa.br
Instituto Nacional de Pesquisas de la Amazônia/INPA	Maria Aparecida de Jesus	ranna@inpa.gov.br

Considerando las colectas hechas en Brasil que caracterizan material-tipo de especies brasileñas, son importantes las siguientes colecciones de cultivos de basidiomicetos.

◦ BAFC Herbarium, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina
◦ BPI U.S. National Fungus Collections, Beltsville, Maryland, United States of America
◦ BRIT Herbarium, Botanical Research Institute, Texas University, Fort Worth, Texas, United States of America
◦ FH Farlow Reference Library and Herbarium of Cryptogamic Botany, Harvard University, Cambridge, Massachusetts, United States of America
◦ HBG Herbarium, Institut für Algemeine Botanik, Hamburg Universität, Hamburg, Germany
◦ IACM Mycological Herbarium, Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, SP, Brazil
◦ IBI Mycological Herbarium Victoria V. Rossetti, Instituto Biológico, São Paulo, SP, Brazil
◦ K The Herbarium, Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom
◦ LPD Herbarium, Laboratório de Botánica de la Dirección de Agricultura, La Plata, Buenos Aires, Argentina
◦ LPS Herbarium, Instituto de Botánica "C. Spegazzini", La Plata, Buenos Aires, Argentina
◦ LPS Museum C. Spegazzini, La Plata, Argentina
◦ LSUM Mycological Herbarium, Botany Department, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana, United States of America
◦ MG Botany Department, Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, PA, Brazil ◦ NY Herbarium, New York Botanical Garden, Bronx, New York, United States of America
◦ PC Muséum National d´Histoire Naturelle, Laboratoire de Crypytogamie, Paris, France
◦ PUR Arthur Herbarium, Botany and Plant Pathology Department, Purdue University, West Lafayette, Indiana, United States of America
◦ SP State Herbarium Maria Eneyda P. Kauffmann Fidalgo, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, Brazil
◦ UFRJ Herbarium, Department of Phytopathology, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil
◦ URM Herbarium, Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil
◦ ZT The Herbarium, Institut für Spezielle Botanik, Eidg. Technische Hochschule, Zurique, Switzerland

En Brasil, el principal método de preservación de microorganismos es la transferencia periódica en medio de cultivo. Esta metodología puede ser utilizada únicamente en preservación a corto plazo porque afecta la capacidad de producción de basidiocarpos y aún resulta en la pérdida de características que tienen valor comercial. Otro método utilizado para preservación a medio plazo es el aceite mineral y agua (Método de Castellani). Para largo plazo, es común el uso de criopreservación a -70 ºC y a -196 ºC.

El valor de una colección de cultivos está basado en la diversidad de los microorganismos preservados y en la información consistente sobre las cepas. Esta valorización depende principalmente de la habilidad técnica del investigador para satisfacer la demanda tecnológica, la cual incrementa el costo de mantenimiento del centro. Los proyectos de desarrollo y/o la venta de cultivos no son suficientes para cubrir los costos de trabajo de una colección de cultivos. Además, en Brasil las colecciones de cultivos de basidiomicetos son de investigación sin recursos por pago de servicios. Por lo tanto, el mantenimiento de colecciones de cultivo brasileñas depende de

fondos gubernamentales o institucionales.

En 1993, la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC, por sus siglas en inglés), con un personal de 250 empleados, tuvo un presupuesto anual de US$ 18 millones. 60% de esta suma fue obtenida por las ventas y servicios y 40% (US$ 7.2 millones) por fuentes gubernamentales norteamericanas. En el mismo año, la Colección Alemana de cultivos de microorganismos y células (DSMZ, por sus siglas en alemán), con 63 empleados, tuvo un presupuesto anual de US$ 5.2 millones. Cerca de US$ 1 millón (18%) del total fue generado por venta de cultivos y servicios y el resto, cerca de US$ 4.2 millones (82%) fueron recursos del gobierno alemán. La Colección Japonesa de Microorganismos (JCM, por sus siglas en inglés) a diferencia de la ATCC y la DSMZ, cuenta solo con recursos del gobierno japonés para su mantenimiento y operación.

Uno de los más grandes obstáculos para el mantenimiento de cultivos de basidiomicetos en Brasil es la especialización de la fuerza laboral y la falta de recursos específicos para la preservación de los cultivos. Muchas de las colecciones son mantenidas con recursos institucionales y aún estudiantes de programas de iniciación científica, sin curadores profesionales. Por lo mismo, es urgente mejorar la infraestructura para la preservación de basidiomicetos para equipar e incorporar avances en biología molecular y tecnología de la información. La existencia de investigadores y curadores capacitados y dedicados es fundamental para crear colecciones de cultivos de basidiomicetos. Esto es un paso importante hacia el desarrollo de una base sólida que complemente los esfuerzos nacionales e internacionales de investigación en colaboración, que permiten alianzas estratégicas y colaboración en una escala global. Debido a la importancia de la preservación de la biodiversidad brasileña y el reciente apoyo gubernamental para colectar, caracterizar y preservar material biológico, se espera que algunas redes y aún CRBs específicos sean formados para preservar los basidiomicetos brasileños en los años venideros.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a El Colegio de la Frontera Sur de México y la Universidad Paranaense de Brasil.

REFERENCIAS

Abreu MMV, Tutunji VL (2004) Implantação e manutenção da coleção de culturas de microrganismos do UniCEUB. *Universitas Ciências da Saúde* 2:236-251. http://www.publicacoesacademicas.uniceub.br/ index.php/cienciasaude/article/viewFile/535/356 (October 30, 2010).

Brasil. Estado de São Paulo. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - Fapesp. (1999) Biota/Fapesp Program. http://www.biota.org.br/ (October 28, 2010).

Brasil. Estado de São Paulo. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - Fapesp - Centro de Referência em Informação Ambiental – CRIA – Universidade Estadual Paulista – Unicamp – Instituto Florestal - IF. (1999) SinBiota Biota/Fapesp Program. http://sinbiota.cria.org.br/info/ (October 28, 2010).

Brasil. Ministério da Ciência e Tecnologia - Centro de Referência em Informação Ambiental - CRIA. (2002) SICol - Sistema de Informação de Coleções de Interesse Biotecnológico. http://sicol.cria.org.br/ (October 28, 2010).

Brasil. Ministério da Ciência e Tecnologia (2002) Sistema de Avaliação da Conformidade de Material Biológico. SENAI/DN. 102p.

Canhos VP, Souza S, Canhos DAL (2003) Building the inter-American biodiversity information network (IABIN): subregion 2 - Brazil. http://www.iabin-us.org/projects/gef_project/iabin_dot_net_docs/subregfin2_eng.pdf (October 28, 2010).

Canhos VP, Umino CY, Manfio GP (1999) Coleções de culturas de microrganismos. En: Joly CA, Bicudo CEM (Org.). Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX. Fapesp, v. 7, p. 81-102. http://www.biota.org.br/pdf/v72cap03.pdf (October 30, 2010).

Capelari M, Gugliotta AM, Figueiredo MB (1998) O estudo de fungos macroscópicos no Estado de São Paulo. En: Bicudo CEM, Shepherd GJ (Org.). Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX: fungos macroscópicos e plantas. Fapesp, v. 2, p. 9-23.

http://www.biota.org.br/pdf/v2cap02.pdf (October 30, 2010).

CRIA - Centro de Referência em Informação Ambiental (2002) http://www.cria.org.br/ (October 28, 2010).

Sette LD, Cupolillo E, Tigano MS, Vazoller RF, Canhos VP (2006) *Recomendações para Operação e Gerenciamento de Coleções de Culturas de Microrganismos*. Sociedade Brasileira de Microbiologia. 14p. http://plataformarg.cenargen.embrapa.br/pnrg/rede-microbiana/publicacoes/SBMGerenciamentoColecoesCulturas.pdf (October 28, 2010).

Vazoller RF, Canhos VP (2005) *Coleções de Culturas e Serviços e Centros de Recursos Biológicos*. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos: Ciência, Tecnologia e Inovação. 18p. http://www.cgee.org.br/atividades/redirect.php?idProduto=1750 (October 28, 2010)

2.2 CEPARIOS DE HONGOS EN MÉXICO

Dulce Salmones y Gerardo Mata

Red de Manejo Biotecnológico de Recursos, Instituto de Ecología, A.C., Carretera antigua a Coatepec No. 351, El Haya, CP 91070, Xalapa, Veracruz, México

RESUMEN

Se presenta una revisión sobre el estado actual de los ceparios de hongos comestibles en México, basándose en los datos proporcionados por los encargados de las principales colecciones. Con el desarrollo del cultivo de hongos comestibles en México, surgió la necesidad de almacenar las cepas utilizadas en los cultivos, por lo que la conformación de las primeras colecciones cuenta con cerca de 30 años de antiguedad. De acuerdo a la información recopilada, en nuestro país existen alrededor de 10 ceparios especializados en la conservación de especies comestibles, en las que se preservan 1639 cepas de especies comestibles y/o de interés para el cultivo comercial, aunque 4 de ellos (COLPOS, ECOSUR, INECOL, UNAM) resguardan más de 86% de las muestras. Los sistemas de conservación son variados, predominando las resiembras continuas en medios de cultivo. México es líder latinoamericano en producción de hongos comestibles y sin embargo, pocas investigaciones se han enfocado a recuperar y preservar germoplasma silvestre de las especies de interés industrial. Dentro de los géneros de hongos mejor representados en las colecciones destaca *Pleurotus*, como consecuencia de las numerosas investigaciones realizadas a nivel nacional sobre el mismo.

Palabras clave: colecciones de cultivos, cepas, hongos comestibles, germoplasma silvestre, preservación.

INTRODUCCIÓN

Hawksworth (2001), estimó que existen alrededor de 1.5 millones de especies de hongos, lo que ubica a este reino como el segundo grupo de organismos más grande en el planeta, sólo después de los insectos. Sin embargo, el número de especies de hongos descritas mundialmente no sobrepasan los 100,000 y de éstos, sólo 10% se resguarda en cultivos (Ryan y Smith 2004). Tan sólo en México se estima que podrían existir más de 200,000 especies (Guzmán 1998). Este elevado número de hongos que se infiere crecen en México, representan un potencial biotecnológico, económicamente factible de aprovechar y de gran importancia para el desarrollo nacional. Sin embargo, la pérdida de hábitats naturales ha repercutido desfavorablemente en las poblaciones silvestres, por lo que las colecciones de cultivos fúngicos adquieren cada vez mayor importancia en la conservación *ex situ* de la biodiversidad y representan un importante componente en el desarrollo de investigaciones científicas y tecnológicas.

A pesar del conocimiento ancestral que los pobladores de algunas culturas mesoamericanas alcanzaron, el cultivo de especies comestibles es una actividad reciente en el país (Mata *et al*. 2007). Esta actividad involucra el uso de cultivos vivos, lo que ha favorecido la creación de bancos de germoplasma con la finalidad de mantener las cepas con las características morfológicas, fisiológicas y genéticas adecuadas para su cultivo comercial. La importancia del aprovechamiento de especies comestibles como un recurso genético se ha hecho más evidente en tiempos recientes, debido a que la población humana requiere resolver problemas de abasto de alimentos, deterioro ambiental, salud, demanda de productos de alto valor agregado, entre otros.

En este trabajo se presentan los resultados de una encuesta realizada a encargados de los ceparios de instituciones nacionales que desarrollan estudios sobre el cultivo de hongos comestibles. Se realizaron 14 encuestas, pero sólo se obtuvo información de 12, de los cuáles 2 citan que el número de cepas que preservan es bajo

(menor a 10 especímenes), por lo que no se considera un cepario y dos instituciones no tienen su información actualizada sobre la viabilidad de germoplasma depositado, debido a que sus colecciones no reciben mantenimiento en la actualidad. Por lo tanto, los datos abajo descritos se basan en la información proporcionada por 8 cepario (Tabla 1).

Tabla 1. Ubicación geográfica y número de cepas preservadas en los cepario encuestados

Institución	Entidad	No. De cepas
Colegio de Posgraduados. COLPOS	Puebla	400
El Colegio de la Frontera Sur	Chiapas	456
Instituto de Ecología, A.C.	Veracruz	356
Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca	Oaxaca	24
Universidad Autónoma de Yucatán	Yucatán	21
Universidad Autónoma del Edo. de Morelos	Morelos	87
Universidad de Guadalajara	Jalisco	95
Universidad Nacional Autónoma de México	D.F.	200

RESULTADOS

Fundación de los cepario

El inicio de las colecciones de cultivos de hongos comestibles en México está vinculado con el surgimiento de esta actividad en el siglo pasado, específicamente durante la década de los 80´s y principios de los 90's. Así, en 1982, el Dr. Hermilo Leal Lara funda el Cepario de Hongos Comestibles de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y al siguiente año, el Dr. Daniel Martínez-Carrera inicia el cepario del extinto Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos (INIREB), este centro de investigaciones concluye sus actividades en 1988 y a partir de este año el resguardo de dicha colección es cedido al Instituto de Ecología, A.C. Entre los años de 1986 a 1990 surgen los cepario de las siguientes instituciones: Laboratorio de Micología de la Universidad Autónoma de Morelos, la Universidad de Guadalajara, el Colegio de Postgraduados, COLPOS (campus Puebla) y el de la Facultad de Biología, Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán. Posteriormente, en 1993, el Dr. José E. Sánchez inicia la colección de cepas de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). El resto de las colecciones encuestadas inician sus actividades en los años subsecuentes.

Sistemas de conservación

Independientemente de su perfil de investigación, los laboratorios responsables de los cepario de hongos comestibles nacionales tienen una tarea común, la conservación adecuada de los cultivos de hongos *ex situ*. Esta

tarea no sólo implica el resguardo del organismo vivo, sino además, mantener su pureza, viabilidad, capacidad de esporulación y fructificación, evitando cambios genómicos no deseables (Guzmán *et al*. 1993, Ryan y Smith 2004). Es por ello que el uso de sistemas eficientes y seguros de conservación de los micelios es una de las prioridades de las colecciones y la elección de él o los sistemas estará sujeto a los recursos técnicos y financieros disponibles en la institución responsable.

De acuerdo a los resultados de la encuesta, la mayoría de los cepario mexicanos emplean el método tradicional de resiembras continuas en medios de cultivo comerciales, descrito por Smith y Onions (1994). Los medios de cultivo más utilizados para el crecimiento de estas especies son: agar con papa y dextrosa, agar con extracto de malta y agar Saboraud. Las muestras se almacenan preferentemente en refrigeración (2-5°C). Otros laboratorios utilizan al menos dos métodos de conservación (generalmente uno de ellos es la resiembra continúa) y el otro es el almacenamiento de los cultivos con aceite mineral o en agua destilada estéril propuesto por Burdsall y Dorworth (1994). En México solamente el cepario del Instituto de Ecología utiliza métodos de conservación llamados de "largo plazo", como es la criogenización. Cabe citar que este último proceso, aunque requiere de personal altamente capacitado en el manejo del cepario así como una mayor disponibilidad financiera para la adquisición del equipo especializado y la recarga constante del nitrógeno líquido, es altamente eficiente para preservar la viabilidad de las cepas por largos períodos de tiempo (Mata y Pérez-Merlo 2003, Mata *et al.* 2004).

Composición de los ceparios

Pleurotus

Pleurotus es el género de hongos comestibles mayoritariamente resguardado en los ceparios encuestados, con un total de 917 cepas preservadas (Figura 1). Cabe destacar la colección de ECOSUR que mantiene 364 cepas de *Pleurotus*, seguida de los ceparios del INECOL y de COLPOS, con 174 y 168 cepas, respectivamente. Las especies de *Pleurotus* en resguardo corresponden mayoritariamente a las especies comerciales *P. ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. y *P. pulmonarius* (Fr.) Quél., aunque también se preservan cepas de *P*. *djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn, *P. dryinus* (Pers.) P. Kumm*., P. levis* (Berk. & M.A. Curtis) Singer *, P. opuntiae* (Durieu & Lév.) Sacc., y *P. smithii* Guzmán.

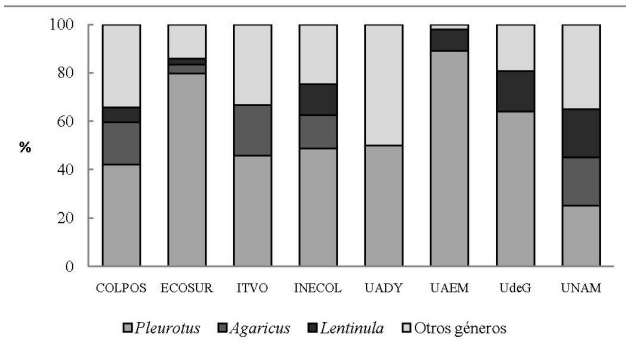


Figura 1. Porcentaje de cepas por género en los ceparios de hongos comestibles en México.

En México se cultivan principalmente *P. pulmonarius* y *P. ostreatus*, a partir de cepas comerciales introducidas al país, ya que inicialmente no se habían encontrado creciendo de manera silvestre (Guzmán 2000), sin embargo, estudios recientes ponen en duda esta aseveración (Camacho Sánchez 2010, Huerta *et al*. 2010). Por otra parte se tiene interés en introducir comercialmente a *P. djamor,* una especie nativa de amplia distribución que crece de manera natural en las regiones tropicales y subtropicales (Figura 2). *P. djamor* presenta dos variedades ecológicas: blanca y rosa y sus ciclos de cultivo son más cortos que los de las especies de clima templado.



Figura 2. Ejemplares cultivados de *Pleurotus djamor*, variedades blanca y rosa.

Agaricus

Agaricus es el segundo género mejor representado en las colecciones nacionales, con 180 cepas almacenadas. Los ceparios de COLPOS, INECOL y la UNAM, tienen más de 80% de las cepas de champiñón bajo resguardo, con 70, 49 y 40 cultivos conservados. La mayoría de las cepas de *Agaricus* corresponden a cultivos comerciales de la especie *A. bisporus* (J.E. Lange) Imbach, conocido popularmente como champiñón, aunque recientemente se han incorporado cepas silvestres colectadas en diferentes entidades del país (Figura 3). Hasta hace relativamente poco tiempo se pensaba que el champiñón no existía en estado silvestre en México pero en investigaciones recientes se ha comprobado lo contrario (Mata *et al*. 2002, 2010, Morales *et al.* 2010). El género *Agaricus* en México ha sido muy poco estudiado, por lo que la bibliografía disponible sobre la sistemática y cultivo de especies silvestres es muy escasa (Gutiérrez Ruiz y Cifuentes 1990, Martínez-Carrera *et al*. 2001, Mata y Rodríguez Estrada 2005). El número de especies de *Agaricus* descritas en Europa es mayor de 130 (Daniel-Arranz 2000); sin embargo, el número total de especies conocidas a la fecha es difícil de estimar (Callac 2007). En virtud de que la diversidad biológica es alta en las zonas tropicales y subtropicales se puede pronosticar que el número de especies de *Agaricus* en estas regiones debe ser elevado. Recientemente se han descrito dos nuevas especies mexicanas, una perteneciente a la sección Xanthodermatei, *Agaricus tollocanensis* Callac & G. Mata (Callac y Mata 2004) y otra a la sección Duploannulati, *A. tlaxcalensis* Callac & G. Mata (Kerrigan *et al*. 2008). Otra importante especie del género es *A. subrufescens* Peck, un hongo comestible con propiedades medicinales y que probablemente se encuentre creciendo en zonas tropicales y subtropicales de México. Los ceparios nacionales deberán hacer un esfuerzo para resguardar el mayor número posible de especies de este importante género.



Figura 3. Cepa silvestre mexicana de *Agaricus bisporus* en cultivo experimental sobre compost.

Lentinula

De acuerdo a los resultados de la encuesta, sólo 6 ceparios mantienen cultivos de este género. En total se preservan 147 cepas, siendo las colecciones de INECOL, UNAM y COLPOS quienes resguardan la mayoría de las cultivos, con 46, 40 y 25, respectivamente. Las cepas corresponden principalmente a cultivos comerciales de la especie *L. edodes* (Berk.) Pegler (shiitake), aunque también se tienen algunos ejemplares de *L. boryana* (Berk. & Mont.) Pegler. Las cepas de shiitake representan un germoplasma muy valioso para la naciente industria que pretende cultivar esta importante especie en México, ya que algunas de ellas han mostrado características

adecuadas y buena adaptación a los sustratos disponibles en el país (Mata *et al*. 2012). Por otra parte, aunque menos numerosas, las cepas de *L. boryana*, especie conocida en México con los nombres populares de "hongo de encino", "cuerudo" y "hongo de palo" (Mata y Guzmán 1989) son un recurso genético de gran valor dada su similitud morfológica con el shiitake (Figura 4), sin embargo. *L. boryana* se ha cultivado únicamente de manera experimental (Salmones y Gutiérrez Lecuona 2008). En las regiones subtropicales y tropicales de América se han registrado tres especies del género *Lentinula*: *L. boryana*, *L guarapiensis* (Speg.) Pegler y *L. aciculospora* J.L. Mata & R.H. Petersen (Guzmán *et al*. 1997, Mata y Petersen 2000), pero desafortunadamente las dos últimas especies no se han registrado en México y aparentemente ningún cepario nacional resguarda cepas de las mismas.



Figura 4. Cepa silvestre mexicana de *Lentinula boryana* cultivada en paja de trigo.

Ganoderma

Las especies del género *Ganoderma*, en especial *G. lucidum* (Curtis) P. Karst. , son una importante fuente de materia prima para la elaboración de complementos alimenticios y bebidas funcionales, ya que sus propiedades terapéuticas están bien demostradas. Esta especie se cultiva de forma masiva en Asia, principalmente en China en donde se le conoce como Ling Zhi y en Japón en donde se le denomina Reishi (Chen 2004). Aunque varios ceparios en México han registrado cepas nacionales de *G. lucidum*, Torres Torres (2007) considera que dicha especie no crece silvestre en nuestro país. Sin embargo, varias especies filogenéticamente cercanas a *G. lucidum*, crecen de manera silvestre en México y sería interesante evaluar sus propiedades terapéuticas. En los ceparios nacionales se resguardan 95 cepas de *Ganoderma*, 71 de las cuáles se conservan en la colección de COLPOS, mientras que la colección de la UNAM mantiene 10 cepas. En este grupo es necesario realizar estudios taxonómicos básicos para determinar con precisión las especies a las que pertenecen dichas cepas (Figura 5).



Figura 5. Cepa comercial de *Ganoderma lucidum* cultivada en sustrato estéril a base de desechos de madera.

Otros géneros en resguardo y potencialmente cultivables

Además de los géneros de hongos anteriormente citados, las diversas colecciones encuestadas resguardan cepas de especies de hongos de interés particular para sus investigaciones. Las colecciones de COLPOS y la

UNAM preservan cultivos de *Ustilago maydis* (DC.)Corda (huitlacoche o cuitlacoche), hongo patógeno del maíz, pero que en nuestro país es un alimento muy apreciado y consumido desde los tiempos prehispánicos y cuyo cultivo comercial ha despertado gran interés en los últimos años (Castañeda de León *et al*. 2008). Las colección del INECOL y la UADY conservan cepas del género *Volvariella,* hongos comestibles tropicales que representan una potencial alternativa productiva para las regiones cálidas del país, especialmente para las zonas rurales, ya que la obtención de las fructificaciones requiere una baja inversión (Julián-Carlos y Salmones 2006). Complementan las colecciones algunas cepas de *Agrocybe aegerita* (V. Brig.) Singer*, Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray*, Hypsizygus marmoreus* (Peck) H.E. Bigelow*, Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill *, Lepista nuda* (Bull.) Cooke*, Morchella* spp., *Neolentinus suffrutesces* (Brot.) T.W. May & A.E. Wood*,* así como representantes de hongos micorrícicos adscritos a los géneros *Amanita, Boletus, Lactarius y Suillus*, entre otros. Además de las especies comestibles anteriormente citadas, tres ceparios citan el resguardo de material genético de *Trichoderma* spp., moho antagonista frecuentemente encontrado en los cultivos comerciales y principal causante de grandes pérdidas económicas en esta industria.

Germoplasma silvestre

Es indudable que las poblaciones silvestres de hongos representan el recurso biológico y genético más importante para el sector productivo de los hongos cultivados, ya que los individuos fisiológicamente adaptados a determinados sustratos y condiciones ambientales, proporcionan la variación genética necesaria para potencializar las características deseables para el sector comercial. De acuerdo a los datos obtenidos, existen 663 cepas silvestres de hongos silvestres en resguardo, tan sólo el cepario de COLPOS mantiene 280 cepas silvestres, lo que constituye 70% del total de su colección. Otros ceparios que tienen un número considerables de especímenes silvestres son: INECOL, con 143 cepas que representan 49% de la colección y ECOSUR con 91 (equivalente 20% del total de sus cultivos). Cabe destacar que los ceparios de las Universidades de Yucatán y el Estado de Morelos están constituidos principalmente por germoplasma silvestre, conservando 20 y 65 cepas silvestres, lo que representa 99 y 75% del total de sus colecciones. Otra característica importante de dichos ceparios es que sus colecciones son básicamente locales, por lo que el material resguardado adquiere enorme valor ecológico para la zona.

Vinculación con la industria

La encuesta mostró una limitada interacción entre los grupos académicos y el sector productivo mexicano. Si bien es cierto que los grupos académicos asociados a los bancos de germoplasma de hongos comestibles han impulsado distintas áreas de esta industria, los avances hasta ahora logrados distan mucho de ser los más deseables. Es necesario que dichos grupos académicos investiguen y ofrezcan soluciones a los problemas cotidianos de los productores y que éstos a su vez, se comprometan a apoyar y financiar parte de la investigación.

Con toda certeza este importante sector de la economía mexicana seguirá creciendo, ya que el mercado no está saturado en ninguna de las especies comestibles. Por el contrario existen especies con una amplia demanda para el consumo nacional e inclusive para la exportación a Estados Unidos, Europa y América Central, principalmente. Por otra parte, México debe seguir promoviendo el cultivo de hongos a pequeña escala con el objetivo de atender mercados locales y de autoconsumo. El apoyo que brinden los ceparios nacionales, será fundamental para continuar con el desarrollo de este sector.

Consideraciones finales

Los ceparios son herramientas fundamentales para el desarrollo de las investigaciones que actualmente se realizan en el área de cultivo de hongos comestibles en nuestro país. Las colecciones existentes están dedicadas

al mantenimiento de los micelios y al resguardo de la información relacionada con estudios de caracterización de las cepas; sin embargo, no proporcionan servicios de depósito, identificación o autenticidad de las cepas. Algunos ceparios cuentan con mayor infraestructura y han logrado apoyos económicos que les permiten continuidad a mediano plazo, sin embargo la mayoría no tienen estas características, por lo que su permanencia es incierta. El sistema de conservación es muy variable, desde sistema a corto plazo, como la resiembra en medios de cultivo y/o agua, hasta métodos de largo plazo, como la criogenización. Por otra parte, muchas colecciones no cuentan con personal técnico especializado permanentemente adscrito a la colección.

Desde su fundación, la mayoría de los ceparios nacionales han pretendido impulsar la industria del cultivo de hongos comestibles en México, a través del aislamiento y selección de material genético con características deseables para su cultivo comercial, sin que hasta la fecha se haya podido satisfacer completamente esta inquietud del sector productivo.

Según los reportes disponibles a la fecha, alrededor de 233 cepas de *Pleurotus* han sido evaluadas en el país (Sánchez-Vázquez *et al.* 2007). Si se considera que el número de cepas almacenadas en los ocho ceparios encuestados superan las 900 cepas, y que además es factible que debido a las políticas internas una cepa puede tener más de una clave de identificación, por lo que varias evaluaciones realizadas de manera independiente podrían corresponder a la misma cepa, entonces los estudios de caracterización no superarían 20% del total almacenado, lo que indica que la diversificación de cepas en uso está muy limitada. Por lo anterior, es importante que los diferentes centros de investigación nacionales dedicados al cultivo de hongos comestibles continúen sus esfuerzos en esta temática, pero también es importante que el sector productivo se interese y aproveche este importante recurso genético con que cuenta el país.

Por otra parte, el origen de las cepas utilizadas para la producción de semilla es poco conocido. Considerando que la productividad del cultivador depende en gran parte de la disponibilidad de semilla de calidad, sería deseable que las empresas/instituciones responsables de la producción del inóculo tuvieran disponible información muy precisa sobre la identificación taxonómica y origen geográfico del germoplasma en propagación. En este sentido el resguardo de los ejemplares de los que se aíslan las cepas en herbarios acreditados y especializados, es fundamental, desafortunadamente no todas las cepas cuentan con dicho respaldo.

Es indudable que las poblaciones silvestres de hongos representan el recurso biológico y genético más importante para el sector productivo de los hongos cultivados, ya que los individuos fisiológicamente adaptados a determinados sustratos y condiciones ambientales, proporcionan la variación genética necesaria para potencializar las características deseables para el sector comercial. Sin embargo, pocas instancias gubernamentales han mostrado interés en apoyar de manera regular y organizada la investigación en el conocimiento, conservación, manejo y aplicación de los hongos como un recurso genético. Sería adecuado evitar el estudio del germoplasma silvestre de una forma aislada y desintegrada, y en cambio, favorecer labores de recopilación, revisión, análisis e integración de los diferentes aspectos que se trabajan en relación a los hongos comestibles en México, que permitan establecer un panorama real y objetivo sobre las fortalezas, problemática, necesidades y prioridades actuales y sobretodo revalorar este importante recurso genético por parte de la comunidad científica, así como por las dependencias gubernamentales responsables de asignar los recursos económicos.

En consecuencia, si se considera el papel fundamental que los hongos desempeñan en los ecosistemas y el potencial económico que representan, entonces la búsqueda de estrategias de manejo sustentable de este recurso natural adquiere gran relevancia y se convierte en una urgencia la necesidad de conservar adecuadamente el germoplasma silvestre. Esta tarea sólo podrá alcanzarse a través de un esfuerzo interdisciplinario e interinstitucional, ya que debido a los altos costos de mantenimiento, requerimientos de equipo y recursos humanos especializados, el resguardo de la enorme riqueza fúngica del país representa un enorme reto.

REFERENCIAS

Burdsall HH, Dorworth EB (1994) Preserving cultures of wood decaying Basidiomycotina using sterile distilled water in cryovial. *Mycologia* 86: 275-280.

Callac P (2007) El género *Agaricus*. En: Sánchez JE, Royse DJ, Leal Lara H (eds.) *Cultivo, Mercadotecnia e inocuidad alimenticia de Agaricus bisporus.* ECOSUR, Tapachula, p. 19-36.

Callac P, Mata G (2004) *Agaricus tollocanensis*, une nouvelle espèce de la section *Xanthodermatei* trouvée au Mexique. *Documents Mycologiques* 132: 31-35.

Camacho Sánchez M (2010) Estudio taxonómico del complejo de *Pleurotus, Lentinus* y *Panus* en México. Tesis de Maestría, Instituto de Ecología, AC, Xalapa,

Castañeda de León VT, Pataky JK, Leal-Lara H (2008) Susceptibility to infection of different varieties of corn hybrids with *Ustilago maydis* under conditions of commercial production of "cuitlacoche" for food purposes in México. 4th International *Ustilago* Conference, august 20-24 Rauischholzhausen.

Chen AW (2004) Growing *Ganoderma* mushrooms. En: *Oyster mushroom cultivation.* Mushroom growers' handbook 1. MushWorld, Seoul, p. 236-247.

Daniel-Arranz J (2000) Setas de Madrid y alrededores 3. *Agaricus* L.: Fr. Sociedad Micológica de Madrid, Madrid, 156 p.

Gutiérrez–Ruiz J, Cifuentes J (1990) Contribución al conocimiento del género *Agaricus* en México. *Rev. Mex. Mic*. 6: 155–177.

Guzmán G (1998) Análisis cualitativo y cuantitativo de la diversidad de los hongos en México. En: Halffter G (comp.) *La diversidad biológica de Iberoamérica, II*. Instituto de Ecología, Xalapa, p. 111-175.

Guzmán G (2000) Genus *Pleurotus.* Diversity, taxonomic problems, and cultural and traditional medicinal uses*. Int. J. Med. Mush.* 2: 95-123.

Guzmán G, Mata G, Salmones D, Soto-Velazco C, Guzman-Dávalos L (1993) *El cultivo de los hongos comestibles. Con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales*. Instituto Politécnico Nacional, Mexico, D.F. 245 p.

Guzmán G, Salmones D, Tapia F (1997) *Lentinula boryana*: morphological variations, taxonomic position, distribution and relationships with *Lentinula edodes* and related species. *Rept. Tottori Mycol. Inst.* 35: 1-28.

Julián Carlos A, Salmones D (2006) Cultivo de *Volvariella volvacea* en residuos de la cosecha de plátano y paja de cebada. *Rev. Mex. Mic.* 23: 87-92.

Hawksworth DL (2001) The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycol. Res.* 105: 1422-1432.

Huerta G, Martínez-Carrera D, Sánchez JE, Leal-Lara, Vilgalys R (2010) Genetic relationships between mexican species of *Pleurotus* analyzing the its-region from rRDNA. *Micol. Apl. Int.* 22(1): 15-25.

Kerrigan RW, Callac P, Parra LA (2008) New and rare taxa in *Agaricus* section Bivelares (Duploannulati). *Mycologia* 100: 876-892.

Martínez-Carrera D, Bonilla M, Martínez W, Sobal M, Aguilar A, Pellicer-González E (2001) Characterisation and cultivation of wild *Agaricus* species from Mexico. *Micol. Apl. Int.* 13: 9-24.

Mata G, Guzmán G (1989) Hibridación entre una cepa mexicana de *Lentinus boryanus* y una asiática de *Lentinus edodes*. *Rev. Mex. Mic*. 5: 77-80.

Mata G, Pérez-Merlo R (2003) Spawn viability in edible mushrooms after freezing in liquid nitrogen without a cryoprotectant. *Criobiology* 47: 14-20.

Mata G, Rodríguez Estrada AE (2005) Viability in spawn stocks of the white button mushroom, *Agaricus bisporus*, after freezing in liquid nitrogen with a cryoprotectant. *J. Agric. Tech*. 1: 153-162.

Mata G, Rodríguez A, Callac P (2002) Aislamiento, cultivo y evaluación de una cepa mexicana silvestre de champiñón *Agaricus bisporus*, y su comparación con cepas comerciales. En: Guzmán G, Mata G (eds.) *Nanacatepec, Estudios sobre los hongos Latinoamericanos.* Universidad Veracruzana, Xalapa, p. 500.

Mata G, Salmones D, Gaitán-Hernández R (2004) Spawn viability and mushroom production in *Pleurotus* strains frozen for eight years in liquid nitrogen. *Mush. Sci.* 16: 185-191.

Mata G, Gaitán Hernández R, Salmones D (2007) Hongos comestibles en México, una industria en crecimiento. En*:* Zulueta R, Trejo Aguilar D, Trigos Landa A (eds.). *El Maravilloso Mundo de los hongos.* Universidad Veracruzana, Xalapa, p. 39-48.

Mata G, Salmones D, Gaitán Hernández R (2010) Basic and applied research on mushroom cultivation at the Institute of Ecology, Xalapa, Mexico. En: Martínez-Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora, VM (eds) *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Lati-*

noamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI. Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNS-CONACYT-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla, p. 31-44.

Mata G, Gaitán Hernández R, Salmones D (2012) El cultivo de hongos en México: una industria con posibilidades de diversificación. En: Sánchez, JE, Mata G (eds.) *El cultivo de hongos comestibles y medicinales en Iberoamérica: investigación y desarrollo en un entorno multicultural*. ECOSUR-INECOL, Tapachula. 281-294.

Mata JL, Petersen RH (2000) A new species of *Lentinula* (Agaricales) of Central America. *Mycoscience* 41: 351-355.

Morales P, Sobal M, Bonilla Martínez W, Ramírez-Carrasco P, Tello I, Spezzia T, Lira N, De Lima R, Villa S, Montiel E, Martínez-Carrera D (2010) Los hongos comestibles y medicinales en México: recursos genéticos, biotecnología, y desarrollo del sistema de producción consumo. En: Martínez-Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora, VM (eds) *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI.* Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNS-CONACYT-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla, p. 91-108.

Ryan MJ, Smith D (2004) Fungal genetic resource centres and the genomic challenge. *Mycol. Res.* 108(12): 1351-1362.

Salmones D, Gutiérrez Lecuona MT (2008) Cultivation of Mexican *Lentinus boryanus* (Berk. et Mont.)Sing. (Agaricomycetidae) strains on alternative substrates *Intern. J. Med. Mush.*10 (1): 73-78.

Sánchez Vázquez JE, Martínez Carrera D, Mata G, Leal Lara H, eds. (2007) *El cultivo de setas Pleurotus spp. en México.* El Colegio de la Frontera Sur, Tapachula, p. 227.

Smith D, Onions AHS (1994) *The preservation and maintenance of living fungi*, 2nd. Edition. CAB International, Wallingford, 132 p.

Torres Torres MG (2007) Sistemática de *Ganoderma* (Fungi, Basidiomycota, Ganodermatales): aspectos morfológicos, moleculares y químicos. Tesis de Doctorado. Universidad de Guadalajara, 205 p

2.3 MÉTODO DE CONSERVACIÓN ACUOSA DEL MICELIO DE HONGOS

Janette López Alcalá, José María Adolfo Barba Chávez, Ángel Eduardo Márquez Ortega, María Cristina Sánchez Gómez y Javier Isidoro López-Cruz

Laboratorio de Biotecnología de Hongos Comestibles, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina C.P. 09340, Iztapalapa México D.F.
<jilc@xanum.uam.mx>

RESUMEN

Para la industria del cultivo de los hongos comestibles, es indispensable implementar el almacenamiento de cepas de interés. Debido a ello, se han desarrollado diversos métodos de preservación, con el fin de conservar las propiedades morfológicas y fisiológicas del micelio, como nitrógeno líquido, soluciones de preservación como el dimetil sulfóxido (DMSO), mezclas orgánicas (etanol, formaldehido, ácido acético), congelación y ultracongelación, que son los más adecuados. Sin embargo, estos procesos deben manejarse cuidadosamente para que el micelio sea congelado y recuperado con éxito, sin que se formen cristales de hielo o se cause un daño celular, además de que la mayoría de estos procedimientos son costosos. Por ello, se investigó el efecto de la conservación del micelio de cepas de *Pleurotus* spp., *Trametes* sp. y de la familia Lycoperdaceae, en un soporte de papel filtro en condiciones acuosas estériles y a diferentes tiempos de almacenamiento. Para evaluar el efecto de la conservación, se cuantificó la velocidad de crecimiento micelial diametral (μ) sobre caja de Petri con agar extracto de malta y medio Kirk a uno y cinco meses. La velocidad μ, fue afectada favorablemente y con mayor notoriedad en la cepa de *Trametes* sp., contrastando en las cepas de *Pleurotus* y Lycoperdaceae*,* donde μ no fue afectada a cinco meses de almacenamiento. Esto hace que sea un método de conservación atractivo.

Palabras claves: agua, papel filtro, almacenamiento, *Pleurotus* spp*., Trametes* sp*,* Lycoperdaceae.

INTRODUCCIÓN

Los hongos comestibles se han usado de manera importante en los procesos biotecnológicos, como productores de metabolitos secundarios de interés. Siendo un producto alimenticio, sus aplicaciones se han extendido a las áreas cosmética, terapéutica, etc (Raimbault 1998). En el área industrial y de investigación, son importantes las fuentes fúngicas en todo momento. Por lo anterior, es primordial la biodisponibilidad a través de un almacén y un método efectivo de conservación biológico para la elaboración de inóculo, así mismo se debe hacer énfasis en que estos métodos deben mantener la estabilidad genética (Bueno y Gallardo 1998). Por ello, es necesario desarrollar diversos métodos de conservación a corto y largo plazo.

Los métodos de conservación más utilizados son la liofilización y los métodos criogénicos como el nitrógeno líquido, la congelación y la ultracongelación (Lara Herrera *et al*. 1998 a, b), ya que detienen el crecimiento celular y garantizan la estabilidad genética conservando las características genotípicas y fenotípicas del micelio (Voyron *et al*. 2009). Otros métodos usan soluciones de preservación, como el dimetil sulfóxido (DMSO), mezclas orgánicas (etanol-formaldehído-ácido acético), aceite mineral (Panizo *et al*. 2005), polietilenglicol, agua (Hartung de Capriles *et al*. 1989) y diversos aditivos (Hubálek 2003). El manejo cuidadoso de los métodos criogénicos evita la formación de cristales en el micelio y previene el daño celular considerable e irreversible (Mata y Salmones 2005).

Por lo anterior, se investigó el efecto de la conservación acuosa, con el fin de diseñar un método sencillo,

económico, seguro y capaz de garantizar la integridad y crecimiento del micelio por periodos prolongados, que evite el daño micelial a través de un soporte de papel filtro sumergido en agua. Este proceso fue aplicado a cepas de hongos como: *Pleurotus* spp., *Trametes* sp. y de la familia Lycoperdaceae.

El efecto sobre el crecimiento fue determinado por la medición del diámetro (μ) del micelio en caja Petri, evaluando el efecto de almacenaje por la estimación de la velocidad de crecimiento micelial adaptando los resultados a través de la ecuación logística de crecimiento (Ecuación 1).

$$X = \frac{K}{\left(1 + \left(\frac{K - X_0}{X_0}\right) * e^{-\mu t}\right)}$$

Ecuación 1.

Donde:
X_0 = Invasión diametral inicial al día de inoculación (cm)
X = Invasión diametral calculada con el modelo matemático (cm)
K = Diámetro máximo al último día de incubación (cm)
μ = Velocidad especifica de crecimiento (d-1)
t = tiempo de crecimiento (d)

MATERIALES Y MÉTODOS

Adaptación: Se prepararon cajas de Petri con agar extracto de malta (EMA, 33.6 g/L), que fueron inoculadas en condiciones asépticas con micelio de hongos: seis cepas de *Pleurotus* spp. (BJZ832, BZ497, BSHA, BJZMAXLL638, R904 y BC905), diez cepas de especies de la familia Lycoperdaceae (Lyc6, Lyc7, Lyc9, Lyc10, Lyc12, Lyc13, Lyc14, Lyc16, Lyc17 y Lyc18) y una cepa silvestre de *Trametes* sp. Cada cepa se inoculó por triplicado. Las cepas de *Pleurotus* spp. fueron incubadas por 21 días a temperatura ambiente, mientras que las Lycoperdaceae y *Trametes* sp. se mantuvieron a 30ºC por 30 y 15 días, respectivamente. Para el proceso de adaptación se colocó el inoculo micelial en el centro de cada caja con EMA, adecuándose lateralmente dos tiras de papel filtro estéril. El micelio fue incubado a las mismas condiciones detalladas anteriormente. A continuación, el papel filtro invadido fue retirado para su almacenamiento.

Almacenamiento: Las tiras de papel filtro invadidas con micelio se trasladaron a viales con 3ml de agua desionizada estéril. Los viales fueron incubados a uno y cinco meses. Las cepas de *Pleurotus* a temperatura ambiente, mientras las cepas de Lycoperdaceae y *Trametes* sp. a 30ºC.

Medición de la velocidad de crecimiento micelial diametral (μ): De cada vial se extrajo, un cuadro de papel filtro que fue colocado al centro de las cajas de Petri con EMA complementado con medio Kirk. (Tabla 1).

Las cajas fueron reincubadas por triplicado a las temperaturas adecuadas. La medición del diámetro del micelio de las cepas de *Pleurotus* spp., fue realizado cada 3 días durante 18 días; para las cepas de Lycoperdaceae en lapsos de 7 días por 28 días y en *Trametes* sp. las mediciones cada 3 días, en un tiempo de 14 días. La velocidad de crecimiento, fue modelada por la ecuación logística de crecimiento tipo Okasaky (Ecuación 1) (Quintero 1990), resuelto por el método de aproximación matemática de solver (Excel 2003). Antes y después del almacenamiento se efectuaron preparaciones microscópicas, teñidas con o- toluidina (Datos no reportados) (Sánchez y Moore 1999).

Tabla 1. Formulación del medio líquido Kirk

Macroelementos (1 L)			Elementos traza (1 L)	
Compuesto	Cantidad (g)		Compuesto	Cantidad (g)
Glucosa	40.00		Ácido nitriloacético	1.50
$MgSO_4*7H_2O$	0.50		NaCl	1.00
$CaCl_2$	0.10		$MnSO_4*H_2O$	0.50
KH_2PO_4	2.00		$FeSO_4*7H_2O$	0.10
Elementos traza	10.00 mL		$ZnSO_4*7H_2O$	0.10
			$CuSO_4*5H_2O$	0.01

(Márquez-Ortega 2006)

Para establecer si hubo efecto del almacenamiento a un mes y a cinco meses sobre la velocidad μ promedio, se empleó la prueba estadística de Tukey con α=0.05.

Por otro lado se calculo la viabilidad porcentual de dichas cepas, usando las velocidades de crecimiento micelial VB (viabilidad porcentual)=100- [μ (1 mes)/μ (5 meses) x 100] (representa la aumento de la velocidad)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta investigación se utilizo el micelio de distintos de hongos, caracterizados por su velocidad de crecimiento, con el fin de observar el efecto del almacenamiento del micelio sobre un soporte inerte de papel filtro. Para ello se usó como ambiente de conservación, viales con en agua estéril (Figura 1). Las cepas de Lycoperdaceae se caracterizaron por periodos largos de invasión micelial en caja de Petri (Hernández-Jiménez *et al*. 2008), difiriendo para las cepas de *Pleurotus* spp. y *Trametes* sp., que poseen periodos de invasión cortos (Márquez-Ortega 2006). Los resultados del crecimiento en este estudio, muestran una variabilidad de acuerdo al diámetro de invasión miceliar de cada hongo (Figuras 2 a 4). El comportamiento de la invasión es alcanzando una etapa estacionaria aparente en 12 días para las variedades de *Pleurotus* spp. (Figura 2), a 24 días de invasión en Lycoperdaceae (Figura 3) y a los ocho días de crecimiento en la cepa de *Trametes* sp. (Figura 4). Esta etapa estacionaria aparente, es debida a que se alcanzó el diámetro total de la caja. (Gow y Gadd 1995, Labarére 2002, Trinci 1971, Wilkinson y Royse 2002).

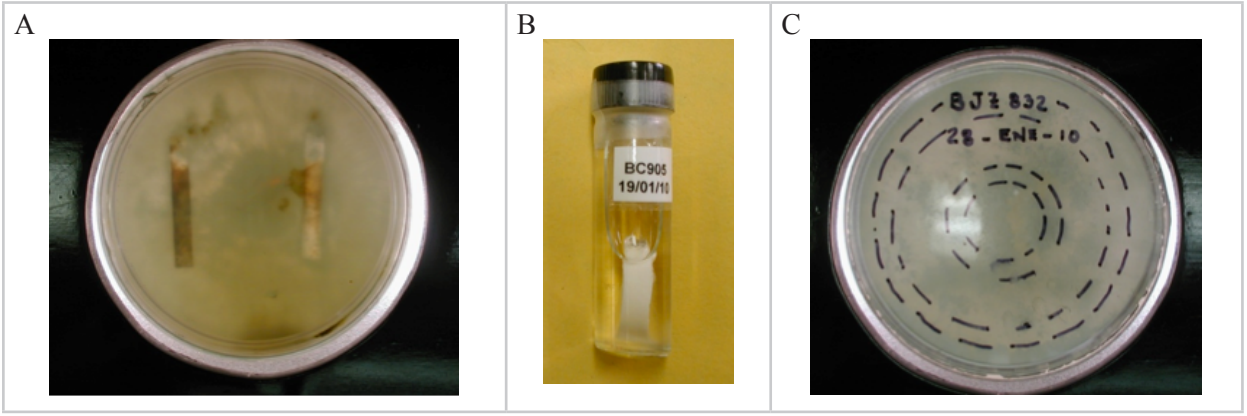


Figura 1. A) Crecimiento micelial en caja de Petri con agar. Se observa el crecimiento sobre las tiras de papel filtro estéril. B) Viales con agua estéril, usando como vehículo de almacenamiento micelial las tiras de papel filtro invadidas. C) Medición de la invasión diametral micelial en caja de Petri.

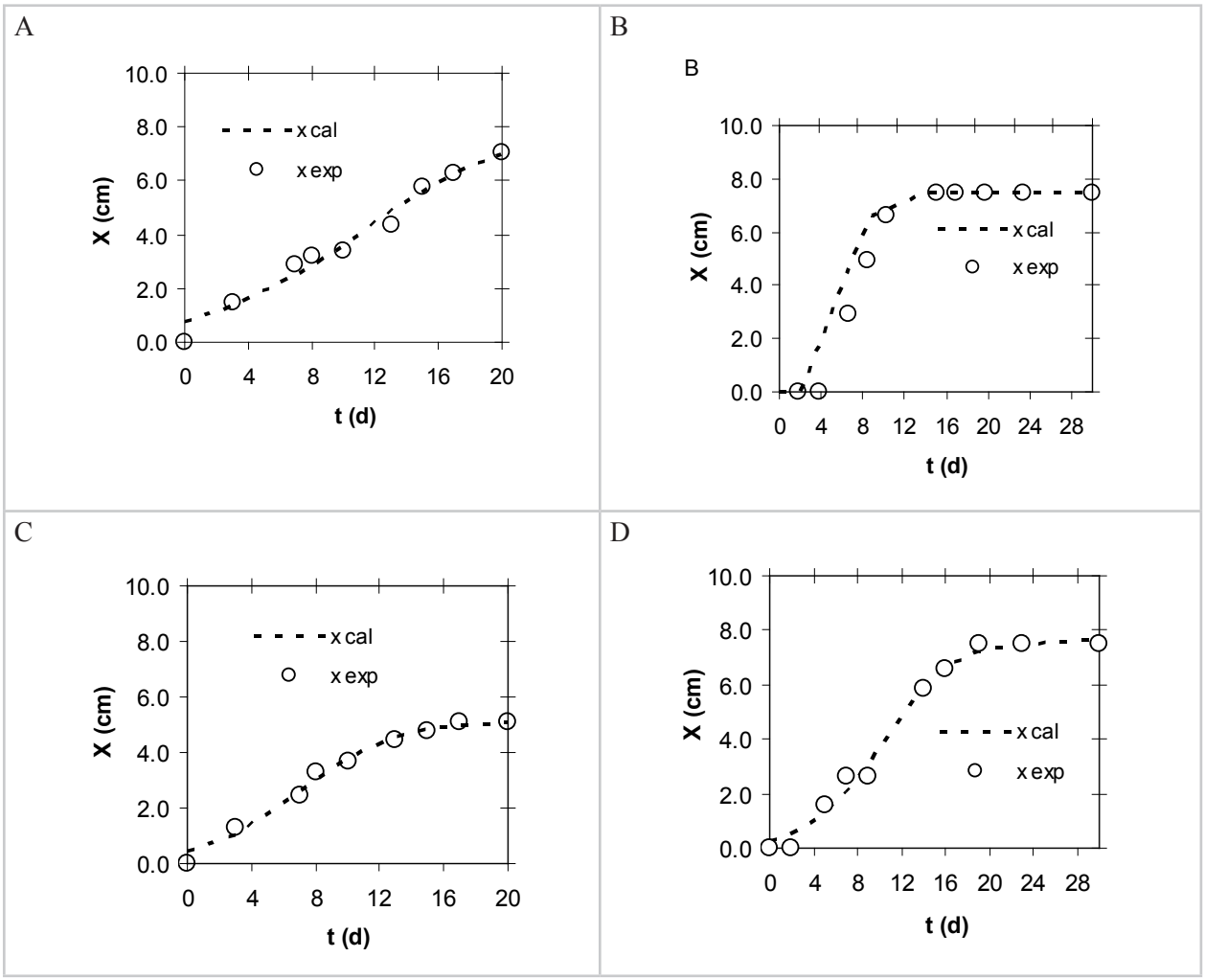


Figura 2. Diámetro de invasión de la cepa de *Pleurotus* sp. R904 en EMA complementado con medio Kirk, temperatura ambiente y pH 5.0. A) a un mes de almacenamiento B) a 5 meses de almacenamiento, y de la cepa de *Pleurotus* sp. BC905. C) a un mes y D) 5 meses de almacenamiento en papel filtro en agua destilada.

El efecto global del crecimiento fue adjudicado a la estimación de la velocidad μ promedio, donde los datos experimentales de invasión diametral micelial en caja de Petri, fueron parametrizados usando la ecuación 1. Los resultados totales para la velocidad m promedio en las cepas cultivadas se muestran en la Tabla 2.

El análisis estadístico mostró que no existen diferencias significativas en la velocidad de crecimiento del micelio de la mayoría de las cepas estudiadas, con tratamientos a un mes y cinco meses de almacenamiento en tiras de papel filtro sumergido en agua estéril. Concerniente al efecto sobre el almacenamiento, R904 y Lyc13 aumentaron su velocidad m aproximadamente 70%, mientras que en la cepa *Trametes* sp. disminuyó 4 veces su velocidad (Tabla 3). No se exhibieron efectos del almacenamiento sobre la viabilidad de las cepas, con el método de conservación micelial en papel filtro, en la mayoría de las cepas hubo 100% de regeneración.

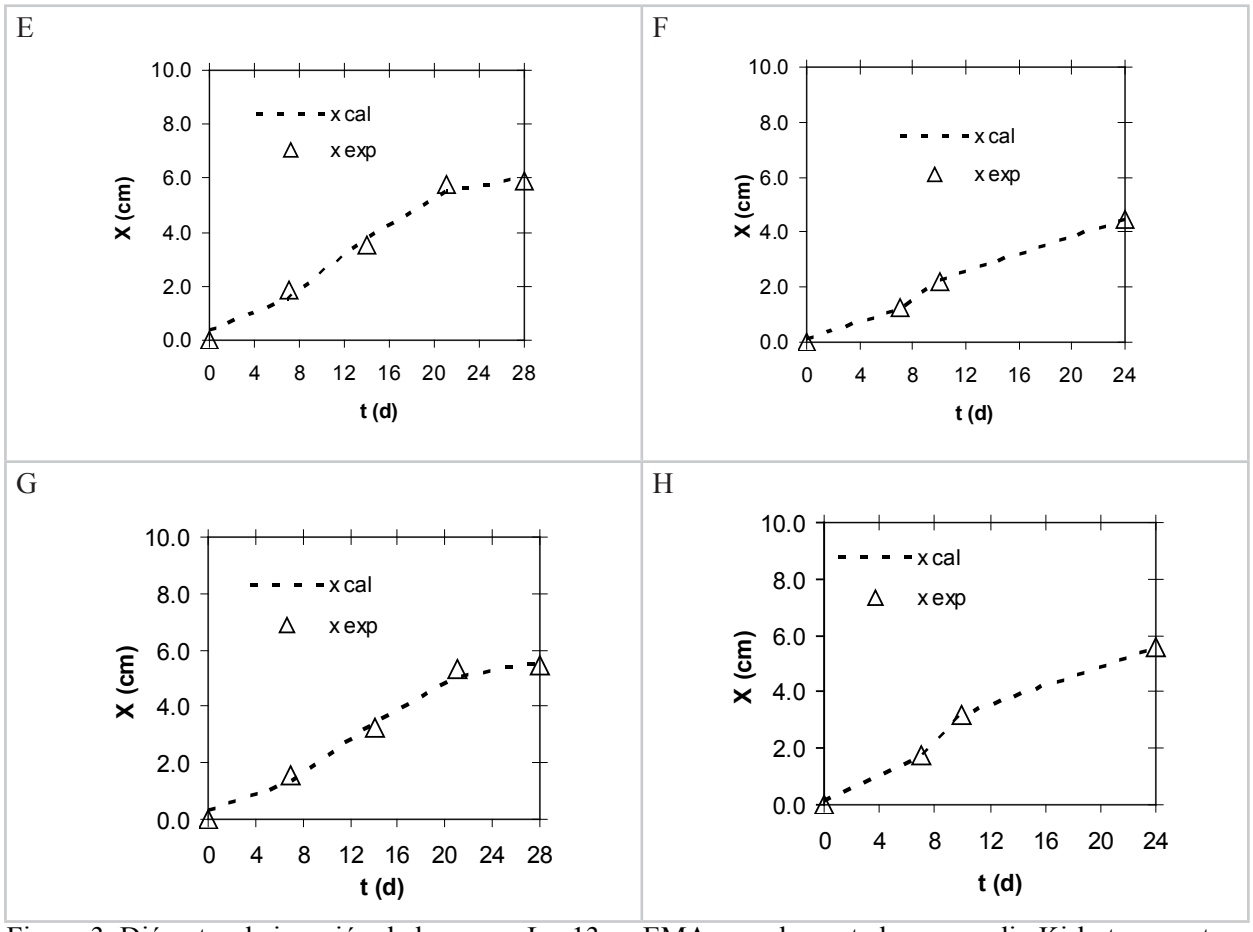


Figura 3. Diámetro de invasión de las cepas Lyc13 en EMA complementado con medio Kirk, temperatura ambiente a pH 5.0. E) a un mes de almacenamiento F) a 5 meses de almacenamiento y de la cepa Lyc14. G) a un mes y H) 5 meses de almacenamiento en papel filtro en agua destilada.

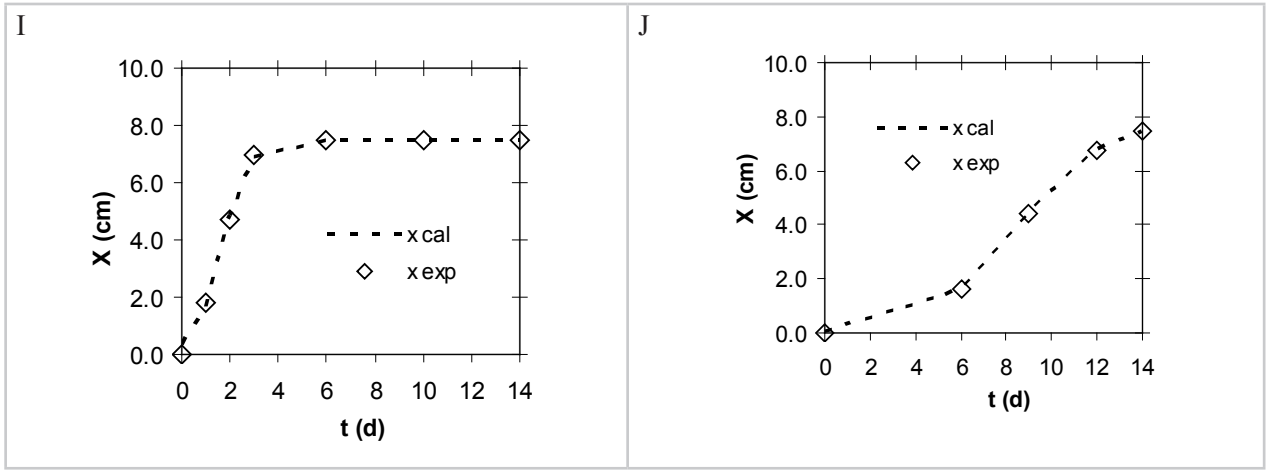


Figura 4. Diámetro de invasión de la cepa de *Trametes* sp. en EMA complementado con medio Kirk, temperatura ambiente a pH 5.0. I) a un mes de almacenamiento J) a 5 meses de meses de almacenamiento en papel filtro sumergido en agua destilada.

Tabla 2. Velocidad de crecimiento diametral promedio (μ)[a] (d^{-1})

	Cepa	$\mu_{1\ mes}$	σ^2 [b]	$\mu_{5\ mes}$	σ^2 [b]		Cepa	$\mu_{1\ mes}$	σ^2 [b]	$\mu_{5\ mes}$	σ^2 [b]
Lycoperdaceae	Lyc6	0.19	1.50	0.33	1.30	*Pleurotus*	BJZ832	0.25	1.30	0.49	1.70
	Lyc7	0.34	1.10	0.49	1.40		BZ497	0.37	2.80	0.55	58.00
	Lyc9	0.13	1.50	0.39	2.60		BSHA	0.32	3.50	0.60	20.00
	Lyc10	0.21	5.00	0.32	0.01		BC905	0.26	6.00	0.31	1.60
	Lyc12	0.23	1.40	0.47	0.01		BJZMAXLL638	0.44	6.10	0.47	9.40
	Lyc13	0.23	0.03	0.80	4.10		R904	0.20	8.80	0.74	16.00
	Lyc14	0.24	0.61	0.37	4.00						
	Lyc16	0.31	4.20	0.37	6.80						
	Lyc17	0.17	1.60	0.31	2.40		*Trametes*	1.95	8.80	0.53	4.10
	Lyc18	0.31	2.20	0.55	5.50						

[a] Media de tres repeticiones, se uso la prueba de Tukey, α=0.05. Para las cepas de *Pleurotus* spp. (P>9.5x10-4), Lycoperdaceae spp (P>6.9x10-2) y para *Trametes* sp. (P>1.1x10-5). b Desviación estándar σ x 10-5

Tabla 3. Comparación de la viabilidad (VB) porcentual de diversas cepas con diferentes métodos de conservación

	Cepa	VB (%)
Pleurotus spp.	BJZ832	48.97
	BZ497	32.78
	BSHA	46.66
	BJZMAXLL638	6.38
	R904	72.97
	BC905	16.12
Lycoperdaceae spp.	Lyc6	42.42
	Lyc7	30.61
	Lyc9	66.66
	Lyc10	34.37
	Lyc12	51.06
	Lyc13	71.25
	Lyc14	35.13
	Lyc16	16.21
	Lyc17	45.16
	Lyc18	43.63
	Trametes sp	267.92[a]

VB. Viabilidad porcentual. Excepto en *Trametes* sp. disminuyó la velocidad

CONCLUSIÓN

El método de almacenamiento en agua estéril, ha sido un método modestamente utilizado, comparado con otros métodos como las técnicas criogénicas, de liofilización, soluciones de preservación etc, debido al acelerado avance tecnológico actual, ya que aseguran la supervivencia de los inóculos y cultivos. Aunque las ventajas tanto económicas, sencillez y seguridad, hacen al método de conservación en agua, más atractivo y que

actualmente atesora cierta atención. En esta investigación se utilizó una variante al método de conservación en agua establecido por Castellani (1939), Urdaneta y Lacaz (1965) y modificado por Bueno y Gallardo (1998). La invasión micelial en un soporte de papel filtro estéril sumergido en agua, proporciona una mayor estabilidad, integridad y protección, ya que impide al micelio modificar considerablemente su estructura en solución (estructura micelial rígida) y permite que el área de contacto entre la interfase micelio-papel-agua sea mayor, permitiendo humectar el micelio. El almacenamiento se realizó a temperatura ambiente para las cepas de *Pleurotus* y a 30ºC para las cepas de *Trametes* y Lycoperdaceae, esto reduce los costos por conservación a temperatura baja a largo plazo, por ejemplo ultra congelación o nitrógeno líquido.

El método de conservación utilizado, no afecta la velocidad de crecimiento diametral (μ). A través del microscopio no se observaron cambios visibles en la morfología (datos no reportados), que en el campo microbiológico y de producción fúngica es requisito prioritario, si se desea obtener cepas o poseer colecciones almacenadas. El efecto sobre la velocidad μ se ve afectado, desfavorablemente a 5 meses, si la especie de hongo es de crecimiento rápido como en *Trametes* sp, donde los periodos de invasión total en caja no exceden los 10 días (Márquez-Ortega 2006). La temperatura óptima de crecimiento de las cepas es otro factor que modifica la reproducibilidad micelial; esto porque las muestras biológicas que provienen de conservación a baja temperatura comprometen un paso previo de adaptación, antes de ser reproducidas. El método investigado es barato, sencillo de realizar y atractivo para muestras biodisponibles en cualquier momento. La perspectiva será investigar el efecto a un plazo prolongado, que será prometedoramente favorable.

REFERENCIAS

Bueno L, Gallardo R (1998) Preservación de hongos filamentosos en agua destilada estéril. *Rev. Iberoam. Micol*. 15:166-168.

Castellani A (1939) Viability of some pathogenic fungi in distilled water. *J. Trop. Med. & Hyg*. 42: 225-226.

Gow NAR, GM Gadd (1995) *The growing fungi*. Chapman and Hall.

Hartung de Capriles C, Mata S, Middelveen M (1989) Preservation of fungi in water (Castellani): 20 years. *Mycopathologia*. 106 (2): 73-79.

Hernández-Jiménez G, Barba CJM, López-Cruz JI (2008) Estimación de la velocidad de crecimiento micelial y determinación del rendimiento enzimático en ocho cepas de Lycoperdales crecidas en medio líquido. Tesis. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México D.F.

Hubálek Z (2003) Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. *Cryobiology*. 46 (3): 205-229.

Labarère J (2002) La conservación y uso de los recursos genéticos de *Pleurotus* spp. En: Sánchez JE y Royse DJ (eds) *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* Ecosur-Uteha. 83-123.

Lara-Herrera I, Mata MG, Gaitán-Hernández R (1998 a) Evaluación de efecto de la criopreservación de cepas de *Pleurotus* spp. sobre la producción de carpóforos. *Rev. Iberoam. Micol*. 15: 44-47.

Lara-Herrera I, Mata MG, Gaitán-Hernández R (1998 b) Evaluation of the viability of *Pleurotus* spp. Strains after liquid nitrogen cryopreservation. *Revista de Microbiología.* 29 (3): 193-196.

Márquez-Ortega AE (2006) Estudios para la obtención de una lacasa termoestable por el hongo *Trametes* sp. EUM1. Tesis Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México D.F.

Mata G, Salmones D (2005) Preservation of shiitake spawn stocks by cryogenic storage. En: *Shiitake Cultivation Mushroom* Growers handbook 2. MushWorld, Seoul. Pp 51-55.

Panizo MM, Reviákina V, Montes W, González G (2005) Mantenimiento y preservación de hongos en agua destilada y aceite mineral. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* 25(1): 1-9.

Quintero R (1990) *Ingeniería Bioquímica: Teoría y Aplicaciones*. 2° (eds). Alhambra Mexicana. Cap3.

Raimabault M (1998) General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *J. Biotechnol*. 3(1): 174-188.

Sánchez C, Moore D (1999) Conventional histological strains selectively stain fruit body initials of basidiomycetes. *Micol. Res*. 103 (3): 315-318.

Trinci APJ (1971) Influence of the width of peripheral growth zone on the radial growth rate of fungal colonies on solid media. *J. Gen. Microbiol*. 67:325-344.

Urdaneta MS, Lacaz CS (1965) Preservation of fungi in distilled water preliminary results. *Rev. Inst. Med. Trop. Sâo Paulo*. 7(1): 24-26.

Voyron S, Roussel S, Munaut F, Varese GC, Ginepro M, Declerck S, Filipello MV (2009) Vitality and genetic fidelity of white-rot fungi mycelia follow different methods of preservation. *Mycol. Res*. 113 (10): 1027-1038.

Wilkinson V, Royse DJ (2002) Una revisión de técnicas de mantenimiento de cepas, con énfasis en las que se adaptan a *Pleurotus* spp. En: Sánchez JE y Royse DJ (eds) *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* Ecosur-Uteha. 125-139.

2.4 COMPARACION FILOGENÉTICA DE DOS CEPAS DE *CALVATIA PACHYDERMA* (LYCOPERDACEAE)

María Cristina Sánchez Gómez, José María Adolfo Barba Chávez, Javier Isidoro López Cruz y Ángel Eduardo Márquez Ortega

Laboratorio de Biotecnología de Hongos Comestibles
Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.
Av. San Rafael Atlixco No.186, Col. Vicentina C.P.09340 Del. Iztapalapa México D.F.
jilc@xanum.uam.mx

RESUMEN

Los hongos comestibles de la familia Lycoperdaceae, son comunes en pastizales; crecen en la madera abandonada y en zonas boscosas; algunos de ellos sintetizan compuestos de interés terapéutico (antitumoral). Pese al alto interés de los compuestos extraídos de este grupo, la clasificación taxonómica por medio del análisis morfológico, no ha establecido criterios consistentes para su clasificación. Sin embargo, el análisis de ADN, fundamentado en regiones específicas y conservadas (ITS 1 / ITS 2), ha permitido la delimitación de especies en esta familia. Por lo anterior, se planteó la comparación de secuencias mediante la amplificación de fragmentos de ADN extraído en cepas de Lycoperdaceae, procedentes de la región de Xicoténcatl, Tlaxcala, utilizando como cebadores ITS 4 e ITS 5, para la amplificación de las regiones ITS 1 e ITS 2. La temperatura de hibridación óptima de PCR fue de 54°C, obteniéndose así fragmentos de 719 y 734 pb para las cepas Lyc 5 y Lyc 9, respectivamente. El análisis de secuencias mostró que Lyc 9 tiene una identidad de 99% con respecto a *Calvatia pachyderma* Locus EU833653, siendo así la cepa que presentó mayor homología con especies incluidas en la base de datos.

Palabras clave: hongos comestibles, identificación taxonómica, ITS, marcadores moleculares, homología.

INTRODUCCIÓN

Los hongos son organismos eucarióticos que se originan a partir de esporas y su reproducción es tanto de forma asexual, como sexual. Contienen estructuras somáticas filamentosas ramificadas, abarcando así una diversidad de formas microscópicas y macroscópicas (Gerhardt y Llimona 2000). En el mundo se estima que hay cerca de 1, 500,000 especies y sólo 4.0% de ellas son conocidas (Hawksworth 1991). En México se ha calculado que existen entre 120,000 y 140,000 especies de hongos de las cuales solo se conoce 4.5% (Guzmán 1995, Herrera 2000), y de éstos aproximadamente 4000 son macromicetos (Pardavé *et al.* 2007). Los hongos comestibles en su mayoría están representados por los macromicetos, que son visibles, forman cuerpos fructíferos y se agrupan en Basidiomicetos y Ascomicetos. Algunos de ellos tienen gran importancia en el consumo humano y juegan un papel vital en los procesos ecosistémicos (Mueller *et al.* 2004).

A través del tiempo se han realizado diversos estudios taxonómicos y morfológicos en los macromicetos, con la finalidad de investigar su influencia en la supervivencia de otros organismos (plantas), así como su distribución en distintos microambientes (Brown *et al.* 2006). Además se han identificado aquellos que poseen un potencial metabólico en la producción de compuestos de interés terapéutico, como es el caso de la familia Lycoperdaceae (Coetzee y Van Wyk 2009), la cual sintetiza compuestos como el ácido calvático, el calvasterol, la calvacina y la calvasterona, que presentan actividad antitumoral y como agentes antimicrobianos (Mizuno 1986). Esta familia está clasificada como Gasteromycetos y dividida en diversos géneros: *Tulostoma*, *Bovista*, *Disciseda*, *Lycoperdon* y *Calvatia*, entre otras (Coetzee y Van Wyk 2009). Numerosos gasteromycetos de los

géneros *Lycoperdon, Calvatia* y *Bovista* son saprófitos, crecen en materia orgánica de los bosques, muerta o en descomposición (Larsson y Jeppson 2008). Pilát (1958) incluyó siete géneros dentro de su clasificación mediante un análisis morfológico de las especies como *Calvatia*, el nuevo género *Vascellum* (separado de *Lycoperdon*), *Lasiosphaera* (*Langermannia*), *Lycoperdon*, *Bovista*, *Bovistella* y *Disciseda*, excluyendo a *Mycenastrum*. Sin embargo dicha clasificación ha sido modificada mediante nuevas alternativas que permiten encontrar el parentesco entre las especies, como es el uso de herramientas moleculares.

En la actualidad, el uso de marcadores moleculares se ha convertido en una herramienta importante para el estudio de los hongos y otros organismos, puesto que permite conocer el origen y las diversas relaciones filogenéticas entre géneros y familias (Lutzoni y Vilgalys 1995, Tehler *et al.* 2003). El proceso de análisis filogenético se fundamenta en el supuesto de que durante la evolución se han generado regiones altamente conservadas, de secuencias de nucleótidos que presentan un grado moderadamente variable de heterogeneidad entre una y otra especie (Yokota *et al.* 1989); mientras que otras regiones son altamente variables. En el caso de los hongos, el marcador más utilizado ha sido el de la región ITS (siglas en inglés de Internal Transcribed Spacer). Esta se encuentra dentro de las secuencias de los genes nucleares, que están representados por el ARNr 5.8S, la subunidad corta 18S y la subunidad larga 28S de los eucariotas superiores (Takaiwa *et al.* 1985); mientras que la región ITS es no codificante, y está formada por las regiones espaciadoras internas ITS 1 e ITS 2, ubicadas entre el ARNr 18S, el ARNr 5.8S y el ARNr 28S, como se muestra en la Figura 1 (Tippery y Les 2008, Martín y Alvarado 2001). Las secuencias de este marcador son obtenidas por medio de la amplificación completa de la región ITS, y pueden ser registradas y consultadas en la base de datos. Así, en 1998 se contaba con una base de datos de más de 8,000 especímenes colectados en el estado de Jalisco que corresponden a 800 taxones de los que aproximadamente 89.5% pertenece a Basidiomycetes, 9% a Ascomycetes y 1.5% a Myxomycetes que fueron identificados por ITSs (Grupo Flora 1998).

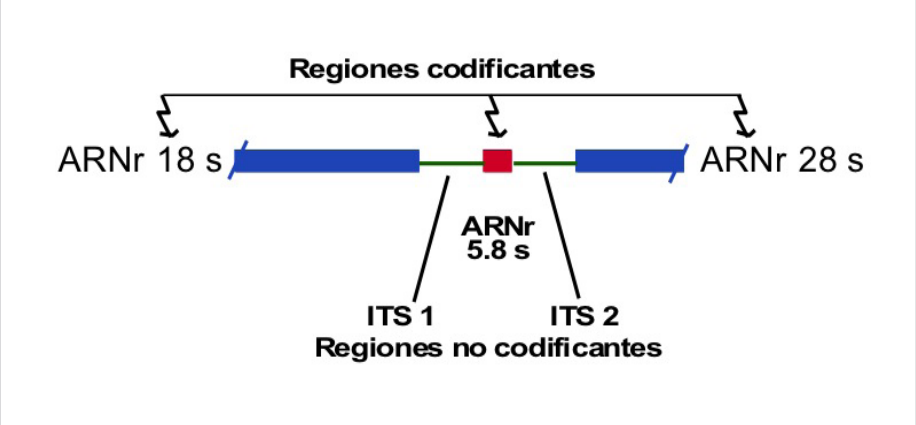


Figura 1. Regiones codificantes y no codificantes del ADNr conservado de los hongos.

Las regiones conservadas son amplificadas mediante PCR utilizando cebadores o iniciadores universales para los hongos, como ITS 1, ITS 2, ITS 3, ITS 4, ITS 5, ITS 1F, ITS 4B entre otros; que han sido descritos por varios autores (White *et al.* 1990, Guevara *et al.* 2004) y algunos de estos son representados en la Figura 2. Puesto que el estudio de estas regiones ha construido la hipótesis evolutiva entre taxones en las familias fúngicas, se ha considerado el análisis de la secuencia de ADN como un método confiable para la clasificación (Sambrook y Russel 2001).

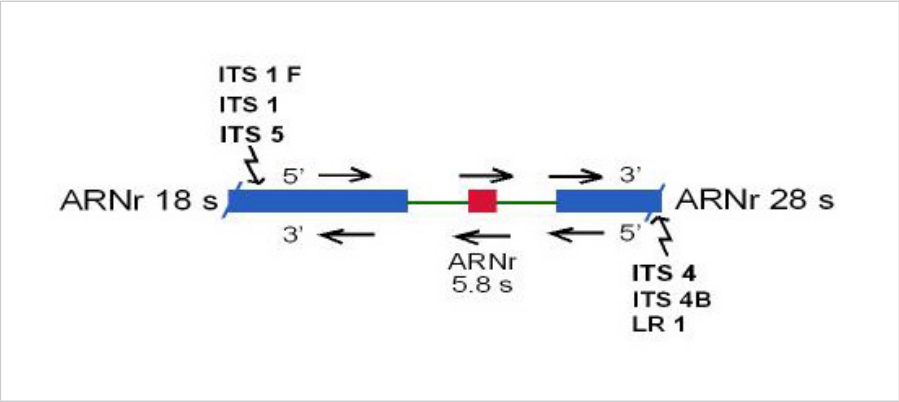


Figura 2. Cebadores o iniciadores utilizados en la amplificación PCR de las regiones conservadas, el sentido de amplificación esta representado por las flechas. El ITS 5 hibrida (o se aparea, no amplifica) en la subunidad ARNr 18S; mientras que el ITS 4 hibrida (o se aparea) en la subunidad ARNr 28S.

Hasta 1990 se habían identificado más de 200 especies de hongos comestibles en todo el país (Moreno 1990); las entidades más estudiadas y con mayor número de especies comestibles eran: Estado de México y Distrito Federal con 155, Veracruz con 131, Hidalgo con 128, Michoacán con 118 y Morelos con 97 (Villareal y Pérez 1989); en las que se consume principalmente hongos de la familia Agaricaceae, Boletaceae, Cantarellaceae (Mariaca *et al.* 2001). En Sonora, en el norte de México (Moreno *et al.* 2007), se consumen hongos de la familia Lycoperdaceae y se han clasificado de forma taxonómica y morfológica, pero no genética, a una gran variedad de especies pertenecientes a esta familia, como son: *Bovista leucoderma* Kreisel, *B. pusilla* (Batsch) Pers., *Calvatia bicolor* (Lév.) Kreisel, *C. craniiformis* (Schwein.) Fr., *C. pygmaea* (R.E. Fr.) Kreisel, G. Moreno, C. Ochoa & Altés, *C. perlatum, Disciseda hyalothrix* (Cooke & Massee) Hollós, *D. stuckertii* (Speg.) G. Moreno, Esqueda & Altés, *D. verrucosa* G. Cunn., *Lycoperdon fuscum* Bonord. y *Lycoperdon* sp. (Grupo Flora 1998, Moreno *et al.* 2007, Chanona-Gómez *et al.* 2007, Mariaca *et al.* 2001). Esta familia de hongos se encuentra distribuida en gran parte del territorio Mexicano y debido a la importante aplicación terapéutica que tienen algunas especies, el presente trabajo se realizó con la finalidad de efectuar una comparación de secuencias de especies de la familia Lycoperdaceae, por medio de la amplificación de la región codificante del gen ARNr 5.8S y no codificante (ITS 1 e ITS 2), previamente empleados por Bates *et al.* (2009), para ayudar a delimitar la posición de los diferentes taxones. Así también contribuir a clarificar la filogenia de la familia Lycoperdaceae que se encuentra en México, en especial en el estado de Tlaxcala en la zona de Xicoténcatl. Además, comparar las secuencias de los amplímeros obtenidos de la amplificación PCR de las regiones conservadas en la base de datos y corroborar su parentesco con algunas especies ya identificadas en el mundo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivo fúngico

Se utilizaron dos cepas con características morfológicas particulares de la familia Lycoperdceae denominadas Lyc 5, y Lyc 9, recolectadas de la zona Industrial Xicoténcatl, Tlaxcala. Fueron aisladas y cultivadas en medio Kirk líquido (Márquez-Ortega 2006).

Extracción de ADN genómico

La extracción de ADN genómico se fundamentó en la técnica utilizada por Márquez-Ortega en 2006, en la cual el micelio cultivado se filtró a través de un paño y una vez eliminado el exceso de agua, se le añadió nitrógeno

líquido y se trituró. En tubos Eppendorf se resuspendieron aproximadamente 50 µg del macerado, con 500 µl de la solución 10 mM de HEPES a pH 6.9, 0.5 mM de sacarosa y 20 mM de EDTA. Posteriormente se agregaron 50 µl de SDS al 10 %, agitándose suavemente para su incubación a 65°C por 30 minutos. Cada muestra se diluyó con 500 µl de solución de Tris-HCl 50 mM a pH 8.0 y 50 mM de EDTA. La separación de proteínas se realizó por medio de la adición de 1 ml de la mezcla de fenol: cloroformo:alcohol isoamílico (25:24:1); seguido de la centrifugación a 11,000 rpm. A la fase acuosa resultante se le añadió 1 ml de la solución de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1) y se centrifugó a las mismas condiciones para la eliminación de proteínas residuales. La fase superior se colocó en un tubo limpio, al que se le añadió 1 ml de 100% etanol frío y se dejó precipitar el ADN durante 2 horas a – 4°C y se centrifugó. El sobrenadante se decantó y posteriormente se adicionó 1 ml de etanol 70%, centrifugándose después. La fase líquida se decantó y el pellet formado se dejó secar durante 30 minutos a temperatura ambiente, para resuspenderse en 500 µl de agua desionizada estéril. Para eliminar el ARN se adicionó 1 µl de ARNasa (10mg/ml), incubando la muestra a 37°C por 20 minutos. Posteriormente se adicionó 10 µl de acetato de sodio 4.0 M a pH 3.0 y 1 ml de etanol 100%; se centrifugó y se procedió a realizar un lavado con etanol 70%. El pellet obtenido se dejó secar durante 30 minutos a temperatura ambiente y fue resuspendido en 30 µl de agua desionizada estéril.

Integridad y pureza

El ensayo de pureza se realizó en un espectrofotómetro Termoline modelo biomate 3, a longitudes de onda de 260/280 nm (ADN/ Proteínas). El criterio de la relación de absorbancias de ADN con respecto a proteínas a las longitudes indicadas se encuentra en un intervalo de 1.3 a 1.8 unidades; definiendo a una unidad de absorbancia como 50 µg de ADN/µl. La integridad del ADN se determinó corriendo 2 µl del producto en un gel agarosa 1%, cargando con 4 µl del buffer de carga 6x; como marcador de ADN se utilizó la escalera de 1 kb distribuido por Promega S.A. de C.V. (México, D.F**)**. Una vez corrido el gel se tiñó con bromuro de etidio (50 ng/ml) durante 10 min (Sambrook y Russel 2001).

Amplificación de ADN

Los dos cebadores fúngicos utilizados para la amplificación (ITS 5: 5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAGG-3' e ITS 4: 5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') (Guevara *et al.* 2004, Cortés-Espinosa *et al*. 2006), fueron sintetizados por Accesolab S.A. de C.V. (México, D.F.). Se diseñaron a partir de las regiones conservadas de los genes de ARN 18S (ITS 5) y 28S (ITS 4), para la amplificación de la región del gen 5.8S que se encuentra flanqueada por las regiones no codificantes ITS1 e ITS2, a fin de generar fragmentos de 600 a 800 pb (Gardes y Bruns 1993). La reacción de PCR fue estandarizada con ADN de las muestras, en un volumen de reacción de 20 µl, con 1.5 mmol l^{-1} $MgCl_2$, 200 µmol l^{-1} de cada nucleótido (dATP, dGTP, dCTP y dTTP), 2 pmol l^{-1} de cada cebador y 1.5 U de *Taq* ADN polimerasa distribuido por Promega S.A. de C.V. (México, D.F.). Las condiciones de amplificación fueron basadas en las descritas por Bates (2004) y ajustadas por medio de un gradiente de temperaturas. La desnaturalización inicial fue realizada a 94ºC, durante 1 ciclo por 2 min.; seguido de 30 ciclos de amplificación, los cuales presentan las siguientes condiciones: un ciclo consiste en la desnaturalización a 94ºC por 1 min., alineamiento a 54ºC por 1 min., y elongación a 72ºC por 1 min. Finalmente, se realizó un ciclo de extensión a 72ºC por 1 min. Se mantuvo el producto a 4ºC hasta su verificación en el gel de agarosa 1%.

La purificación de productos de PCR se llevó a cabo utilizando el Kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-up System, siguiendo el protocolo establecido por el proveedor Promega S.A. de C.V. (México, D.F, Boletin técnico #TB308).

Secuenciación

La secuenciación de los productos de la PCR se realizó en un secuenciador automático: ADN ABI/PRISMA

modelo 3100, con Química de DNA ABI Prism Big Dye Terminator Chemistry, movilidad DT3100 pop6 (BD) V2, en capilar de 50 cm. Los electroferogramas resultantes fueron leídos en Chromas Pro versión 1.13.

Análisis de secuencias

Para evaluar la región ITS total, las secuencias fueron alineadas y analizadas en el programa BioEdit 7.0, determinando la secuencia consenso, mediante la alineación de tres repeticiones por cepa en ambas direcciones: las cuales fueron comparadas en la base de datos GenBank (NCBI). En esta base de datos se encuentra aproximadamente 80% de los más de 100,000 secuencias de genes ARNr de hongos, es por ello que es la base de datos más consultada y la considerada para comprobar el parentesco de las cepas aisladas (http://www.nbi.nlm.nih.gov).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Correspondencia morfológica

Los hongos localizados en la zona de Xicoténcatl, Taxcala, poseen características morfologías similares a hongos pertenecientes a la Familia Lycoperdaceae de acuerdo a Bates *et al*. (2009), como son: gasterocarpo globoso, rizomorfo robusto, basidiocarpo cerrado, con algunas zonas cubiertas de escamas de polígonos irregulares, de superficie arrugada; son especies con una gleba de color blanco que en la madurez se hincha su apertura apical del endoperidio y se convierte en un polvo marrón de trillones de esporas; estos organismos crecen en los pastizales, en zonas boscosas y principalmente en madera abandonada (Kirk *et al.* 2001). En la Figura 3, se pueden observar y comparar algunas características morfológicas entre *Calvatia fragilis* y los hongos denominados Lyc 5 y Lyc 9, que son similares en ambos casos.

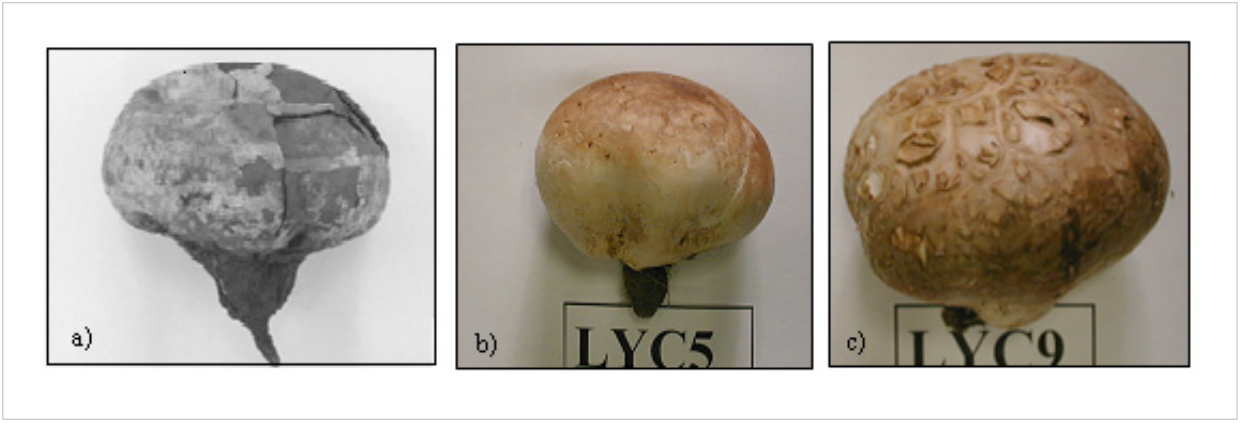


Figura 3. a) *Calvatia fragilis* (Bates *et al.* 2009), b) y c) Hongos aislados de Xicoténcatl, Tlaxcala Lyc 5 y Lyc 9.

Otros aspectos importantes a resaltar son que en el municipio de Xicoténcatl prevalece el clima templado subhúmedo, con lluvias en verano, en los meses de junio, julio y agosto; los suelos son de tipo arcilloso. Esta descripción es consistente con la proporcionada por Pegler *et al.* (1995), quien menciona que el crecimiento de los hongos Gasteromicetes es favorable en climas templados, áridos y tropicales.

Secuencias intergénicas de la región ITS

Los amplímeros obtenidos a partir de PCR, utilizando el ADN genómico de las cepas Lyc 5 y Lyc 9 y los cebadores ITS 4 e ITS 5, se visualizan como bandas únicas y nítidas a la altura de 750 pb en gel de agarosa 1% (Figura 4), esta longitud es consistente con secuencias generadas por amplificación de las regiones ITS 1 e ITS

2 de ADN fúngico (Gardes y Bruns 1993).

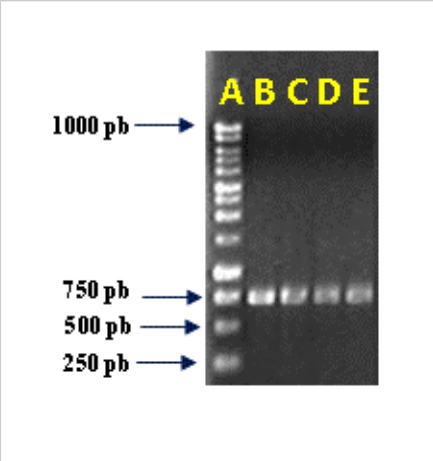


Figura 4. Amplímeros con los cebadores ITS 4 e ITS 5 en gel de agarosa 1%. A) Marcador 1kb; B y C: Amplímero de Lyc 5; D y E: Amplímero de Lyc 9.

Somai *et al.* (2002), utilizaron los mismos cebadores para el análisis polimórfico de algunas especies y obtuvieron amplificaciones de aproximadamente 500 pb; de esta misma forma Villalobos *et al.* (2005), amplificaron muestras de *Psilocybe* sp. obteniendo fragmentos de 700-750 pb. Otro estudio relacionado con la amplificación de las regiones conservadas (ITS 1 e ITS 2), en el que se utilizaron los cebadores ITS 1F e ITS 4 fue desarrollado por Guevara *et al.* (2004); el cual consistió en comparar especies del género *Cantharellus*, amplificando fragmentos de diversos especimenes, con un tamaño variado de 511 a 861 pb. Por otra parte Souframanien *et al.* (2003) utilizaron los cebadores ITS 1F e ITS 2R, consiguiendo un fragmento de 650 pb. Cabe señalar que entre las características conocidas en el análisis de regiones conservadas en hongos, las secuencias completas generadas por amplificación se encuentran entre el rango de 600 a 800 pb (Gardes y Bruns 1993), lo que permite considerar que por medio de los cebadores ITS 4 e ITS 5 se amplificó alrededor de 90% de las regiones ITS 1 e ITS 2 del ADN fúngico.

Comparación filogenética en GenBank

Los amplímeros fueron purificados, secuenciados y posteriormente alineados en BioEdit; recuperando así las secuencias consenso de Lyc 5 y Lyc 9, que fueron ingresadas en GenDataBank para su identificación y homología. En las Figura 5 y 6, se observan los alineamientos y homologías desplegadas por la base de datos para Lyc 5 y Lyc 9, con respecto a *Calvatia pachyderma* con número de acceso EU833653.

La homología entre la secuencia de las dos cepas entre si fue de 99%; mientras que al introducirlas en GenBank (NCBI), Lyc 5 y Lyc 9 presentan un grado de homología con otras especies de hongos: *Calvatia pachyderma* (98% y 99%), *C. gigantea* (Batsch) Lloyd (95% y 95%), *C. fenzlii* (Reichardt) Kawam. (95% y 94%). Por lo anterior se puede mencionar que el grado de homología es mayor con *C. pachyderma* ≡ *Langermannia pachyderma* (Peck) Kreisel (Locus EU833653) de 735 pb, incorporada por Bates *et al.* (2009) a la base de datos y recolectada en el sureste de Arizona.

```
  26   GATAATTATTGAATATTCTTGATGGGTTGTAGCTGGCTCTTCGAGGGCATGTGCACGCCT
85
       ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  38   GATCATTATTGAATATTCTTGATGGGTTGTAGCTGGCTCTTCG-GGGCATGTGCACGCCT
96
  86   GTCTTGATTCTATTCATCCACCTGTGCACCTTTTGTAGTCTTGGGGTTGAAAAGCGGTCA
145
       ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  97   GTCTTGATTCTATTCATCCACCTGTGCACCTTTTGTAGTCTTGGGGTTGAGAAGCGGTCA
156
  146  AATATCGGACGGTTATTGTGGCTGTTCCGGATGTGAGGATTGCTGAGTGCGAAAGCATAC
205
       ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  157  AATATCGGACGGTTATTGTGGCTGTTCCGGATGTGAGGATTGCTGAGTGCGAAAGCATAC
216
  206  AGCTTTTCTCAATGTGACTTGTAAACTCTCCCTCGAGCACTATGTTTTCATATACCACAT
265
       ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  217  AGCTTTTCTCAATGTGACTTGTAAACTCTCCCTCGAGCACTATGTTTTCATATACCACAT
276
  266  AGTATGTTGTAGAATGTGATCAATGGGCCTATGTGCCTATAATAATCATATACAACTTTC
325
       ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  277  AGTATGTTGTAGAATGTGATCAATGGGCCTATGTGCCTATAATAATCATATACAACTTTC
336
  326  AGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATG
385
       ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  337  AGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATG
396
  386  TGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATT
445
       ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  397  TGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATT
456
  446  CCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTCATTAAATTCTCAACCCCTCCAGCTTTTGTGAGTT
505
       ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  457  CCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTCATTAAATTCTCAACCCCTCCAGCTTTTGTGAGTT
516
  506  GCGATGGGGCTTGGAAGTTGGGAGTTTGCGGGCCTTTGTAATAAAGGTCGGCTCTCCTTA
565
       ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  517  GCGATGGGGCTTGGAAGTTGGGAGTTTGCGGGCCTTTGTAATAAAGGTCGGCTCTCCTTA
576
  566  AATGTATTAGCGGAACCGTTTGCAGTCCCGTCACTAGTGTGATAATTATCTACACTGTGA
625
       ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  577  AATGTATTAGCGGAACCGTTTGCAGTCCCGTCACTAGTGTGATAATTATCTACACTGTGA
```

Figura 5. Alineamiento de la secuencia del amplímero de Lyc 5 y *Calvatia pachyderma* (GenBank, número de acceso: EU833653).

```
  2    TTCAGTAGGTG-ACCTGCGG-AGGATCATTATTGAATATTCTTGATGGGTTGTAGCTGGC
59
       |||||||||||| |||||||| ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  15   TTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGAATATTCTTGATGGGTTGTAGCTGGC
74
  60   TCTTCGGGGCATGTGCACGCCTGTCTTGATTCTATTCATCCACCTGTGCACCTTTTGTAG
119
       |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  75   TCTTCGGGGCATGTGCACGCCTGTCTTGATTCTATTCATCCACCTGTGCACCTTTTGTAG
134
  120  TCTTGGGGTTGAAAAGCGGTCAAATATCGGACGGTTATTGTGGCTGTTCCGGATGTGAGG
179
       |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  135  TCTTGGGGTTGAGAAGCGGTCAAATATCGGACGGTTATTGTGGCTGTTCCGGATGTGAGG
194
  180  ATTGCTGAGTGCGAAAGCATACAGCTTTTCTCAATGTGACTTGTAAACTCTCCCTCGAGC
239
       |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  195  ATTGCTGAGTGCGAAAGCATACAGCTTTTCTCAATGTGACTTGTAAACTCTCCCTCGAGC
254
  240  ACTATGTTTTCATATACCACATAGTATGTTGTAGAATGTGATCAATGGGCCTATGTGCCT
299
       |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  255  ACTATGTTTTCATATACCACATAGTATGTTGTAGAATGTGATCAATGGGCCTATGTGCCT
314
  300  ATAATAATCATATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACG
359
       |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  315  ATAATAATCATATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACG
374
  360  CAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAAC
419
       |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  375  CAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAAC
434
  420  GCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTCATTAAATTCTCA
479
       |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  435  GCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTCATTAAATTCTCA
494

  480  ACCCCTCCAGCTTTTGTGAGTTGCGATGGGGCTTGGAAGTTGGGAGTTTGCGGGCCTTTG
539
       |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
  495  ACCCCTCCAGCTTTTGTGAGTTGCGATGGGGCTTGGAAGTTGGGAGTTTGCGGGCCTTTG
```

Figura 6. Alineamiento de la secuencia del amplímero de Lyc 9 y *Calvatia pachyderma* (GenBank, número de acceso: EU833653).

Dentro del *locus* ADNr la región ITS ha sido ampliamente utilizada en el análisis de especies de muchos géne-

ros (Zervakis *et al.* 2004), debido a su variabilidad relativamente alta y la facilidad de amplificación. Las ITSs son regiones intercaladas entre los genes de ARNr, indispensables en la producción de parejas de las moléculas de ARN, ya que permiten su escisión de la propia transcripción de ARN (Joseph *et al.* 1999, Venema y Tollervey 1999, Zuker 2003), debido a su variabilidad relativamente alta y la facilidad de amplificación. El análisis de la secuencia de ITS del ADNr en este trabajo permitió obtener pruebas que suponen que las secuencias consenso de hongos aislados en Xicoténcatl, Tlaxcala pertenecen a *Calvatia pachyderma,* donde algunos autores la consideran como *Lycoperdon pachyderma* (Wright 1990) o *Gastropila fragilis* (Wright 1990, Demoulin 1993).

CONCLUSIONES

La comparación efectuada mediante la amplificación de las regiones conservadas del gen ARNr 5.8S y los ITS 1 e ITS 2 por medio de los cebadores ITS 4 e ITS 5 de los hongos aislados en la zona de Xicoténcatl mostraron una homología de 98% y 99% con *Calvatia pachyderma*, respectivamente; por lo que se puede mencionar que nuestras cepas presentan mayor parentesco con *C. pachyderma* que con alguna otra especie, ya que con *C. gigantea* y *C. fenzlii* muestran una homología de 95% o menor.

REFERENCIAS

Bates ST, Roberson RW, Desjardin DE (2009) Arizona Gasteroid fungi I: Lycoperdaceae (Agaricales, Basidiomycota). *Fungal Diversity* 37: 153-207.

Bates ST (2004) Arizona members of the Geastraceae and Lycoperdaceae (Basidiomycota, Fungi), Thesis University Arizona State. pp 4-6, 11-13.

Brown NS, Bhagwat, Watkinson S (2006) Macrofungal diversity in fragmented and disturbed forests of the Western ghats of India. *J. Appl. Ecol.* 43: 11-17.

Chanona-Gómez F, Andrade-Gallegos R, Castellanos-Albores J, Sánchez JE (2007) Macromicetos del Parque Educativo Laguna Bélgica, municipio de Ocozocoautlade Espinosa, Chiapas, México *Rev. Mex. Biodiv*. 78: 369- 381.

Coetzee JC, Van Wyk AE (2009) The genus *Calvatia* Gasteromycetes, Lycoperdaceae: A review of its ethnomycology and biotechnological potential. *J. Afr. Biotechnol*. 8: 6007-6015.

Cortés-Espinosa DV, Fernández-Perrino FJ, Arana-Cuenca A, Esparza-García F, Loera O y Rodríguez-Vázquez R (2006) Selection and identification of fungi isolated from sugarcane bagasse and their application for phenanthrene removal from soil. *J. Env. Sci. Health* Part A, 41:475–486.

Demoulin V (1993) *Calvatia pachyderma* (Peck) Morg. and *Gastropia fragilis* (Lev.) Honrich y Wright, two possible names fort the same fungus. *Mycotaxon* 46: 77-84.

Gardes M, Bruns T (1993) ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application to the identification of mycorrhizae. *Mol. Ecol.* 2: 113-118.

Gerhardt X, Llimona J (2000) *Manual de identificación de hongos de España y de Europa*. Ediciones Omega 957 p.

Grupo Flora (1998) Ordenamiento ecológico territorial del estado de Jalisco. Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Las Agujas, Zapopan. pp. 30-52.

Guevara G, Garza OF, Cázares GE (2004). Estudio del ITS nuclear en algunas especies del género *Cantharellus* de México. *Ciencia UANL* 7: 371-374.

Guzmán G (1995). La diversidad de los hongos en México. *Ciencia* 39:52-57.

Hawksworth DL (1991).The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycol. Res.* 95: 641-655.

Herrera T (2000) Hongos en peligro de extinción que habitan en México (1 parte) especies. *Rev. Cons. y div.* 9:13-14.

Joseph N, Krauskopf E, Vera MI, Michot B (1999) Ribosomal internal transcribed spacer 2 (ITS2) exhibits a common core of secondary structure in vertebrates and yeast. *Nucleic Acids Res*. 27: 4533–4540.

Kirk PM, Cannon P F, David JC, Stalpers JA, (2001) *Ainsworth y Bisby's Dictionary of Fungi, 9th*. CABI Publishing, Wallingford. 655 pp.

Larsson E, Jeppson M (2008) Phylogenetic relationships among species and genera of Lycoperdaceae based on ITS and LSU sequence data from north European taxa. *Mycol. Res*. 4-22.

Lutzoni, F, Vilgalys R (1995). Omphalina (Basidiomycota, Agaricales) as a model system for the study of coevolution in lichens. *Cryptogam. Bot*. 5: 71-81.

Mariaca MR, Silva PL, Castaños MC (2001) Proceso de recolección y comercialización de hongos comestibles silvestres en valle de Toluca, México. *Ciencia Ergo Sum. Universidad Autónoma del Estado de México*. 8:30-40.

Márquez-Ortega AE (2006) Estudios para la obtención de una Lacasa termoestable por el hongo *Trametes* sp. EUM1. Tesis. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México D.F.

Martin M, Alvarado I (2001) Notas preliminares sobre las técnicas de amplificación y variación de la región ITS (Internal Transcribed Spacer) en el género *Encalypta* (Encalyptaceae, Bryophyta). *Bot. Complutensis* 25: 233-239.

Mizuno T (1986) Fractionation and characterization of antitumor polysaccharides from Maitake, *Grifola frondosa*. *Agricult. Biol. Chem.* 50: 1679-1688.

Moreno G, Esqueda M, Pérez-Silva E, Herrera T, Altés A (2007) Some interesting Gasteroid and secotioid fungi from Sonora, Mexico. *Persoonia* 19: 265–280.

Moreno ZC (1990). Los hongos comestibles un componente de la productividad del monte en Santa Catarina del monte, México. Tesis de maestría en Silvicultura. Colegio de Posgraduados. Montecillo. pp. 30-60.

Mueller GM, Bills GF, Foster MS (2004). *Biodiversity of Fungi: inventory and monitoring methods.* Elsevier Academic Press, San Diego. pp. 1- 4.

Pardavé M, Flores L, Franco V, Robledo M (2007) Contribución al conocimiento de los hongos (macromicetos) de la Sierra Fría, Aguascalientes. *Investigación y ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. 15:37 4-14.

Pegler DN, Laessoe T, Spooner B (1995). *British puffballs, earthstars and stinkhorns.* Royal Botanic Gardens. pp. 50-51.

Pilát, A (1958) Gasteromycetes; Houby-Brichatky. (Flora RSE, B-l). *Nak-ladatelstvi Ceskoslovenská Akademie Ved, Praga*. pp. 36-95.

Sambrook J, Russel DW (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual,* 3rd ed. edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Somai BM, Dean RA, Farnham MW, Zitter TA y Keinath AP (2002) Internal transcribed spacer regions 1 and 2 and random amplified polymorphic DNA analysis of *Didymella bryoniae* and related phoma species isolated from cucurbits. *Phytopathology*. 92: 997-1004.

Souframanien J, Archana J, Gopalakrishna T (2003) Intraspecific variation in the internal transcribed spacer region of rDNA in black gram. *Curr. Sci.* 85:6 799-801

Takaiwa F, Oono K, Iida Y, Sugiura M (1985) The complete nucleotide sequence of a rice 25S rRNA gene. *Gene* 37: 255-259.

Tehler AD, Little P, Farris JS (2003) The full-length phylogenetic tree from 1551 ribosomal sequences of chitinous fungi, *Mycol. Res.* 107: 901–916.

Tippery N, Less D (2008) Phylogenetic analysis of the internal transcribed spacer (ITS) región in Menyanthaceae using predicted secondary structure. *J. Mol. Evol.* 49: 526–537.

Venema J, Tollervey D (1999) Ribosome synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Annu. Rev. Genet.* 33: 261–311.

Villalobos A, Escobar I, Santerre A (2005) Extracción de DNA y amplificación de secuencias de ITS en *Psilocybe* (agaricales, fungi). *Avant. CUCBA en:* XVI Semana de la Investigación Científica. *Invest. Cient.* pp. 548-553.

Villareal Ruiz L, Pérez Moreno J (1989). Los hongos comestibles silvestres de México, un enfoque integral. *Micol. Neutrop. Apl*. 2: 77-114.

White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En**:** Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. New York:* Academic Press. pp. 315-322.

Wright JE (1990*) Calvatia pachyderma* (Peck) Morgan is *Gastropia fragilis* (lév.) Horich y Wright. *Mycotaxon*. 87: 187-189.

Yokota Y, Kawata T, Iida Y, Kato A, Tanifuji S (1989) Nucleotide sequences of the 5.8S rRNA gene and internal transcribed spacer regions in carrot and broad bean ribosomal DNA. *J. Mol. Evol.* 29: 294-301.

Zervakis GI, Moncalvo JM, Vilgalys R (2004) Molecular phylogeny, biogeography and speciation of the mushroom species *Pleurotus cystidiosus* and allied taxa. *Microbiol.* 150: 715-726.

Zuker M (2003) M fold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction. *Nucleic Acids Res*. 31, 3406–3415.

CAPITULO 3

SOBRE EL GÉNERO AGARICUS

3.1 SUPLEMENTACIÓN DE LA COMPOSTA DESPUÉS DE LA PRIMER, SEGUNDA O TERCERA COSECHA PARA MEJORAR LA PRODUCCIÓN DE HONGOS (*AGARICUS BISPORUS*)

Daniel J. Royse* y José E. Sánchez**

*Department of Plant Pathology, The Pennsylvania State University, University Park, PA, USA djr4@psu.edu
**El Colegio de la Frontera Sur. Apdo. Postal 36, Tapachula, Chiapas 30700 Mexico
esanchez@ecosur.mx

RESUMEN

El re-suplementar y aplicar nuevamente tierra de cobertura a la composta del hongo (CH) para generar un segundo (doble) cultivo ofrece a los cultivadores la oportunidad de incrementar la eficiencia y reducir los costos de producción. Varios factores pueden influenciar la productividad del cultivo doble: la cosecha o floreada en que se elimina la tierra de cobertura de la CH en proceso, la fragmentación de la CH, la re-suplementación y el momento de volver a aplicar la tierra de cobertura (tapado). Se observó en general, rendimientos más altos en el doble cultivo cuando la CH fue re-suplementada inmediatamente después de la 1ª floreada, en comparación con la re-suplementación después de la 2ª y 3ª floreada. La EB media en doble cultivo fue 128, 119 y 109, cuando se usó CH de 1er, 2º o 3er corte, respectivamente. La fragmentación simple de la CH incrementó el rendimiento en 30% en el segundo cultivo, en comparación con la composta que no fue fragmentada. La adición de suplemento comercial a la CH fragmentada incremento el rendimiento de hongos en 53-56% sobre CH fragmentada no suplementada. La CH fragmentada y suplementada produjo 99% y 108% de incremento de rendimiento sobre el control no fragmentado, dependiendo del grado de fragmentación (*3x, 1x*, respectivamente). Los rendimientos incrementaron en la medida en que aumentó (hasta 10 días) el tiempo para re-cubrir la CH fragmentada y re-suplementada. Los rendimientos de hongos incrementaron aproximadamente 2.14-3.2% por cada día que se retrasó la segunda aplicación de la tierra de cobertura.

Palabras clave: Champiñón, productividad, optimización de la producción, suplementación.

INTRODUCCIÓN

La producción de hongos es un actividad empresarial muy importante en Norte América, con un valor aproximado de 1300 millones de dólares. El ciclo 2008/09 fue evaluado en $957, $291 y $60 millones de dólares para Estados Unidos, Canadá y México, respectivamente. La mayoría (>90%) de los hongos cosechados comprenden el conocido champiñón (*Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach). Este hongo es producido en una mezcla composteada de varias materias primas que incluyen heno, rastrojo, cáscara de semilla de algodón, olote, cascarilla de cacao, desechos de destilería, harina de oleaginosas y yeso. La preparación de la composta involucra un gasto elevado, de tal manera que se ha hecho un considerable esfuerzo para incrementar la productividad y reducir los costos de preparación del sustrato (Royse y Sánchez 2008a, 2008b).

La producción de hongos es cosechada en una serie de cortes o floreadas que se reparten a intervalos aproximados de 7 días. Después de dos cortes, la producción declina rápidamente con cada corte sucesivo. A partir de entonces, el ciclo es terminado (pasteurizado con vapor para matar el micelio del hongo, las esporas y las plagas presentes), el sustrato gastado (SGH) es removido y un nuevo ciclo comienza.

Generalmente se piensa que la baja en la producción es debida al agotamiento de nutrientes disponibles y humedad en la composta. El quitar el suelo de cobertura después del 1er, 2º o 3er corte y suplementar nuevamente (re-suplementar) la composta con harina de semilla de algodón (Schisler 1964) o nutrientes de

disponibilidad retrasada (o liberación prolongada) comerciales (Royse *et al*. 2008; Royse y Sánchez 2008a, 2008b) puede incrementar los rendimientos en hongos. Los rendimientos pueden también ser incrementados por la inyección en la composta de una solución acuosa de hidrolizado de caseína en varios momentos después del tapado (San Antonio 1966). Debido a que la preparación de la composta representa un costo elevado en la producción de champiñones (Royse *et al*. 2008, Van Roestel 1988, Wuest 1983), un método que aumente el rendimiento mediante un uso más eficiente de la composta (por ejemplo, re-suplementando y volviendo a aplicar tierra de cobertura –es decir, "re-cubriendo" la composta-) puede incrementar la producción, reducir costos y reducir la cantidad de SGH que debe ser removido de la planta cada año (Royse *et al*. 2008 Royse y Sánchez 2008a, 2008b, Royse 2010). Se estima que al menos 36 millones de m^3 de SGH son desechados cada año en los Estados Unidos (AMI 2005).

En los últimos años se han desarrollado varias técnicas de cultivo en la industria de los hongos que parecieran ofrecer una oportunidad para una posible utilización comercial de la re-suplementación y el re-cubrimiento de la composta para un segundo cultivo. Estos desarrollos incluyen: 1) una amplia adopción de composteo a granel en fase II y fase III, 2) la aparición de tratamientos fungicidas de la semilla y del suplemento, 3) el inóculo de cobertura y 4) una optimización de la sanidad y del control de plagas. En este artículo, revisaremos nuestro trabajo sobre los factores que influencian el rendimiento de compostas re-suplementadas y re-cubiertas (es decir, en doble cultivo).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se desarrollaron varios experimentos de cultivo para evaluar las variables que influencian la producción de hongos en compostas de cultivo doble. Todos los ciclos de cultivo involucraron la remoción de la tierra de cobertura después de haber completado 1, 2 o 3 cortes en el Edificio de Prueba y Demostración de Hongos de Penn State, el Centro de Investigación en Hongos (MTDF y MRC, por sus siglas en inglés, respectivamente) o en una Planta comercial en Toughkennemon, Pennsylvania. El ciclo 1 fue conducido para determinar el efecto de la re-suplementación de la composta después de 1, 2, o 3 cortes. El ciclo 2 fue diseñado para determinar el efecto del grado de fragmentación y suplementación en compostas de 2º corte sobre el rendimiento de doble cultivo. Los ciclos 3 y 4 fueron conducidos para determinar el efecto del momento de re-cubrir (es decir, aplicar por segunda vez la tierra de cobertura) sobre la producción de hongos.

Producción de hongos en el MTDF para el primer cultivo

La fase I y la fase II del composteo fue realizada como lo describen Royse *et al*. (2008). Después de terminar la fase II, la composta fue suplementada con nutrientes de disponibilidad retrasada en el momento de sembrar con un híbrido tipo U1 off-white de *A. bisporus*. Después de 16 días de incubación, se colocó una malla mosquitera de fibra de vidrio sobre la composta colonizada, antes de aplicar la tierra de cobertura (para facilitar la remoción de la cobertura después de completar la cosecha). Después de las cosechas 1, 2 o 3, según el experimento, la tierra de cobertura fue eliminada -levantándola con toda y la malla previamente descrita- y la composta fue transportada al MRC para fragmentarla, re-suplementarla y re-cubrirla.

Dos grados de fragmentación (ciclo 2) fueron realizados al hacer pasar la composta a través de una revolvedora acoplada a un tambor rotativo (>1000 rev/min). El tambor contenía cuatro barras circunferencialmente espaciadas, extendidas longitudinalmente que contactaban la composta a medida que pasaba a través de la revolvedora, ya fuera una (1*x*) o tres veces (3*x*). No se hizo ningún intento por cuantificar el tamaño de partícula de la composta fragmentada por cada tratamiento, pero 3*x* era visualmente más fino que 1*x*.

Producción de hongos en el MRC (segundo cultivo o cultivo doble)

A partir de la composta proveniente del MTDF, se produjeron champiñones sobre composta re-suplementada y re-cubierta (segundo cultivo) en el MRC en bandejas de plástico (56 cm x 44 cm x 24 cm o 17 cm x 22 cm x 28 cm según el experimento), conteniendo 22.7 kg o 3.64 kg, respectivamente. Los suplementos fueron mezclados completamente con la composta fragmentada a la tasa especificada y la composta fue entonces re-cubierta con una capa de 4 cm de tierra de cobertura (turba negra y cal agrícola a 80% de humedad). Se aplicó inóculo de cobertura a la cobertura húmeda, antes de aplicarla sobre la composta. (Royse *et al*. 2008 Royse y Sánchez 2008a y b). El diseño experimental y los análisis (SAS 2008) fueron realizados de la misma manera que como se han descrito previamente (Royse *et al*. 2008, Royse y Sánchez 2008a, 2008b, Royse y Chalupa 2009, Royse 2010).

RESULTADOS

Un segundo cultivo de hongos fue exitosamente producido en todos los experimentos realizados en el MRC. En general, la EB media de los cultivos dobles fue más alta cuando la composta fue re-suplementada más temprano en el ciclo, es decir fue más alta cuando provenía de composta re-suplementada después de la primera floreada en comparación con composta re-suplementada después de la 2ª o 3ª floreada (Figura 1). Las EBs de doble cultivo fueron 128, 119 y 109% cuando se usó composta proveniente de un 1er, 2do y 3er corte, respectivamente (Figura 1 Ciclo 1).

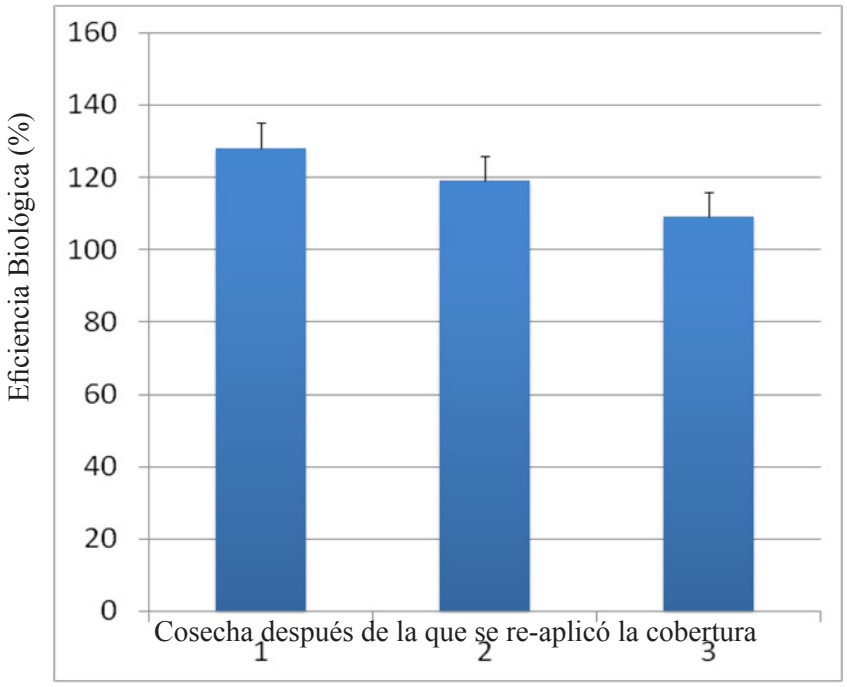


Figura 1. Efecto del momento de re-cubrir la composta de hongos (CH) en la eficiencia biológica total en doble cultivo. Los hongos fueron producidos sobre composta fase II en 1, 2 o 3 floreadas, según se indica.

En la Figura 2 se observa el efecto de la fragmentación y la suplementación en el rendimiento en hongos (ciclo 2). Los rendimientos más altos fueron obtenidos de composta fragmentada que fue pasada a través de una revolvedora (para fragmentarla) y suplementada con 3.7% de nutrientes, antes de volver a aplicar la tierra de cobertura. La composta no fragmentada y re-cubierta rindió solamente 10.07 kg/m^2 mientras que la composta no suplementada y fragmentada 1*x* y 3*x* rindió 13.45 y 13.09 kg/m^2 (+33.6%, +30%, respectivamente). La adición de 3.7% (p.s.) de suplemento a la composta fragmentada 1*x* y 3*x* incrementó los rendimientos en 108.1% y 99.3%, respectivamente, en comparación con el control no fragmentado y no suplementado. Los rendimientos

tendieron a decrecer (-2.8%, -4.4% sobre composta no suplementada y suplementada, respectivamente) en la medida en que la fragmentación incrementara (1*x* vs 3*x*), pero la diferencia no fue significativa.

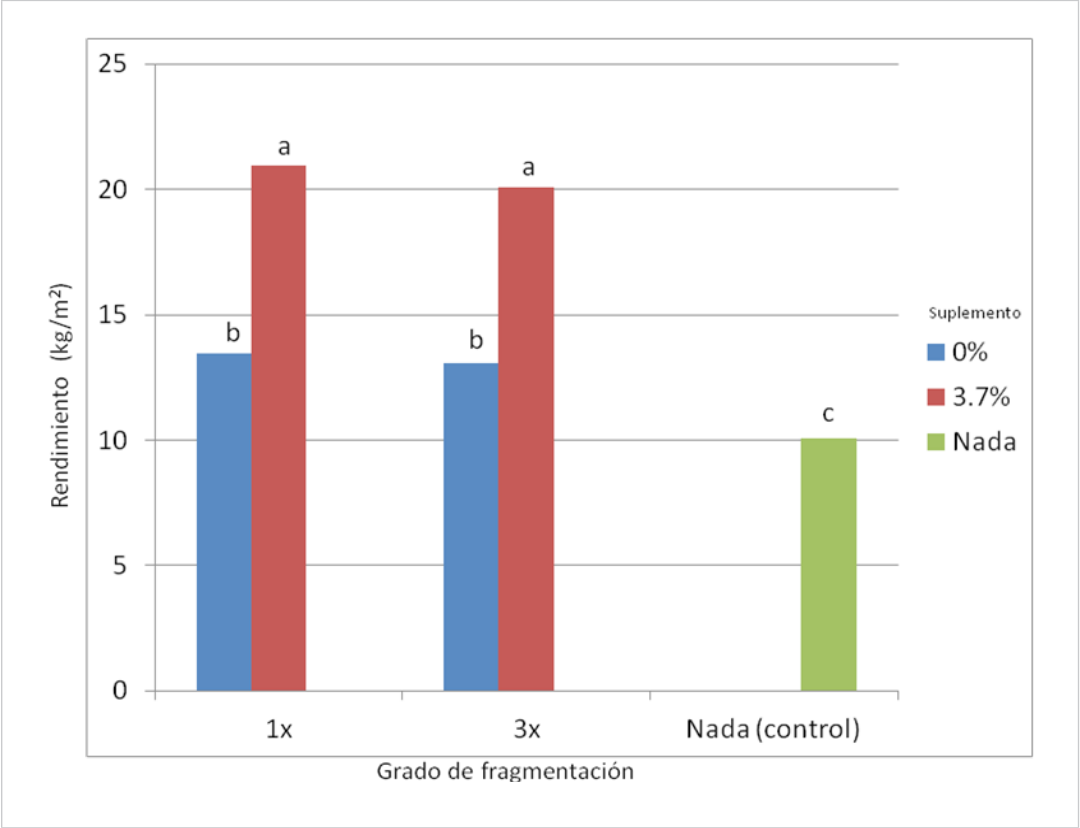


Figura 2. Efecto del grado de fragmentación y suplementación sobre el rendimiento en hongos producidos en tres cosechas, sobre composta proveniente de una segunda cosecha (Ciclo 2).

Los ciclos 3 y 4 evaluaron el efecto del momento de re-cubrir la composta en el rendimiento de hongos. El ciclo 3 (Figura 3) evaluó el efecto de 5 días de retraso en la aplicación de la cobertura (2º tapado) mientras que el ciclo 4 evaluó el efecto de retrasar la aplicación por 5 y 10 días sobre el rendimiento en hongos. En el ciclo 3, el rendimiento promedio incrementó alrededor de 15.8% cuando la CH fue re-cubierta 5 días después de la fragmentación comparada con el tapado en el día 0 (+3.2%/día). Se observaron incrementos significativos de rendimiento para las dos floreadas (1ª y 2ª) cuando se re-cubrió en el día 5 (ciclo 3). En el ciclo 4, los rendimientos incrementaron cuando el tapado fue retrasado hasta 10 días. Los rendimientos incrementaron aproximadamente 2.1% por cada día de retraso en la aplicación de la cobertura (Figura 4).

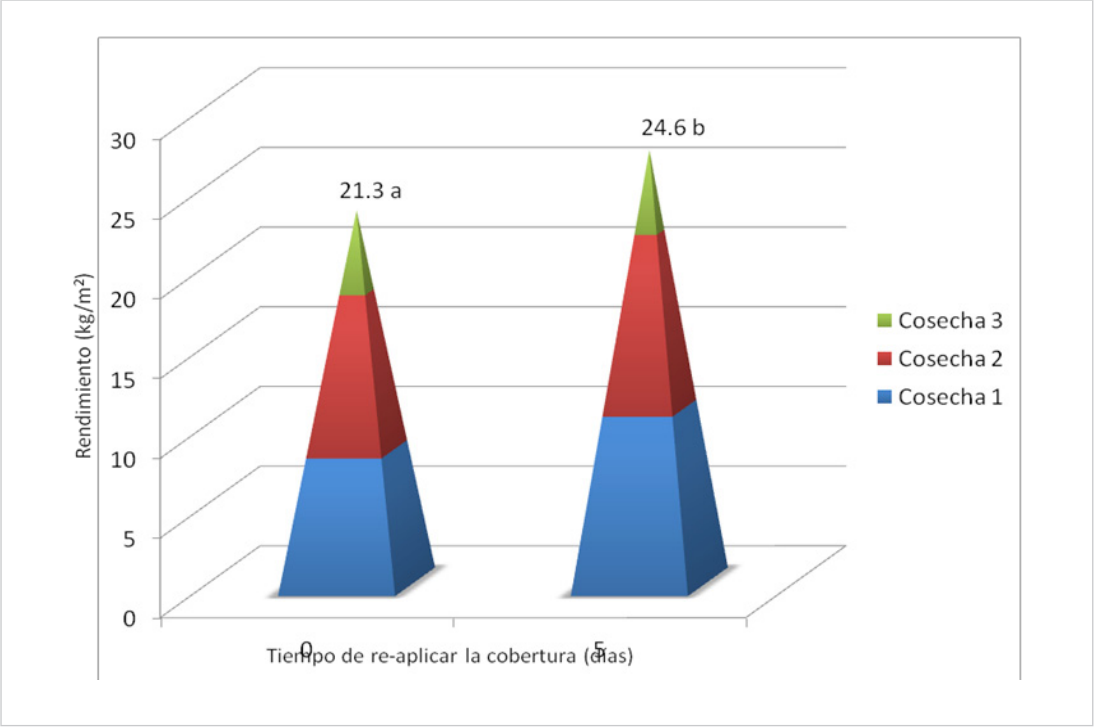


Figura 3. Efecto en el rendimiento (tres cosechas) por retrasar la aplicación de la cobertura sobre un sustrato re-suplementado con nutrientes de disponibilidad retrasada, después de haber cosechado 2 veces en el primer cultivo (ciclo 3).

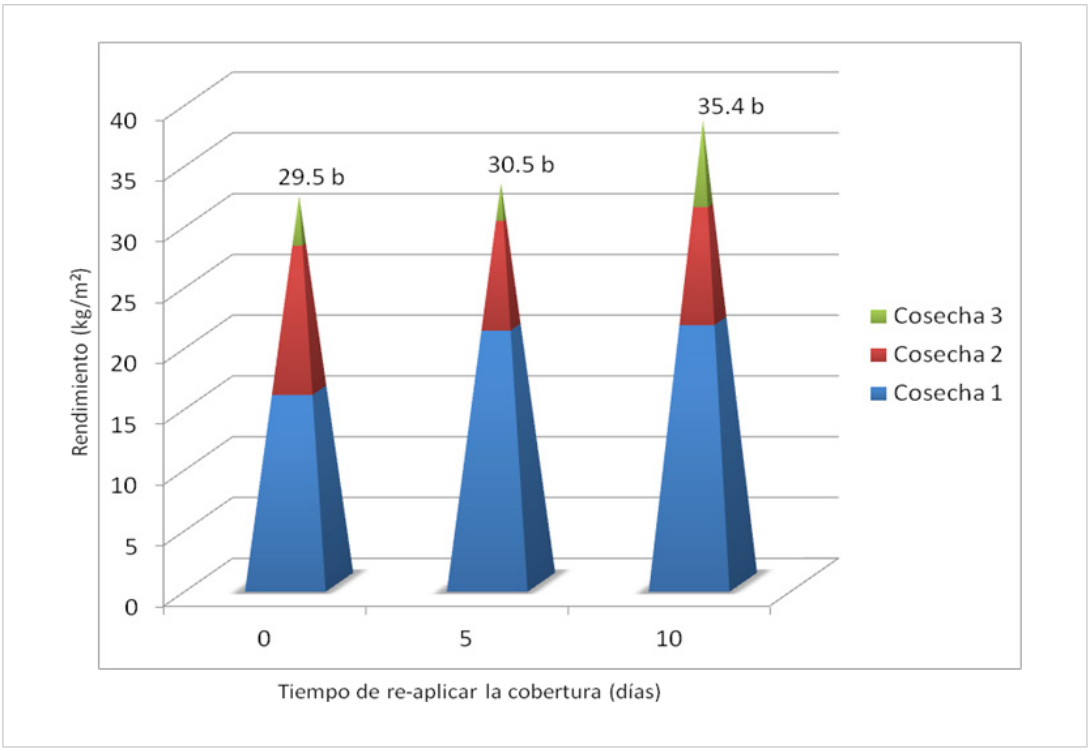


Figura 4. Efecto en el rendimiento (tres cosechas) por retrasar la aplicación de cobertura en un sustrato re-suplementado proveniente de un Planta de hongos (Modern Mushrooms, Toughkennemon, PA) después de haber cosechado dos veces (Ciclo 4).

DISCUSIÓN

Los factores que influencian el rendimiento de un doble cultivo incluyen: la floreada después de la cual la cobertura es eliminada de la CH, la fragmentación de la CH, la suplementación y el momento de re-cubrir. Un número de otros factores pueden influenciar y son discutidos en otros trabajos (Royse *et al*. 2008, Royse y Sánchez 2008a, 2008b, Royse 2010).

Si se puede verificar en ensayos comerciales que se obtiene un beneficio adicional por el doble cultivo, cuando la CH se re-suplementa y se re-cubre temprano en el ciclo de cultivo, las técnicas para acelerar el primer cultivo de hongos es más valioso. Por ejemplo, nuevos tipos de semilla, tales como Sylvan MatrixÒ (Spear and Atwood 2007), que son conocidos por reducir el tiempo de colonización pueden permitir un tapado más temprano y el completar más pronto las cosechas de los hongos. La terminación más temprana del primer cultivo reduciría el tiempo de exposición a patógenos y plagas y puede permitir una producción más consistente y confiable y cosechar un segundo cultivo de hongos.

Fragmentar la CH incrementó el rendimiento 30% comparado con el control no fragmentado. Esta situación está de acuerdo con Schisler (1964) quien encontró que la fragmentación de la CH incrementaba el rendimiento en 42% sobre un control no fragmentado. Cómo la fragmentación de la composta/micelio influencia el rendimiento de hongos no ha sido explicado hasta la fecha. Una posible explicación sería que el nuevo micelio, formado después de la fragmentación, es capaz de alcanzar nutrientes en la composta que no eran accesibles antes de la cosecha. Otra posibilidad es que el micelio envejecido pierde gradualmente su capacidad para acceder a y transportar nutrientes a través de la masa micelial hacia el carpóforo. En el micelio viejo se forman cristales de oxalato de sodio (Masaphy *et al*. 1987) y pueden inhibir la habilidad del hongo a absorber nutrientes. El crecimiento y desarrollo de nuevo micelio podría proveer una mejor conexión a través de agregados miceliales, desde el micelio en la composta hacia el carpóforo en desarrollo. Nosotros observamos constantemente el rápido crecimiento de nuevo micelio desde cordones miceliales después de la fragmentación. Este nuevo micelio podría ser capaz de accesar no solamente nutrientes no utilizados en la composta, sino los nuevos nutrientes suministrados por el suplemento.

Retrasar la segunda aplicación de la tierra de cobertura hasta en 10 días incrementó significativamente el rendimiento y la eficiencia biológica. Retrasar el momento del tapado puede permitir al micelio acceder a más nutrientes antes de entrar en un estado de fructificación. El crecimiento micelial permanece de forma vegetativa hasta que la fructificación ocurre, por lo que retrasar la aplicación de la cobertura no solo permite un mayor tiempo de acceso a más nutrientes sino que también permitiría el crecimiento y desarrollo de más micelio. Los cultivadores que tienen prácticas de sanidad completa en sus plantas pueden tomar ventaja de un segundo tapado retrasado. Esto puede ser ventajoso, no solo desde el punto de vista de rendimiento, sino también por la mano de obra y el tiempo de producción. Re-cubrir en un día específico puede permitir a los cultivadores estabilizar la producción o permitir proveer a los consumidores cuando más los necesitan.

Los cultivadores que utilizan un sistema multizona, es decir, preparación de composta fase II a granel, o incubación a granel (fase III), pueden estar en la mejor posición para explotar completamente esta alternativa de doble cultivo. El sistema multizona reduce el tiempo de exposición de la composta a las plagas y enfermedades porque los túneles de ambas fases II y III están equipados con aire filtrado que impide que los organismos competidores alcancen la composta.

El costo de producir *A. bisporus* continúa subiendo debido a incrementos en los gastos, lo que incluye materiales, energía y mano de obra. La optimización de prácticas productivas, a través del doble cultivo, podría ayudar a convertirlos más eficientes y competitivos y asegurar la disponibilidad de hongos a los consumidores.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Doug Keith, Henry Shawley, Joey Martain y John Pecchia la asistencia técnica proporcionada.

REFERENCIAS

American Mushroom Institute (AMI) (2005) Spent Mushroom Substrate: Scientific Research and Practical Applications. 23 pp.

Royse DJ, Sanchez JE, Beelman RB, Davidson J (2008) Re-supplementing and re-casing mushroom (*Agaricus bisporus*) compost for a second crop. *World J. Microbiol. Biotechnol*. 24, 319-325.

Royse DJ, Sanchez JE (2008a) Supplementation of first break mushroom compost with hydrolyzed protein, commercial supplements and crystalline amino acids. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24, 1333-1339.

Royse DJ, Sanchez JE (2008b) Supplementation of 2nd break mushroom compost with isoleucine, leucine, valine, phenylalanine, Fermenten® and SoyPlus®. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24, 2011-2017.

Royse DJ, Chalupa W (2009) Effects of spawn, supplement, and phase II compost additions and time of re-casing second break compost on mushroom (*Agaricus bisporus*) yield and biological efficiency. *Bioresource Technol*. 100, 5277-5282.

Royse DJ (2010) Effects of fragmentation, supplementation and the addition of phase II compost to 2nd break compost on mushroom (*Agaricus bisporus*) yield. *Bioresource Technol.* 101, 188-192.

San Antonio JP (1966) Effects of injection of nutrient solutions into compost on the yield of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Proceed. American Hort. Soc*. 89, 415-422.

SAS Institute (SAS) (2008). *JMP*. SAS Institute Statistical Analysis System, Cary, NC.

Schisler LC (1964) Nutrient supplementation of compost during the mushroom growth cycle. *Mush. Grow. Assoc. (MGA) Bull.* 179, 503-541.

Spear M, Atwood B (2007) Enhanced fungal substrate and carrier. United States Patent Application No. 20070294939.

Van Roestel AJJ (1988) Costs and returns. Pp 447-483, En: Van Griensven, LJLD. (ed) *The Cultivation of Mushrooms*. Mushroom Experimental Station, Horst, The Netherlands, 515 p.

Wuest PJ (1983) Resources need to farm the "champignon". *Mycologia* 75, 341-350.

3.2 SUSTRATO CON COMPOSTEO REDUCIDO PARA EL CULTIVO DE *Agaricus bisporus*: BÚSQUEDA DE UNA TECNOLOGÍA PARA EL MEDIO RURAL

José E. Sánchez* y Daniel J. Royse**

*El Colegio de la Frontera Sur. Apdo. Postal 36, Tapachula, Chiapas 30700. México
esanchez@ecosur.mx
**Department of Plant Pathology, The Pennsylvania State University, University Park, PA, USA
djr4@psu.edu

RESUMEN

Una alternativa para cultivar el champiñón *Agaricus bisporus* consiste en precultivar el sustrato con *Scytalidium thermophilum*, a 45ºC por tres días, antes de sembrar *A. bisporus* y continuar con el proceso tradicional de cultivo. Con este método, se han reportado valores de eficiencia biológica cercanos a 100%. En la búsqueda de una adecuación de esta técnica a las condiciones rurales, se procedió a probar sustratos preparados por inmersión alcalina y por apilamiento térmico autopasteurizante. Los resultados hacen vislumbrar la posibilidad de producir hongos de esta manera en el medio rural; sin embargo, quedan varios retos por superar, como son la inestabilidad de la cepa de *S. thermophilum*, la variabilidad de la temperatura en la composta, entre otros.

Palabras clave: técnicas de cultivo, hongos comestibles, champiñones, desarrollo sustentable.

INTRODUCCIÓN

Se han desarrollado diversos estudios tendientes a definir técnicas alternativas de cultivo de champiñón con sustratos no composteados, que no presentan los inconvenientes del método tradicional denominado "de dos fases". Así Till (1962), Lemke (1965) y Huhnke y Sengbusch (1968) desarrollaron un método que consistía en esterilizar por dos horas a 121ºC un sustrato formado por paja de trigo suplementada con soya y carbonato de calcio; San Antonio (1971) desarrolló un método que hacía fructificar *A. bisporus* (J.E. Lange) Imbach, en un sustrato formado por granos de trigo estériles; Mee (1978) desarrolló una patente que utilizaba estiércol frío de vaca o borrego seco como sustrato; Sánchez y Royse (2001), Sánchez *et al.* (2002) y García *et al.* (2005) desarrollaron un método que utilizaba una formula parecida a la empleada para cultivar *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, para lo cual esterilizaban el sustrato durante 15 minutos a 110ºC; Bechara *et al.* (2005a,b, 2006a,b,c), desarrollaron un método en el cual emplearon granos de mijo y vermiculita como retenedor de humedad y Mamiro (2006) y Mamiro *et al.* (2007) mejoraron la formula de Sánchez y Royse (2001) empleando para ello diversos suplementos. Aunque en algunos casos se han obtenido eficiencias biológicas (EB) superiores a las obtenidas por el método tradicional, las necesidades de esterilizar el sustrato y de mantener las condiciones de incubación *quasi* estériles, han sido los principales inconvenientes que han impedido hacer estos métodos rentables. Por esta razón, no hay en la actualidad ninguna unidad de producción de champiñón comercial en el mundo que utilice sustratos no composteados, y por los mismo, las investigaciones continúan, ahora en la búsqueda de alternativas que involucren el uso de hongos termófilos, los cuales han demostrado tener un efecto benéfico sobre el crecimiento y la fructificación de *A. bisporus* (Straatsma *et al*. 1994a, Sánchez *et al.* 2007b). En efecto, Wiegant *et al.* (1992) y Straatsma *et al*. (1994b), señalaron que el micelio de *A. bisporus* (*Ab*) duplica su velocidad de crecimiento en la composta cuando se encuentra en presencia de *Scytalidium thermophilum* (Cooney & R. Emers.) Austwick (*St*).

El uso del hongo *S. thermophilum* –un habitante natural de la composta del champiñón- como precultivo en el

sustrato en el que se cultivará *Ab* es una alternativa que fue primeramente ensayada por Pope (1963), sin embargo este autor concluyó que aunque la alternativa parecía viable tenía como principal problema la presencia de diversos y abundantes hongos contaminantes. Recientemente, Sánchez *et al.* 2007b utilizaron pasto pangola como sustrato y lo inocularon con *St* para después cultivar *Ab*. Ellos encontraron que sí era posible cultivar la variedad "portobelo" sin necesidad de esterilizar el sustrato en autoclave, manteniendo la presencia de contaminantes muy baja, aunque el rendimiento obtenido era reducido (48% de eficiencia biológica). Partiendo de este resultado Coello Castillo *et al.* (2009), siguiendo las recomendaciones de Sinden y Schisler (1962) suplementaron el sustrato al momento de aplicar la tierra de cobertura (momento también conocido como "tapado"), y determinaron que la adición de 6% de soya granulada mejoraba notablemente la producción. Ellos también probaron la adición de garbanzo y frijol negro, con lo que obtuvieron valores de EB entre 50-79%. Así mismo indicaron que la suplementación mejoraba la producción y reducía el ciclo de cultivo, ya que con los sustratos suplementados se obtenía la primera cosecha 40-42 días después de la siembra de *Ab*, mientras que con el control sin suplemento se obtenía a los 50. Finalmente, los resultados obtenidos por Sánchez y Royse (2009) con una variedad blanca de *Ab*, demuestran que es posible obtener una eficiencia biológica de 99.3% si se suplementa con 9% de nutrientes de disponibilidad retrasada tanto a la siembra como en el tapado.

Aunque estos resultados son comparables con los obtenidos por el método tradicional en dos fases, con los cuales se obtienen valores de EB de 70-100% (Wuest y Bengston 1982), se requiere todavía más estudios para hacerlos competitivos. En estos trabajos, la pasteurización aplicada al sustrato antes de sembrar los hongos, fue proporcionada con vapor durante una hora (a 90ºC) o bien por seis horas (a 60ºC). Aunque estos tratamientos de pasteurización con vapor son comercialmente aceptables en comparación con el tratamiento de esterilización en autoclave que requieren los métodos sin composteo, implican un gasto y equipo que difícilmente puede ser empleado en algunas comunidades rurales de Chiapas, por ejemplo; por lo mismo, en el presente trabajo se estudió la alternativa de utilizar tratamientos del sustrato que otorguen a éste una protección, en sustitución de la pasteurización normal, que requiere de energía para la aplicación del tratamiento térmico. Para ello se tomaron en cuenta los trabajos de Villa *et al*. (1999), Hernández *et al.* (2003), Barrios-Espinoza *et al.* (2009) quienes utilizaron un sustrato composteado -sin otro tipo de pasteurización- para cultivar *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.; En el caso de *S. thermophilum*, el mantenimiento de condiciones estables (alrededor de 45ºC) en la composta son muy importantes para lograr una colonización adecuada del sustrato. Las temperaturas más bajas favorecen a sus organismos competidores, y las temperaturas superiores a 50ºC inhiben y aún pueden destruir a este hongo, por ello también se revisó la posibilidad de utilizar el calor autogenerado por la pila de sustrato para optimizar la temperatura de colonización, todo esto dentro de un objetivo de determinar una técnica de cultivo de champiñones de bajos insumos, adecuada a las condiciones del medio rural mexicano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas y medios de cultivo utilizados

Se utilizaron las cepas *Agaricus bisporus* (*Ab*) Sylvan SB65, así como la cepa ECS-0601 de *Scytalidium thermophilum* (*St*) y ECS-0609 de *Trichoderma atroviride* P. Karst., depositadas en la colección micológica de Ecosur.

Se usó el medio glucosa 0.5%, extracto de levadura 0.5%, agar 2% en agua destilada. La semilla de *S. thermophilum* fue preparada con granos de sorgo, siguiendo la metodología propuesta por Quimio (2002). La cepa SB65 fue adquirida directamente del distribuidor, en la ciudad de México.

Sustratos utilizados

El sustrato utilizado fue pasto pangola *Digitaria decumbens*, así como suplementos para incrementar el valor nutritivo del sustrato, como: frijol soya molido, sangre de bovino y estiércol de caballo.

El sustrato fue molido hasta un tamaño de partícula de más o menos 5 cm (Molino semi-industrial marca Inisa, modelo TH2 500), mezclado con cal comercial (82% $Ca(OH)_2$, Súper calhidra Grijalva, de Cales y morteros del Grijalva, México) e hidratado (70%). Posteriormente pasteurizado a 90ºC con vapor durante 60 minutos (Sterilizator marca Webeco, GMBH) (para el testigo), o bien composteado, o tratado con cal, según se indica. Después, el sustrato fue inoculado con semilla de *S. thermophilum* (tasa de inoculación 0.5%) y mantenido a 45ºC± 3ºC por tres días.

Materiales

Para las pruebas de composteo para pasteurización, se utilizó un cajón de madera de tepemixtle (*Ocotea* sp.) de un metro cúbico, con 50 agujeros de 0.65 cm de diámetro, distribuidos uniformemente en el fondo del cajón, con el fin de facilitar la aireación del sustrato por convección natural. Sobre uno de los costados, dicho cajón tenía tres perforaciones (a 15 cm del borde, al centro y 15 cm de fondo) para permitir el monitoreo de la temperatura del sustrato durante el composteo (Hernández *et al*. 2003). Para estudiar el crecimiento de *S. thermophilum* en compostas rústicas autocalentadas, se utilizó un cajón del mismo material, de dimensiones de 0.75 m por lado.

Método de cultivo

El método de cultivo empleado para la producción de carpóforos de *A. bisporus* fue el sugerido por Sánchez *et al*. (2007b), el cual consiste en preparar el sustrato (980 g) a 70% de humedad y 2% de cal, sembrar con 0.5% de semilla de *St* en bolsas de polipapel, incubar por tres días a 45ºC, dejar enfriar a temperatura ambiente, sembrar con 2% de semilla de *Ab*, incubar 15 días a 25ºC (con un filtro de papel absorbente colocado en la parte superior de la bolsa, con la finalidad de facilitar el intercambio gaseoso). Una vez que el sustrato ha sido colonizado por el hongo, se retira el filtro de papel y se aplica la tierra de cobertura (una mezcla de turba, cal dolomítica y agua en una relación 1:1:4) y el suplemento y se lleva a un cuarto de fructificación a 18ºC y 90% de humedad ambiental hasta obtener las fructificaciones. La cosecha se efectuó cuando el estípite había alcanzado su maduración, después de la ruptura del velo, cuando el píleo estaba totalmente horizontal y ofrecía su máxima extensión.

Tratamientos

Se desarrollaron las siguientes pruebas:

1) Autocalentamiento del sustrato:

1.1) Mediante el apilamiento del sustrato (composteo incompleto, 48 horas de duración) con el fin de determinar el tamaño de la pila que garantizara la pasteurización del sustrato, considerando adecuado para ello el mantenimiento de >55ºC durante al menos 10 horas en cualquier parte de la pila de sustrato (Overtijns 1998, Barrios Espinoza *et al*. 2009). Para ello se utilizaron cantidades de 80 kg de pasto seco al cual se adicionaron cantidades variables de agua (para alcanzar ~ 55, 60 y 70% de humedad). Se observó la evolución de la temperatura, el pH y la humedad. En cada día del proceso se tomaron muestras de 20 gramos de sustrato, en medio, en la parte superior y en el fondo de la masa (tres repeticiones, en caja de Petri) para verificar la eventual presencia de hongos contaminantes.

1.2) En una segunda etapa, se hicieron pruebas de apilamiento de sustrato para determinar condiciones adecuadas para mantener a 45±3ºC de temperatura dentro de una pila. Esta condición es considerada necesaria para incubar *St*, a una temperatura cercana a la óptima (45ºC), con calor autogenerado por el apilamiento. Para esto se varió la cantidad de materia del lote por tratar en los cajones de madera, entre 40, 45 y 52 kg de sustrato. El proceso de composteo se mantuvo durante 3 días.

2) Inmersión alcalina modificada

Como un tratamiento alternativo al apilamiento o composteo incompleto descrito en 1.1, se probó aplicar al sustrato 2% de cal. A diferencia del método de inmersión alcalina descrito por Contreras *et al.* (2004), que consiste en sumergir el sustrato en una solución al 0.5% de cal comercial, el sustrato (pasto seco), en esta ocasión fue molido (5 cm de largo) y mezclado con cal hidratada (2% en peso seco) y luego mezclado con agua para lograr una humedad de 70%. Una vez mezclado el material, se apiló dentro de una bandeja de 65 cm de diámetro y 40 de profundidad, en la que se tapó con una lámina de plástico y se mantuvo en reposo durante una noche. Al día siguiente fue inoculada con *St* e incubada a 45°C por tres días. Al cabo de este tiempo, cuando *St* había colonizado la superficie del sustrato, se inoculó *Ab* (2% de inóculo), se incubó a 20°C y se siguieron las labores normales de cultivo de este hongo.

Presencia de organismos indeseables

Debido a que durante ciertos experimentos de cultivo de *Ab* se observó un número anormal de adultos de mosca *Musca domestica* dentro del cuarto de fructificación, se procedió a hacer un ensayo para evaluar la eficiencia del tratamiento con cal en la eliminación de organismos indeseables, en particular pupas y adulto de *Musca domestica* y micelio de *Trichoderma* sp. Para ello se prepararon 13kg de pasto pangola (humedad 70% y 2% de cal) y se dejó en reposo por 12 h, en los mismos recipientes de plástico mencionados anteriormente. Al término del reposo, este lote (T_1) fue inoculado manualmente con *St* (0.5% de inóculo), distribuido en bolsas de 1 kg e incubado a 45°C en una incubadora Lab-Line Orbit mod. 3526. Otro lote de 13 kg (humedad 70%, cal 2%, T_2), fue mezclado con 1 litro de agua con $3.6X10^7$ esporas/ml de *T. atroviride* como alícuota del agua de hidratación necesaria para ajustar la humedad a 70%. Estas esporas habían sido tomadas previamente de 5 colonias esporulantes de *T. atroviride* crecidas por 7 días sobre medio PDA levadura 0.5%. Una vez humedecido y homogeneizado, el sustrato fue dejado en reposo por 12 h. Después fue inoculado con *St*, distribuido en bolsas e incubado a 45°C en la misma incubadora y simultáneamente con las bolsas de T_1. Un tercer tratamiento (T_3) fue elaborado de la siguiente manera: se preparó el pasto con cal 2%, se humedeció con agua (al 70%) que contenía 1 L de $3.6X10^7$ esporas/ml de *T. atroviride*. Inmediatamente después se inoculó con *St* y se formó una pila de 40 kg de pasto pangola similar al descrito en 1.2 para mantener una temperatura de 45±3°C, adecuada para la incubación de *St*. Durante la incubación se tomaron alícuotas de 5 g de sustrato para inocular cajas de Petri con medio PDAL y observar la presencia de *St* y de *T. atroviride*. Una vez crecido *St*, se sembró *Ab* (1 kg de sustrato húmedo, 2% de inóculo) y se continuó con el proceso normal de cultivo de champiñón hasta obtener fructificaciones (13 repeticiones por tratamiento). Al término de la colonización por *Ab,* se observó la presencia o ausencia de manchas de *T. atroviride* en el sustrato y también la presencia de pupas y moscas.

3) Se realizó una prueba de fructificación, para determinar el efecto de la suplementación sobre la eficiencia biológica. Se utilizó como sustrato pasto Pangola y como suplementos, diferentes mezclas estériles (20 minutos a 121ºC) de sangre de bovino, soya molida y estiércol de caballo, en las proporciones que se indican en el cuadro 3. La suplementación se hizo, tanto a la siembra como al tapado, utilizando una tasa de suplementación de 6%.

Parámetros a medir

pH. Diez gramos de sustrato del centro de la composta fueron disueltos en 90 ml de agua destilada, se agitaron manualmente y dejaron reposar durante 15 minutos. Se determinó el potencial de hidrógeno con un potenciómetro pH/ISE meter modelo 710A marca Orion.

Humedad del sustrato. Se tomaron cinco gramos de muestra y se colocaron en una termo balanza Moisture analyzer A&D M.F. 50

Temperatura. Se tomaron lecturas de la temperatura durante el composteo del sustrato. Para ello, se mantuvo dentro de la composta un termómetro de varilla con carátula en tres orificios laterales del cajón de composteo (a 15 cm debajo de la superficie, al centro y 15 cm encima del fondo de la masa en proceso). Las lecturas fueron realizadas cada tres horas.

Relación carbono nitrógeno (C/N). Al inicio y al final del composteo se tomaron muestras de 0.5 kg de sustrato y se enviaron a determinar en cuanto al contenido de carbono y nitrógeno al laboratorio de análisis de suelos de Ecosur-San Cristóbal.

Eficiencia biológica. La eficiencia biológica (EB) se determinó mediante la fórmula:

$$EB = (X/S)*100$$

En donde X es el peso de los cuerpos fructíferos frescos cosechados y S el peso seco del sustrato empleado.

Presencia de contaminantes. 2 g de sustrato fueron tomados del centro de la composta y depositados en caja de Petri con PDA (tres repeticiones) e incubadas a 25ºC durante cinco días. Se observó la presencia/ausencia de hongos contaminantes. Para fines de identificación, las colonias observadas fueron resembradas en PDA-levadura y se determinó el género de ellos en base a las claves de identificación de Barnett y Hunter (1998)

Diseño experimental y Análisis estadístico

Para los ensayos de desarrollo de organismos competidores (*T. atroviride* y *M. domestica*) se utilizaron 13 repeticiones por tratamiento. Para la producción de carpóforos se aplicó un diseño completamente al azar, con 6 repeticiones. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de separación de medias por el método de Tukey con un nivel de significancia de (0.05), con el paquete estadístico JMP 4.0 de SAS. (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA, 1998).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1) Pruebas de tratamiento del sustrato

1.1 Apilamiento para pasteurizar con calor autogenerado por la pila

La Figura 1 muestra la evolución de la temperatura en pilas de pasto pangola + 2% de cal, con 80 kg de masa y diferentes contenidos de humedad. La composta con 160 kg de sustrato húmedo (3a) presentó los valores más bajos de temperatura de todas las pilas evaluadas. En ella se observó que la capa superior no alcanzó los 50°C, y la capa inferior se mantuvo alrededor de 35°C, con un máximo de 40°c después de 60 h de composteo. La pila con 190 kg de sustrato húmedo (3b) presentó una temperatura de 55°C en su capa superior a 24 horas de iniciado el proceso y se mantuvo en estos niveles hasta el final del proceso. La capa inferior en esta pila alcanzó los 50°C después de 36 horas de proceso. La pila de composta formada con 240 kg de pasto pangola húmedo y

2% de cal (70% humedad, 3c) también alcanzó al menos 50°C a 24 horas del inicio, y llegó a 75°C a 40 horas de proceso. Es notorio que en ambos casos, la temperatura de la capa inferior de la pila se mantuvo entre 45-48°C a partir de 36 horas de proceso. Haciendo ver que la remoción del sustrato a 24 horas es indispensable para homogeneizar el avance del tratamiento térmico.

De acuerdo al perfil de temperaturas observado en estas pilas y la necesidad de matar diferentes organismos que acompañan el sustrato proveniente del campo (larvas de mosca, otros insectos, ácaros, nemátodos, y diversos hongos), las pilas 2b y 2c aseguraron un tratamiento térmico en la capa media y superior del sustrato de más de 50°C por 24 horas, con lo cual presentó las condiciones suficientes para pasteurizarlas, sin embargo, la capa inferior presentó una temperatura de 45-48°C durante 24 horas. Aunque este tratamiento tiempo/temperatura es suficiente para matar esporas de *Trichoderma* sp. y de pupas y adultos de moscas, pudiera ser insuficiente para matar otros organismos; sin embargo, probablemente la acción combinada del factor tiempo/temperatura más la acción de un pH alcalino (8-9) permitiera la inhibición de otros organismos nocivos. Así, de muestras tomadas de estas compostas no se encontraron larvas ni adultos de moscas vivas, como tampoco fueron aislados hongos del género *Trichoderma* o *Penicillium*.

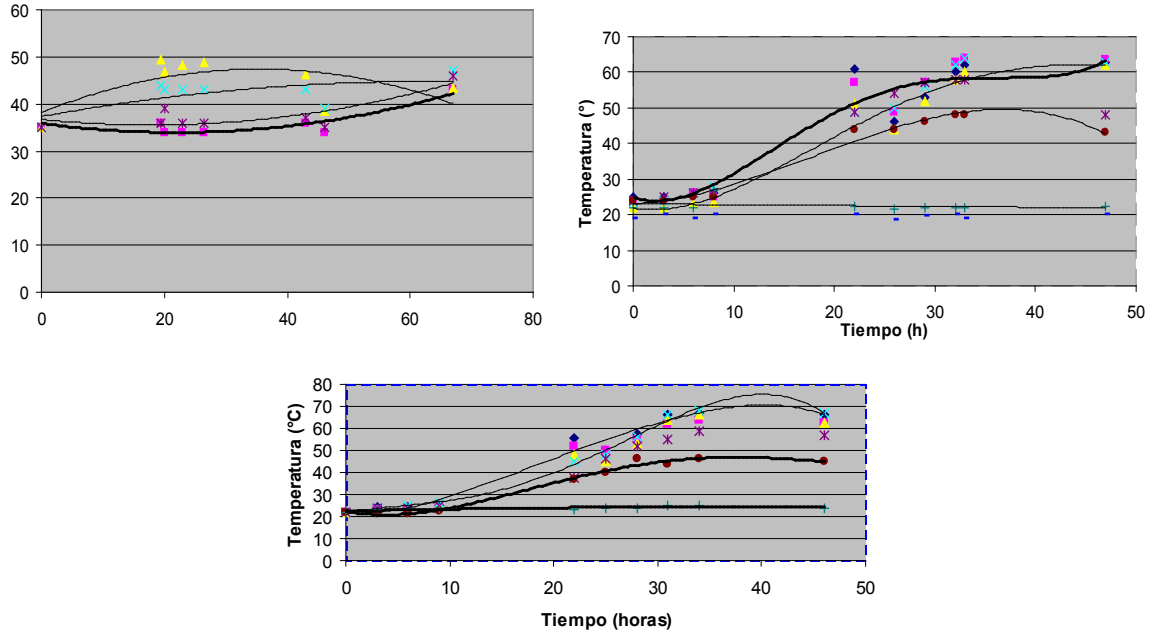


Figura 1. Evolución de la temperatura en tres puntos de una pila de 80 kg de pasto pangola+2% de cal, con diferentes contenidos de humedad. A: 55%, B: 60% y C: 70%. 1: capa superior (15 cm debajo de la superficie), 2: capa de en medio, 3: capa inferior (a 15 cm encima del fondo del cajón) T: Temperatura ambiente.

1.2 Pilas para incubación de *S. thermophilum*

La figura 2 presenta el perfil de temperaturas observado en pilas de 40, 45 y 52 kg (peso húmedo) de pasto pangola+2% de cal hidratada, previamente pasteurizado de dos formas: 1) con vapor a 90°C durante una hora (2a,b y c) y 2) por apilamiento previo de una masa de 240kg (2d, como descrito en 1.1). Al terminar la pasteurización, el sustrato fue enfriado, y cuando alcanzó una temperatura de 40°C fue inoculado con *St*. A partir de ese momento se apiló nuevamente y se tapó para permitir que la temperatura de la masa aumentara. En el caso de la pila de 52 kg, al cabo de 40 horas de proceso, la temperatura de la capa inferior alcanzó más de 50°C, mientras que la superior alcanzó 60°C. La pila con 45 kg también alcanzó 50°C después de 20 horas

de proceso y la temperatura alcanzada por la pila de 40 kg a las 20 horas de proceso fue de alrededor de 50°C en la capa superior y de 45°C en la capa inferior. Estas temperaturas se mantuvieron más o menos estables durante los tres días que duró el proceso. En la figura 2d se observa que la temperatura de esta pila se mantuvo inicialmente entre 45-50°C por dos días para después decrecer hacia un rango de 35-40°C. La relación C/N en este caso tuvo una variación de 76.5 a 65.6 (resultados no mostrados).

De los experimentos aquí presentados, puede verse que es posible controlar la temperatura de una composta si se define la masa, el pH y la humedad inicial del sustrato y tratan de mantenerse constantes factores como la temperatura y la humedad del ambiente exterior. Esto hace suponer que es posible pasteurizar el sustrato si se controlan dichos parámetros. Por otra parte, un tratamiento de este tipo, además de generar calor necesario para pasteurizar el sustrato, reduce la relación C/N, lo que es una adecuación para mejorar el crecimiento del hongo que se sembrará posteriormente. Para las condiciones aquí observadas, de condiciones tropicales imperantes, con temperaturas de 24-26°C y una humedad relativa de 75-90%, las mejores condiciones para el crecimiento de *St* fueron obtenidas al utilizar una masa de 40kg con 70% de humedad. Estas condiciones pueden ser mantenidas en un sustrato proveniente de una pasteurización con vapor, o bien de una pasteurización con calor autogenerado (apilamiento, Figura 2).

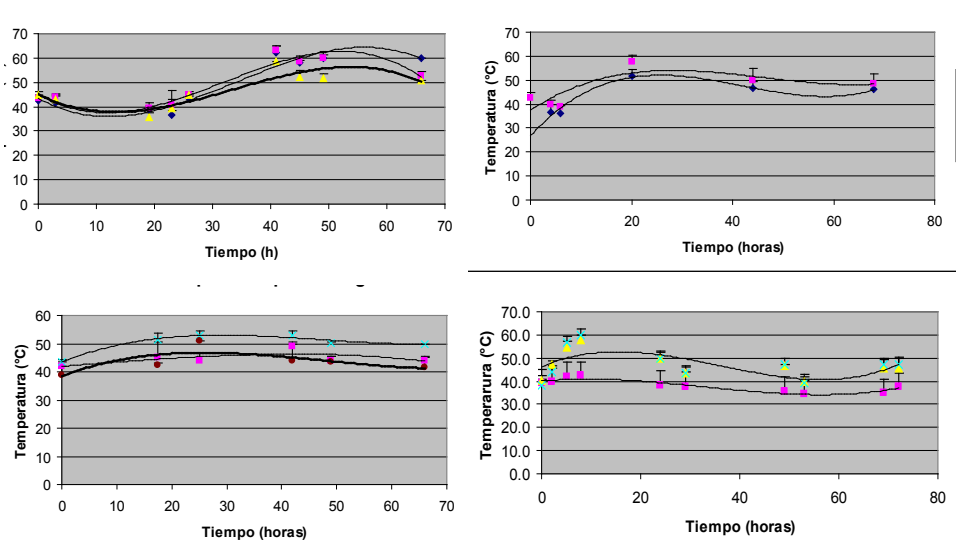


Figura 2. Evolución de la temperatura en tres niveles de una pila de pasto pangola+2% de cal hidratada para la incubación de *Scytalidium thermophilum* con diferente masa de composta húmeda. A: 52 kg; B: 44 Kg; C: 40 kg a 70% humedad; D: 40 kg a 60% de humedad.

Comparación de tres tratamientos de preparación del sustrato

La Figura 3 presenta la eficiencia biológica en seis cosechas y el tamaño de carpóforos obtenidos al cultivar la cepa SB65 de *A. bisporus*, sobre pasto pangola +2% de cal y 70% de humedad tratado de tres formas diferentes: T_1) pasteurización por apilamiento del sustrato durante 48 horas, T_2) pasteurización con vapor 1 h a 90°C y T_3) mezcla con cal y reposo 12h ["inmersión alcalina modificada"], sin pasteurización. Los valores obtenidos variaron entre 30 y 79% EB. El análisis presentó dos grupos estadísticos, el A, con los valores más altos, formado por T_2 y T_3 y en el grupo inferior formado por el tratamiento T_1. En cuanto a tamaño de carpóforos, el análisis no mostró diferencias significativas entre tratamientos, observándose una variación del peso de los carpóforos, entre 80 y 120 gramos. No se observó incidencia de hongos contaminantes; por el contrario, fue

evidente la presencia de adultos de mosca *Musca domestica* en el cuarto de fructificación. Esta observación dio lugar a la planeación del siguiente experimento, ya que no se evaluó la presencia de moscas en este ensayo.

Es una conclusión de este trabajo que el tratar el sustrato con cal hidratada, sin pasteurizar puede ser un tratamiento suficiente para inhibir hongos contaminantes y cultivar *A. bisporus*. Resta aún, disminuir la incidencia de moscas. Los valores de eficiencia obtenidos (79%) son similares a los reportados por Coello *et al.* (2009).

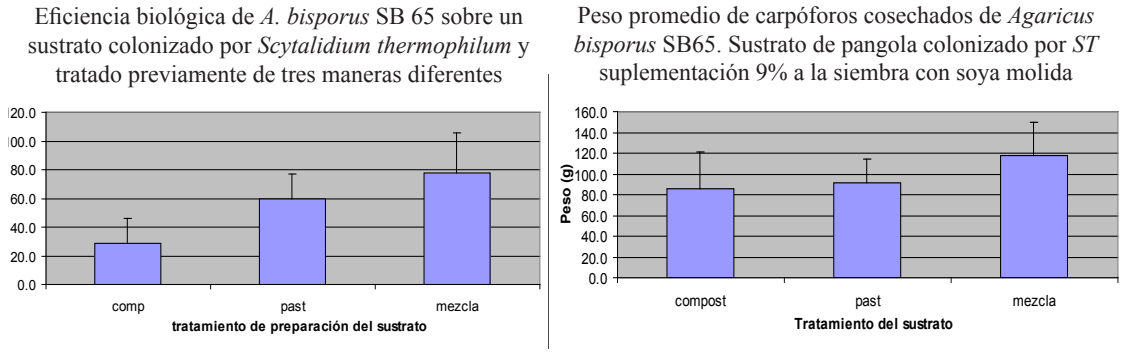


Figura. 3 Eficiencia biológica obtenida con *A. bisporus* SB65, al cultivarlo sobre pasto pangola con 2% de cal, tratado por tres formas diferentes 1) 48 h de composteo, 2) pasteurización con vapor y 3) tratamiento con cal al 2%.

Presencia de *Musca domestica*

Dado que durante el desarrollo de las pruebas de apilamiento del sustrato (Figuras 1 y 2) no se observó incidencia de hongos contaminantes ni de larvas ni adultos de mosca en el sustrato, y sin embargo, durante el cultivo de *Ab* se presentaron abundantes adultos de moscas *Musca domestica*, se realizó un ensayo para conocer el efecto del tratamiento con cal hidratada sobre la prevención de organismos no deseados (*T. atroviride* y moscas) durante el cultivo. La Tabla 1 presenta las características de los tres tratamientos preparados, que fueron T_1) aplicación de cal e incubación de *St* a 45°C, T_2) aplicación de cal y esporas de *T. atroviride* e incubación de *St* a 45°C y T_3) aplicación de cal y de esporas de *T. atroviride* e incubación de *St* por apilamiento (temperatura autogenerada por la pila, sin control). En ninguno de los tres tratamientos fueron aplicados huevos o instares de *Musca domestica*, considerando que estos organismos vendrían en la materia prima utilizada (pasto). Como era de esperarse, la aplicación de cal hidratada no inhibió el crecimiento de *St*, pero sí el de *T. atroviride*, que no se propagó en el sustrato. Es sin embargo importante notar que aunque no se observaron manchas de este hongo en el sustrato, *T. atroviride* fue re-aislado de las muestras tomadas diariamente de la pila en proceso (sembradas en caja de Petri e incubadas a 25°C). *St* También fue re-aislado de estas muestras. No se observaron pupas ni adultos de mosca en esa etapa. Durante el crecimiento de *St*, el pH del sustrato aumentó dos unidades, mientras que la humedad se mantuvo a 71% (T_1) y 73% (T_2). Con T_3 la humedad disminuyó de 75% a 68%.

Después de la colonización del sustrato por *St*, se inoculó *Ab*. Este hongo cubrió el sustrato en tres semanas. Al final de este período, al momento de retirar la bolsa del sustrato se hizo un recuento de los organismos indeseables que pudieran estar presente dentro del sustrato, recuento que se presenta en la Tabla 2. Los tratamientos incubados a 45°C no presentaron pupas ni adultos de moscas, indicando por lo tanto que esta temperatura aplicada por tres días resultó letal para estos organismos. No fue así el caso del tratamiento T_3, en el cual se observaron 1.8±2.5 pupas y 3±2.5 adultos de moscas por bolsa, lo cual indica que el tratamiento por apilamiento como método de incubación puede no ser suficiente para eliminar organismos competidores si no se mantiene una temperatura mínima de 45°C en cualquier parte del sustrato. De hecho, estudios desarrollados con moscas, demuestran que estos organismos pupan aún a 41°C y los adultos pueden emerger a 38°C (Lysyk

y Axtell 1987).

Tabla 1. Presencia de organismos indeseables (pupas y adultos de *M. domestica* y colonias de *T. atroviride*) al término de la colonización por *S. thermophilum* de un sustrato preparado mediante adición de 2% de cal comercial y 70% humedad, dejado reposar durante 12 horas (sin pasteurización) e incubado de dos maneras durante 72 horas: a 45°C (T_1 y T_2) y en apilamiento de 40kg de sustrato (T_3)

Tratamiento	Aplicación inicial de *Trichoderma*	Incubación (°C)	inicial		final		Organismos indeseables (%)
			pH	Hum (%)	pH	Hum (%)	
T_1	No	45	7.3	71	9.0	71	0
T_2	9.2X10^6 esp/g	45	7.2	73	9.3	73	0
T_3	9.2X10^6 esp/g	en pila	7.0	75	9.1	68	0

Tabla 2. Presencia de organismos indeseables (pupas y adultos de *M. domestica* y colonias de *T. atroviride*) al término de la colonización de *A. bisporus* de un sustrato preparado por inmersión alcalina e incubado de dos maneras: a 45°C (T_1 y T_2) y en apilamiento de 40kg de sustrato (T_3)

Tratamiento	Aplicación inicial De *T. atroviride*	Temp - Incub (°C)	Presencia al final de la incubación		
			Pupas	moscas	Contaminación (%) de bolsas
T_1	No	45	0	0	7.6
T_2	9.2X10^6 esp/g	45	0	0	23
T_3	9.2X10^6 esp/g	en pila	1.8±2.5	3±2.5	0

En cuanto a la presencia de *T. atroviride*, sólo 1 y 3 de las 13 bolsas de T_1 y T_2 (7% y 23% de las bolsas, respectivamente), presentaron un pequeño manchón verde, no mayor al tamaño de un grano de centeno, como indicio de contaminación por este hongo. Expresado este nivel de contaminación en relación a la superficie total de los lotes de sustrato expuestos, fue inferior a 1%.

Si se considera que la densidad de inóculo de *T. atroviride* al inicio del tratamiento fue de 9.2 X10^6 esporas/g de sustrato seco, puede deducirse que el tratamiento es eficiente para inhibir la proliferación de *T. atroviride*, aunque no lo destruye, solo inhibe su desarrollo por efecto del pH elevado y probablemente por la presencia de algunos metabolitos excretados durante el crecimiento de *St* (Lyons *et al.* 1999).

2) Pruebas de fructificación. Respuesta a la suplementación.

La Tabla 3 presenta los valores de eficiencia biológica (EB) obtenidos al cultivar *A. bisporus* sobre pasto pangola colonizado previamente por *S. thermophilum* y suplementado tanto a la siembra, como al tapado, con 6% de los materiales que en la misma Tabla se indican. Los valores de EB variaron entre 15.2 (T_8) y 96.8% (T_3). El análisis estadístico de los datos (Figura 4) determinó una diferencia significativa entre tratamientos (p= 0.0095) y clasificó cuatro grupos estadísticos, de los cuales, el grupo A formado por los tratamientos con mayores EB fueron T_3, T_7, T_6, T_1 y T_{10}. El grupo D, formado por aquellos con la EB más baja fue el T_9, T_4, T_5 y T_8 (el testigo). Los valores de eficiencia obtenidos son mejores que los reportados por Sánchez *et al*. (2007b) y Coello *et al.* (2009), y similares a los reportados por Sánchez y Royse (2009), ya que los primeros autores reportan valores de 48% y 79%, respectivamente, ambos utilizando pasto pangola como sustrato y la cepa ECS-0305, mientras que los últimos reportaron, con una cepa blanca de *A. bisporus*, valores de 99.3% de EB. La figura 5 presenta

el perfil de predicción de los suplementos utilizados (soya, estiércol y sangre de bovino estériles). Es necesario hacer notar sin embargo, que los datos aquí obtenidos fueron alcanzados en 6 cosechas, mientras que los autores mencionados obtuvieron sus resultados en tres cosechas. Es probable que las condiciones ambientales de la sala de fructificación utilizada en esta ocasión hayan ocasionado el retraso en la fructificación, toda vez que el equipamiento utilizado, aunque regulaba la temperatura y ventilaba, la humedad al aire era suministrada dentro del cuarto de fructificación, creando un ambiente variable por el ingreso de aire a veces seco, dependiendo de las condiciones exteriores, lo que pudo causar estrés en el hongo y un retraso en la fructificación. De hecho, Lomax (2007), indica que la mejor producción se dará cuando los hongos estén expuestos al "mejor aire", es decir, un aire estable que aporta humedad, oxigeno y la temperatura adecuada para la fructificación. Por otra parte, el por qué el testigo (T_8, suplementación con soya) en esta ocasión obtuvo los valores más bajos (15.2%), es difícil de explicar, toda vez que Coello *et al*. (*op cit.*) obtuvieron 79% de EB empleando soya molida como suplemento y la cepa ECS-0305. En esta ocasión la cepa que se utilizó fue la SB-65.

Tabla 3. Eficiencia biológica obtenida al cultivar la cepa SB65 de *Agaricus bisporus* sobre pasto pangola precultivado con *S. thermophilum* y suplementado a la siembra y al tapado con 6% de los suplementos formados por las mezclas indicadas

Tratamientos	Suplementos			EB (%)	Desv std. (±)
	Soya molida	Estiércol de caballo	Sangre de bovino		
1	0	3	3	64.4	47.6
2	0	6	0	64.0	16.6
3	2	2	2	96.8	26.6
4	4	1	1	45.6	14.3
5	3	0	3	35.9	3.3
6	1	1	4	71.2	21.7
7	1	4	1	93.4	5.1
8	6	0	0	15.2	0.1
9	0	0	6	54.7	24.5
10	3	3	0	62.5	1.3

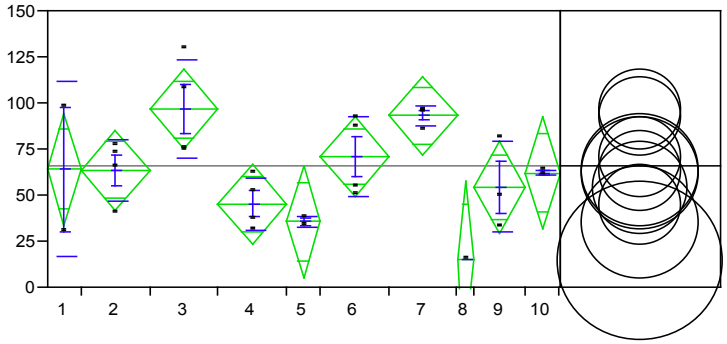


Figura 4. Distribución de la eficiencia biológica obtenida al cultivar la cepa SB65 de *A. bisporus* sobre pasto pangola precultivado con *St* y suplementado a la siembra y al tapado con 6% de las mezclas de suplementos indicadas en la Tabla 3. Los círculos indican la separación de medias, de acuerdo a la prueba de Tukey.

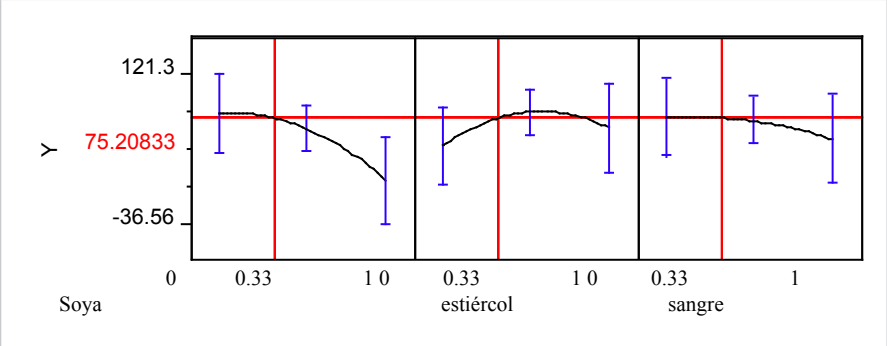


Figura 5. Perfil de predicción de los suplementos utilizados en la dieta.

Observaciones finales

A través de este trabajo y otros previos de los autores, ha quedado demostrado que es posible cultivar *A. bisporus* en un sustrato preparado con *S. thermophilum*. Una evaluación comparativa de este método con respecto del método tradicional está en curso y arrojará resultados sobre las ventajas y desventajas de ambos métodos. Por otra parte, es preciso señalar que uno de los problemas recurrentes encontrados a lo largo del presente trabajo fue una marcada inestabilidad de la cepa de *S. thermophilum* utilizada: la cepa presentó problemas recurrentes de pérdida de vigor y de velocidad de crecimiento, falta de esporulación y un fuerte parasitismo por ácaros, entre otros, lo que hacía lentos los avances de resultados. Estos hechos permitieron confirmar que para que el método funcione es indispensable contar con una cepa de *St* en óptimas condiciones fisiológicas y de pureza, lo que hace pensar que es necesario abordar esta problemática a fondo, antes de cualquier recomendación de uso.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo técnico de Lilia Moreno, Gerardo Hernández y René Andrade. La determinación de la relación carbono nitrógeno fue realizada por Miguel Angel López Anaya y el MC Javier Valle Mora nos asesoró en los análisis estadísticos.

REFERENCIAS

Barnett HL, Hunter BB (1998) *Illustrated genera of imperfect fungi*. ASP Press. St Paul, Mn. 217p.

Barrios-Espinoza BM, Moreno-Ruiz L, Sánchez JE (2009). Composteo en cajones de madera como pretratamiento del sustrato para cultivar *Pleurotus ostreatus*. *Rev. Mex. Mic.*29:19-25.

Bechara MA, Heinemann P, Walker PN, Romaine CP (2005a) *Agaricus bisporus* grain spawn substrate with S41 and S44 nutrient supplements. *ASAE Paper No. 057008*. St. Joseph, Mich.: ASAE.

Bechara MA, Heinemann P, Walker PN, Romaine CP (2005b) Cultivation of *Agaricus bisporus* on a mixture of cereal grain spawn and delayed-release nutrient supplement. *Mush. News* 53(8):6-10.

Bechara MA, Heinemann P, Walker PN, Romaine CP, Wilkinson VL (2006a) Evaluating non-composted grain substrates for the production of *Agaricus bisporus* and *Agaricus blazei* mushrooms. *ASABE Paper No. 067089*. St. Joseph, Mich.: ASABE.

Bechara MA, Heinemann P, Walker PN, Romaine CP (2006b) Non-composted grain-based substrates for mushroom production (*Agaricus bisporus). Transactions of the ASABE* 49(3):819-824.

Bechara MA, Heinemann P, Walker PN, Romaine CP (2006c) *Agaricus bisporus* mushroom cultivation in hydroponic systems. *Transactions of the ASABE* 49(3):825-832.

Contreras EP, Sokolov M, Mejía G, Sánchez JE (2004) Soaking of substrate in alkaline water as a pretreatment for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *J. Hort. Sc. Biotechnol.* 79(2): 234-240.

Coello-Castillo MM, Sánchez JE, Royse DJ (2009) Production of *Agaricus bisporus* on substrates pre-colonized by *Scytalidium thermophilum* and supplemented at casing with protein-rich supplements. *Biores. Technol.* 100:4488-4492.

Elías LG (1978) Composición química de la pulpa del café y otros subproductos. División de Ciencias Agrícolas y de

Alimentos, Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP). Guatemala, Guatemala.

García BS, Royse DJ, Sánchez JE (2005) Vermicompost in substrate and casing formulas for the production of brown *Agaricus bisporus*. En: Tan Q, Zhang J, Chen M, Cao H, Buswell JA, (eds), *Proceedings of the 5th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products*, Shanghai. 243-248.

Hernández D, Sánchez JE, Yamasaki K (2003) Composting a simple procedure for preparing substrate for cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *Biores. Technol. 90* (2):145-150.

Huhnke W, Sengbusch RV (1968) Champignonanbau auf nicht kompostiertem Nahrsubstrat. *Mush. Sci.* 7:405-419.

Lemke G (1965) Kontrollmassnahmen bim champignonkultur verfahren nach Till. *Mush. Sci.* 6:393-402.

Lomax K (2007) Control del ambiente en los cuartos de crecimiento de champiñones En: Sánchez JE, Royse DJ, Leal Lara H (eds). *Cultivo, mercadotecnia e inocuidad alimenticia de Agaricus bisporus*. El Colegio de la Frontera Sur. Tapachula, Mexico. 161-167.

Lysyk TJ, Axtell RE (1987) A simulation model of house fly (diptera: muscidea) development in poultry manure. *Can. Ent.* 119: 427-437.

Lyons GA, Sharma HS, Blackeman JP (1999). The importance of *Scytalidium thermophilum* in substrate specificity for the production of *Agaricus bisporus. Proceedings of the 3th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products,* Sydney. 498-507

Mamiro DP (2006) Non-composted and spent mushroom substrates for production of *Agaricus bisporus*. PhD Thesis, The Pennsylvania State University, University Park, PA.

Mamiro D, Royse DJ, Beelman RB (2007) Yield, size, and mushroom solids content of *Agaricus bisporus* produced on non-composted substrate and spent mushroom compost. *World J. Microbiol. Biotechnol*. (in press).

Mata G, Gaitán-Hernández R (1994) Avances en el cultivo de shiitake en pulpa de café. *Rev. Iberoam. Micol*. 11-90-91.

Mee HM (1978) Mushroom composting. U. S. Patent No. 4,127,964.

Overtjins A (1998) The conventional Phase II in trays and shelves. *Mush. J.* 584: 15-21.

Pope S, Knaust S, Knaust K (1963) Production of compost by thermophilic fungi. *Mush. Sci. 5*, 123-126.

Quimio T (2002) Preparación de semilla. En*:* Sánchez JE, Royse DJ (eds). *La Biología y el Cultivo de Pleurotus* spp. El Colegio de la Frontera Sur/ Ed. Limusa, S.A. de C.V. México, DF. 141-156

San Antonio JP (1971) A laboratory method to obtain fruit from cased grain spawn of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 63:16-21.

Sánchez JE, Martínez Carrera D, Mata G, Leal Lara H (2007a) *El cultivo de setas Pleurotus spp. en México*. El Colegio de la Frontera Sur. Tapachula, México. 236 p.

Sánchez JE, Mejía L, Royse DJ (2007b) Colonization of pangola grass with *Scytalidium thermophilum* for production of *Agaricus bisporus*. *Biores. Technol*. On line first. doi:10.1016/j.biortech.2006.11.067

Sanchez JE, Royse DJ (2001) Adapting substrate formulas used for shiitake for production of brown *Agaricus bisporus*. *Biores, Technol.* 77:65-69.

Sanchez JE, Royse DJ (2009) *Scytalidium thermophilum*-colonized grain, corncobs and chopped wheat straw substrates for the production of *Agaricus bisporus. Biores. Technol.* 100:1670-1674.

Sanchez JE, Royse DJ, Hernandez G (2002) Development of non-composted substrate for production of *Agaricus bisporus*. En: Sánchez, JE, Huerta, G, Montiel E (eds.), *Proceedings of the 4th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, February 20-23,* Cuernavaca, Mexico. 265-270.

Sánchez JE, Royse DJ, Leal Lara H (2007c) *Cultivo, mercadotecnia e inocuidad alimenticia de Agaricus bisporus*. El Colegio de la Frontera Sur. Tapachula, Mexico. 167p.

Sinden JW, Schisler LC (1962) Nutrient supplementation of mushroom compost at casing. *Mush. Sci.* 5:267-280.

Straastma G, Samson RA, Olijnsma TW, Op den Camp HJM, Gerrits JPG, Van Griesven LJLD (1994a) Ecology of thermophilic fungi in mushroom compost, with emphasis on *Scytalidium thermophilum* and growth stimulation of *Agaricus bisporus* mycelium. *App. Env. Microbiol* 60(2):454-458.

Straastma G, Olijnsma TW, Olijnsma TW, Gerrits JPG, Amsing JGM, Op den Camp HJM, van Griensven LJLD (1994b) Inoculation of *Scytalidium thermophilum* in button mushroom compost and its effect on yield. *App. Env. Microbiol.* 60 (9): 3049-3054.

Till O (1962) Champignonkultur auf sterilisiertem naehrsubstrat und die wiederverwendung von abgetragenem compost. *Mush. Sci.* 5:127-133.

Villa-Cruz V, Huerta G, Sánchez JE (1999) Solid fermentation of a corn cob-coffee pulp mixture for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *Micol. Neotrop. Apl.*12:67-74

Wiegant WM, Wery J, Buitenhuis ET, de Bont JA (1992) Growth-Promoting effect of thermophilic fungi on the mycelium of the edible mushroom *Agaricus bisporus*. *App. Env. Microbiol.* 58: 2654-2659.

Wuest PJ, Bengston GD (eds) (1982) *Penn State handbook for commercial mushroom growers*. Special publication. College of Agricultura science. The Pennsylvania State University. 129.

3.3 AVANCES SOBRE EL CULTIVO DEL "COGUMELO-DO-SOL" EN BRASIL

Nelson Barros Colauto y Giani Andrea Linde

Universidad Paranaense, Laboratorio de Biología Molecular
Campus de Umuarama, Umuarama-PR, Brasil CEP 87502-210
nbc@unipar.br

RESUMEN

Esta revisión trata sobre la historia de *A. blazei* (Murrill) ss. Heineman (*Agaricus brasiliensis* Wasser *et al.*; *Agaricus subrufescens* Peck) desde su origen en Brasil, la importancia del hongo, la polémica sobre su nombre científico, y las técnicas de cultivo usadas en este país. El origen y la historia de *Agaricus blazei*, popularmente conocido como "Cogumelo-do-sol" (Hongo del sol), no es muy conocida en cuanto su importancia como hongo medicinal o alimento funcional. Por otra parte, la polémica acerca de su nombre correcto puede ser más conocida que sus técnicas de cultivo. Se incluyen condiciones específicas de crecimiento, cobertura y producción. Se comentan tópicos sobre investigaciones futuras.

*Palabras clave***:** *Agaricus blazei*, *Agaricus brasiliensis*, *Agaricus subrufescens*, técnicas de cultivo, producción.

INTRODUCCIÓN

Agaricus blazei (Murrill) ss. Heinemann (Heinemann 1993) es un basidiomiceto de Brasil que últimamente ha recibido atención a causa de su actividad biológica como antitumoral (Mourão *et al.* 2009, Jumes *et al.* 2010), anti-inflamatorio (Mourão *et al.* 2011a), antioxidante (Mourão *et al.* 2011b), inmunomodulador, antidiabético, antimetastático, antiviral (Firenzuoli *et al.* 2008) y por sus propiedades culinarias (Escouto *et al.* 2005). Desde la década de los 90's *A. blazei* es producido en Brasil para exportarlo al Japón. Su técnica de cultivo está basada en la de *A. bisporus*, aunque es producido en general por medio de una tecnología, mecanización y control ambiental incipientes. Por esta razón, los hongos son caros y producidos a pequeña escala. El objetivo de este trabajo fue revisar la literatura sobre el cultivo de este hongo en Brasil. El texto explora el origen y la historia del hongo desde Brasil hacia el mundo, la importancia del hongo, la polémica sobre su nombre científico y las técnicas de cultivo usadas en este país. Se incluyen condiciones específicas de crecimiento, cobertura y producción, así como tópicos sobre investigaciones futuras.

Agaricus blazei en Brasil

Desde los años 1990's, ha habido un creciente interés en Brasil por el cultivo de *A. blazei*, descubierto en el pueblo brasileño de Piedade, Estado de São Paulo, en 1960 por un cultivador de apellido Furumoto quien lo envió al Japón en 1965 para investigarlo (Mizuno 1995). Este hongo fue identificado como *A. blazei* Murrill (Heinemann 1993) y recibió el nombre común de 'Himematsutake' en Japón, 'Royal Sun Agaricus®' en Estados Unidos y el nombre más común en Brasil fue 'Cogumelo-do-Sol' entre otros (Menzel *et al.* 2003, Dias *et al.* 2004). Recibió este nombre porque era capaz de crecer en campo abierto, al sol, sin ninguna sombra. Algunos de los nombres comunes son mostrados en la Tabla 1.

Tabla 1. Nombres comunes de *Agaricus blazei*

Nombre común en Brasil	Fuente
Champignon do Brasil (Champiñón de Brasil; (Brazilian Mushroom)	Amazonas y Siqueira (2003) Menzel *et al.* (2003) Kopytowski Filho *et al.* (2006)
Cogumelo do Sol®, Cogumelo-do-Sol (Hongo del sol)	Menzel *et al.* (2003) Dias *et al.* (2004) Kopytowski Filho y Minhoni (2004) Firenzuoli *et al.* (2008)
Cogumelo de deus (Hongo de dios)	Colauto *et al.* (2002) Kopytowski Filho *et al.* (2006) Tomizawa *et al.* (2007)
Gourmet mushroom (Hongo gourmet) Almond mushroom (Hongo almendra)	Stijve *et al.* (2002)
Cogumelo-da-vida (Hongo de la vida)	Menzel *et al.* (2003)
Himematsutake (en Japón)	Mizuno *et al.* (1990a) Mizuno *et al.* (1990b) Ito *et al.* (1997) Colauto *et al.* (2002) Wasser *et al.* (2002) Dias *et al.* (2004) Firenzuoli *et al.* (2008)
Cogumelo medicinal (Hongo medicinal)	Colauto *et al.* (2002) Dias *et al.* (2004) Kopytowski Filho *et al.* (2006) Tomizawa *et al.* (2007)
Cogumelo Piedade (Hongo Piedade)	Colauto *et al.* (2002) Dias *et al.* (2004) Kopytowski Filho *et al.* (2006) Tomizawa *et al.* (2007)
Royal Sun Agaricus® (en EUA)	Amazonas y Siqueira (2003) Dias *et al.* (2004) Kopytowski Filho *et al.* (2006) Tomizawa *et al.* (2007)
Cogumelo princesa (Hongo princesa) Royal Agaricus (Hongo regio) Almond Portobello (Portobelo almendra) Blazei	Kopytowski Filho *et al.* (2006) Tomizawa *et al.* (2007)
Kawariharatake (en Japón)	Mizuno (1995) Firenzuoli *et al.* (2008)
Agarikusutake (en Japón), Ji Song Rong (en China)	Firenzuoli *et al.* (2008)

Aunque el Sr. Furumoto cultivó *A. blazei* a pequeña escala en los 1960's, fue sólo hasta en los 1990's que las cepas regresaron de Japón a Brasil para mejorar el cultivo del hongo brasileño. Principalmente a causa de la alta demanda de este hongo en el mercado japonés como un producto antitumoral (Colauto *et al.* 2002, Dias *et al.* 2004). Una nueva fase en el cultivo de este hongo fue iniciada en Brasil, en la cual *A. blazei* adquirió el

estatus de un producto de exportación con precios más elevados en comparación con otros hongos y fue una alternativa para pequeños productores (Dias *et al.* 2004). Inicialmente, los hongos fueron vendidos frescos o secos, y después también fueron vendidos en polvo o tiras, extractos o cápsulas (Amazonas y Siqueira 2003).

Desde entonces, Brasil se ha convertido en el principal cultivador y exportador de este hongo hacia el Japón. Esta preferencia ocurrió porque Brasil es el país de origen de este hongo y tiene las condiciones naturales para cultivarlo a bajo costo. Sin embargo, después de un período de prosperidad, la producción china de *A. blazei* redujo las exportaciones brasileñas al Japón y actualmente la situación es inestable con la mayor parte de la producción brasileña redirigida al mercado interno (Ortiz *et al.* 2007). Eira *et al.* (2005) reportaron que las exportaciones brasileñas de hongos secos hacia el Japón incrementaron de 17.5 t en 1997 a 35 t en 2002, pero el precio se redujo en ese período de US$ 148.00/kg a US$ 100.00/kg, respectivamente. Sin embargo, es posible comprar por internet botellas con cápsulas de *A. blazei* por US$ 550.00/kg (500 mg de *A. blazei* por capsula).

Nombre científico

Wasser *et al.* (2002), Amazonas y Siqueira (2003), y Dias *et al.* (2004) reportaron que el ejemplar de *A. blazei*, encontrado en Brasil fue enviado en 1965 al Iwade Mushroom Institute en Japón y al Instituto Botánico de São Paulo en Brasil. Después, el hongo fue enviado al Dr. David Pegler en Inglaterra y al Dr. Paul Heinemann en Bélgica. Sólo Heinemann (1993) reportó identificar las muestras como el mismo hongo identificado por Murrill en Florida (EUA) en 1945 y entonces lo llamó *A. blazei* Murrill (Heinemann 1993). Sin embargo, Stijve y Amazonas (2001) sugirieron que *A. blazei* ss. Murrill y *A. blazei* ss. Heinemann podrían no ser la misma especie. Basados en eso, Wasser *et al.* (2002), después de analizar *A. blazei* ss. Murrill y *A. blazei* ss. Heinemann, concluyeron que no eran la misma especie y propusieron un nombre nuevo: *Agaricus brasiliensis* Wasser, M. Didukh, Amazonas & Stamets. Subsecuentemente, Kerrigan (2005) publicó un artículo con una conclusión opuesta a la de Wasser y colegas, en la cual *A. blazei* ss. Murrill y *A. blazei* ss. Heinemann (o *A. brasiliensis* Wasser *et al.*) fueron sinónimos de *Agaricus subrufescens* Peck; Debido a que la publicación de Peck es más antigua que las de Murrill y Heinemann (o Wasser *et al.*) tuvo prioridad para nombrar la especie. Kerrigan y Wasser *et al.* mantienen aún sus conclusiones (Wasser *et al.* 2005, Kerrigan 2007); sin embargo, un análisis molecular con cepas clave puede proporcionar información útil para terminar este conflicto; pero esto no ha sido realizado hasta ahora. También, un estudio citológico de la población podría ofrecer más información (Dias *et al.* 2008). Si *A. blazei* ss. Murrill, *A. blazei* ss. Heinemann (o *A. brasiliensis* Wasser *et al.*) y *A. subrufescens* Peck son la misma especie o no, Colauto *et al.* (2011b) reportaron que el nombre *A. brasiliensis* y *A. subrufescens* han sido usado antes por Fries (1830) y por Ellis & Everhart (1893), respectivamente (Index Fungorum, octubre 2010 (http://www.indexfungorum.org/names/names.asp)), y por lo tanto son *nomen illegitima*. Sin embargo, Wisitrassameewong *et al*. (2012) reportaron que en una reciente actualización en el "Index Fungorum" (febrero 2012) *A. subrufescens* Peck tiene prioridad sobre *Agaricus subrufescens* Ellis & Everhart porque fue publicado unos días antes. Por tanto, mientras la disputa sigue, es preferible utilizar el nombre más conocido -*A. blazei*- o usar el nombre de acuerdo con el origen del material biológico recogido hasta que se obtenga el consenso sobre el nombre correcto de este hongo.

En la Tabla 2, se muestra el número de artículos científicos y patentes en el ISI Web of Knowledge (http://apps.isiknowledge.com/UA_GeneralSearch_input.do?product=UA&SID=2F@h7Po81l92FNCFHFa&search_mode=GeneralSearch) que usan el nombre "*Agaricus blazei"*, "*Agaricus brasiliensis"* o "*Agaricus subrufescens"*. Considerando el número total de artículos y patentes, el nombre más usado es *A. blazei*, seguido de *A. brasiliensis* y *A. subrufescens*. Después de las publicaciones en favor del nombre *A. brasiliensis* en 2002 y en favor de *A. subrufescens* en 2005, ellas representan solamente 7.3% y 1.1% del total de citas, respectivamente. Para el nombre *A. blazei*, en 2009, hubo 88.8% de citas, y en 2010 (hasta Septiembre), 72.7% de citas. Esto sugiere que la comunidad científica no ha alcanzado un consenso o no está segura sobre el nombre correcto de la especie.

Tabla 2. Número de artículos científicos y patentes en el ISI Web of Knowledge que usan el nombre "*Agaricus blazei*", "*Agaricus brasiliensis*" o "*Agaricus subrufescens*" durante los años 1984 a 2010

Año de la cita	*Agaricus blazei*	*Agaricus brasiliensis*	*Agaricus subrufescens*	Citas para *A. blazei* (%)
1984-2001	125	0	0	100.0
2002	30	0	0	100.0
2003	40	1	0	97.6
2004	60	1	0	98.4
2005	70	3	1	94.6
2006	60	5	0	92.3
2007	92	8	3	89.3
2008	59	13	2	79.7
2009	87	10	1	88.8
2010	32	11	1	72.7
Total de citas (%)	91.6	7.3	1.1	-

Fuente: ISI Web of Knowledge (Septiembre 30, 2010).

Por otra parte, Dias *et al.* (2004) reportaron un uso inconsistente del nombre *Agaricus sylvaticus* Shaeffer (probablemente *Agaricus silvaticus* Schaeffer), en lugar de *A. blazei*, por una compañía en São Paulo, Brasil, propietario de la marca comercial 'Cogumelo do Sol®' o 'Royal Sun Agaricus®'. Los autores también reportaron que el nombre 'Cogumelo-do-sol' era un nombre común usado por los cultivadores antes de que la compañía registrara la marca, indicando una apropiación indebida del nombre común del hongo.

Bajo estas circunstancias, diferentes nombres pueden no sólo afectar la percepción del consumidor, sino causar confusión porque la cepa reportada en la literatura puede no ser necesariamente la misma reportada con la actividad antitumoral y sin toxicidad citológica. Con el fin de evitar confusión y porque es el nombre más ampliamente aceptado, usaremos *A. blazei* en esta revisión.

Variabilidad genética

Colauto *et al.* (2002) reportaron poca variación genética entre cepas comerciales brasileñas de *A. blazei*. Esto apoya la hipótesis de que la cepa utilizada en Brasil y probablemente en el mundo, fue colectada inicialmente en Brasil, enviada al Japón y regresada a Brasil. Amazonas y Siqueira (2003) sugirieron lo mismo. Fukuda *et al.* (2003) reportaron poca variación genética entre cepas japonesas pero una distancia mayor entre cepas brasileñas y japonesas, lo que apoya la hipótesis de mejoramiento genético de las cepas en Japón antes de regresar a Brasil. Dias *et al.* (2004) reportaron que la cepa original de Brasil tenía un aroma y sabor muy fuertes, lo cual la hacía difícil de consumir, pero que la cepa traída de Japón había perdido muchas de sus características originales y había adquirido un olor más agradable, una coloración más clara y era más grande. Más tarde, Tomizawa *et al.* (2007) reportaron que la mayoría de las cepas brasileñas comercializadas son todavía similares, sin embargo algunas cepas tienen una mayor variación. Esto podría ser posible toda vez que los cultivadores brasileños importan cepas directamente de otros países, principalmente porque no hay empresas especializadas que realicen el mantenimiento y la importación de las cepas en Brasil.

Efectos terapéuticos y uso gourmet

A diferencia de *A. bisporus* -el hongo comestible más comercializado- *A. blazei* se volvió famoso por sus efec-

tos terapéuticos en lugar de su uso gourmet. Varios artículos reportaron sus propiedades terapéuticas (Mizuno *et al.* 1990a, Mourão *et al.* 2009, Jumes *et al.* 2010, Mourão *et al.* 2011a, Mourão *et al.* 2011b); sin embargo, hubo pocos reportes sobre características sensoriales y aceptabilidad (Stijve *et al.* 2002, Escouto *et al.* 2005). El sabor de *A. blazei* es un ejemplo de polarización en la cual el consumidor se encuentra entre "gusta mucho" y "disgusta mucho" (Escouto *et al.* 2005). Mientras algunos artículos analizan y caracterizan el sabor (Chen y Wu 1984, Chang *et al.* 2001, Stijve *et al.* 2002) otros tratan de esconder el sabor del hongo en las bebidas (Tokumitsu *et al.* 2001, Zhang y Lai 2003).

Mizuno *et al.* (1995) indicaron que los efectos terapéuticos de *A. blazei* fueron reportados primeramente por Ikegawa y colegas en 1968, pero los artículos de Mizuno *et al.* (1990a, b) son los más conocidos. Se ha reportado que *A. blazei* fue usado por 300,000-500,000 personas para la prevención de cáncer y/o como un complemento de las drogas quimioterapéuticas usadas después de remover un tumor maligno (Takaku *et al.* 2001). La mayoría de la literatura reporta actividades antitumorales en una diversidad de modelos de tumor, pero hay otros reportes sobre actividad antidiabética, antihipertensiva, antimutagénica, antioxidante e inmunomodulatoria, entre otras, las cuales se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Reportes sobre los efectos terapéuticos de *Agaricus blazei*

Actividad	Fuente
Antibacteriana	Osaki *et al.* (1994)
Antidiabética	Kim *et al.* (2005)
Antihipertensiva	Watanabe *et al.* (2003)
Anti-inflamatoria	Komura *et al.* (2010) Mourão *et al.* (2011a)
Antimutagénica	Osaki *et al.* (1994) Delmanto *et al.* (2001) Menoli *et al.* (2001) Barbisan *et al.* (2003) Bellini *et al.* (2003) Souza-Paccola *et al.* (2004) Machado *et al.* (2005) Kawamura y Kasai (2007)
Antioxidante	Izawa e Inoue (2004) Huang y Mau (2006) Oliveira *et al.* (2007) Mourão *et al.* (2011b)
Antitumoral	Kawagishi *et al.* (1989) Mizuno *et al.* (1990a, b) Ito *et al.* (1997) Ebina y Fujimiya (1998) Mizuno *et al.* (1999) Ohno *et al.* (2001) Takaku *et al.* (2001) Oshiman *et al.* (2002) Lee *et al.* (2003) Kaneno *et al.* (2004) Mourão *et al.* (2009) Pinto *et al.* (2009) Jumes *et al.* (2010)
Inmunomodulatoria	Gennari (2000) Kataoka *et al.* (2002) Bernardshaw *et al.* (2005) Liu *et al.* (2007)
Revisiones sobre el efecto medicinal y farmacológico	Higaki *et al.* (1997) Mizuno (2002) Firenzuoli *et al.* (2008)

Cultivo

El primer hongo comestible producido a escala comercial en Brasil fue *A. bisporus* (J.E. Lange) Imbach, (Champignon de Paris), y representa actualmente 90% de la producción y el consumo de hongos en ese país. El cultivo empezó en 1953 cuando inmigrantes chinos e italianos que vivían en Mogi das Cruzes y Atibaia, respectivamente, trajeron tecnología y cepas de sus países de origen (Bononi *et al.* 1995). El cultivo brasileño a

través de los años no fue modernizado pero se dio una diversificación en el cultivo de hongos con la aparición de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., y *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler. Pocos cultivadores han invertido en tecnología, mecanización y control ambiental. Una de las principales barreras de comercialización fue la creencia de que los hongos son venenosos y los precios altos. Los hongos venenosos representan 10% de la población de los macrohongos (Chang 1993) y la introducción de tecnología está incrementando el rendimiento y reduciendo los precios; sin embargo, el factor principal de incrementar el consumo en Brasil fue el creciente interés por alimentos funcionales sin productos químicos, bajos en grasa, altos en proteína y con sabor agradable.

Al principio, las técnicas brasileñas para producir *A. bisporus* fueron las mismas utilizadas para producir *A. blazei* (Braga *et al.* 1998); sin embargo, varios artículos reportaron ajustes a la técnica para adaptarla a las necesidades del cultivo de *A. blazei* bajo condiciones brasileñas (Eira *et al.* 2005, Mantovani *et al.* 2007, Colauto *et al.* 2008, Zied *et al.* 2009, Colauto *et al.* 2010a, Colauto *et al.* 2010b, Colauto *et al.* 2010c, Zaghi Jr *et al.* 2010). Actualmente hay todavía muchas condiciones de cultivo por ser definidas para este hongo, sobre todo cuando Tomizawa *et al.* (2007) reportaron que *A. blazei* tiene sólo 3% de similaridad con *A. biporus* según técnicas RAPD. Además, hay una falta de información sobre plagas y enfermedades específicas de Brasil (Eira 2003). Por otra parte, se han reportado mejoras de rendimiento al estudiar fases específicas de la producción (Colauto *et al.* 2010a, Colauto *et al.* 2010b, Colauto *et al.* 2010c, Colauto *et al.* 2011b).

Braga *et al.* (1998) publicaron el primer libro sobre cultivo del hongo *A. blazei* en Brasil, con subproductos agrícolas locales como materia prima. Los autores reportaron que para la producción de carpóforos es necesario entender que cada fase de cultivo depende de la otra. Por lo tanto, cuando una de ellas no es bien realizada, el rendimiento en hongos puede verse totalmente comprometido (Figura 1).

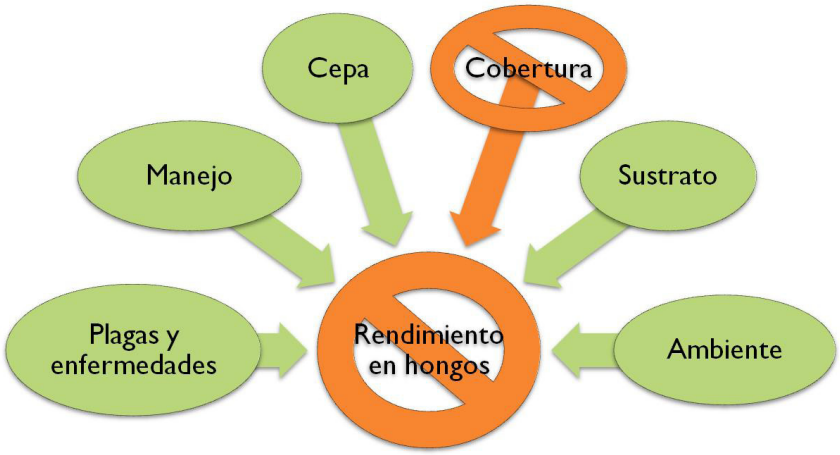


Figura 1. Efecto de las fases de cultivo de *Agaricus blazei* en el rendimiento en hongos.

Braga *et al.* (1998) reportaron las fases de cultivo de *A. blazei* y sus características: dos semanas para compostear con una relación carbono:nitrógeno (C:N) variable de 27:1 a 43:1 y pH de 6.5 a 7.5 con materias primas locales; cuatro horas a 50°C o una hora a 60°C para pasteurización; una semana para acondicionamiento con una relación final C:N de 17:1 y pH de 5.1 a 6.5; 1-2% de semilla (preparada en granos de trigo) en el sustrato (p/p); tres semanas para colonizar 15-18 kg de sustrato contenido en bolsas de plástico; una a tres semanas para incubación con cobertura de tierra local (subsuelo + $CaCO_3$, pH 7), con una capa de 4-6 cm de espesor; cuatro a doce semanas de cosecha en cámaras rústicas y bajo control ambiental. Cuando la producción de hongos se lleva a cabo en campo abierto, el sustrato colonizado es enterrado y una cobertura de subsuelo es agregada en la parte superior, de manera similar a los sistemas de cultivo en camas y después de cubrirla con rastrojo seco para mantener un ambiente húmedo. Este sistema fue abandonado después de observar bajos rendimientos, aún a pesar de las exclamaciones de los compradores de tener más alta producción de principios activos en cada

carpóforo.

El método de composteo, pasteurización y acondicionamiento de la materia prima es el más usado en Brasil para producir hongos. Sin embargo, otras técnicas como la esterilización del sustrato se encuentran en investigación (Mantovani *et al.* 2007, Zaghi Jr *et al.* 2010). Hay una variedad de materias primas y formulaciones para compostear pero la más usada es la de rastrojo con estiércol (Braga *et al.* 1998). Algunos ejemplos de formulaciones para composteo son presentadas en la Tabla 4. Puede observarse que la cantidad, más que el tipo de materia prima ha cambiado en el transcurso del tiempo y que el estiércol ha sido eliminado. Sin embargo, los materiales locales siempre requieren ser investigados antes de su uso en el composteo.

Tabla 4. Formulaciones de la composta para *Agaricus blazei*

Ejemplo de formulación (Braga *et al.* 1998)	Ejemplo de formulación (Colauto *et al.* 2010a)
Estiércol de caballo con heno (25%)	Bagazo de caña de azúcar (13.3%)
Bagazo de caña de azúcar (34%)	Pasto *Brachiaria* sp (21.2%)
Pasto Bermuda (*Cynodon dactylon*) (22%)	Pasto Bermuda (*Cynodon dactylon*) (58.4%)
Salvado de soya sin grasa (10%)	Salvado de soya sin grasa (3.7%)
Sulfato de amonio (1.25%)	Sulfato de amonio (1.3%)
Urea (0.75%)	Urea (1.3%)
Cal (4%)	Yeso (0.8%)
Fosfato (1%)	
Yeso (2%)	

Eira *et al.* (2005) reportaron investigaciones sobre composteo que dieron mejor rendimiento y calidad de sustrato cuando la relación C:N inicial fue de 150:1, con lo que alcanzaron 36% más de rendimiento en hongos que con una relación C:N de 40:1 de la composta tradicional.

La pasteurización (50°C por 4 h o 60°C por 1 h) y el acondicionamiento (una semana) todavía se hace según la misma técnica reportada por Braga *et al.* (1998), similar a la de *A. bisporus*; aunque cuando se presentan hongos competidores como la falsa trufa *Diehliomyces microsporus* (Diehl & E.B. Lamb.) Gilkey, se recomienda pasteurizar por cuatro horas a 62°C (Nascimento y Eira 2007).

Para la colonización micelial, se reporta lo siguiente: una densidad del sustrato de 20 kg/m^2 fue mejor (rendimiento en hongos 22% más alto) que 40 kg/m^2 o 60 kg/m^2 (Eira *et al.* 2005); las relaciones de C:N de 10:1 a 50:1 fueron mejores, en el rango de 2.5:1 a 50:1 (Mantovani *et al.* 2007), con mejores resultados con urea en lugar de sulfato de amonio como fuente de nitrógeno (Mantovani *et al.* 2007, D'Agostini *et al.* 2011) pero la mejor relación C:N para el sustrato fue de 11:1 en un rango de 11:1 a 248:1, que 15:1 a 50:1, cuando se usó fibra de soya como fuente de nitrógeno (Zaghi Jr *et al.* 2010); la temperatura optima de crecimiento micelial fue 30.5°C (mínimo 22°C y máximo 34°C) y el pH óptimo para crecimiento micelial fue de 5.6 (mínimo 4.0 y máximo 7.0) (Colauto *et al.* 2008). Para cultivar *A. bisporus*, la adición de $CaCO_3$ y/o $CaSO_4$ al compost mantiene el pH a 7.5 al final de la fase II y controla la disociación de NH_4 en NH_3 que es tóxico para el hongo (Gerrits 1988, Rinker 1993). Además, es usual ajustar el pH a 7.5 en la cobertura para impedir la competencia de hongos como *Trichoderma* sp. (Visscher 1988, Fermor *et al.* 2000). Estas técnicas debieran ser revisadas para el cultivo de *A. blazei* debido a las limitaciones del pH en el crecimiento del micelio según Colauto *et al.* (2008).

Para la producción de semilla, el micelio crece sobre granos de trigo y es inoculado en una tasa de 1-2% semilla/sustrato (p/p) (Braga *et al.* 1998). La producción y comercialización de semilla es realizada por laboratorios universitarios, cultivadores y pequeñas compañías. La calidad de la semilla comercializada es cuestionable y no hay reportes sobre las mejores condiciones de venta de las cepas para cultivo de hongos. Este sector en Brasil

está todavía en desarrollo y las quejas por semilla contaminada son todavía un problema a resolver.

Como cobertura, subsuelo local sin tratamiento (Braga *et al.* 1998) o subsuelo local con carbón (7:3) (Colauto *et al.* 2010a) son los más usados en Brasil para la producción de hongos, lo cual causa variaciones de rendimiento y poca productividad. La turba es la cobertura predominante en el mundo, y es un gran reto encontrar un sustituto que esté disponible en volumen y bajo costo para satisfacer la demanda de la producción de hongos. En Brasil, además del costo de importación, la importación de turba para propósitos agrícolas implica la inserción de riesgos de organismos/microorganismos exóticos. Además, en varias áreas de producción de hongos en el mundo, sobre todo en el hemisferio sur, no hay grandes cantidades de turba disponibles, por lo que suelo local es usado como cobertura (Vedie 1995). La turba brasileña es poco explotada comercialmente, pero es un recurso natural no renovable sujeto a la legislación nacional para la preservación del ambiente (Colauto *et al.* 2010a). Coberturas alternativas para sustituir la turba están siendo probadas, pero varios estudios son sólo pruebas empíricas de diferentes suelos sin analizar el papel de la cobertura sobre el rendimiento, o qué lo hace mejor a uno que otro (Cavalcante *et al.* 2008, Siqueira *et al.* 2009, Zied *et al.* 2009, 2010). Colauto *et al.* (2010a) reportaron coberturas alternativas para Brasil y sugirieron que ciertos factores fueran analizados antes de escoger una cobertura. Ellos señalaron: distribución del tamaño de partícula, porosidad y capacidad de retención de agua, pérdida de agua de la materia prima saturada y al final, sugirieron el uso de piedra caliza como una cobertura alternativa para Brasil, porque no es un recurso a base de carbón, más bien un subproducto mineral a base de calcita y un subproducto inerte de la industria de la calcita.

Como tratamiento para la cobertura, Braga *et al.* (1998) propusieron 60-65°C alcanzados con vapor, por seis horas o una solución de formaldehído 10% durante cuatro días para evitar plagas y enfermedades. Ellos recomendaron vapor en lugar de formaldehído porque este tratamiento deja trazas de residuos químicos en la cobertura. Colauto *et al.* (2010b) reportaron el efecto negativo de esterilizar la cobertura (piedra caliza) en el rendimiento en hongos. Colauto *et al.* (2010c) reportaron los beneficios de pasteurizar la cobertura (turba brasileña) en el rendimiento.

Como control del ambiente, Eira (2003) y Eira *et al.* (2005) sugirieron la reducción de la temperatura de 25°C a 18°C durante 3-5 días, y después regresar 25°C con incrementos de aireación (reducción de CO_2 a menos de 400 ppm), para inducir la fructificación. Colauto *et al.* (2010a) reportaron la reducción de la temperatura de 28°C a 20°C por 3-5 días con un posterior incremento a 23°C e incremento de la aireación (manteniendo 80% de humedad) para inducir la fructificación. Para cultivadores sin o con escaso control ambiental, la diferencia entre el día y la noche es la responsable de la fructificación, pero se observan usualmente rendimientos irregulares, retrasados y bajos (Zied *et al.* 2010, Colauto *et al.* 2011b). La mayoría de los cultivadores usan bolsas de plástico como contenedores, pero hay algunos pocos cultivadores tecnificados que usan sistemas con charolas o anaqueles para el cultivo.

La producción de hongos es evaluada como eficiencia biológica (EB) que resulta de dividir la masa fresca de carpóforos entre la masa seca de sustrato, expresada como porcentaje (Colauto *et al.* 2010a). La EB varía a causa de diversos aspectos; la mayoría de estudios sobre EB con *A. blazei* en Brasil se refieren a los efectos de la cobertura. La cobertura ha sido estudiada en los últimos 60 años y debido a la complejidad de las variables involucradas, hay mucha controversia y dificultad para comparar resultados y por lo tanto, su rol y sus características no han sido totalmente comprendidas (Colauto *et al.* 2010a). En Brasil, no hay una cobertura estándar y comercial, por lo que, en general, cada cultivador usa subsuelo local como cobertura (Braga *et al.* 1998). En la Tabla 5, se muestra la EB de *A. blazei* cultivado en campo y en módulos y se compara con EB de *A. bisporus*.

Tabla 5. Eficiencia Biológica (EB) y período de cultivo (PC) de *Agaricus blazei* y *A bisporus*

Hongo	Campo/ Módulo	EB (%)	PC (días)	Relación EB/ PC*100	Fuente
A. blazei	Módulo	47	66	71	Colauto *et al.* (2010a)
A. blazei	Módulo	57*	95	60	Zied y Minhoni (2009)
A. blazei	Módulo	53*	100	53	Zied *et al.* (2010)
A. blazei	Módulo	30*	60	50	Braga *et al.* (1998)
A. blazei	Módulo	55	109	50	Siqueira *et al.* (2009)
A. blazei	Módulo	36	94	38	Zied *et al.* (2009)
A. blazei	Módulo	31	90*	34	Kopytowski Filho y Minhoni (2004)
A. blazei	Campo	26	90	28	Cavalcante *et al.* (2008)
A. blazei	Módulo	34	127	27	Andrade *et al.* (2007)
A. bisporus	Módulo	99	21	471	Sánchez y Royse (2009)

*Estimado

Entre 1998 y 2010, la EB de *A. blazei* incrementó 1.6 veces, pero si se usara el cultivo de *A. bisporus* como referencia, la EB debería incrementarse 3.3 veces (Tabla 5). Por lo tanto, mucha investigación es todavía necesaria para obtener mejores rendimientos en un corto período de tiempo para el cultivo de *A. blazei*. En lo que se refiere a la relación EB/PC (Tabla 5), la más alta eficiencia para *A. blazei* fue reportada por Colauto *et al.* (2010a). La EB en cultivo en campo (cultivo en cama) comparada con cultivo en módulo no es, sorprendentemente, la más baja (Tabla 5). Además, Zied *et al.* (2010) reportaron que el mejor rendimiento fue obtenido en un ambiente con bajo control (módulo rústico) en comparación con un ambiente altamente controlado. Esto indica que no hay una total comprensión del ambiente necesario y el manejo para producir *A. blazei*.

En la Tabla 6, se comparan diferentes coberturas en relación a la EB y PC; los mejores resultados son reportados por Colauto *et al.* (2010a) con piedra caliza y dos turbas brasileñas. Un avance fue logrado de 1998 a 2010 cuando las coberturas alternativas mejoraron el rendimiento en hongos (Tabla 6). La piedra caliza fue considerada la mejor cobertura comparada con las turbas brasileñas (Colauto *et al.* 2010a) y sería interesante compararla con la turba europea. También, sería interesante verificar si la piedra caliza es una buena alternativa para el cultivo de *A. bisporus*.

La preservación de *A. blazei* es otro tema importante con respecto al mejoramiento logrado en la actividad antitumoral y la producción en futuros programas de cruzamiento genético. La Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC, por sus siglas en inglés) tiene depositadas cepas de *A. blazei* pero no hay reportes sobre su preservación. Colauto y colaboradores estudiaron la criopreservación de *A. blazei* y encontraron después de cuatro años de criopreservación en ultracongelador a -70°C, que la sacarosa y la glucosa fueron mejores agentes crioprotectores que el dimetil sulfóxido, el glicerol o el polietilen glicol (Colauto *et al*. 2011a).

Plagas, enfermedades y contaminación con metales pesados

Existen pocos reportes sobre plagas y enfermedades durante la producción de *A. blazei* porque es un cultivo nuevo en Brasil y en el mundo. Menzel *et al.* (2003) reportaron el primer problema de cultivo con especies de esciáridos (*Bradysia difformis* y *Bradysia ocellaris*) y el primer registro de estas especies en Brasil. Eira (2003) reportó reducciones de rendimiento a causa de *Mycogone* sp. y *Verticillium* sp. Nascimento y Eira (2007) reportaron *Diehliomyces microsporus* y Andrade *et al.* (2007) *Trichoderma* sp. y *Chaetomium olivaceum* Cooke & Ellis. Eira *et al.* (2005) reportaron también problemas con mosquitos, ácaros y nemátodos en varios módulos

de cultivadores.

Otro problema de este hongo es la acumulación de metales pesados del sustrato o de la cobertura. Huang *et al.* (2008) reportaron acumulación de cadmio en carpóforos de *A. blazei*, lo que es un problema de salud, especialmente porque este hongo se utiliza como tratamiento para personas con neoplasias.

Tabla 6. Eficiencia Biológica (EB) y período de cultivo (PC) con diferentes coberturas brasileñas durante el cultivo de *Agaricus blazei*

Coberturas	EB (%)	PC (días)	Relación BE/ CP*100	Fuente
Piedra caliza	47	66	71	Colauto *et al.* (2010a)
Turba Santa Catarina	45	66	68	Colauto *et al.* (2010a)
Turba São Paulo	34	66	52	Colauto *et al.* (2010a)
Subsuelo rhodic hapludox + carbón	55	109	50	Siqueira *et al.* (2009)
Subsuelo rojo amarillo podsol + $CaCO_3$	30*	60	50	Braga *et al.* (1998)
Subsuelo+carbón + cal + gel acrilamida	36	94	38	Zied *et al.* (2009)
Subsuelo rojo amarillo podsol + carbón	24	66	36	Colauto *et al.* (2010a)
Subsuelo + carbón + cal	28	94	30	Zied *et al.* (2009)
Subsuelo xanthic hapludox	23	109	21	Siqueira *et al.* (2009)
Subsuelo húmico haplaquox	16	109	15	Siqueira *et al.* (2009)

Cosecha y procesamiento del hongo

Los carpóforos son cosechados antes de la ruptura del velo, al igual que en la cosecha de *A. bisporus*, pero sin cortar la base del estípite. Después, el carpóforo es prelavado con agua corriente, cepillado, seleccionado, cortado en tiras y secado. Los carpóforos secos se vuelven ligeramente amarillos y son almacenados en bolsas de polipropileno con envoltura de silica. Otra alternativa de procesamiento es hacer polvo de los carpóforos secos y almacenarlos en frascos (Braga *et al.* 1998).

Camelini *et al.* (2005) sugirieron que los carpóforos abiertos tienen mayor actividad biológica que los carpóforos cerrados debido a una mayor concentración y diversidad de glucanos y proteínas. Mourão *et al.* (2009) reportaron que, según una prueba *in vivo,* los carpóforos cerrados, sin ruptura del velo, tienden a tener una actividad neoplásica mejor y más estable que los abiertos, aunque no se encontraron diferencias significativas entre ellos. No obstante, Mourão *et al.* (2011a) y Mourão *et al.* (2011b) reportaron que hay una actividad anti-inflamatoria y antioxidante, respectivamente, más alta en carpóforos cerrados que en los abiertos. Por otra parte, los carpóforos abiertos son considerados visualmente menos atractivos por los consumidores por la liberación de esporas oscuras que dan un aspecto sucio al carpóforo. Por esto último, los carpóforos cerrados, en lugar de los abiertos, son la forma más comercializada en Brasil.

Futuros temas de investigación

El cultivo de *A. blazei* necesita más investigación para alcanzar más altos principios activos y sobre todo, más altos rendimientos de hongos en corto tiempo, cuando se le compara con el cultivo de *A. bisporus*. El cruzamiento genético no es explotado todavía en Brasil. Las formulaciones de la composta todavía necesitan

mejorar según la materia prima disponible, pero parece que el potencial pleno en esta área no ha sido todavía encontrado. Los métodos no composteados (cultivo axénico) son alternativas para ser explotadas en un país con una gran variedad de subproductos agrícolas. La cobertura todavía permanece como un área que demanda esfuerzos para ser comprendida. El manejo y la preservación están en sus primeros pasos para este hongo, pero el cultivo sumergido es un área que ha estado aumentando en estudios con el fin de extraer los principios activos del micelio. También, la biotecnología es una herramienta que se ha utilizado poco para mejorar el cultivo de este hongo, en la medida en que puede modificar los atributos mediante la introducción de material genético de la misma especie o de otras. O incluso, puede utilizar sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos con el fin de mejorar las características de interés económico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a El Colegio de la Frontera Sur (México) y la Universidad Paranaense (Brasil).

REFERENCIAS

Amazonas MALA, Siqueira P (2003) *Champignon do Brasil* (*Agaricus brasiliensis*): *ciência, saúde e sabor.* Embrapa Florestas. 45p.

Andrade MCN, Kopytowski Filho J, Minhoni MTA, Coutinho LN, Figueiredo MB (2007) Productivity, biological efficiency, and number of *Agaricus blazei* mushrooms grown in compost in the presence of *Trichoderma* sp. and *Chaetomium olivacearum* contaminants. *Brazilian J. of Microbiol.* 38:243-247.

Barbisan LF, Scolastici C, Miyamoto M, Salvadori DM, Ribeiro LR, Eira AF, Camargo JL (2003) Effects of crude extracts of *Agaricus blazei* on DNA damage and on rat liver carcinogenesis induced by diethylnitrosamine. *Genetics Mol. Res.* 2:295-308.

Bellini MF, Giacomini N, Eira AF, Ribeiro LR, Mantovani MS (2003) Anticlastogenic effect of aqueous extracts of *Agaricus blazei* on CHO-k1 cells, studying different developmental phases of the mushroom. *Toxicology in Vitro* 17:465-469.

Bernardshaw S, Johnson E, Hetland G (2005) An extract of the mushroom *Agaricus blazei* Murill administered orally protects against systemic *Streptococcus pneumoniae* infection in mice. *Scandinavian J. of Immunol.* 62:393-398.

Bononi VLR, Capelari M, Maziero R, Trufen SFB (1995) *Cultivo de Cogumelos Comestíveis*. Icone. 206p.

Braga GC, Eira AF, Celso PG, Colauto NB (1998) *Manual do Cultivo de Agaricus blazei* Murr. *"Cogumelo-do-Sol"*. FEPAF. 44p.

Camelini CM, Maraschin M, Mendonça MM, Zucco C, Ferreira AG, Tavares LA (2005) Structural characterization of β-glucans of *Agaricus brasiliensis* in different stages of fruiting body maturity and their use in nutraceutical products. *Biotechnology Letters* 27:1295-1299.

Cavalcante JLR, Gomes VFF, Kopytowski Filho J, Minhoni MTA, Andrade MCN (2008) Cultivation of *Agaricus blazei* in the environmental protection area of the Baturité region under three types of casing soils. *Acta Scientiarum. Agronomy* 30:513-517.

Chang HL, Chau GR, Chen CC, Mau JL (2001) Nonvolatile taste components of *Agaricus blazei*, *Antrodia camphorate* and *Cordiceps militaris* mycelia. *Food Chemistry* 74:203-207.

Chang ST (1993) *Mushroom Biology*: *The impact on mushroom production and mushroom products.* Chinese University of Hong Kong. 35p.

Chen CC, Wu CM (1984) Volatile components of mushroom (*Agaricus subrufescens*). *J. Food Sc.* 49:1208-1209.

Colauto NB, Aizono PM, Carvalho LRM, Paccola-Meirelles LD, Linde GA (2008) Temperature and pH conditions for mycelial growth of *Agaricus brasiliensis* on axenic cultivation. *Semina: Ciências Agrárias* 29:307-312.

Colauto NB, Cordeiro FA, Geromini KVN, Lima TG, Lopes AD, Nunes RAR, Roratto FB, Tanaka HS, Zaghi Junior LL, Linde GA (2011a) Viability of *Agaricus blazei* after long-term cryopreservation. *Annals of Microbiology* (*in press*). Doi: 10.1007/s13213-011-0368-5.

Colauto NB, Dias ES, Gimenes MA, Eira AF (2002) Genetic characterization of isolates of the basidiomycete *Agaricus blazei* by RAPD. *Brazilian J. of Microbiol.* 33:131-133.

Colauto NB, Silveira AR, Eira AF, Linde GA (2010a) Alternative to peat for *Agaricus brasiliensis* yield. *Bioresource*

Technology 101:712-716.

Colauto NB, Silveira AR, Eira AF, Linde GA (2010b) Thermal treatments on lime schist casing layer for *Agaricus brasiliensis* cultivation. *Ciência Rural* 40:1660-1663.

Colauto NB, Silveira AR, Eira AF, Linde GA (2010c) Pasteurization of Brazilian peat for *Agaricus brasiliensis* cultivation. *Semina: Ciências Agrárias* 31:1331-1336.

Colauto NB, Silveira AR, Eira AF, Linde GA (2011b) Production flush of *Agaricus blazei* on Brazilian casing layers. *Brazilian J. of Microbiol.* 42:616-623.

D'Agostini EC, Mantovani TRD, Valle JS, Paccola-Meirelles LD, Colauto NB, Linde GA (2011) Low carbon/nitrogen ratio increases laccase production from basidiomycetes in solid substrate cultivation. *Scientia Agricola* 68:295-300.

Delmanto RD, Lima PLA, Sugui MM, Eira AF, Salvatori DMF, Speit G, Ribeiro LR (2001) Antimutagenic effect of *Agaricus blazei* Murrill mushroom on the genotoxicity induced by cyclophosphamide. *Mutation Research* 496:15-21.

Dias ES, Abe C, Schwan RF (2004) Truths and myths about the mushroom *Agaricus blazei*. *Scientia Agricola* 61:545-549.

Dias ES, Labory CRG, Herrera KMS, Alves, AA, Torres GA, Rinker DL (2008) Cytological studies of *Agaricus brasiliensis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24:2473-2479.

Ebina T, Fujimiya Y (1998) Antitumor effect of a peptideglucan preparation extracted from *Agaricus blazei* in a double-grafted tumor system in mice. *Biotherapy* 11:259-265.

Eira AF (2003) *Cultivo do Cogumelo Medicinal Agaricus blazei (Murrill) ss. Heinemann ou Agaricus brasiliensis (Wasser et al.)*. Aprenda Fácil. 398p.

Eira AF, Nascimento JS, Colauto NB, Celso PG (2005) Tecnologia de cultivo do cogumelo medicinal *Agaricus blazei* (*Agaricus brasiliensis*). *Agropecuária Catarinense* 18:45-49.

Ellis JB, Everhart BM (1893) New species of fungi from various localities. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 45:440. http://www.biodiversitylibrary.org/item/17606#456 (October 2, 2010).

Escouto LFS, Colauto NB, Linde GA, Aizono PM, Carvalho LRM, Eira AF (2005) Acceptability of the sensory characteristics of the Brazilian mushroom *Agaricus brasiliensis*. *Brazilian Journal of Food Technology* 8:321-325.

Fermor TR, Lincoln SP, Noble R, Dobrovin-Pennington A, Colauto NB (2000) Microbiological properties of casing. En: van Griensven LJLD (ed) *Science and Cultivation of Edible Fungi*. A.A. Balkema. 447-454.

Firenzuoli F, Gori L, Lombardo G (2008) The medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murril: review of literature and pharmacotoxicological problems. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 5:3-15.

Fries EM (1830) Eclogae fungorum, praecipue ex herbarus germanorum de scriptorum. *Linnaea* 5:509.

Fukuda M, Ohno S, Kato M (2003) Genetic variation in cultivated strains of *Agaricus blazei*. *Mycoscience* 44:431-436.

Gennari JL (2000) Casos clínicos sobre o emprego do cogumelo *Agaricus sylvaticus* no câncer e na AIDS. *Journal of Biomolecular Medicine & Free Radicals* 6:9-11.

Gerrits JPG (1988) Nutrition and compost. En: Van Griensven LJLD (ed) *The Cultivation of Mushrooms*. Springer. 29-72.

Heinemann P (1993) Agarici Austroamericani VIII. Agariceae des regions intertropicales d'Amerique du Sud. *Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique* 62:355-384.

Higaki M, Eguchi F, Watanabe Y (1997) A stable culturing method and pharmacological effects of *Agaricus blazei*. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 110:98-103.

Huang JC, Li KB, Yu YR, Wu H, Liu DL (2008) Cadmium accumulation in *Agaricus blazei* Murrill. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88:1369-1375.

Huang SJ, Mau JL (2006) Antioxidant properties of methanolic extracts from *Agaricus blazei* with various doses of γ-irradiation. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie* 39:707-716.

Ito H, Shimura K, Itoh H, Kawade M (1997) Antitumor effects effects of a new polysaccharide-protein complex (ATOM) prepared from *Agaricus blazei* (Iwade strain 101) ''Himematsutake'' and its mechanisms in tumor-bearing mice. *Anticancer Research* 17(1A):277-284.

Izawa S, Inoue YA (2004) A screening system for antioxidants using thioredoxin-deficient yeast: discovery of thermostable antioxidant activity from *Agaricus blazei* Murill. *Applied Microbiology and Biotechnology* 64:537-542.

Jumes FMD, Lugarini D, Pereira ALB, Oliveira A, Christoff AO, Linde GA, Valle JS, Colauto NB, Acco A (2010) Effects of *Agaricus brasiliensis* mushroom in Walker-256 tumor-bearing rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 88:21-27.

Kaneno R, Fontanari LM, Santos SA, Di Stasi LC, Rodrigues Filho E, Eira AF (2004) Effects of extracts from Brazilian sun-mushroom (*Agaricus blazei*) on the NK activity and lymphoproliferative responsiveness of Ehrlich tumor-bearing mice. *Food and Chemical Toxicology* 42: 909-916.

Kataoka K, Muta T, Yamazaki S, Takeshige K (2002) Activation of macrophages by linear (1-3)-β-D-glucans. Implications for the recognition of fungi by innate immunity. *The Journal of Biological Chemistry* 277:36825-36831.

Kawagishi H, Inagaki R, Kanao T, Mizuno T (1989) Fractionation and antitumor activity of the water-insoluble residue of *Agaricus blazei* fruiting bodies. *Carbohydrate Research* 186:267-273.

Kawamura M, Kasai H (2007) Delayed cell cycle progression and apoptosis induced by hemicellulase-treated *Agaricus blazei*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 4:83-94.

Kerrigan RW (2005) *Agaricus subrufescens*, a cultivated edible and medicinal mushroom and its synonyms. *Mycologia* 97:12-24.

Kerrigan RW (2007) Inclusive and exclusive concepts of *Agaricus subrufescens* Peck: a reply to Wasser *et al. International Journal of Medicinal Mushrooms* 9:79-84.

Kim YW, Kim KH, Choi HJ, Lee DS (2005) Anti-diabetic activity of β-glucans and their enzymatically hydrolyzed oligosaccharides from *Agaricus blazei*. *Biotechnology Letters* 27:483-487.

Komura DL, Carbonero ER, Gracher AHP, Baggio CH, Freitas CS, Marcon R, Santos ARS, Gorin PAJ, Iacomini M, (2010) Structure of *Agaricus* spp. fucogalactans and their anti-inflammatory and antinociceptive properties. *Bioresource Technology* 101:6192-6199.

Kopytowski Filho J, Minhoni MT (2004) Nitrogen sources and C/N ratio on yield of *Agaricus blazei*. En: Romaine CP, Keil CB, Rinker DL, Royse DJ (eds) *Science and Cultivation of Edible and Medicinal Fungi.* Penn State University. 213-220.

Kopytowski Filho J, Minhoni MTA, Estrada AER (2006) *Agaricus blazei*: "The Almond Portobello" cultivation and commercialization. *Mushroom News* 54:22-28.

Lee YL, Kim HJ, Lee MS, Kim JM, Han JS, Hong EK, Kwon MS, Lee MJ (2003) Oral administration of *Agaricus blazei* (H1 Strain) inhibited tumor growth in a sarcoma 180 inoculation model. *Experimental Animals* 52:371-375.

Liu Y, Fukuwatari Y, Okumura K, Takeda K, Ishibashi KI, Furukawa M, Ohno N, Mori K, Gao M, Motoi M (2007) Immunomodulating activity of *Agaricus brasiliensis* KA21 in mice and in human volunteers. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 5:205-219.

Machado MP, Filho ER, Terezan AP, Ribeiro LR, Mantovani MS (2005) Cytotoxicity, genotoxicity and antimutagenicity of hexane extracts of *Agaricus blazei* determined in vitro by the comet assay and CHO/HGPRT gene mutation assay. *Toxicology in Vitro* 19: 533-539.

Mantovani TRD, Linde GA, Colauto NB (2007) Effect of the addition of nitrogen sources to cassava fiber and carbon-to-nitrogen ratios on *Agaricus brasiliensis* growth. *Canadian Journal of Microbiology* 53:139-143.

Menoli RCRN, Mantovani MS, Ribeiro LR, Speit G, Jordão BQ (2001) Antimutagenic effect of the mushroom *Agaricus blazei* Murrill extracts on V79 cells. *Mutation Research* 496:5-13.

Menzel F, Smith JE, Colauto NB (2003) *Bradysia difformis* Frey and *Bradysia ocellaris* (Comstock): two additional neotropical species of black fungus gnats (Diptera, Sciaridae) of economic importance: a redescription and review. *Annals of the Entomological Society of America* 96:448-457.

Mizuno M, Minato K, Ito H, Kawade M, Terai H, Tsuchida H (1999) Anti-tumor polysaccharide from the mycelium of liquid-cultured *Agaricus blazei* mill. *Biochemistry and Molecular Biology International* 47:707-714.

Mizuno T (1995) Kawariharatake, *Agaricus blazei* Murill: medicinal and dietary effects. *Food Reviews International* 11:167-172.

Mizuno T (2002) Medicinal properties and clinical effects of culinary-medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murrill (Agaricomycetideae) (review). *International Journal of Medicinal Mushrooms* 4:299-312

Mizuno T, Hagiwara T, Nakamura T, Ito H, Shimura K, Sumiya T, Asakura A (1990a) Antitumor activity and some properties of water-soluble polysaccharides from 'Himematsutake', the fruiting body of *Agaricus blazei* Murrill. *Agricultural and Biological Chemistry* 54:2889-2896.

Mizuno T, Inagaki R, Kanao T, Hagiwara T, Nakamura T, Ito H, Shimura K, Sumiya T, Asakura A (1990b) Antitumor activity and some properties of water-insoluble hetero-glycans from 'Himematsutake', the fruiting body of *Agaricus blazei* Murrill. *Agricultural and Biological Chemistry* 54:2897-2905.

Mizuno T, Saito H, Nishitoba T, Kawagishi H (1995) Antitumor active substances from mushrooms. *Food Reviews International* 11:23-61.

Mourão F, Linde GA, Messa M, Cunha Jr PL, Silva AV, Eira AF, Colauto NB (2009) Antineoplasic activity of *Agaricus brasiliensis* basidiocarps on different maturation phases. *Brazilian Journal of Microbiology* 40:901-905.

Mourão F, Umeo SH, Bertéli MBD, Lourenço EL, Gasparotto-Jr A, Takemura OS, Linde GA, Colauto NB (2011a) Anti-inflammatory activity of *Agaricus blazei* in different basidiocarp maturation. *Food and Agricultural Immunology* 22:325-333.

Mourão F, Umeo SH, Takemura OS, Linde GA, Colauto NB (2011b) Antioxidant activity of *Agaricus brasiliensis* basidiocarps on different maturation phases. *Brazilian Journal of Microbiology* 42:197-202.

Nascimento JS, Eira AF (2007) Isolation and mycelial growth of *Diehliomyces microsporus*: effect of culture medium and incubation temperature. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 50:587-595.

Ohno N, Furukawa M, Miura NN, Adachi Y, Motoi M, Yadomae T (2001) Antitumor β-glucan from the cultured fruit body of *Agaricus blazei*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 24:820-828.

Oliveira OM, Vellosa JC, Fernandes AS, Buffa-Filho W, Hakime-Silva RA, Furlan M, Brunetti IL (2007) Antioxidant activity of *Agaricus blazei*. *Fitoterapia* 78:263-264.

Ortiz CH, Gannone DO, Fukuhara FA, Osako J, Reis RM, Cassano FA (2007) Fatores competitivos brasileiros que influenciam a internacionalização do cogumelo *Agaricus blazei* para o Japão. *Jovens Pesquisadores* 4(1). http://www.mackenzie.br/dhtm/seer/index.php/jovenspesquisadores/article/viewFile/888/405 (October 2, 2010).

Osaki Y, Kato T, Yamamoto K, Okubo J, Miyazaki T (1994) Antimutagenic and bactericidal substances in the fruit body of a Basidiomycete *Agaricus blazei*, Jun-17. *Yakugaku Zasshi* 114:342-350.

Oshiman K, Fujimiya Y, Ebina T, Suzuki I, Noji M. (2002) Orally administered b-1,6-D-polyglucose extracted from *Agaricus blazei* results in tumor regression in tumor-bearing mice. *Planta Medica* 68:610-614.

Pinto AV, Martins PR, Romagnoli GG, Campanelli AP, Terezan AP, Filho ER, Eira FA, Kaneno R (2009) Polysaccharide fraction of *Agaricus brasiliensis* avoids tumor-induced IL-10 production and changes the microenvironment of subcutaneous Ehrlich adenocarcinoma. *Cellular Immunology* 256:27-38.

Rinker DL (1993) *Commercial Mushroom Production*. Queen's Printer for Ontário. 41p.

Sanchez JE, Royse DJ (2009) *Scytalidium thermophilum*-colonized grain, corncobs and chopped wheat straw substrates for the production of *Agaricus bisporus*. *Bioresource Technology* 100:1670-1674.

Siqueira FG, Dias ES, Silva R, Martos ET, Rinker DL (2009) Cultivation of *Agaricus blazei* ss. Heinemann using different soils as source of casing materials. *Scientia Agricola* 66:827-830.

Souza-Paccola EA, Bomfeti CA, Fávaro LCL, Fonseca ICB, Paccola-Meirelles LD (2004) Antimutagenic action of *Lentinula edodes* and *Agaricus blazei* on *Aspergillus nidulans* conidia. *Brazilian Journal of Microbiology* 35:311-315.

Stijve T, Amazonas MALA (2001) *Agaricus blazei* Murrill, un noveau champignon gourmet et medicament qui nous vient de Bresil. *Miscellanea Mycologica* 69:41-47.

Stijve T, Amazonas MALA, Giller V (2002) Flavour and taste components of *Agaricus blazei* ss. Heinem. A new gourmet and medicinal mushroom. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 98:448-453.

Takaku T, Kimura Y, Okuda H (2001) Isolation of an antitumor compound from *Agaricus blazei* Murill and its mechanism of action. *Journal of Nutrition* 131: 1409-1413.

Tokumitsu O, Tomoko O, Norie M, Tomomi T, Hiroko N, Shoko F, Ohsugi M (2001) Characteristics of wine produced by mushroom fermentation. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 65:1596-1600.

Tomizawa MM, Dias ES, Assis LJ, Gomide PHO, Santos JB (2007) Genetic variability of mushroom isolates *Agaricus blazei* using markers RAPD. *Ciência e Agrotecnologia* 31:1242-1249.

Vedie R (1995) Perforated plastic film coverage of the casing soil and its influence on yield and microflora. En: Elliot TJ (ed) *Science and Cultivation of Edible Fungi*. A.A. Balkema. 347-352.

Visscher HR (1988) Casing soil. En: van Griensven LJLD (ed) *The Cultivation of Mushrooms*. Springer. 73-89.

Wasser SP, Didukh MY, Amazonas MALA, Nevo E, Stamets P, Eira AF (2005) Is a widely cultivated culinary-medicinal royal sun Agaricus (Champignon do Brazil, or himematsutake mushroom) *Agaricus brasiliensis* S.Wasser *et al.* indeed a synonym of *A. subrufescens* Peck? *International Journal of Medicinal Mushrooms* 7:507-511.

Wasser SP, Didukh MY, Amazonas MALA, Nevo E, Stamets P, Eira AF (2002) Is a widely cultivated culinary-medicinal royal sun Agaricus (the himematsutake mushroom) indeed *Agaricus blazei* Murrill? *International Journal of Medicinal Mushrooms* 4:267-290.

Watanabe T, Kawashita A, Ishi S, Mazumder TK, Nagai S, Tsuji K, Dan T (2003) Antihypertensive effect of gamma-aminobutyric acidenriched *Agaricus blazei* on mild hypertensive human subjects. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi* 50:167-173.

Wisitrassameewong K, Karunarathna SC, Thongklang N, Zhao R, Callac P, Moukha S, Férandon C, Chukeatirote E, Hyde KD (2012) *Agaricus subrufescens*: a review. *Saudi Journal of Biological Sciences* (*in press*). Doi: 10.1016/j.sjbs.2012.01.003.

Zaghi Jr LL, Linde GA, Colauto NB (2010) Carbon-to-nitrogen ratios for *Agaricus brasiliensis* on the axenic method. *Acta Scientiarum. Agronomy* 32:55-60.

Zhang W, Lai J (2003) Study on stability of *Agaricus blazei* mycelia beverage. *Edible Fungi of China* 22:40-42.

Zied DC, Minhoni MTA (2009) Influência do ambiente de cultivo na produção do cogumelo *Agaricus blazei* ss. Heinemann (*A. brasiliensis*). *Revista Energia na Agricultura* 24:17-34.

Zied DC, Minhoni MTA, Kopytowski Filho J, Andrade MCN (2010) Production of *Agaricus blazei* ss. Heinemann (*A.*

brasiliensis) on different casing layers and environments. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 26:1857-1863.

Zied DC, Minhoni MTA, Kopytowski Filho J, Arruda DP, Andrade MCN (2009) Production of *Agaricus blazei* ss. Heinemann (*A. brasiliensis*) in function of different casing layers and composts. *Interciencia* 34:437-442.

3.4 *AGARICUS SUBRUFESCENS* UN HONGO COMESTIBLE Y MEDICINAL DE GRAN POTENCIAL EN MÉXICO

Gerardo Mata*, Jean Michel Savoie**

*Instituto de Ecología, A.C. Carretera Antigua a Coatepec No. 351, El Haya, Xalapa 91070, Veracruz México.
**INRA, Bordeaux, BP 81 Villenave d'Ornon Cedex, Francia
gerardo.mata@inecol.edu.mx

RESUMEN

Agaricus subrufescens (= *A. blazei*) es un hongo comestible y medicinal que actualmente es considerado como un "hongo gourmet". Durante la década de 1970 se colectaron ejemplares en Brasil y se les consideró como pertenecientes a la especie *A. blazei*. Según reportes obtenidos de algunos nativos del área, se consideraba que quienes consumían regularmente este hongo presentaban una baja incidencia de algunas enfermedades típicamente presentes en adultos. Este fenómeno motivó la realización de diversas investigaciones con cepas obtenidas de Brasil que confirmaron que este hongo activa significativamente el sistema inmune. *A. subrufescens* se comercializa actualmente con varios nombres, entre los que se incluyen cogumelo de vida, himematsutake, agarico de sol real y hongo almendra. Uno de los principales atractivos del cultivo de *A. subrufescens* es su capacidad para crecer en temperaturas relativamente altas, lo cual potenciaría diferentes zonas de México para su cultivo. Se presenta un análisis actual sobre su biología y se discute sobre la posibilidad de implementar su cultivo en México.

Palabras clave: *Agaricus brasiliensis*, *A. blazei*, cogumelo de vida, hongo almendra, hongo del sol, himematsutake, hongos nutraceúticos.

INTRODUCCIÓN

La salud y la sustentabilidad se han convertido definitivamente en una estrategia actual de la agricultura ya que un creciente número de consumidores demandan productos saludables. La competencia entre la producción de alimento para consumo humano y animal, la producción de biocombustibles, fibras etc., ejercen una enorme presión sobre los recursos agrícolas que comienzan a verse afectados además por el cambio climático, los largos períodos de sequía y la pérdida de la biodiversidad. Por otra parte las industrias que producen suplementos alimenticios saludables y cosméticos, están en busca de nuevos recursos provenientes de la agricultura orgánica que puedan ser incorporados como nuevos productos.

Los hongos llamados "gourmet" (por sus propiedades tanto nutritivas como medicinales) pueden contribuir al desarrollo de una nueva cultura dirigida a las demandas del consumidor que exige cada vez más productos orgánicos. El uso de los hongos por el hombre se remonta hasta los tiempos del paleolítico (Peintner *et al*. 1998). Los hongos se han consumido no sólo como parte de la dieta normal sino también como alimentos especiales debido a su sabor y delicado aroma. Actualmente el consumo de hongos con propiedades terapéuticas crece día con día y la oferta de los productos obtenidos a partir de estos organismos es cada vez mayor. Algunos de los más importantes hongos comestibles y medicinales consumidos en la actualidad son miembros del género *Agaricus*, el cual agrupa a hongos saprófitos que actúan como descomponedores secundarios del humus de los bosques y prados. Una vez que se ha entendido el valor de reciclar los residuos a través de la utilización de hongos conocidos como "gourmet", se generan nuevas oportunidades económicas que son consideradas como

ambientalmente positivas. El objetivo de este trabajo es dar a conocer información básica sobre el hongo comestible y medicinal *Agaricus subrufescens*, una especie de gran potencial para su cultivo en México.

AGARICUS SUBRUFESCENS, UN HONGO GOURMET

Agaricus subrufescens Peck (= *A. blazei* Murrill) originario de Brasil, es un hongo cultivado que actualmente es utilizado y estudiado por sus propiedades medicinales y terapéuticas (Mizuno *et al*. 1990, Wasser *et al*. 2002, Lee *et al*. 2003, Takimoto *et al*. 2004, Kobayashi *et al*. 2005, Angeli *et al*. 2006, Amazonas 2007). Algunos campesinos de Piedade (interior del Estado de Sao Paulo, en Brasil) reportaron que el hongo fue enviado a Japón en la década de los 60's con fines de estudiar sus propiedades medicinales (de Mendoça *et al*. 2005) ya que se consideraba que quienes consumían regularmente el hongo presentaban una baja incidencia de algunas enfermedades típicas de adultos. Este fenómeno motivó la realización de diversas investigaciones con cepas obtenidas de Brasil que confirmaron que este hongo activa significativamente el sistema inmune. A partir de la obtención de muestras de Brasil, los micólogos japoneses fueron pioneros en el cultivo de esta especie en los 1970's y de su acreditación para colocarla a la vanguardia. Su principal mercado es Japón, donde tiene una excelente reputación como uno de los más caros de todos los hongos medicinales y comestibles (de Mendoça *et al*. 2005). En la última década, el hongo ha sido estudiado como un nuevo alimento funcional en Japón, Corea, China y Taiwán. Se ha convertido en el centro de una industria de 500 millones de euros en Japón desde 1995. El cultivo comercial en América del Norte acaba de iniciar y es muy escaso en Europa, pero las plantas productoras se están construyendo en respuesta a la demanda. Actualmente *A. subrufescens* se considera como uno de los hongos en la categoría más alta de los llamados hongos gourmet y medicinales. Dadas las características de esta importante especie, se espera un aumento significativo en su demanda en los próximos años, tanto en Europa como en Norte América, tanto para su uso como hongo gourmet como en la industria farmacéutica y cosmética. Con el fin de mostrar el creciente interés científico sobre el conocimiento de esta importante especie, se realizó una consulta de los artículos publicados (ISI Web of Science) sobre *A. blazei* a partir de 1989. Es interesante resaltar que más de 60% de los 271 artículos encontrados sobre este hongo, fueron publicados durante los últimos 5 años, los equipos de investigación científica de Asia y Brasil producen 90% de esta literatura. Del total de los trabajos, sólo 6 artículos fueron clasificados con la palabra "micología", mientras que biotecnología, farmacología, medicina y ciencias de los alimentos fueron las principales áreas. Por su parte el área de la toxicología representa 9%. Todos los trabajos se realizaron con cepas comerciales disponibles en el mercado y sólo un escaso número de autores investigaron acerca de la variabilidad de las propiedades que dependen del genotipo y la plasticidad de las condiciones de cultivo. En las únicas tres publicaciones recientes sobre la variabilidad genética de las cepas de uso comercial de *A. blazei* (Fukuda *et al*. 2003, Mahmud *et al*. 2007, Tomizawa *et al*. 2007), se estudiaron solo entre 8 y 9 cepas de las cuales entre 6 y 8 fueron consideradas aisladas del mismo origen o clones.

NOMENCLATURA, BIOLOGÍA Y GENÉTICA DE *A. SUBRUFESCENS*

Agaricus subrufescens (= *A. blazei*) fue descrito por el botánico estadounidense Charles Horton Peck en 1893. Esta especie se cultivó para consumo humano en los Estados Unidos a finales del siglo XIX y principios del XX. Sin embargo, después fue reemplazada por el champiñón (*A. bisporus*) (Kerrigan 2005). Actualmente *A. subrufescens* se comercializa con varios nombres, entre los que se incluyen ABM (abreviatura en inglés de *A. blazei* mushroom), cogumelo de vida, himematsutake, hongo del sol real y hongo almendra.

Durante la década de 1970 se colectaron ejemplares en Brasil y se les consideró como una nueva especie: *A. blazei*. Sin embargo, Wasser *et al*. (2002) rechazaron el nombre de *A. blazei* y llamaron a los hongos prove-

nientes de Brasil *Agaricus brasiliensis*. Kerrigan (2005) rechazó esta nomenclatura basándose en pruebas de fertilidad realizadas entre varias cepas. Las muestras de *A. blazei* y *A. brasiliensis* fueron genéticamente similares e interfertiles con cepas de una población estadounidense de *A. subrufescens* y otra europea de cepas que se habían denominado como *A. rufotegulis* y que había sido cultivada de manera experimental en Francia (Brian *et al*. 1981). En virtud de que *A. subrufescens* es el nombre más antiguo, tiene prioridad taxonómica. La reconstrucción filogenética de cada una de las secciones del género *Agaricus*, basada en el análisis de los ITS1+2, se inició en 2003 y actualmente se tienen avances significativos (Kerrigan *et al*. 2006, 2008). Se han colectado ejemplares de *Agaricus* en distintos países (Francia continental e islas francesas del Caribe, Grecia, España, Italia, Bélgica, Portugal, Rusia, México, EUA y Brasil) lo que ha permitido aumentar, en las secciones estudiadas, el número de especies conocidas en aproximadamente 30% (Callac y Guinberteau 2005). *A. subrufescens* pertenece a la sección Arvenses y aunque no se ha confirmado su presencia en México, es posible que la especie se encuentre silvestre en regiones subtropicales. La cooperación franco-mexicana ha generado resultados interesantes en esta área, además de corroborar la presencia de poblaciones silvestres de *A. bisporus* (Mata *et al*. 2002), se han descrito dos nuevas especies de este importante género: *A. tollocanensis* (Callac y Mata 2005) y *A. tlaxcalensis* (Kerrigan *et al*. 2008). La obtención de cepas silvestres mexicanas será de mucha utilidad para los estudios filogenéticos de *A. subrufescens*.

Recientemente se ha obtenido una cepa híbrida como resultado de la cruza de germoplasma proveniente de Brasil y cultivado comercialmente en Japón con una cepa aislada de California, EUA (Kerrigan 2005). Esta cepa híbrida presenta fructificación temprana, hongos de buen tamaño y apariencia y alta productividad (Kerrigan y Wach 2008). La segregación de alelos durante la esporulación, ha demostrado que en los núcleos de las esporas se presenta meiosis, recombinación y partición nuclear, lo que produce tanto esporas heterocarióticas como homocarióticas, mientras que otras pueden ser homoalélicas. Se concluye entonces que *A. subrufescens* tiene un ciclo de vida anfitálico. Sin embargo, este esquema no está presente en todas las condiciones de cultivo y se sospecha que pueden coexistir diferentes ciclos de vida. Esta peculiar característica, presente también en *A. bisporus*, ha permitido el desarrollo de estrategias para realizar programas de entrecruzamiento utilizando el fenómeno Buller, para la obtención de nuevos híbridos con características cualitativas interesantes (Callac *et al*. 2006, 2008).

ECOLOGÍA DEL DESARROLLO Y AGRONOMÍA

El cultivo de *A. subrufescens* bajo condiciones ambientales controladas puede producir entre 4 y 5 cosechas (espaciadas de 3 a 5 días) en un ciclo de cultivo de aproximadamente 100 días después de la siembra, con una producción de entre 16 y 28 Kg de hongos frescos por cada 100 Kg de sustrato (de Andrade *et al*. 2007, Figura 1). Los sustratos de cultivo utilizados reciben un tratamiento de compostaje y muchas de las técnicas de cultivo de *A. subrufescens* se han derivado de las utilizadas en el cultivo del champiñón, *A. bisporus*. A pesar de que *A. subrufescens* se cultiva de manera comercial, se conoce muy poco sobre el sistema ligninolítico de este hongo (Ullrich *et al*. 2005). Se requiere investigar acerca de las enzimas producidas durante el ciclo de cultivo así como de sus propiedades bioquímicas con el fin de determinar la capacidad de degradación de esta especie. Uno de los principales atractivos del cultivo de *A. subrufescens* es su capacidad para crecer en temperaturas relativamente altas, lo cual potenciaría diferentes zonas de México para la introducción de esta especie. La temperatura óptima para el crecimiento micelial de *A. subrufescens* es de 25-28ºC, mientras que la fructificación se desarrolla entre 22 y 25ºC. Muchas de sus plagas y enfermedades son compartidas con *A. bisporus* (de Andrade *et al*. 2007).

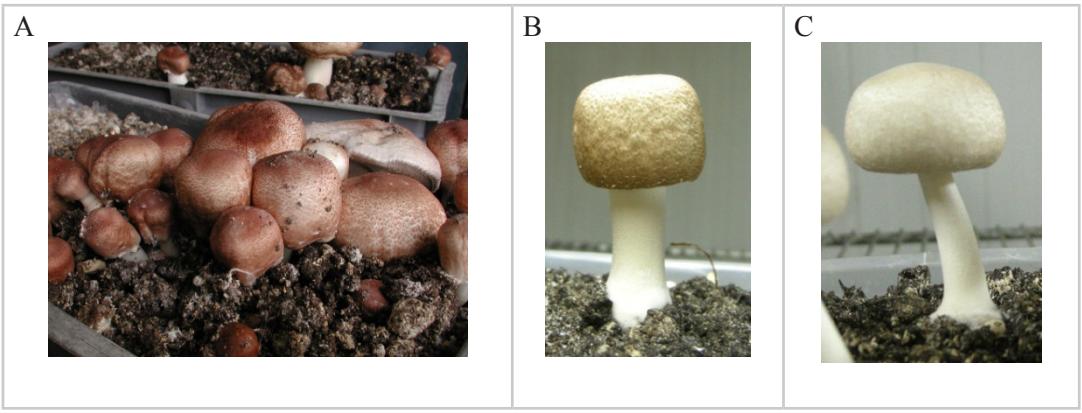


Figura 1. Cultivo experimental de *Agaricus subrufescens* en compost. A) Ejemplares en diferente estado de maduración, B) variedad típica, C) variedad atípica.

Las cepas que se cultivan están circulando a través de colecciones privadas y en lo general no son de fácil acceso. La mayoría de las cepas provienen de Brasil y se han perfeccionado en los laboratorios japoneses y chinos. *A. subrufescens* puede crecer en zonas con temperatura cálida, lo que lo convierte en un candidato ideal para el cultivo al aire libre en las regiones subtropicales durante los meses más cálidos. Bajo condiciones controladas también se puede cultivar en regiones templadas del mundo.

PERSPECTIVAS

El cultivo de *A. subrufescens* en México puede ser exitoso en virtud de que se trata de un hongo nutracéutico que además podría servir como fuente de bioproductos. El cultivo de este hongo valorizará el uso de algunos materiales lignocelulósicos que son abundantes en nuestro país. Será necesario realizar investigaciones que contemplen la evaluación de sustratos apropiados para producir un compost adecuado con la estructura y nutrientes apropiados para el desarrollo del hongo. El bagazo de caña que podría ser un buen elemento para iniciar la experimentación dada su riqueza nutritiva y abundancia en el territorio nacional. Se requiere sin embargo, profundizar en el conocimiento de la biología de esta especie con un enfoque multidisciplinario, lo que permitirá utilizar la variabilidad intraespecífica de las cepas existentes con el fin obtener los productos que demanda el mercado.

El cuello de botella para el desarrollo a mayor escala de la tecnología para el cultivo de diversas especies de *Agaricus* se debe a la carencia de conocimiento en tres aspectos fundamentales de la biología de la mayor parte de las especies de interés potencial: 1) ciclo de vida y genética, 2) factores y mecanismos responsables de la inducción de la fructificación y el desarrollo del cuerpo fructífero y 3) producción y composición de metabolitos y propiedades toxicológicas y farmacéuticas. Estos tres puntos se deben estudiar teniendo en cuenta la variabilidad intraespecífica para garantizar la calidad de los hongos que serán producidos y para poder vislumbrar el mejoramiento genético de las cepas que se destinarán al cultivo comercial. En este sentido es primordial la obtención de cepas adaptadas a los sustratos potenciales de cultivo existentes en el país, a los distintos tipos de manejo a que sean sometidas así como a las condiciones climáticas de las regiones subtropicales. Si bien la presencia de *A. subrufescens* no se ha confirmado en México, las condiciones climáticas y biológicas permiten suponer que esta especie crece silvestre en el país. Por tal motivo es fundamental realizar un programa intenso de prospecciones con el fin de aislar el mayor número posible de cepas. Con un banco de germoplasma nacional se deberá iniciar un programa de hibridación y selección de nuevas cepas que deberán ser sometidas a una serie de estudios que incluyan pruebas piloto de producción a escala semi-comercial para evaluar su capacidad de adaptación a los sustratos y condiciones locales. Esta especie podría llegar a convertirse en una muy buena opción para el cultivo en zonas con temperatura relativamente altas, de ser así una buena parte del territorio nacional podría ser considerada como una opción para la instalación de plantas productoras, está situación podría

servir como detonador para el surgimiento de plantas productoras a gran escala de hongos tropicales en México, lo que hasta la fecha ha sido muy limitado o prácticamente inexistente.

Tomando en cuenta el incremento en la demanda de los consumidores de alimentos saludables, se debe establecer una estrategia que permita posicionar rápidamente, en el mercado mexicano, a *A. subrufescens* como una especie que aporta beneficios a la salud. En virtud de que existe ya un mercado para la venta del champiñón, la producción de *A. subrufescens* podría aprovechar estos mismos canales para comercializar el producto a través de una campaña publicitaria bien diseñada. La experiencia obtenida con *A. subrufescens* sería de gran importancia, ya que es posible que en poco tiempo otras especies de hongos medicinales estén disponibles en el mercado nacional.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto de Ecología AC de Xalapa, México y al INRA de Bordeaux, Francia el apoyo otorgado para realizar sus investigaciones. Este trabajo forma parte del proyecto "Biology of the gourmet and medicinal mushroom *Agaricus subrufescens*, development of its cultivation and of new products of therapeutic interest or for diseases prevention" que desarrollan los autores en el marco de la cooperación bilateral entre el CONACYT de México y la ANR de Francia.

REFERENCIAS

Amazonas MAL de A (2007) Champignon do Brasil (*Agaricus brasiliensis*): Nutrition, Health,Market Demands and Regulatory Concerns. http://www.mushworld.com/medicine/ (1 sur 19) 09/05/2007 09:00:32

Angeli JP, Ribeiro LR, Gonzaga ML, Soares Sde A, Ricardo MP, Tsuboy MS, Stidl R, Knasmueller S, Linhares RE, Mantovani MS (2006) Protective effects of beta-glucan extracted from *Agaricus brasiliensis* against chemically induced DNA damage in human lymphocytes. *Cell. Biol. Toxicol.* 22:285-91.

Brian C, Pirobe L, Guinberteau J (1981) Amélioration de différentes espèces de champignons comestibles. *Mush. Sci.* 11(2):715–723.

Callac P, Guinberteau J (2005) Morphological and molecular characterization of two novel species of *Agaricus* section *Xanthodermatei*. *Mycologia* 97: 416-424.

Callac P, Imbernon M, Savoie JM (2008) Outcrossing via the Buller phenomenon in a substrate simultaneously inoculated with spores and mycelium of *Agaricus bisporus* creates variability for agronomic traits. En: Lelley JI, Buswell JA (eds) *Proceedings of the Sixth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products.* pp 113-119. GAMU, Krefeld, Germany.

Callac P, Mata G (2005) *Agaricus tollocanensis*, une nouvelle espèce de la section *Xanthodermatei* trouvée au Mexique. *Doc. Mycol.* 33 (132): 31–35.

Callac P, Spataro C, Caille A, Imbernon M, (2006) Evidence for outcrossing via the Buller phenomenon in a substrate simultaneously inoculated with spores and mycelium of *Agaricus bisporus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:2366-2372.

de Andrade MCN, Kopytowski J, Minhoni MTDA (2007) Productivity, biological efficiency, and number of *Agaricus blazei* mushrooms grown in compost in the presence of *Trichoderma* sp. and *Chaetomium olivacearum* contaminants. *Brazilian J. Microbiol.* 38: 243-247.

Fukuda M, Ohno S, Kato M (2003) Genetic variation in cultivated strains of *Agaricus blazei*. *Mycoscience* 44:431–436.

Kerrigan RW (2005) *Agaricus subrufescens*, a cultivated edible and medicinal mushroom, and its synonyms *Mycologia* 97: 12–24.

Kerrigan RW, Callac P, Guinberteau J, Challen M, Parra LA (2006) *Agaricus* section *Xanthodermatei*: a phylogenetic reconstruction with commentary on taxa. *Mycologia* 97:1292–1315.

Kerrigan RW, Callac P, Parra LA (2008) New and rare taxa in *Agaricus* section *Bivelares* (*Duploannulati*). *Mycologia* 100: 876-892.

Kerrigan RW, Wach MP (2008) *Agaricus subsrufescens* mushroom plant named 'H1X1'. US Patent USPP19, 313P3.

Kobayashi H, Yoshida R, Kanada Y, Fukuda Y, Yagyu T, Inagaki K, Kondo T, Kurita N, Suzuki M, Kanayama N, Terao T (2005) Suppressing effects of daily oral supplementation of beta-glucan extracted from *Agaricus blazei* Murill on spontaneous and peritoneal disseminated metastasis in mouse model. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 131:527-538.

Lee YL, Kim HJ, Lee MS, Kim JM, Han JS, Hong EK, Kwon MS, Lee MJ (2003) Oral administration of *Agaricus blazei* (H1 strain) inhibited tumor growth in a sarcoma 180 inoculation model. *Exp. Anim.* 52:371-375.

Mahmud MA, Kitaura H, Fukuda M, Yamada A (2007) AFLP analysis for examining genetic differences in cultivated strains and their single-spore isolates and for confirming successful crosses in *Agaricus blazei*. *Mycoscience* 48:297-304.

Mata G, Rodríguez A, Callac P (2002) Aislamiento, cultivo y evaluación de una cepa mexicana silvestre de champiñón *Agaricus bisporus*, y su comparación con cepas comerciales. En: Guzmán G, Mata G (eds.) *Nanacatepec, Estudios sobre los hongos Latinoamericanos.* Universidad Veracruzana, Xalapa. Pp 500.

Mizuno T, Hagiwara T, Nakamura T, Ito H, Shimuro K, Sumiya T, Asakura A (1990) Antitumor activity and some properties of water-soluble polysaccharides from "Himmematsutake," the fruiting of *Agaricus blazei* Murill. *Agric. Biolchem.* 54:2889-2896.

Peintner U, Poder R, Pumpel T (1998) The Ice Man's fungi. *Mycol. Res.* 102: 1153-1162.

Takimoto H, Wakita D, Kawaguchi K, Kumazawa Y (2004) Potentiation of cytotoxic activity in naïve and tumor-bearing mice by oral administration of hot-water extracts from *Agaricus braze*i fruiting bodies. *Biol. Pharm. Bull.* 27:404-406.

Tomizawa MM, Dias ES, de Assis LJ, Gomide PHO, dos Santos JB (2007) Genetic variability of mushroom isolates *Agaricus blazei* using markers RAPD. *Ciencia E Agrotechnologia* 31: 1242-1249.

Ullrich R, Huong LM, Nguyen LD, Hofrichter M (2005) Laccase from the medicinal mushroom *Agaricus blazei*: production, purification and characterization. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 67: 357–363

Wasser SP, Didukh MY, de Amazonas MAL, Nevo E, Stamets P, da Eira AF (2002) Is a widely cultivated culinary-medicinal royal sun *Agaricus* (the Himematsutake Mushroom) indeed *Agaricus blazei* Murrill? *Int. J. Med. Mush.* 4:267–90.

CAPITULO 4

SOBRE EL GÉNERO PLEUROTUS

4.1 CULTIVO DE SETAS *PLEUROTUS* EN ESPAÑA

Francisco J. Gea Alegría

Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del Champiñón
Apartado postal 63. 16220 Quintanar del Rey, Cuenca. España
fjgea.cies@dipucuenca.es

RESUMEN

La producción de setas *Pleurotus* (*P. ostreatus, P. pulmonarius*) en España durante la campaña 2007/2008 ascendió a 15,500 toneladas, o sea 11.5% del total de hongos comestibles cultivados. Las zonas productoras se localizan en Castilla-La Mancha, con 74% de la producción, y La Rioja, con 26%. En la actualidad, existen ocho centrales dedicadas a la elaboración del sustrato (cuatro en cada región), organizadas socialmente como cooperativas o como empresas privadas. En conjunto, producen 6,880,000 paquetes, utilizando para ello el método de fermentación aeróbica. El peso medio de cada paquete de sustrato oscila entre 18 y 20 kg, y el rendimiento medio se sitúa alrededor de 12% sobre el peso fresco del sustrato. Los locales destinados al cultivo de *Pleurotus* normalmente tienen un aislamiento térmico aceptable y bajo nivel tecnológico. El calendario de siembra se concentra fundamentalmente entre los meses de octubre y junio, siendo el destino comercial preferente el mercado en fresco. Cuando finaliza el ciclo de cultivo el sustrato se traslada a una central de reciclado, donde se elaboran diversas enmiendas orgánicas.

Palabras clave: Hongos comestibles cultivados, elaboración de sustrato, ciclo productivo, reciclado de sustratos post-cultivo, *P. ostreatus*, *P. pulmonarius*.

INTRODUCCIÓN

El cultivo comercial de setas del género *Pleurotus* (*P. ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., *P. pulmonarius* (Fr.) Quél.) en España se inició hacia mediados de la década de los ochenta del pasado siglo como un cultivo alternativo al del champiñón, lo que permitió al sector productor de hongos cultivados ofrecer una gama de productos más amplia. La puesta en marcha del cultivo de setas *Pleurotus* se benefició de buena parte de las infraestructuras dedicadas al cultivo del champiñón (plantas de elaboración de sustratos, locales de cultivo) y de la existencia de un plantel de técnicos y cultivadores que ya contaban con años de experiencia en el cultivo de *Agaricus*. Sin embargo, los rendimientos obtenidos durante los primeros años de cultivo de *Pleurotus* fueron escasos e irregulares, lo que dio paso a la introducción de una serie de mejoras, fundamentalmente en aspectos relacionados con la elaboración del sustrato. Estas mejoras ayudaron a proporcionar rendimientos más elevados, dando lugar a que se registrara un constante ascenso en la producción de *Pleurotus*.

En la actualidad, España ocupa el cuarto lugar en Europa como país productor de hongos cultivados, por detrás de Holanda, Polonia y Francia. La producción española, durante la campaña 2007/08, ascendió a 136,625 toneladas, de las que 120,647 t correspondían a champiñón, aproximadamente unas 350 a hongos como Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) y seta de chopo (*Agrocybe aegerita* (V. Brig.) Singer), y 15,628 t a setas *Pleurotus*, lo que representaba 11.4% del total de hongos cultivados en España. La producción total nacional de setas en la campaña 2007/08 se reparte de la siguiente manera: 4,100 t se obtuvieron en La Rioja (26.2%) y 11,528 t en Castilla-La Mancha (73.8%). En la citada campaña se registró un descenso de 22% en la producción, ya que durante la campaña anterior 2006/07 se cosecharon 19,972 t. El destino comercial preferente de la producción de *Pleurotus* es el mercado en fresco, siendo el consumo por habitante y año (2007) de 275 gramos.

ESTRUCTURA DEL SISTEMA PRODUCTOR ESPAÑOL

El sector productor español de *Pleurotus* sigue el mismo esquema organizativo que se utiliza para el champiñón; es decir, se apoya en tres pilares básicos, tres áreas de trabajo independientes pero interconectadas entre sí. Por un lado, se produce el micelio (inóculo) en laboratorios especializados y bajo condiciones asépticas; por otro, se elabora el sustrato de cultivo en plantas especialmente diseñadas para ello, y por último, se procede a desarrollar el ciclo de cultivo del hongo en instalaciones construidas para tal fin. En esta última área de trabajo, tiene una elevada incidencia tanto la capacitación del cultivador como el nivel técnico de las instalaciones. Además de las mencionadas áreas, el sistema productor de setas en España no quedaría totalmente descrito si no se añaden dos aspectos tan importantes como son la comercialización, y la recogida y reciclado del sustrato post-cultivo.

Micelios y calendario de cultivo

El inóculo que se utiliza es fabricado principalmente por laboratorios situados en España, como es el caso de Blancochamp, Fungisem, Gurelan y Mispaj, aunque también se utiliza inóculo elaborado fuera de España, por ejemplo de Amycel. El micelio se presenta sobre grano de centeno en bolsas autoclavables con filtro, excepto en el caso de Amycel, que lo hace sobre mijo. Como dato orientativo, el precio de la semilla fabricada en España (año 2010) se sitúa alrededor de los 20 € por 18 kg de semilla (30 l).

Desde el año 2005, existe un reglamento técnico de control y certificación de material de multiplicación de hongos cultivados (BOE 2005), en donde se describen los requisitos necesarios para que un laboratorio pueda ser incluido en un registro específico de productores de inóculo, los requerimientos que se le exigen a los productores en cuanto al proceso: identificación de los puntos críticos y mecanismos de control, y por último, las normas mínimas de identificación y etiquetado para la comercialización de inóculo certificado.

El catálogo de micelios que se oferta a los cultivadores de *Pleurotus* es bastante amplio, y se caracteriza por la presencia mayoritaria de variedades comerciales híbridas que producen sobre todo setas de color gris-azulado o marrón, que en ocasiones presentan tonalidades más claras. Los sombreros suelen ser planos o plano-convexos, con tamaños que varían entre 7 y 15 cm.

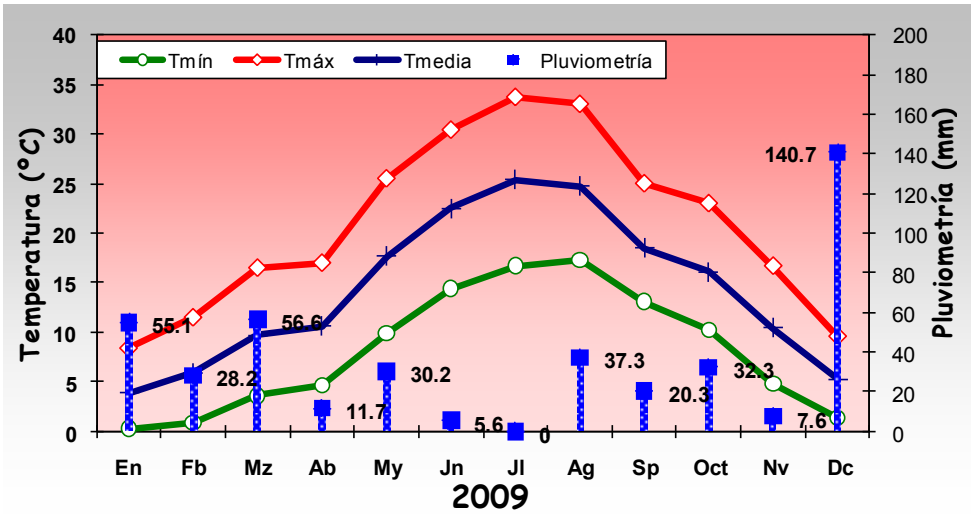


Figura 1. Condiciones meteorológicas registradas en Castilla-La Mancha durante el año 2009.

A la hora de seleccionar un micelio de *Pleurotus* para cultivar hay que otorgar una gran importancia a la clima-

tología de las regiones donde se desarrolla el cultivo. Así, las comarcas productoras españolas se caracterizan por tener un clima continental, es decir, inviernos muy fríos, con temperaturas muy bajas, y veranos secos y muy calurosos en los que, con frecuencia, la temperatura supera 25-30ºC, y la humedad ambiental suele ser inferior a 40-50% (Figura 1). De forma general, durante las épocas más calurosas, primavera y verano, se utilizan micelios de *P. pulmonarius*, o bien variedades híbridas (*P. ostreatus* x *P. pulmonarius*), mientras que durante el resto del año (otoño, invierno) se cultivan variedades de *P. ostreatus.*

Elaboración del sustrato de cultivo

Durante los primeros años del cultivo de *Pleurotus* en España se utilizaron algunas de las plantas de compostaje de champiñón previamente existentes. Como sustrato de cultivo se intentó utilizar el compost destinado a la producción de champiñón pero inoculado con micelio de *Pleurotus* para la ocasión. Hay que reconocer que, a veces, se conseguía un cierto éxito, pero en la mayoría de los casos el sistema fallaba, proporcionando rendimientos escasos e irregulares, fundamentalmente por la carencia de selectividad del sustrato. El siguiente intento para mejorar el sistema de elaboración del sustrato consistió en fermentar ligeramente masas de paja de cereal (trigo y cebada), activándolas con pequeños añadidos de materias nitrogenadas (purines del compost de champiñón, gallinaza, urea, etc.). Cuando la actividad de la masa preparada comenzaba a alcanzar temperaturas entre 60-70ºC se introducía rápidamente en las cámaras de pasteurización de compost de champiñón (que no poseían sistema de inyección de vapor) y, aprovechando esta termogénesis natural, se intentaba llevar a cabo una cierta pasteurización de la masa. Este tipo de innovación mejoró los rendimientos de los sustratos que resultaban viables, aunque la tasa de fallos se reveló elevada. En la mayoría de casos estos sustratos resultaban sensibles a las contaminaciones del hongo *Trichoderma*. A partir de aquí, se vio la necesidad de construir nuevas plantas con un diseño específico para elaborar sustratos de *Pleurotus*. Las principales novedades que se registraron fueron: la instalación de un conjunto de maquinaria para picar, mezclar e hidratar adecuadamente los materiales en crudo, y sobre todo, la dotación y uso de vapor en las cámaras destinadas al tratamiento del sustrato.

A la hora de preparar un sustrato de cultivo hay que tener en cuenta una serie de características esenciales referidas a las materias primas utilizadas, como son: buena disponibilidad en cantidad y continuidad, conocimiento y regularidad en su composición física y química, buen precio de adquisición, localización fácil y cercana, y facilidad de transporte y manejo (Muez y Pardo 2002). En España, el principal grupo de materias primas de base o volumen utilizadas lo forman las pajas de cereales (trigo, cebada, maíz) recogidas tras el cosechado del grano. Estos materiales de base destacan en volumetría dentro de la fórmula del sustrato, con un predominio en torno a 90-95%, y su contenido en nitrógeno suele estar comprendido dentro del intervalo 0.3-1.3% (Pardo et al. 2008). La composición química de estas pajas de cereales está recogida en el trabajo de Muez y Pardo (2002). Suele ser corriente emplear la paja de cereales como ingrediente único o en mezclas de dos o más pajas diferentes, y también suele ser habitual utilizar algún otro material orgánico de mayor contenido en nitrógeno como aditivo enriquecedor para elevar ligeramente el nitrógeno y rebajar en parte la relación C/N. Entre los materiales de aditivo utilizados se encuentran los salvados de cereales (arroz, trigo, avena) y las harinas o tortas proteicas (alfalfa, soya, girasol, etc.). Hay que recordar que el contenido en nitrógeno de la mezcla debe estar dentro del rango 0.6-1.5% (sobre materia seca) (Pardo *et al.* 2008). A modo de ejemplo, se han utilizado mezclas elaboradas con paja de cebada (70-75%), paja de maíz (hasta un 20%) y residuos oleaginosos de almazara (hasta un 10%); o bien otras mezclas a base de paja de trigo (80%), paja de maíz (20%) y urea (100 kg / 35 toneladas de materia seca).

El proceso de elaboración de sustrato se inicia con una serie de operaciones preliminares que tienen por finalidad preparar las materias primas; para ello,v es necesario trocear, rasgar y humectar las pajas de cereales que se van a utilizar. La operación de troceado y rasgado se lleva a cabo con un molino picador que corta las pajas de cereales en trozos entre 3 y 8 cm dependiendo del fabricante. Esta operación resulta más eficaz cuando

se ejecuta con los materiales en seco. También es conveniente que los trozos resultantes queden desgarrados longitudinalmente ya que de esta manera se facilita una mayor integración del agua (Muez 1994). El molino picador se encuentra conectado a una máquina de hidratación estática; por tanto, una vez troceada la paja, ésta pasa del molino al sistema de tornillos sinfín de la máquina de hidratación, y durante este recorrido tiene lugar la humectación. De esta forma se consigue humectar la paja de cereales entre 70-75%. Una vez que la mezcla está preparada y humectada se forman montones. A partir de aquí, hay empresas que aplican un volteo, al día siguiente otro volteo (dos si es verano), lo mismo el tercer día y al cuarto día trasladan el montón a la cámara de pasteurización. En otros casos, el sistema es similar, aunque el primer día aplican 3 volteos y en el segundo día adicionan urea, mantienen un día más con volteo y al quinto día lo llevan a la cámara de pasteurización. A partir de este momento se emplea el método de fermentación aerobia, el cual supone la realización de dos etapas consecutivas: una pasteurización convencional y una fermentación termófila de acondicionamiento (Muez y Pardo 2002). La intensidad de las temperaturas aplicadas en el sustrato y el tiempo de tratamiento en cada una de las etapas están bien lejos de la unanimidad. Así, encontramos pasteurizaciones de 8 horas a 63ºC, o de 36 horas a 65ºC, o bien de 12-36 horas a 70ºC. El acondicionamiento también es variable, ya que se emplean 24-36 horas a 48-50ºC, o 12-48 horas a 45ºC. Posteriormente se enfría la masa de sustrato hasta 25ºC y se abre la cámara de pasteurización, trasladando el sustrato a una tolva donde será inoculado.

La cantidad de inóculo que se añade oscila entre 1.5 y 2% del peso fresco del sustrato. A partir de este momento, se procede al ensacado de los paquetes de sustrato, que tienen unas dimensiones de 50-60 x 40-45 x 18-20 cm y un peso que varía entre 16 y 18 kg. Los paquetes se suministran envueltos en plástico microperforado (polietileno) de color negro y presentan entre 7 y 12 orificios de alrededor de 25 mm de diámetro. En la Tabla 1 se muestran las características analíticas de dos sustratos para *Pleurotus* elaborados en dos centrales diferentes.

Tabla 1. Características analíticas de dos sustratos para *Pleurotus* elaborados en dos centrales diferentes

Parámetros	Sustrato I	Sustrato II
Humedad (%)	77.0 (75.9-79.1)	72.8 (68.7-77.4)
N total (%, s.m.s.)	0.36 (0.26-0.59)	0.61 (0.42-0.80)
Cenizas (%, s.m.s)	6.0 (5.1-7.6)	9.3 (6.6-13.2)
Materia orgánica (%, s.m.s.)	94.0 (92.4-94.9)	90.7 (86.8-93.4)
Relación C/N	151 (93-206)	86 (68-120)
pH (1:5, p/v)	7.9 (7.6-8.4)	8.4 (8.0-8.6)

En España existen un total de ocho plantas que fabrican sustrato para cultivo de *Pleurotus*, cuatro en La Rioja y cuatro en Castilla-La Mancha. Según datos referidos a la campaña 2007/08, en esta última región se elaboraron 3,740,000 paquetes y en La Rioja 3,140,000, lo que supone un total de 6,880,000 paquetes. Hay que tener en cuenta que del total de paquetes producidos en La Rioja, aproximadamente 1.5 millones se cultivan en Castilla-La Mancha.

Suplementación del sustrato de cultivo

A veces, durante la fase de inoculación, también se adicionan suplementos proteicos que enriquecen el sustrato en nitrógeno con el fin de aumentar su potencial productivo. En este sentido, no cabe duda de que un plus de nitrógeno orgánico pueda ser conveniente para una mejor cosecha, pero también hay que tener en cuenta que puede facilitar el calentamiento excesivo del sustrato durante la incubación, lo que puede favorecer a los organismos competidores. Estos suplementos suelen estar elaborados a base de harina de soja (soya) desnaturalizada, harina de gluten de maíz, proteína de papa y harina de plumas; también se les añaden otros aditivos como carbohidratos simples, aminoácidos específicos, minerales y enzimas celulolíticas.

En la Tabla 2 se muestran el rendimiento y la eficiencia biológica de un sustrato de cultivo de *Pleurotus* al que se le añadieron dos suplementos proteicos distintos, en una proporción de 1% en peso fresco del sustrato, frente al mismo sustrato no suplementado. Como se puede observar en la tabla, la suplementación tuvo un efecto positivo, ya que se produjo un aumento de más de 25% en el rendimiento, y entre 12-20% en la eficiencia biológica de los sustratos suplementados (Gea *et al*. 2009).

Tabla 2. Rendimiento y eficiencia biológica de un sustrato de *Pleurotus* enriquecido con dos suplementos distintos

Suplementos	n	Rendimiento (g/paquete)	Eficiencia biológica (%)
Control	40	2,698 a	58.04 a
Calprozyme	40	3,435 b	77.10 c
ChampFood 0	40	3,445 b	70.58 b
Total	120	3,193	68.58
		p = 0.0000	p = 0.0000

Producción de *Pleurotus* en locales de cultivo

Una vez que ya se ha elaborado e inoculado el sustrato, se inician las tareas propias del área de trabajo correspondiente a los locales de cultivo. En este caso hay que tener en cuenta la influencia que ejercen dos factores de producción, como son: la capacitación del cultivador y el nivel técnico de las instalaciones.

Los locales de cultivo deben de estar perfectamente desinfectados antes de recibir los paquetes de sustrato. Habitualmente después de retirar los restos del ciclo de cultivo anterior, se lava bien con agua limpia y posteriormente se aplica algún producto desinfectante, como lejía o amonios cuaternarios.

Incubación del sustrato

Tras recibir los paquetes de sustrato se inicia la incubación, etapa que consiste en la colonización del sustrato por el micelio. Habitualmente se suele pensar que es una etapa poco crítica, pero es de vital importancia para que el cultivo tenga éxito. Hay que crear unas condiciones propicias para que el micelio de *Pleurotus* invada todo el sustrato antes de que los posibles contaminantes le disputen el terreno. En función de la calidad del sustrato, del nivel técnico de las instalaciones y de la época del año, la incubación tiene una duración aproximada de 15 días. En esta fase es necesario mantener una humedad relativa elevada, superior a 80%, pero el factor que hay que controlar realmente es la temperatura del sustrato. Hay que resaltar que temperaturas situadas entre 25-30ºC en el sustrato proporcionan una tasa de crecimiento micelial adecuada, mientras que si estas temperaturas son superiores a 32ºC, tanto en la zona intermedia como en el centro del paquete, entonces se consideran peligrosas. Normalmente, la temperatura del ambiente suele oscilar entre 18 y 23ºC para ayudar a controlar la temperatura del sustrato.

Inducción de la fructificación

Una vez terminada la incubación se procede a inducir la fructificación, bajando la temperatura del ambiente hasta 10-18ºC, al tiempo que la temperatura del sustrato desciende alrededor de 20ºC, aunque esta maniobra suele estar en función de la variedad comercial utilizada. También es necesario bajar la concentración de CO_2 hasta situarla entre 800-1,000 ppm aproximadamente, y mantener elevada la humedad relativa, alrededor de 90-95%. La maniobra que se realiza en esta etapa consiste en ventilar el local de cultivo para descender el CO_2 e introducir aire fresco del exterior con el fin de refrigerar la temperatura ambiente del local de cultivo. Normalmente, hacia los 25 días después de iniciar el ciclo de cultivo se ven aparecer los primordios. En esta etapa de inducción también es necesario poner en marcha la iluminación.

Fructificación y cosecha

Durante esta etapa se pretende que los cuerpos fructíferos alcancen el tamaño comercial deseado sin que el borde del píleo se rompa. Para ello, hay que seguir controlando los mismos parámetros ambientales que en la etapa anterior. La temperatura del ambiente suele oscilar entre 12-16 ºC, y la humedad relativa se intenta mantener por encima del 85-90%, bien mediante la aplicación de riegos al suelo o bien mediante la instalación de micro difusores. A lo largo de esta etapa hay que evitar mojar los cuerpos fructíferos, con el fin de no favorecer la aparición de mancha bacteriana. En cuanto al nivel de dióxido de carbono, hay que mantenerlo por debajo de 800-1,000 ppm, para ello hay que renovar el aire del interior del local de cultivo, introduciendo aire fresco del exterior. Por último, la luz es otro parámetro a tener en cuenta, ya que las setas tienen fototropismo positivo; es decir, ante la ausencia de luz no se desarrollan bien, no se colorean adecuadamente, alargan el estípite en exceso, y en ocasiones llegan a tener sabor amargo. Para evitar que esto suceda, es necesario suministrar al menos 150-200 lux durante un mínimo de 8 horas al día. La luz más apropiada es de onda corta, situada hacia el azul del espectro.

La primera florada o cosecha se recoge entre los 25-35 días después de iniciar el ciclo de cultivo, y la segunda florada, a los 15-20 días después de la primera. Por tanto, la duración del ciclo de cultivo se sitúa entre los 40 y 55 días, en función de las temperaturas de cultivo y número de floradas que se recolectan. La producción media anual por paquete de sustrato oscila entre 2.2 y 2.5 kg, lo que representa 12-15% de rendimiento sobre peso fresco del sustrato.

Comercialización

Una vez recolectado el producto, se corta parte del pie, lo que produce una merma de alrededor de 20% en peso. El destino comercial preferente es el mercado en fresco y la comercialización se realiza bien individualmente, a través de almacenes privados, o bien a través de cooperativas, en las que los cultivadores son socios.

Las formas habituales de presentación comercial para su venta en el mercado dependen de su destino y de la vida útil que se pretenda alcanzar. Un tipo de presentación es en cajas planas o planchetas con una capa delgada de setas, de aproximadamente 2.5-3 kg de peso y con destino al pequeño mercado. La vida útil de estas setas suele ser corta, ya que frecuentemente están expuestas a la deshidratación, debido a que se ven sometidas a unas condiciones ambiente de temperatura y humedad relativa desfavorables. Esta vida útil puede alargarse algo con la refrigeración (0-5ºC), aunque la deshidratación puede ser el factor limitante. Otra forma de presentación es el envasado en pequeñas unidades o tarrinas con 200 ó 400 gramos de peso, recubiertas con un film plástico semipermeable retráctil y con destino a las grandes superficies o supermercados. Este tipo de envasado tiene dos efectos importantes en relación con la calidad, como son: la protección frente a la deshidratación y la posibilidad de crear atmósferas modificadas (Simón 2010). También se utiliza otro formato en el que aparece una mezcla de productos listos para cocinar: setas, espárragos, champiñones, etc.

Locales de cultivo y ventilación

Los primeros locales de cultivo que se utilizaron fueron cuevas excavadas ex profeso o naves agrícolas en las que los paquetes de sustrato se situaban directamente en el suelo. También se han usado y se usan locales destinados al cultivo de champiñón que están compuestos por salas paralelas que van a dar a un pasillo de servicio o cancela. Las dimensiones varían entre 2.5-6 m de anchura, 20-50 m de longitud y unos 3 m de altura. Estos locales presentan ventanas en la parte frontal, chimeneas para ventilación en el extremo opuesto, un forjado de viguetas y bovedillas, y una cámara de aire hasta la cubierta, que suele ser de fibrocemento. Para el aislamiento de la nave se colocan, encima del forjado, placas de poliestireno expandido, paja o aserrín, y para las paredes laterales, poliuretano proyectado. En general, este aislamiento resulta insuficiente en las épocas de climatología

extrema. La superficie de cultivo oscila entre los 200-300 m^2, distribuidos en tres niveles.

Junto a los locales de cultivo mencionados también encontramos explotaciones de gran tamaño, tanto en La Rioja como en Castilla-La Mancha, con una capacidad productiva que puede oscilar entre los 3,000 y 10,000 paquetes.

Durante el ciclo de cultivo hay que controlar cuatro factores ambientales: temperatura, humedad relativa, concentración de dióxido de carbono y luz. Estos factores están relacionados entre sí y para lograr que sus valores sean correctos, el sistema de ventilación del local de cultivo juega un papel decisivo, ya que las condiciones climáticas deben ser homogéneas y uniformes.

En España, se adoptó inicialmente un sistema de ventilación natural o estática, que es la que tiene lugar por medio de la formación de corrientes naturales de aire que se generan por diferencia de presión, de temperatura o de ambas a la vez. Este sistema se caracteriza por la construcción de altas chimeneas en el fondo de las naves de cultivo. La ventilación natural aún se mantiene en ciertos casos, pero es a todas luces insuficiente para los planteamientos profesionales actuales. Con el paso del tiempo se han impuesto otros sistemas, como la ventilación forzada mediante extracción, en la que se utilizan ventiladores que extraen el aire del interior del local de cultivo originando una disminución de la presión en el interior del mismo, con lo que se obliga al aire exterior a penetrar en el interior a fin de igualar las diferencias de presión creadas. Sin embargo, el sistema más usado en la actualidad es el de ventilación por impulsión, que consiste en introducir aire en el cultivo instalando un ventilador a la entrada de la nave de cultivo. Esta forma de ventilar produce un aumento de la presión en el interior, esta sobrepresión fuerza al aire a abandonar el local. Este sistema permite realizar un acondicionamiento del aire antes de introducirlo (calentar, enfriar, humedecer o secar), recircular el aire interior del local, filtrar el aire que se introduce y distribuirlo a través de una manguera o tubo de conducción, con un diámetro previamente calculado, y al que se le practican una serie de orificios cuyo número, posición y diámetro se corresponde con un diseño determinado (García Morrás *et al.* 1998).

Plagas y enfermedades. Productos fitosanitarios

En España, las explotaciones de *Pleurotus* y champiñón se encuentran entremezcladas, ubicadas muy próximas unas de otras, por lo que en ocasiones también comparten las mismas plagas y enfermedades. De todas ellas, cabe destacar por su importancia económica la presencia de esciáridos (Diptera), hongos de los géneros *Penicillium* y *Trichoderma*, y bacterias como *Pseudomonas tolaasii*, causante de la mancha bacteriana. Se puede encontrar más información sobre las plagas y enfermedades del género *Pleurotus* en España en los trabajos de Gea (2002, 2009) y Soler-Rivas *et al*. (2004).

El uso de productos fitosanitarios durante el ciclo de cultivo está limitado por la elevada susceptibilidad de *Pleurotus* a los plaguicidas y por el riesgo de acumulación de residuos en los cuerpos fructíferos (Muez 1994). Por tanto, no está recomendado el uso de tales productos mientras que haya basidiomas en el local de cultivo. Por otro lado, hay que tener en cuenta, que la Unión Europea está inmersa en un proceso de revisión de las materias activas utilizadas con el fin de armonizar y homogeneizar el uso de productos fitosanitarios en todos los países europeos. El resultado de este proceso ha sido la eliminación de un gran número de sustancias activas, lo que ha supuesto la desaparición de algunos de los productos fitosanitarios tradicionalmente usados en el cultivo de hongos comestibles, como por ejemplo el benomilo. En la actualidad, las materias activas autorizadas en España para su utilización en cultivo de champiñón, y por extensión en setas, son las siguientes: como insecticidas están azadiractin 3.2%, ciromazina 75%, deltametrin 1.5%, deltametrin 2.5%, diflubenzuron 25%; y como fungicidas figuran iprodiona 50%, procloraz 45%, procloraz 46%.

Recogida y reciclado del sustrato post-cultivo

Desde el año 1995 la cooperativa Recomsa, situada en Quintanar del Rey (Cuenca), viene gestionando la mayoría de los sustratos post-cultivo del sector de hongos comestibles cultivados en Castilla-La Mancha. El sistema de gestión consiste en retirar el sustrato post-cultivo de las explotaciones, separando el plástico y el sustrato para su mejor valorización, lo que supone un sistema adecuado para reciclar materia orgánica y elementos nutrientes de los materiales procedentes de estos subproductos. Esta cooperativa reúne casi 90% del sustrato post-cultivo de champiñón y setas, lo que supone un total de 160,000 y 25,000 toneladas respectivamente, y lo somete a un proceso de compostaje controlado para fabricar enmiendas orgánicas con adecuado contenido en nitrógeno y una relación C/N equilibrada. Estas instalaciones han permitido desarrollar una serie de productos alternativos (enmiendas orgánicas y materiales base para la fabricación de sustratos de cultivo) que proporcionan un valor añadido al residuo del cultivo de hongos, al tiempo que han ofrecido una solución rentable y sostenible.

El sustrato empleado en el cultivo de setas utiliza casi exclusivamente paja de cereal en su elaboración, por lo que el subproducto post-cultivo resultante es muy homogéneo. Este subproducto permanece aglomerado y tiene una formulación concreta algo variable, aunque más fiable que la del champiñón. En la Tabla 3 se presentan las principales propiedades físicas y químicas del sustrato post-cultivo de setas. Se trata de un material con una humedad extremadamente elevada y muy baja densidad, lo que repercute decisivamente en su alto espacio poroso total. También presenta un elevado contenido en carbono orgánico oxidable y un contenido medio de nitrógeno, por lo que la relación C/N es elevada. El contenido en elementos nutrientes es muy bajo, incluso en calcio (Moya y Checa 2004).

Tabla 3. Propiedades físicas, químicas y contenido en elementos totales del sustrato post-cultivo de *Pleurotus ostreatus*

Parámetros	Valor medio
Humedad (%)	70
Densidad aparente práctica [kg (m.f.) m^{-3}]	200
Espacio poroso total (%)	96
Cenizas (%)	18.05
Capacidad de retención (%)	37
Materia orgánica total (%)	81.95
Carbono oxidable (%)	37.19
Nitrógeno (%)	1.28
Relación C/N	37.0
Extracto Húmico Total (EHT) (%)	7.96
Ácidos Húmicos (AH) (%)	2.88
Ácidos Fúlvicos (AF) (%)	5.08
pH (extracto acuoso 1:10, p/p)	7.11
Conductividad eléctrica (extracto acuoso 1:10, p/p) (dSm^{-1} a 25 ºC)	1.93
Fósforo (P_2O5) (%)	0.70
Potasio (K_2O) (%)	0.88
Calcio (%)	6.91
Magnesio (%)	0.79
Índice de grosor (% partícula > 1 mm)	89, 84

Fuente: Moya y Checa (2008)

NORMATIVA Y LEGISLACIÓN

El Reglamento (CE) 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo (DO 2002) establece los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, fijando procedimientos relativos a la seguridad alimentaria. Este Reglamento introduce la exigencia de disponer de un sistema de trazabilidad, entendida ésta como la posibilidad de encontrar y seguir el rastro a través de todas las etapas de producción, transformación y distribución. Se trata de un requisito legal de obligado cumplimiento en Europa y para toda Europa que también afecta al sector productor de hongos comestibles cultivados. A los productores, centros de manipulado y fabricantes les sirve para localizar rápidamente un lote problemático, de manera que el resto de la producción no se vea afectada (Mendoza 2008, Rubio y Quintanilla 2008).

La comercialización de setas en el mercado interior español está regulada por la Orden que aprueba la norma de calidad para setas comestibles con destino al mercado interior (BOE 1984), y que se refiere a los cuerpos fructíferos pertenecientes a diferentes géneros y especies de setas comestibles, entre las que se encuentra *P. ostreatus*, destinadas a ser suministradas al consumidor en estado fresco. Esta norma tiene por objeto definir las características de calidad, envasado, y presentación que deben reunir las setas después de su acondicionamiento y manipulación para su adecuada comercialización en el mercado interior. Se establecen unas características mínimas de calidad, según las cuales las setas deben estar enteras, con aspecto fresco, sanas, exentas de insectos y otros parásitos, limpias, exentas de humedad exterior anormal y daños causados por heladas, exentas de olores y/o sabores extraños y con el micelio eliminado con un corte neto. Se establecen tres categorías: "Extra", "I" y "II", con diferentes tolerancias de calidad y calibre. En el caso de *P. ostreatus* se establece un calibre (diámetro de píleo) mínimo de 25 mm en todas las categorías, siendo el máximo de 100 mm para la categoría "Extra" y de 150 mm para la categoría "I" (Zied *et al.* 2010).

Recientemente, se ha revisado la normativa que regula la comercialización de las setas, desde el punto de vista de la seguridad alimentaria, mediante la publicación del Real Decreto 30/2009, por el que se establecen las condiciones sanitarias para la comercialización de setas para uso alimentario (BOE, 2009). Se regulan los aspectos que debe reunir la comercialización de setas tanto silvestres como cultivadas, y establece los requisitos exigibles a las setas y los que deben cumplir las empresas que intervienen en su producción, transformación y distribución (Zied *et al*. 2010).

Se establecen como requisitos generales de las setas comercializadas los siguientes:

- Estar correctamente identificadas.
- Encontrarse en perfectas condiciones de conservación, desprovistas de humedad exterior anormal y sin color ni sabor extraño.
- Estar exentas de lesiones o traumatismos de origen físico o mecánico que afecten a su presentación o apariencia.
- Estar exentas de podredumbre, daños causados por las heladas o alteraciones tales que las hagan impropias para el consumo.
- Estar exentas de artrópodos, gusanos o moluscos y de partes o excrementos de cualquiera de ellos.
- Estar exentas de materias extrañas adheridas a su superficie, distintas de la tierra de cobertura que no haya podido ser eliminada mediante una limpieza grosera.
- Estar exentas de agentes microbianos patógenos.
- Haber sido recolectadas, en su caso, mediante un corte neto.
- Hallarse sin residuos de pesticidas, ni de contaminantes químicos, ni de radiactividad, por encima de los límites legalmente establecidos.

REFERENCIAS

BOE (1984) Orden de 12 de marzo de 1984, por la que se aprueba la norma de calidad para setas comestibles con destino al mercado interior. Boletín Oficial de Estado núm. 66, 17 de marzo de 1984, pp. 7525-7527.

BOE (2005) Real Decreto 1313/2005, de 4 de noviembre, por el que se aprueba el reglamento técnico de control y certificación de material de multiplicación de hongos cultivados. Boletín Oficial de Estado núm. 278, 21 de noviembre de 2005, pp. 37987-37991.

BOE (2009) Real Decreto 30/2009, de 16 de enero, por el que se establecen las condiciones sanitarias para la comercialización de setas para uso alimentario. Boletín Oficial de Estado núm. 20, 23 de enero de 2009, pp. 7861-7871.

DO (2002) Reglamento (CE) Nº 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 28 de enero de 2002, por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria. Diario Oficial de las Comunidades Europeas L31, 1 de febrero de 2002, 1-24.

García Morrás JA, Hernando Gil F, Sanz Santos A, Merino Igea FJ (1998) *Condiciones mínimas para una mejora de la climatización de los cultivos de champiñón*. Asociación Profesional de Cultivadores de Champiñón de La Rioja, Navarra y Aragón. 23 pp.

Gea FJ (2002) Plagas y enfermedades del género *Pleurotus* spp. En: Sánchez JE, Royse DJ (eds) *La biología y el cultivo de Pleurotus spp*. Limusa, México. 205-224.

Gea FJ (2009) First report of *Trichoderma pleurotum* on oyster mushroom crops in Spain. *Journal of Plant Pathology* 91:504.

Gea FJ, Martínez-Carrasco A, Navarro MJ (2009) Efecto de la suplementación del sustrato sobre la cosecha de setas. *Horticultura Internacional*, 67:32-40.

Mendoza MF (2008) Seguridad alimentaria y trazabilidad desde la práctica. En: Patronato de Desarrollo Provincial, Diputación Provincial de Cuenca (ed) *Avances en la tecnología de la producción comercial del champiñón y otros hongos cultivados*, 3 (*Actas de las IV Jornadas Técnicas del Champiñón y Otros Hongos Comestibles en Castilla-La Mancha*). 155-158.

Moya MJ, Checa JG (2004) Reciclado y utilización de los sustratos del cultivo de champiñón y de setas. En: Patronato de Desarrollo Provincial, Diputación Provincial de Cuenca (ed) *Avances en la tecnología de la producción comercial del champiñón y otros hongos cultivados* 2 (*Actas de las III Jornadas Técnicas del Champiñón y Otros Hongos Comestibles en Castilla-La Mancha*). 311-325.

Moya MJ, Checa JG (2008) Gestión y valorización de residuos orgánicos del cultivo del champiñón y de setas en la comarca de La Manchuela Conquense. En: Patronato de Desarrollo Provincial, Diputación Provincial de Cuenca (ed) *Avances en la tecnología de la producción comercial del champiñón y otros hongos cultivados*, 3 (*Actas de las IV Jornadas Técnicas del Champiñón y Otros Hongos Comestibles en Castilla-La Mancha*). 163-178.

Muez MA (1994) Bases para el cultivo de *Pleurotus*. En: *I Jornadas Técnicas del Champiñón y otros Hongos Comestibles en Castilla-La Mancha*. Patronato de Promoción Económica, Diputación Provincial de Cuenca, España. 129-141.

Muez MA, Pardo J (2002) La preparación del substrato. En: Sánchez JE, Royse DJ (eds) *La biología y el cultivo de Pleurotus spp*. Limusa, México. 157-186.

Pardo J, Perona MA, Pardo A (2008) Materiales y técnicas para la elaboración de sustratos de cultivo de *Pleurotus* spp. En: Patronato de Desarrollo Provincial, Diputación Provincial de Cuenca (ed) *Avances en la tecnología de la producción comercial del champiñón y otros hongos cultivados*, 3 (*Actas de las IV Jornadas Técnicas del Champiñón y Otros Hongos Comestibles en Castilla-La Mancha*). 11-31.

Rubio F, Quintanilla I (2008) Trazabilidad en una industria de conservas de champiñón. En*:* Patronato de Desarrollo Provincial, Diputación Provincial de Cuenca (ed) *Avances en la tecnología de la producción comercial del champiñón y otros hongos cultivados*, 3 (*Actas de las IV Jornadas Técnicas del Champiñón y Otros Hongos Comestibles en Castilla-La Mancha*). 159-162.

Simón A (2010) *Calidad y mantenimiento poscosecha del champiñón blanco*. Consejería de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Gobierno de La Rioja. Logroño, España. 58 pp.

Soler-Rivas C, Juncà Blanch G, Wichers HJ (2004) La mancha bacteriana en champiñón y setas. En: Patronato de Desarrollo Provincial, Diputación Provincial de Cuenca (ed) *Avances en la tecnología de la producción comercial del champiñón y otros hongos cultivados* 2 (*Actas de las III Jornadas Técnicas del Champiñón y Otros Hongos Comestibles en Castilla-La Mancha*). 171-187.

Zied DC, Minhoni MTA, Pardo-Giménez A (2010) Control de calidad en setas cultivadas. En: *Control de calidad en productos agrarios de interés en Castilla-La Mancha*. Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete, España. 89-102.

4.2 EL DESPUNTE DE CAÑA DE AZUCAR, SUSTRATO ALTAMENTE EFICIENTE PARA LA PRODUCCIÓN DE *PLEUROTUS OSTREATUS*

Santiago Jaramillo Mejia y Edgardo Albertó

Lab. Micología y Cultivo de Hongos Comestibles. Instituto de Investigaciones Biotecnológicas IIB-INTECH (UNSAN-CONICET)
CC 164. 7130 Chascomús. Argentina
sjaramillo@intech.gov.ar, ealberto@intech.gov.ar

RESUMEN

Con el objeto de determinar los rendimientos obtenidos con desechos provenientes de la agro-industria azucarera en la producción del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* y evaluar si pueden ser usados puros sin mezclar, se ensayaron tres residuos: bagazo, cachaza y despunte de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). Los ensayos se realizaron en bolsas con 1 kg de sustrato (peso húmedo), esterilizado en autoclave a 121ºC durante 2 horas con 10 repeticiones para cada tratamiento. Las muestras fueron sembradas con 5% de inoculo y fueron incubadas a 25°C en oscuridad durante 21 días. Luego fueron llevadas al cuarto de producción donde se indujo la fructificación realizando seis cortes verticales por bolsa y se expusieron a un fotoperiodo de 9h de luz/15 de oscuridad a 15-18°C y humedad mayor a 70%. Se evaluó la eficiencia biológica (EB) al cabo de 70 días contados a partir del momento de la inducción. El despunte de caña de azúcar resultó ser el mejor sustrato para la producción de basidiomas alcanzando EB con máximos de 230% y un promedio de 189.2%. El bagazo alcanzó una EB de 95.85% mientras que la cachaza pura resultó ser un sustrato no adecuado para el cultivo con un pobre desarrollo del micelio. Estos resultados indican que el despunte de caña de azúcar resultó ser el sustrato puro con el mayor rendimiento publicado.

Palabras clave: bagazo de caña de azúcar, cachaza, industria azucarera.

INTRODUCCIÓN

En particular los basidiomicetes xilófagos de pudrición blanca juegan un papel predominante en la degradación de materiales lignocelulósicos, por su capacidad de convertir sustratos complejos en moléculas simples. Es el caso de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., organismo que mediante la liberación de enzimas extracelulares degrada el sustrato en donde crece y puede convertir residuos de la agricultura y la agro-industria en alimento para consumo humano (Triana *et al.* 1990). Esta especie, ha sido una de las más relevantes y prometedoras, no solo por su simpleza en las técnicas de cultivo empleadas, sino porque su eficiencia biológica puede superar 100% (Martínez-Carrera *et al.* 1985, Martínez-Carrera 1989).

Para aprovechar al máximo esta capacidad de conversión que tienen los hongos, se buscan nuevas cepas y nuevos sustratos que puedan mejorar los rendimientos. En la búsqueda de sustratos esto puede muchas veces lograrse mediante la realización de mezclas, lo que permite incorporar proporciones diferentes de nutrientes (Uhart *et al.* 2008). Estas mezclas suelen mejorar la estructura del sustrato (granulometría, porosidad), la disponibilidad y accesibilidad de los nutrientes y permiten obtener diferentes relaciones C/N o diferentes aportes de micro nutrientes que pueden influir en los rendimientos.

La región cañera de Latinoamérica y el Caribe comprende 23 países y abarca aproximadamente 800,000 ha cultivadas de caña de azúcar con una producción que varía entre 8 millones de t/año hasta 550 millones de t/año (Tabla 1). Esto representa casi la mitad de la superficie destinada a este cultivo en el mundo. La producción

promedio es de 5.4 t/ha de azúcar con variaciones que van desde 3 t/ha, como en la República Dominicana, a 12.31 t/ha en Colombia (http://riie.com.pe/?a=44242). El bagazo (un subproducto de la industria azucarera) representa 30% de los tallos verdes molidos, esto significa que por cada hectárea cosechada es posible obtener anualmente 13.5 t de bagazo, con 50% de humedad, (http://www.fao.org/docrep/t2363s/t2363s0n.htm). Esta importante masa de desechos de la caña de azúcar denota un gran potencial para ser empleado como sustrato en la producción de hongos comestibles.

Tabla 1. Principales países productores de caña de azúcar en Latinoamérica

Posición a nivel mundial	País	t/año (10^6)
1	Brasil	549.7
5	México	52.0
8	Colombia	38.5
10	Guatemala	25.4
14	Argentina	29.9
17	Cuba	11.9
18	Venezuela	9.6
19	Ecuador	8.3
20	Perú	8.2

Fuente: FAO 2007.

Para la Argentina, el cultivo de la caña de azúcar *Saccharum officinarum* es una de las principales actividades económicas del noroeste con alrededor de 300,000 hectáreas sembradas y una producción anual de cerca de 30 millones de toneladas. Si consideramos que el cultivo de caña de azúcar produce alrededor de 15 t/ha de desechos (http://www.produccion.com.ar/96oct_07.htm), habría un potencial de 4.5 millones de toneladas de sustrato disponibles para la producción de hongos. En base a los rendimientos obtenidos por Garzón y Cuervo (2008) de alrededor de 20% de eficiencia biológica (EB), podría potencialmente obtenerse alrededor de 3 t de hongos por hectárea, resultando un total de 900,000 t/año, tan solo para la Argentina. Esto habla de la potencial importancia de este desecho para la producción de hongos en la región. Varios autores trabajaron anteriormente con bagazo de caña de azúcar para la producción de *Pleurotus* spp. (Zadrazil y Dube 1992, Ragunathan *et al.* 1996, Zhang *et al*. 2002).

El objetivo de este trabajo fue el de determinar los rendimientos obtenidos con tres desechos provenientes de la agro-industria azucarera en la producción del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* y evaluar si ellos podrían ser usados puros sin mezclar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Con el fin de determinar los rendimientos obtenidos en cultivo se ensayaron los siguientes sustratos (Figura 1):

*Bagazo***:** es el residuo sólido que resulta de la extracción del jugo de la caña. En promedio, 60% del bagazo que se produce se emplea como combustible en los trapiches. Este subproducto también es empleado para la fabricación de pulpa y papel de gran calidad.

Lodo de prensa de filtración o cachaza: contiene muchas de las impurezas del jugo de caña de azúcar e incluye compuestos orgánicos tales como proteínas, azúcares penta-carbonados, gomas amiláceas, ceras y compuestos inorgánicos, principalmente sulfato cálcico y fosfato cálcico. Actualmente, el lodo de prensa de filtración se emplea como fertilizante para el mismo cultivo de la caña de azúcar. La composición del lodo de prensa de

filtración varía según el tipo de suelo, el tipo de filtro y otros factores.

Despunte o cogollo: Es la parte superior del tallo (por encima del entrenudo 8 - 10). No tiene valor como materia prima para la industria azucarera y es empleado, generalmente, en la alimentación de animales.



Figura 1. Desechos de la agro-industria azucarera empleados para la producción de *Pleurotus ostreatus.* De izquierda a derecha: bagazo, despunte y cachaza.

Cepa empleada: *Pleurotus ostreatus* ICFC 153/99, cepa comercial seleccionada (origen Austria) depositada en la colección de cultivos fúngicos del IIB-Intech (cepario ICFC).

Preparación del inoculo: se cocinaron granos de avena *Avena sativa* en agua por una hora, luego se llenaron bolsas con 500 g de grano a las que se les adicionó 1.5% de $CaCO_3$, posteriormente se esterilizaron por 2 horas a 120°C, una vez frías se inocularon en cámara de flujo laminar con trozos de PDA con la cepa ICFC 153/99. Las bolsas de inóculo, se incubaron a 25°C en oscuridad por 15 días con agitaciones periódicas para favorecer la colonización del micelio.

Fórmulas ensayadas: Se ensayaron distintas fórmulas para evaluar los sustratos puros y sus mezclas. Se empleó como criterio el uso de un sustrato puro (98%) y la combinación de algunos de ellos en una relación aproximada de 70/30 de modo que un sustrato pudiera ser considerado como suplemento del otro. Se empleó la paja de trigo como control ya que este sustrato es considerado para la región pampeana como el mejor por su abundancia, bajo precio y la obtención de buenos rendimientos (Albertó 2008). Las fórmulas ensayadas se muestran en la Tabla 2.

Preparación del sustrato y condiciones de cultivo

La paja de trigo y el despunte de caña fueron picados hasta tener un tamaño final de partícula de 3-5 cm de longitud. El bagazo y la cachaza se utilizaron sin picar, tal cual fueron recibidos del establecimiento elaborador. Posteriormente, se formularon y mezclaron los sustratos en un tambor rotatorio y se hidrataron hasta llegar a una humedad final de 70%. Se llenaron 10 bolsas de 1 Kg de peso para cada tratamiento; cada bolsa fue cerrada empleando un cilindro de PVC y tapones de algodón para permitir el intercambio gaseoso. Luego se esterilizaron en un autoclave a 121ºC durante 2 h, dos veces a intervalos de un día. Una vez que las bolsas se enfriaron hasta alcanzar la temperatura ambiente, fueron inoculadas con 50 g de “semilla” (5%) e incubadas por 3 sema-

nas en oscuridad a temperatura constante de 25°C. Posteriormente estas fueron llevadas al cuarto de producción en condiciones controladas para inducir la producción a 15-18°C, humedad mayor de 70%, fotoperiodo de 9 h/día y riego por micro-aspersión (5 min cada 4 h). Se realizaron 6 cortes verticales en cada bolsa para permitir el desarrollo de los hongos.

Tabla 2. Fórmulas ensayadas

Fórmula	Sustratos	Composición (%)	$CaCO_3$ (%)
1	BZ	Bagazo de caña (98)	2
2	CZ	Cachaza (98)	2
3	DE	Despunte de caña (98)	2
4	BZ+DE1	Bagazo de caña (70)+Despunte (28)	2
5	BZ+DE2	Despunte (70) + Bagazo de caña (28)	2
6	BZ+PT	Bagazo de caña (60) + Paja de trigo (38)	2
7	PT	Paja de trigo (98)	2

Para evaluar el rendimiento de cada sustrato se cosecharon los basidiomas producidos durante un periodo de 70 días contabilizados a partir del día en que las bolsas fueron trasladadas al cuarto de producción. Se determinó el peso total cosechado por bolsa producido al cabo de 4 oleadas. Para el análisis estadístico de la EB en los diferentes tratamientos se realiza una ANOVA de un factor, mediante el programa Statistica®.

Producción obtenida

Se obtuvieron fructificaciones en todos los tratamientos a excepción de la cachaza. Este sustrato resultó ser inadecuado para el desarrollo del hongo, observándose un pobre y casi nulo crecimiento del micelio en la etapa de incubación. Probablemente la poca porosidad que tiene este sustrato impidió el crecimiento del micelio limitando las cantidades de oxigeno necesarias para que el hongo crezca y se desarrolle normalmente. Es sabido que el tamaño de partícula es importante en algunas especies de hongos para obtener buenos rendimientos. Por ejemplo, Royse y Sánchez-Vázquez (2001) probaron que para *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler sustratos formulados con tamaño de partículas inferiores a 1 mm, los rendimientos disminuían. En el caso particular de la cachaza el tamaño de la partícula estaba por debajo del mm lo que podría haber dificultado la difusión de gases.

La mayor EB se logró con la fórmula 3 (despunte 98%) que si bien alcanzó un promedio de 189.2% en varias repeticiones, superó 200%, con máximos de 230% obteniendo diferencias significativas con el resto de los sustratos. El resto de los tratamientos alcanzó EB que variaron entre 90.1% para la fórmula 5 (despunte 70% +bagazo de caña 28%) y 111.2% para la fórmula 6 (bagazo de caña 60% + paja de trigo 38% (Fig. 2). Los tratamientos de bagazo puro y la mezcla de éste con el despunte, no mostraron diferencias entre ellos. La mezcla de bagazo con paja de trigo, aunque no mostró diferencia significativa, registró valores más altos que los observados para cada sustrato puro que conformaba la mezcla. Si bien la cachaza empleada pura (98%) resultó ser un sub producto de la industria azucarera no adecuado para el desarrollo de *P. ostreatus,* pruebas piloto con mezclas entre cachaza y paja de trigo (no incluidas en este trabajo) arrojaron resultados alentadores con EB% superiores a 100%, lo que hace pensar que la cachaza como sustrato puro no es viable para el cultivo de *P. ostreatus,* pero si lo sería como suplemento (Figura 2).

Hay varios trabajos publicados, en los que han empleado un sustrato puro para la producción de *P. ostreatus*. Hashimoto y Takahasi (1974) obtuvieron EB de 79.2% usando paja de arroz, 75.2% con papel periódico y 56.1% con cascarilla de arroz. Guzmán-Dávalos *et al.* (1987) obtuvieron 65% de EB empleando Maguey tequilero no fermentado. Bahukhandi y Munjal (1989) obtuvieron 92% empleando cascarilla de cacahuate.

Martínez- Carrera (1989) obtuvo 159.9% empleando pulpa de café después de ser sometida a un proceso de fermentación por 5 días. Martínez-Carrera *et al.* (1986) consiguieron EB de 81.85% sobre hojas de desecho de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y 113% sobre zacate limón *Cymbopogon citratus* utilizados en la industria de extracción de aceites esenciales. Curvetto *et al.* (2002), obtuvieron EB de 73.6% usando cáscara de semilla de girasol. Salmones *et al.* (2005) obtuvieron EB de 86.5% empleando pulpa de café evaluando además la acción biodegradadora del hongo sobre el sustrato. Omarini *et al.* (2009) ensayaron a *P. ostreatus* en tres sustratos puros obteniendo para paja de trigo EB mayores a 120%, para laurel (*L. nobilis*) 80% y para eucalipto (*E. cinnerea*) aproximadamente 30%. Cayetano-Catarino y Bernabé-González (2008) obtuvieron EB de 99.8% usando pseudotallo y hojas frescas de plátano *Musa paradisiaca* fermentado durante 14 días y 81.7% usando tallos secos de Jamaica *Hibiscus sabdariffa*. En un trabajo más reciente, Romero *et al.* (2010) ensayaron paja de trigo obteniendo una EB de 129.3% mientras que en hojas de plátano deshidratada una EB de 123.3%, y de 82.9% con pajilla de frijol (*Phaseolus vulgaris*). Zhang *et al.* (2002), usaron la especie *P. sajor-caju* (Fr.) Singer, y obtuvieron EB de 131% usando como sustrato único paja de arroz, pero destacaron que emplearon altos porcentajes de semilla (18%); la semilla, cuando se usa en porcentajes superiores a 10% actúa como un suplemento ya que los hidratos de carbono que aporta el grano aumentan los nutrientes disponibles para el hongo. En particular, Mata y Gaitán - Hernández (1995) emplearon hojas de la caña de azúcar obteniendo EB de 70.6% (Figura 2).

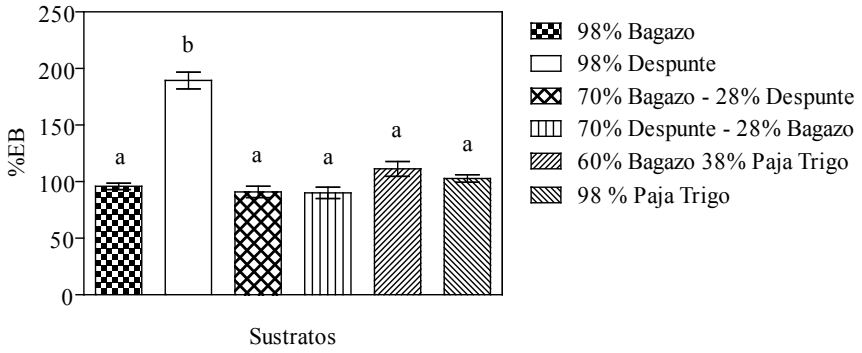


Figura 2. Eficiencia biológica (EB) promedio obtenida en diferentes sustratos empleando desechos de la caña de azúcar y paja de trigo como control para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Periodo de cosecha 70 días; Temp. de fructificación 15-18°C; 10 repeticiones por tratamiento; tratamientos con diferentes letras son significativamente diferentes a $P < 0.05$.

Otros investigadores emplearon sustratos puros pero en otras especies del género. Por ejemplo, Ragunathan y Swaminathan (2003) utilizaron tallos de algodón, fibra de coco y rastrojo de sorgo en el cultivo de *P. sajor-caju*, *P. citrinopileatus* Singer y *P. platypus* Sacc. pero obtuvieron valores de EB que variaron entre 41.4% y 23.6%. Muez Orobia y Pardo Nuñez (2001) hicieron una reseña de las EB obtenidas en el cultivo de varias especies de *Pleurotus* empleando diversos sustratos. En ella puede observarse que ninguna especie cultivada en un sustrato puro supera los rendimientos obtenidos por el despunte de caña (189.4%). Teniendo en cuenta estos resultados y los obtenidos por otros autores arriba señalados, puede decirse que se ha obtenido la mayor EB conocida hasta ahora para el cultivo de *P. ostreatus* empleando un sustrato puro.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron fructificaciones en todos los tratamientos a excepción de la cachaza, lo que indica que tanto el bagazo como el despunte y sus mezclas con otros sustratos pueden ser empleados para el cultivo de hongos con rendimientos aceptables próximos a 100%. El uso de despunte de caña de azúcar para el cultivo de *P. ostreatus* alcanzó valores máximos de EB de 230%. Este rendimiento es una de los más altos reportados para esta especie

y el más alto obtenido con un sustrato puro. Son varias las ventajas que presenta el uso de un único sustrato, por ejemplo: ahorro de tiempo en el mezclado de los distintos componentes de la formula, mayor simplicidad para el operario al no tener que calcular los pesos que corresponden a cada componente de la fórmula, ahorro de dinero en la compra de suplementos que tienen un mayor costo (en especial cuando se emplean harinas o salvado de cereal) y mayor facilidad en el almacenamiento de la materia prima. Adicionalmente, el despunte de caña tiene la ventaja de tener una textura y una estructura semejante a la paja de cereales de este modo es posible realizar tratamientos de compostaje y de pasteurización en túneles que para otros materiales como los lignocelulosicos (aserrín o viruta de árboles) no es posible. Para este último caso en general se prefiere la esterilización mediante autoclave, que, como es sabido, tienen mayores costos que los de pasteurización.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Consejo Nacional de Investigaciones científicas y Tecnológicas de la Argentina (CONICET) por la financiación que permitió el desarrollo de esta investigación. Citrusvil S.A. quien proveyó de los sustratos para el desarrollo de las pruebas.

REFERENCIAS

Albertó E (2008) *Cultivo Intensivo de los Hongos Comestibles*. Hemisferio sur. Buenos Aires. 265 pp.

Bahukhandi D, Munjal RL (1989) Cultivation of *Pleurotus* species on different agricultural residues. *Indian Phytopath*. 42 (4):492-495.

Cayetano-Catarino M, Bernabé-González T (2008) Cultivo de *Pleurotus* sobre residuos de las cosechas de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y plátano (*Musa paradisiaca*). *Rev. Mex. Micol.* 26:57-60.

Curvetto NR, Figlas D, Devalis R, Delmastro S (2002) Growth and productivity of different *Pleurotus ostreatus* strains on sunflower seed hulls supplemented with N–NH_4+ and/or Mn(II). *Biores. Technol.* 84:171–176.

FAO (2007) Faostat. Food and Agriculture Organization of the United Nations. http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx. (http://www.fao.org/docrep/t2363s/t2363s0n.htm) 9 de diciembre de 2010.

Garzón JP, Cuervo JL (2008) Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. *Publicación Científica en Ciencias Biomédicas* 6(10):126-140.

Guzmán-Dávalos L, Martínez-Carrera D, Morales P, Soto Velazco C (1987) El cultivo de hongos comestibles *Pleurotus* sobre bagazo de Maguey en la industria tequilera. *Rev. Mex. Micol.* 3:47-49.

Hashimoto K, Takahasi Z (1974) Studies on the growth of *Pleurotus ostreatus. Mush Sci*. 9 (2):585-593.

Martinez-Carrera D (1989) Simple technology to cultivate *Pleurotus* on coffee pulp in the tropics. *Mush. Sci.* 12 (2):169-178.

Martinez-Carrera D, Morales P, Soto C, Murrieta M E, Guzmán G (1986) Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre hojas usadas en la extracción de aceites esenciales. *Rev. Mex. Micol.* 2: 119-124.

Mata G, Gaitán–Hernández R (1995) Cultivo de *Pleurotus* en hojas de caña de azúcar. *Rev. Mex. Micol. 11*: 17-22.

Muez Orobia MA, Pardo Nuñez J (2001) La preparación del sustrato. En: Sánchez JE, Royse D (eds) *La biología y el cultivo de Pleurotus spp*. 157-186. Editorial Limusa, Mexico DF.

Omarini A, Lechner BE, Albertó E (2009) *Polyporus tenuiculus*: a new naturally occurring mushroom that can be industrially cultivated on agricultural waste. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 36:635–642.

Ragunathan R, Gurusamy R, Palaniswamy M, Swaminathan K (1996) Cultivation of *Pleurotus* spp. on various agro-residues. *Food Chem*. 55:139-144.

Ragunathan R, Swaminathan K (2003) Nutritional status of *Pleurotus* spp. grown on various agro-wastes. *Food Chem.* 80:371-375.

Romero O, Huerta M, Damián MA, Macías A, Tapia AM, Parraguirre JF, Juárez J (2010) Evaluación de la capacidad productiva de *Pleurotus ostreatus* con el uso de hoja de plátano (*Musa paradisiaca* l., Cv . Roatan) deshidratada, en relación con otros sustratos Agrícolas. *Agronomía Costarricense* 34(1):53-63.

Royse DJ, Sanchez-Vázquez JE (2001) Influence of substrate wood-chip particle size on shiitake (*Lentinula edodes*) yield. *Biores. Technol.* 76:229-233.

Salmones D, Mata G, Waliszewski KN (2005) Comparative culturing of *Pleurotus* spp. on coffee pulp and wheat straw:

biomass production and substrate biodegradation. *Biores. Technol.* 96:537–544.
Triana O, Leonard M, Saavedra F, Fernández N, Guillermo G, Pena E (1990) *Atlas del Bagazo de Caña de Azúcar.* Publicación del grupo de países latinoamericanos y del Caribe Exportadores de azúcar (GEPLACEA). Cuba.
Uhart M, Piscera JM, Albertó E (2008) Utilization of new naturally occurring strains and supplementation to improve the biological efficiency of the edible mushroom *Agrocybe cylindracea*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 35(6):595-602.
Zadrazil F, Dube HC (1992) The oyster mushroom: importance and prospects. *Mush. Res*. 1:25–32.
Zhang R, Li X, Fadel JG (2002) Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. *Biores. Technol.* 82:277-284.

4.3 EFECTO DE LA CASCARILLA DE ALGODÓN Y EL ASERRIN DE ENCINO SOBRE EL RENDIMIENTO DE *PLEUROTUS ERYNGII*

Claudia Cecilia Márquez Mota, Hermilo Leal Lara y Rebeca Ramírez Carrillo
Facultad de Química, Departamento de Alimentos y Biotecnología, UNAM
hermilo@servidor.unam.mx

RESUMEN

Pleurotus eryngii o trompeta real, es un hongo comestible cultivado principalmente en Asia y apreciado por su sabor y textura. Su cultivo en México podría contribuir a diversificar la industria productora de hongos. En este trabajo se evaluó la eficiencia biológica en sustratos con diferentes proporciones (0 a 90%) de cascarilla de algodón y aserrín de encino. En un primer experimento, el sustrato con 80% de cascarilla de algodón produjo la mayor eficiencia biológica (137 ± 30 g de hongos frescos/ 100 g de sustrato seco) sin presentar contaminación. En un segundo experimento, de 8 sustratos evaluados, 4 se identificaron como prometedores tanto por su alta EB como por los cortos tiempos para alcanzar el rendimiento máximo significativo y por su alta productividad por día. El sustrato con 90% cascarilla de algodón resultó el mejor, con EB de 130 ± 22 y productividad de 3.1 (g de hongos frescos/100 g sustrato seco/día) en un período de producción de 6 semanas.

Palabras clave: Pleurotus eryngii, trompeta real, cascarilla de semilla de algodón, aserrín de encino.

INTRODUCCIÓN

En México el consumo de hongos comestibles forma parte de la cultura de la población rural, su conocimiento y utilización han sido muy importantes desde las culturas prehispánicas mesoamericanas, habiéndose integrado a sus estrategias de subsistencia basadas en el uso múltiple de recursos naturales. El cultivo de hongos comestibles es una actividad que se ha desarrollado ampliamente en diversas partes del mundo como Estados Unidos, Europa, China, sureste de Asía, entre otros y se puede implementar a pequeña y gran escala para producir alimento humano de buena calidad nutritiva y con propiedades medicinales, suplementos dietéticos, enzimas y productos metabólicos (Royse *et al.* 2005, Chang y Miles 1989). En 1933 se inició en México el cultivo de hongos comestibles estimándose en la actualidad una producción anual de 47,768 toneladas, de las cuales los hongos del género *Pleurotus* sólo representan cerca de 4.62% (Mayett y Martínez Carrera 2010). El cultivo de nuevas variedades de hongos comestibles como *Pleurotus eryngii* (DC.) Quél. puede ayudar a diversificar y promover esta relevante actividad en México.

El cultivo comercial de *P. eryngii* es de reciente inicio, empezó en Italia a mediados de la década de los 70 pero en China se produjeron 114,100 t en 2003 (Tan *et al.* 2005), mientras que Royse *et al.* (2005) pronosticaron para 2007 una producción de 285 t en los Estados Unidos. En la elaboración de los sustratos se ha reportado el uso de diversas materias primas como: aserrín, cascarilla de algodón, paja de trigo o de arroz picada, o bagazo de caña; también se recomienda adicionar menores proporciones de distintos tipos de materiales que funcionan como suplementos ricos en nutrientes, tales como raicilla del malteado, salvado de trigo o arroz así como pastas de soya o maíz (Stamets 2000, Tan *et al.* 2005, Royse *et al.* 2005, Yamanaka 2005, Okano *et al.* 2007, Rodríguez Estrada y Royse 2007, Kirbag y Akyüz 2008, Rodríguez Estrada *et al.* 2009, Moonmoon *et al.* 2010).

La productividad de *P. eryngii* depende ciertamente de las cepas empleadas pero se ve influenciada por el tipo y las proporciones tanto de los materiales básicos como de los suplementos. Si bien Rodríguez Estrada y Royse (2007) recomiendan sustratos con cascarilla de algodón como componente principal (>60%), se reportan

también rendimientos aceptables en sustratos de paja de trigo sola o con salvado de arroz (Kirbag y Akyüz 2008) y de aserrín con salvado de arroz (Moonmoon *et al.* 2010). Un proveedor especializado, Unicorn Bags (http://www.unicornbags.com/cultivation/pler.shtml), a su vez, recomienda la elaboración de sustratos para la producción comercial de *P. eryngii* usando mayores proporciones de aserrín (45 a 48%) que de cascarilla de algodón (22%) o inclusive sustituyendo la cascarilla de algodón por otra fuente de aserrín; utilizando con ambos sustratos altas proporciones de salvado de trigo (25%), maíz molido (3%) y sacarosa (1%). A partir de esta información resultaba importante confirmar la necesidad de usar cascarilla de algodón ó evaluar la posibilidad de formular sustratos para *P. eryngii* con aserrín como principal material dada su amplia disponibilidad en México, así como la eventual sustitución del salvado de trigo por sorgo, un material también muy disponible y de bajo costo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se utilizó una cepa comercial de *Pleurotus eryngii*, que fue aislada subcultivando tejido vegetativo del cuerpo fructífero de un producto fresco (Monterey Mushrooms) importado de los Estados Unidos adquirido en una cadena comercial en la Ciudad de México en 2004. La cepa aislada se encuentra depositada con el número de registro PE-1, en el cepario del Laboratorio de Hongos Comestibles de la Facultad de Química, UNAM. Para la resiembra y propagación de las cepas se utilizaron cajas Petri con medio estéril de Agar Extracto de Malta preparado con 1.5% extracto de malta y 2% agar en agua destilada. Para la preparación de inóculo de grano se utilizó trigo estéril siguiendo la metodología convencional (Stamets 2000)

Preparación de sustratos

Se formularon sustratos utilizando proporciones distintas de aserrín de maderas duras, cascarilla de algodón, salvado de trigo, mijo y sorgo molido. Estos materiales tienen diferentes capacidades para retener agua y al cambiar las proporciones de ellos en los distintos sustratos, fue indispensable ajustar la humedad final de cada sustrato para evitar un exceso de agua que resultaría en la acumulación de lixiviados en el fondo de las bolsas o bien en una inhibición del crecimiento vegetativo por una baja disponibilidad de agua en el sustrato. Para ello, se determinó la capacidad de absorción de agua de cada material colocando 100 g en un recipiente de plástico que se dejaron sumergidos en agua por 24 h. Se drenó entonces el exceso de agua presionando el material húmedo repetidas veces con la mano hasta que no se liberara más agua, se determinó el contenido de humedad y la diferencia con el contenido inicial de humedad indicaba la capacidad de absorción de agua del material, es decir la cantidad de agua con que debería mezclarse este material (con su humedad original) para alcanzar su nivel de saturación. Los sustratos se elaboraron mezclando los distintos materiales a su nivel de saturación (base húmeda) y se llenaron bolsas de polipapel (18 x 45 cm) con un kilogramo de mezcla, preparando 10 réplicas para cada sustrato. Las bolsas con sustrato se esterilizaron en autoclave (121°C, 15 lbs de presión durante 2 horas) y una vez a temperatura ambiente, se inocularon con 5% inoculo de grano. Se registró el peso de cada bolsa ya inoculada, colocándolas en un cuarto de incubación a 24°C en oscuridad por 6 semanas. Se determinó la humedad de cada sustrato después de la esterilización tomando 5 muestras de 10 g que se colocaron en una estufa a 60°C hasta peso constante (24 horas).

Fructificación y producción

Después del período de incubación el sustrato se transfirió a un cuarto de fructificación, donde la temperatura disminuyó a 18°C, se mantuvo iluminado todo el día y se dieron 4 riegos por día (20 minutos, cada 6 horas), seguido de 2 h de ventilación con aire húmedo después de cada riego. Bajo estas condiciones los primordios aparecieron por lo general durante la primera semana de inducción de la fructificación (Figuras 1 y 2). Una

vez que inició la maduración, los hongos fueron cosechados diariamente y se llevó un registro diario de la cantidad y peso de los hongos producidos en cada una de las 10 réplicas evaluadas para cada sustrato. Con estos valores se calculó la producción semanal y con el peso de cada bolsa y la humedad de cada sustrato se calculó la eficiencia biológica semanal (EB) y la eficiencia biológica semanal acumulada (EBA) para cada sustrato (g hongo fresco/100 g sustrato seco). La contaminación se indica en porcentaje, de acuerdo al número de bolsas que mostraron signos de contaminación, esencialmente por desarrollo de mohos, de las 10 réplicas preparadas para cada sustrato.



Figura 1: Incubación de los sustratos.



Figura 2. Inducción de la fructificación.

Análisis estadístico de resultados

El primer experimento se realizó de acuerdo a un diseño aleatorio en bloques donde la variable principal evaluada fue el efecto de la composición del sustrato y como variable secundaria se evaluó el efecto de las réplicas; se usaron 4 diferentes sustratos (con distintas concentraciones de cascarilla de algodón y aserrín de encino) y 10 réplicas por tratamiento. Con los valores de eficiencia biológica acumulada obtenidos después de 8 semanas de cosecha (para cada sustrato) se realizó un análisis de varianza para observar si existía diferencia significativa entre las EBA de los 4 sustratos evaluados. Como el análisis de varianza indicó diferencias significativas se utilizó la prueba de rango múltiple de Duncan para identificar el sustrato con mayor EBA. El segundo experimento se realizó también de acuerdo a un diseño aleatorio en bloques donde la variable principal evaluada fue el efecto de la composición del sustrato y como variable secundaria se evaluó el efecto de las réplicas, se usaron 8 diferentes sustratos (con distintas concentraciones de cascarilla de algodón y aserrín de encino) y 10 réplicas por tratamiento, incluyendo 2 sustratos como control, uno con cascarilla de algodón como componente principal y otro donde el componente principal fue el aserrín de encino. En el segundo experimento se evaluó la producción semanal de hongos durante 17 semanas de producción. Con los valores de EBA de cada sustrato se realizó un análisis de varianza y la prueba de rango múltiple de Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), es decir la semana donde los incrementos posteriores ya no fueron estadísticamente significativos. Con los valores del RMS de todos los sustratos se realizó un segundo análisis de varianza y con la prueba de rango múltiple de Duncan se identificaron los sustratos más productivos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La información disponible en la literatura señala la posibilidad de cultivar *P. eryngii* en sustratos ricos en cascarilla de algodón o aserrín de maderas duras (Tan *et al.* 2005, Yamanaka 2005, Rodríguez Estrada y Royse 2007, Moonmoon *et al.* 2010, http://www.unicornbags.com/cultivation/pler.shtml). Se decidió por ello evaluar 4 sustratos en un primer experimento (Tabla 1), uno con alto contenido de cascarilla de algodón (sustrato 1) otro

con alto contenido de aserrín (sustrato 2) y dos sustratos con proporciones intermedias de estos 2 materiales. Se incluyó salvado de trigo, sorgo molido y mijo siguiendo las recomendaciones reportadas en la literatura, y en el sustrato 4 la formulación de un cultivador local, que incluía 0.5% de sulfato de amonio y ácido cítrico y 0.95% de benlate.

En algunas investigaciones se reporta que los materiales del sustrato se mezclan en seco, a la humedad con que llegan, y posteriormente se les ajusta a una humedad fija sin dejarles un tiempo de remojo (Rodríguez Estrada *et al.* 2009, Moonmoon *et al.* 2010). Kirbag y Akyüz (2008) preparaban sus sustratos también mezclando los ingredientes con el cometido de humedad original pero aquí los autores los dejaban por 48 horas en exceso de agua hasta que alcanzaran una humedad de 70 a 75% y ya entonces los envasaban en los contendores para esterilizar. De manera similar, Unicorn bags recomienda dejar la cascarilla de algodón en agua con cal por 24 horas (http://www.unicornbags.com/cultivation/pler.shtml) para permitir que este material se hidrate correctamente, insistiendo en la necesidad de que los distintos materiales deben ser mezclados correctamente y que para lograr una desarrollo miceliar homogéneo, el agua debe estar distribuida lo más parejo posible.

La decisión de elaborar los sustratos mezclando los ingredientes ya húmedos, a su nivel de saturación de agua, resultó adecuada ya que la capacidad de retención de agua de la cascarilla de algodón es diferente que la del aserrín de encino y al variar sus proporciones en el sustrato no resultaba adecuado mantener el mismo contenido de agua en la formula final. Al no tener un contenido de humedad fijo para todos los sustratos con diferentes proporciones de cascarilla y aserrín, se evita que el componente con menor capacidad de retención de agua eventualmente pierda el agua que no pueda retener y esta se acumule en el fondo de las bolsas o en el caso opuesto que se encuentre por debajo de su nivel de saturación a expensas del componente con mayor capacidad de retención de agua. En ambas situaciones el desarrollo micelial puede ser inhibido por lo que el crecimiento vegetativo y la fructificación se verían también afectados. Al determinar el contenido de humedad de los sustratos en el primer experimento, se observó que este disminuía después de la esterilización, en el sustrato 1 de 58.6 a 55.6%, en el sustrato 2 de 60.7 a 59.3%, en el sustrato 3 de 62.4 a 61.7 y en el sustrato 4 de 57.7 a 57.2%. A la inoculación, el contenido de humedad varió entonces de 55.7 a 61.7%, usándose estos valores para calcular los rendimientos en base seca.

Como se muestra en la Tabla 1, si bien en los sustratos 1 y 2 se obtuvo una EBA mayor a 100%, el sustrato 1 con cascarilla de algodón como componente principal, mostró la mayor EBA y el menor nivel de contaminación durante la incubación, mientras que el sustrato 2, con aserrín como componente principal la mitad de las bolsas se contaminaron en la etapa de incubación. Por otro lado no debe dejarse de considerar que en la práctica, los productores elaboraran sus mezclas usando los materiales disponibles, que llegan en condiciones cambiantes, dependiendo de la época del año y del proveedor. Por ello, la manera como estandarizan su procedimiento de elaboración de sustrato es llevando a cada uno de los materiales a su punto de máxima retención de agua para entonces mezclarlos.

La formulación el sustrato 1 (80% de cascarilla de algodón y 15% de salvado de trigo) se utilizó como punto de partida para una serie de sustratos que fueron evaluados en el segundo experimento. La sacarosa se eliminó de la formulación pero la cal (3%) y el yeso (1%) se usaron en todos los sustratos. En los primeros 3 sustratos se varió el contenido de cascarilla de algodón de 90 a 60%, completando la mezcla con salvado para comparar con el control de 80% de cascarilla. En los sustratos 4 al 6 se evaluaron mezclas de aserrín con cascarilla de algodón manteniendo la proporción de salvado a 16% y finalmente el sustrato 7 es el sustrato donde el aserrín es el componente principal (Tabla 2).

En la Tabla 3 se presentan los valores de EBA obtenidos en los 8 sustratos evaluados durante 17 semanas de cosecha. También se indica la semana donde se alcanzó el RMS para cada sustrato. Como puede observarse, las EBA fluctuaron desde 83% hasta 162% y el tiempo para alcanzar el RMS varió desde 5 a 6 hasta 12 a 14

semanas de cosecha.

Tabla 1. Eficiencia biológica acumulada de *Pleurotus eryngii* en los 4 sustratos evaluados en el primer experimento

Sustrato	Composición (g /100 g de sustrato húmedo)					EBA* (g de hongos frescos/ 100 g de sustrato seco)	Contaminación (%)
	Aserrín	Cascarilla de algodón	Salvado	Mijo	Sorgo molido		
1◈		80	15			136.7 ± 29.7 c	0
2	80		10		10	108.2 ± 15.3 b	50
3	50	40	10			83.8 ± 11.3 b	20
4◆	50	36		6	6	46.9 ± 10.5 a	10

◈Sustrato 1: con 1% de yeso, 1% de sacarosa y 3% de cal

◆Sustrato 4: con 0.5% de sulfato de amonio, 0.5% ácido cítrico y 1% benlate.

* Letras diferentes en los valores de EBA indican diferencia significativa entre los sustratos

Tabla 2. Composición de los sustratos evaluados en el segundo experimento

Sustrato	Composición (g/100 g sustrato húmedo)▣		
	Aserrín	Cascarilla	Salvado
Control	------	80	16
1	------	90	6
2	------	70	26
3	------	60	36
4	40	40	16
5	20	60	16
6	60	20	16
7	80	------	16

▣Todos los sustratos se adicionaron con: cal 3%, yeso 1%

En la Tabla 4 se muestra una clasificación de los sustratos de acuerdo a los rendimientos máximos significativos. Se observa que de las 4 formulaciones más productivas para la cepa de *P. eryngii* evaluada, los sustratos 4 y 5 que son una mezcla de cascarilla de algodón y aserrín requirieron de mayor tiempo para alcanzar el RMS (13 y 14 semanas respectivamente) mientras que los sustratos 1 y 2, en cuya composición sólo hay cascarilla de algodón, un material puramente celulósico, lo alcanzaron en tiempos más cortos (6 y 10 semanas respectivamente). Probablemente al aserrín, material con alto contenido de lignina requiere de tiempos más prolongados para su asimilación.

Tabla 3. Eficiencia biológica semanal acumulada de *Pleurotus eryngii* en los 8 sustratos evaluados en el segundo experimento

Semana de cosecha	Eficiencia biológica semanal acumulada (g hongos frescos / 100 g sustrato seco)							
	Sustrato							
	Control	1	2	3	4	5	6	7
1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
2	25 ± 42.7	99.4 ± 21.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
3	66.8 ± 23.4	99.4 ± 21.7	82.6 ± 42.3	25.5 ±44.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	25.5 ± 36.1	26.9 ± 36.1
4	66.8 ± 23.4	106.1 ±20.7	98.9 ± 12.3	41.9 ±38.8	66.5 ± 39.3	91.1 ± 33.4	36.9 ± 35.1	26.9 ± 36.1
5	82.0 ± 27.5	109.3 ±16.2	98.9 ± 12.3	**82.6 ±22.5**	83.0 ± 15.1	91.1 ± 33.4	36.9 ± 35.1	26.9 ± 36.1
6	94.3 ± 32.4	**129.8 ±22.2**	122.8 ±39.5	82.6± 22.5	83.0 ± 15.1	91.1 ± 33.4	36.9 ± 35.1	26.9 ± 36.1
7	94.3 ± 32.4	129.8 ±22.2	122.8 ±39.5	82.6 ±22.5	83.0 ± 15.1	91.1 ± 33.4	49.7 ± 19.0	32.4 ±38.6
8	94.3 ± 32.4	129.8 ±22.2	122.8 ±39.5	82.6 ±22.5	83.0 ± 15.1	102.0 ± 35.4	61.4 ± 33.3	32.4 ±38.6
9	94.3 ± 32.4	129.8 ±22.2	122.8 ±39.5	87.2 ±15.1	97.9 ± 17.3	105.4 ± 28.6	61.4 ± 33.3	39.3 ± 45.4
10	95.4 ± 33.8	129.8 ±22.2	**131.5 ±35.2**	91.7 ±21.9	97.9 ± 17.3	105.4 ± 28.6	61.4 ± 33.3	70.4 ± 18.5
11	95.4 ± 33.8	132.1 ±19.0	131.5 ±35.2	99.3 ±14.3	109.5 ± 24.0	118.5 ± 32.0	78.9 ± 36.3	74.9 ± 10.5
12	**99.4 ± 26.1**	132.1 ±19.0	141.9 ±31.5		130.0 ± 19.0	131.8 ± 43.0	91.6 ± 21.7	**95.7 ± 27.6**
13	105.3 ± 27.8	132.1 ±19.0	141.9 ±31.5		**135.6 ± 25.1**	141.7 ± 46.3	98.0 ± 19.4	95.7 ± 27.6
14	112.6 ± 26.6	132.1 ±19.0	141.9 ±31.5		146.8 ± 24.5	**161.9 ± 38.7**	**112.5±30.0**	95.7 ± 27.6
15	116.3 ± 28.9	132.7 ±18.6	151.1 ±33.4		146.8 ± 24.5	161.9 ± 38.7	112.5± 30.0	106.7 ±17.9
16			152.6 ±35.2		152.4 ± 20.7	172.1 ± 29.4	125.6 ±20.4	
17					154.4 ± 20.7		125.6 ±20.4	

Los cuadros sombreados indican la semana en la que se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

En la Figura 3 se grafica el efecto de la concentración de la cascarilla de algodón y aserrín en el sustrato sobre el rendimiento máximo significativo. Se observa que el RMS presentó un incremento lineal (r = 0.9992) al aumentar el contenido de cascarilla de algodón en el sustrato. En forma paralela también se observa una disminución lineal (r = 0.9953) en el RMS, al incrementar el contenido de aserrín en la formulación del sustrato. Este es un resultado muy importante que señala por primera vez la interacción entre estos 2 componentes en las formulaciones para *P. eryngii*, en particular al incorporar a través del parámetro del RMS el factor de la productividad, es decir el tiempo requerido para producir el máximo rendimiento. Esto queda claramente expuesto en la Tabla 4, ya que de los 4 sustratos que presentaron la mayor EBA (1, 2, 4 y 5), el sustrato 1, con 90% de cascarilla de algodón presentó la mayor productividad (3.1 g de hongos frescos /100 g sustrato seco/día). Este resultado indica que produce mayor cantidad de hongos (EBA= 130%) en menor tiempo (6 semanas de producción), mientras que los otros sustratos que también presentaron altos rendimientos, estadísticamente iguales, el tiempo de producción se incrementó a 10, 13 o hasta 14 semanas.

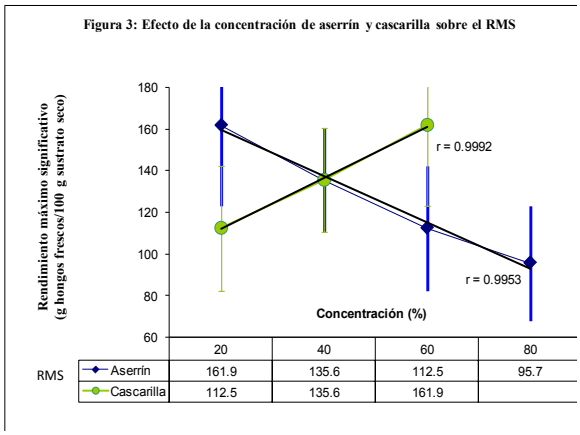


Figura 3. Efecto de la concentración de aserrín de encino y cascarilla de algodón sobre el RMS.

Tabla 4. Rendimiento máximo significativo, semanas de cosecha y productividad de *P. eryngii* en los sustratos evaluados en el segundo experimento

Sustrato	Composición[1] (g / 100 g sustrato húmedo)			Rendimiento máximo significativo[2]		Prod.[3]	Contaminación (%)
	Aserrín	Cascarilla	Salvado	(g hongo fresco / 100 g sustrato seco)	Tiempo (semanas)		
5	20	60	16	161.9 ± 38.7 [d]	14	1.7	10
4	40	40	16	135.6 ± 25.1 [cd]	13	1.5	0
2	------	70	26	131.5 ± 35.2 [cd]	10	1.9	20
1	------	90	6	129.8 ± 22.1 [cd]	6	3.1	0
6	60	20	16	112.5 ± 30.0 [ab]	14	1.1	10
Control	------	80	16	99.4 ± 26.1 [ab]	12	1.2	10
7	80	------	16	95.7 ±27.6 [ab]	12	1.1	20
3	------	60	36	82.6 ± 22.5 [a]	5	2.4	60

[1] Todos los sustratos se adicionaron con: cal (3%) y yeso (1%)

[2] Letras diferentes indican diferencia significativa según Duncan (a= 0.5%)

[3] Prod. = Productividad (g hongo fresco/100 g sustrato seco/día)

En el caso del sustrato 5, con 60% cascarilla de algodón y 20% aserrín, la productividad disminuye a 1.7 (g de hongos frescos /100g sustrato seco/día) y conforme aumenta el contenido de aserrín en los sustratos la productividad disminuye. Así por ejemplo en el sustrato 7 (con un contenido de aserrín de 80%) la productividad baja hasta 1.1. Por otro lado, en el caso del sustrato 3 que presentó el menor rendimiento y el mayor porcentaje de contaminación, esto probablemente fue debido a la concentración más elevada de salvado de trigo, lo que hace al sustrato más rico en nutrientes y por ello probablemente más susceptible a la contaminación. Sin embargo el sustrato 3 presentó una productividad de 2.4, posiblemente como resultado de los nutrientes adecuados para la producción de *P. eryngii* aportados por el salvado y 60% de cascarilla. En el caso del sustrato 7, donde 80% de su peso fue aserrín, se obtuvo una baja productividad, valor que se esperaba considerando los resultados obtenidos en el experimento previo. De acuerdo a lo anterior se puede decir que los sustratos de mezclas de aserrín con cascarilla permiten obtener buenos rendimientos en la medida que el componente principal sea la cascarilla de algodón y que la adición de aserrín provoca que la fructificación se prolongue más que en los sustratos que contienen cascarilla de algodón como componente principal.

Existen reportes contradictorios en la literatura sobre las proporciones recomendadas de cascarilla y aserrín en los sustratos para *P. eryngii*. Autores como Rodríguez Estrada y Royse (2007) utilizan sustratos con cascarilla de algodón como componente principal, 62% y 27% de aserrín de encino, aunque en este caso variaron la proporción de cascarilla de 64 a 56% al cambiar la proporción de soya molida en el sustrato, de 4 a 12% en base seca. Esta composición se asemeja a la del sustrato 5, que en este estudio produjo el mayor rendimiento (161%) pero que no fue el más productivo ya que requirió de 14 semanas, mientras que el sustrato 1 con 90% de cascarilla de algodón produjo una eficiencia biológica estadísticamente similar (129%) pero en 6 semanas de producción por lo que su productividad fue mucho más alta, 3.1 contra 1.7 del sustrato 5. Sería interesante evaluar el efecto de sustituir el salvado de trigo por soya molida, que en el estudio de Rodríguez Estrada y Royse (2007) produjo los mejores rendimientos al adicionar 8 a 12% de soya molida, un ingrediente con mayor contenido de nutrientes que el salvado de trigo. Hubiera sido también interesante evaluar el efecto de disminuir la proporción de aserrín en vez de la de cascarilla.

Por otro lado, Unicorn Bags (http://www.unicornbags.com/cultivation/pler.shtml), un proveedor especializado para elaborar sustratos para la producción comercial de *P. eryngii* recomienda usar mayores proporciones de aserrín (45 a 48%) que de cascarilla de algodón (22%) o inclusive sustituir la cascarilla de algodón por otra fuente de aserrín. Aunque no indica el tipo de aserrín que debe utilizarse, con los 2 tipos de sustratos recomienda completar la formulación con una alta proporción de salvado de trigo (25%), maíz molido (3%) y sacarosa (1%). Probablemente recomienda usar una menor humedad, 55%, debido a la mayor proporción de aserrín en el sustrato que dependiendo del tipo y estado del aserrín puede tener una menor capacidad de retención de agua. Moonmoon *et al.* (2010) son otros autores que recomiendan el uso de sustratos ricos en aserrín, 64%, cuya fórmula se completa con 32% de salvado de trigo y en este caso con 65% de humedad, reportando eficiencias biológicas de 50 a 70% dependiendo de la cepa utilizada.

En términos de los valores de eficiencia biológica, los obtenidos en este estudio se encuentran en el rango superior de los reportados en la literatura. Aún los sustratos donde se obtuvo la menor eficiencia biológica (82 a 112%) se encuentran en un rango aceptable, por ejemplo Rodríguez Estrada y Royse (2007) reportan eficiencias biológicas de *P. eryngii* ligeramente superiores a 70%, es decir las eficiencias biológicas obtenidas con los sustratos más productivos (130 a 162%) son muy superiores a estos valores. De manera similar, Filho (2008) utilizando también botellas de plástico para la producción comercial de *P. eryngii*, reporta valores de EB entre 53 y 71% para un solo brote, el cual puede llevarse entre 3 y 4 semanas mientras que en el presente estudio se alcanzaron valores muy superiores para estos periodos de cosecha; por ejemplo, los sustratos 1 y 2 en el segundo experimento produjeron eficiencias biológicas acumuladas cercanas a 100% en 3 a 4 semanas de corte.

CONCLUSIONES

Se observó que al aumentar la proporción de cascarilla de algodón en el sustrato, se redujo el tiempo para alcanzar el RMS, determinándose un incremento de tipo lineal (r = 0.9992) en el RMS al aumentar el contenido de cascarilla de algodón en el sustrato y disminuir el contenido de aserrín. A partir del análisis estadístico se determinó que los sustratos 1, 2, 4 y 5 produjeron las mayores eficiencias biológicas de *P. eryngii* y considerando los valores de productividad, el sustrato 1 (90% de cascarilla de algodón y 6% de salvado de trigo) fue donde se obtuvo el mayor rendimiento en el menor tiempo de producción. Si bien al elevar la proporción de salvado de trigo en el sustrato incrementó el riesgo de contaminación, se obtuvieron altos valores de productividad por lo que resulta interesante evaluar el efecto de concentraciones menores de salvado de trigo o eventualmente el uso de soya molida. Finalmente, el Rendimiento Máximo Significativo (RMS) es un parámetro importante que debe ser considerado para la producción de *P. eryngii* a mayor escala ya que se encuentra íntimamente asociado a la productividad.

REFERENCIAS

Chang ST, Miles PG (1989) *Edible Mushrooms and their Cultivation*. CRC Press, Boca Raton. 30-50.

Kirbag S, Akyüz M. (2008) Evaluation of agricultural wastes for the cultivation of *Pleurotus eryngii* (DC. Ex Fr.) Quel. var. *ferulae* Lanzi. *African J. Biotechnol.* 7: 3660-3664.

Mayett Y, Martínez-Carrera D (2010). El consumo de los hongos comestibles y se relevancia en la seguridad alimentaria de México. En*:* Martínez Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora VM (eds). *Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y perspectivas en el siglo XXI*. Red Latinoamericana de hongos comestibles y medicinales: producción, desarrollo y consumo: 293-329.

Moonmoon M, Uddin N, Ahmed S, Shelly NJ, Khan A (2010) Cultivation of different strains of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) on saw dust and rice straw in Bangladesh. *Saudi J. Biol. Sci.* 17: 341-345.

Okano K, Fukui S, Kitao R, Usagawa T (2007) Effects of culture length of *Pleurotus eryngii* grown on sugarcane bagasse on in vitro digestibility and chemical composition. Animal *Feed Sci. Technol.* 136: 240- 247

Rodríguez Estrada A, Royse DJ (2007) Yield, size and bacterial blotch resistance of *Pleurotus eryngii* grown on cottonseed hulls/oak sawdust supplemented with manganese, copper and whole ground soybean. *Biores. Technol.* 98:1898-1906

Rodríguez Estrada A, Jimenez-Gazco MM, Royse DJ (2009) Improvement of yield of *Pleurotus eryngii* by substrate supplementation and use of casing overlay. *Biores. Technol.* 100:5270-5276

Royse DJ, Shen Q, McGarvey C (2005) Consumption and production of recently domesticated edible fungi in the United States with a projection of their potential. En*:* Tan *et al.* (eds). *Proceed. Fifth Int. Conf. Mush. Biol. Mush. Products. Acta Edulis Fungi* 12: 331-337.

Stamets P (2000) *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms,* Third edition. Ten Speed Press.

Tan Q, Wang Z, Cheng J, Guo Q, Guo L (2005) Cultivation on *Pleurotus* spp in China. En*:* Tan *et al.* (eds). *Proceed. Fifth Int. Conf. Mush. Biol.Mush. Products. Acta Edulis Fungi* 12: 338-343.

Yamanaka K (2005) Cultivation of new mushroom species in East Asia En*:* Tan *et al.* (eds). *Proceed. Fifth Int. Conf. Mush. Biol. Mush. Products*. *Acta Edulis Fungi* 12: 115-123.

Unicorn bags (http://www.unicornbags.com/cultivation/pler.shtml) 4 de mayo 2011.

4.4 PRODUCTORES DE SETAS *PLEUROTUS* SPP. EN EL ESTADO DE MORELOS, MÉXICO

Luis López Eustaquio, Víctor M. Mora, Daniel Portugal

Laboratorio de Micología, Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos. C. P. 62209
eustaquio58@yahoo.com

RESUMEN

En México se genera una gran cantidad de esquilmos agrícolas que pueden ser utilizados para la producción de hongos. De particular interés es el cultivo del hongo conocido en Morelos como oreja de cazahuate o comercialmente como "seta", el cual constituye una de las opciones más viables para la creación de empleos y la producción de alimento, en función a su bajo costo de producción, alto contenido proteínico y su obtención en grandes cantidades en lapsos de tiempo relativamente cortos. Por lo anterior el objetivo del presente trabajo es conocer la ubicación, la infraestructura y la forma de comercialización del producto de los módulos de producción de *Pleurotus* spp. en Morelos. Existen 44 módulos en el estado, de los cuales 82.5% cuenta con una infraestructura rústica, 12.5% presenta instalaciones semitecnificadas y 5% tecnificadas, ya que cuentan con invernadero tipo túnel, además de contar con sistemas de riego automático por nebulización, extractores de aire lavado, paredes húmedas, aire acondicionado, extractores automáticos de aire, termómetros e higrómetros.

Palabras clave: hongos comestibles, hongo ostra, desarrollo rural, esquilmos agrícolas.

INTRODUCCIÓN

En México, el cultivo de hongos comestibles inició en el año 1933 por José Leben Zdravie. Esto convirtió al país en el tercer lugar de América, donde se emprendía dicho cultivo, solo antecedido por Estados Unidos de Norteamérica (1880) y Canadá (1912). Actualmente, la producción de estos organismos en México ofrece notable ventajas sociales, económicas y ecológicas. Se estima que la producción comercial en fresco hasta 2009 es de aproximadamente 46,533.2 toneladas anuales (Martínez-Carrera y López-Martínez de Alva, 2010). Este país es el mayor productor de Latinoamérica, ya que se genera alrededor del 57% de la producción total de esa región, ubicándose como el 18° productor a nivel mundial, generando más de 15 mil empleos directos e indirectos. La importancia ecológica de esta actividad económica radica en la utilización y reciclaje de más de 280,000 toneladas anuales de subproductos agrícolas (Martínez-Carrera 2000).

La producción rural de setas *Pleurotus* spp. tuvo un crecimiento muy importante con las primeras investigaciones básicas, aplicadas y socioeconómicas, desarrolladas por el Colegio de Postgraduados en 1989, en la Sierra Norte del Estado de Puebla. A partir de esta fecha se generaron diversas experiencias exitosas en otras localidades de los estados de Puebla, México, Hidalgo, Tlaxcala, Morelos, Veracruz, Jalisco, Yucatán, Guerrero, Oaxaca, Querétaro y Chiapas (Martínez-Carrera y López-Martínez de Alva 2010).

Dada la disponibilidad de gran cantidad de desechos agroindustriales y la alternativa que representa los hongos comestibles, se ha despertado un gran interés por su cultivo, particularmente en diferentes zonas rurales y urbanas del estado de Morelos, con el hongo conocido como oreja de cazahuate o seta *Pleurotus* spp., el cual en México alcanzó en 1990, una producción anual de 356 toneladas (Martínez-Carrera *et al*. 1993), para 1997 la

producción estimada fue de 1,825 t, lo que representa un incremento de 413% durante este periodo (Sobal *et al*. 1997), mientras que en 2009 la producción estimada fue de 2,920 toneladas, lo que representa un incremento de 720% durante este periodo (Martínez-Carrera y López-Martínez de Alva 2010).

El cultivo de hongos comestibles es una actividad que se desarrolla ampliamente en diversas partes del mundo. En América Latina, específicamente en México, requiere de mayores recursos para su desarrollo. Existen más de 200 especies comestibles que se recolectan en la temporada de lluvias en México, de ellas en Morelos se encuentran más de 100 (Mora *et al.* 1990), siendo apenas 14 especies las que se cultivan en todo el país, en contraste con las 200 ya referidas.

En Morelos se generan miles de toneladas de residuos lignocelulósicos como los esquilmos agrícolas, subproductos agrícolas y productos forestales. Estos materiales no son aprovechados por desconocimiento de la población respecto del uso que pueden darles para reciclarlos y evitar así daños al ecosistema. Una de las opciones más viables y prometedoras de la utilización práctica lo constituye el cultivo de hongos comestibles, en particular el hongo de cazahuate *Pleurotus* spp., debido a su sabor, su contenido proteínico y sobre todo por su relativa facilidad de producción (Martínez-Carrera *et al*. 1984). Por otra parte, el consumo de este hongo forma parte del acervo cultural de la población rural, pues constituye una estrategia alimentaria, como lo señalan Portugal *et al*. (2006).

En la actualidad existe poca información concerniente a los productores y módulos de producción de setas *Pleurotus* spp., distribuidos en el estado de Morelos. Esta situación dificulta la asesoría y la asistencia técnica para mejorar, capacitar y ayudar en el cultivo de dicho hongo. También se desconocen los lugares de producción, los métodos utilizados, la infraestructura y los rendimientos obtenidos. Por lo anterior, se observa la necesidad de crear un sistema con la información necesaria. El objetivo del presente trabajo es conocer la ubicación e infraestructura, así como la forma de comercialización del producto obtenido de los módulos de producción de *Pleurotus* spp., en Morelos.

Pocos son los trabajos que refieren sobre los módulos de producción de setas en la entidad morelense, como Alpuche *et al*. (1996). Dichos autores reportaron el fomento de naves de producción fúngica en comunidades rurales del estado de Morelos, con la finalidad de crear alternativas productivas para el desarrollo rural, incorporar a la mujer a la actividad productiva y abatir la desnutrición en áreas rurales, sin que para ello describieran las características de las naves utilizadas. Portugal y Juárez (1998) propusieron la instalación de módulos rústicos para la producción del hongo comestible oreja de cazahuate (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.). Portugal *et al.* (2002, 2003) propusieron estos mismos módulos, en dos comunidades del municipio de Tepoztlán. Bautista *et al.* (2005) llevaron a cabo una evaluación sobre la producción de *P. ostreatus* y sus costos, sobre paja de trigo, en un módulo rústico en el municipio de Zacatepec. Portugal *et al*. (2007) dan a conocer la producción de *P. ostreatus* en una comunidad indígena de la entidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

El Laboratorio de Micología del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, está interesado en la generación, aplicación y desarrollo de la técnica y tecnología que se tiene sobre el cultivo del hongo comestible *Pleurotus* spp., para poder orientar a las comunidades en donde se ha detectado una necesidad específica de cubrir éstos apoyos. La presente investigación se inició con la ubicación de las instituciones que tienen una relación directa con proyectos de producción como la Secretaría de Desarrollo Agropecuario del estado de Morelos, instituciones que otorgan apoyos económicos a diversos proyectos de

producción, como la Fundación Produce Morelos A. C., instituciones de investigación, que brindan asesoría, producción y venta de semilla, como el laboratorio de Micología, de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, la Brigada de Educación de Jonacatepec y el CBTa de Ocuituco, además de la relación directa con los mismos productores, los cuales proporcionaron información y ubicación de los módulos de producción de setas *Pleurotus* spp. en el estado de Morelos. Ya contando con los datos de localización de los módulos, se procedió a visitarlos y a la realización de encuestas y entrevistas directas a los dueños y/o trabajadores para conocer cuántos módulos existen en la entidad, su infraestructura y forma de comercialización del producto, para lo cual se aplicó en siguiente cuestionario:

CUESTIONARIO

Fecha:_____

Nombre del productor:_____

Dirección:_____

Municipio:_____

Teléfono:_____

Lugar donde adquiere la cepa o semilla:_____

Costo por kilo de la semilla:_____

Tipo de Infraestructura:

Rústico ( ) Semitecnificado ( ) Tecnificado ( )

Tipo de Construcción:

Concreto ( )

Túnel ( )

Otro ( ) Especifique:_____

Cuenta con:

1.- Área de bodega ( )

2.- Área de siembra ( )

3.- Área de incubación ( )

4.- Área de fructificación ( )

Tipos de bolsas y medidas para la siembra :_____

Tipos de estantes de incubación:

Madera ( )

Metálicos ( )

Ambos ( )

Otros ( ) Especifique: _____

Estantería en el área de fructificación:

Estante ( ) Lancetas ( ) Tirantes ( )

Substrato utilizado:_____

Técnica de manejo del substrato:

Esterilizado ( ) Pasteurizado ( ) Fermentado ( )

Nombre o clave de la cepa :_____ Color:_____

Tipo de comercialización del producto (Mercado):

Local ( ) Municipal ( ) Estatal ( ) Supermercados ( ) Autoconsumo ( )

Número de personas que trabajan:_____ Sexo: F ( ) M ( )

OBSERVACIONES:_____

_____

_____

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante visitas a cada uno de los módulos existentes en el estado de Morelos, toma de datos y aplicación de cuestionarios, se obtuvieron los siguientes resultados: existen 44 módulos distribuidos en 18 municipios (Figura 1), que son: Amacuzac, Atlatlahucan, Cuautla, Cuernavaca, Emiliano Zapata, Huitzilac, Jantetelco, Jiutepec, Jonacatepec, Ocuituco, Temoac, Tepalcingo, Tepoztlán, Tlalnepantla, Ayala, Xochitepec, Yautepec y Zacatepec. El 82.5% de los módulos cuentan con una infraestructura rústica, 12.5% presentan instalaciones semitecnificadas y 5% tecnificados para controlar los factores ambientales. Referente a la infraestructura (Figura 2), de los módulos visitados 33 cuentan con una infraestructura rústica, es decir, a base de diversos materiales de construcción, como son adobe y teja, lámina de cartón y plástico, concreto con lámina de cartón, carrizo y lámina, tabicón y lámina metálica, además de no contar con sistemas o aparatos para controlar los factores ambientales. Cinco se consideran como semitecnificados, es decir, cuentan con una infraestructura a base de concreto, galeras semi-industriales y cuentan con sistemas de riego, termómetros y extractores de aire. Dos se consideraron tecnificados, ya que cuentan con invernadero tipo túnel, además de contar con sistemas de riego automático por nebulización, extractores de aire lavado, paredes húmedas, aire acondicionado, extractores automáticos de aire, termómetros e higrómetros. En cuanto a los estantes utilizados para el área de incubación, 18 módulos cuentan con estantería de madera. Con respecto a la comercialización del producto (Figura 3), 37.5% fue de manera local, 25% en el mercado local y municipal, 12.5% en el mercado municipal y 2.5% para autoconsumo, mientras que el restante 22.5% lo venden en la Central de Abastos de Cuautla, o en ocasiones lo llevan a la Cd. de México. Por otra parte, cabe señalar que el sustrato más utilizado para la siembra de las setas, fue la paja de trigo con 40%, el rastrojo de maíz fue utilizado por 17.5%, la paja de avena 12.5%, la paja de sorgo 7.5%, la paja de arroz 2.5%, el rastrojo de frijol 2.5% y el restante 17.5% utilizan mezclas de los sustratos antes señalados, en proporción 1:1. Con respecto al tamaño de bolsa utilizado en los módulos fue de 60X40 cm y de 70X90 cm, de polietileno transparente. Solo un productor utiliza polietileno negro. En cuanto a la adquisición de la semilla se observó que 20 productores compran su micelio o semilla en el Laboratorio de Micología, del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, particularmente las cepas de color blanco *Pleurotus ostreatus* f. sp. *florida* HEMIM 11 y *P. ostreatus* HEMIM 50; 4 producen su propio micelio y los restantes lo compran en alguno de los estados de México, Puebla o Michoacán, sin precisar proveedores, ni especies cultivadas. El costo de la semilla varió entre 20.00 y 30.00 pesos mexicanos/kg (US$ 1.65-2.48 por kg). El estudio realizado arrojó también que 60.87% del personal que labora en la producción de setas es de sexo femenino y el restante 39.13% masculino. Este porcentaje se debe a que ellas han optado por aprovechar las oportunidades que el gobierno de Morelos ha provisto para los grupos de mujeres trabajadoras y por tal motivo se han unido y organizado en grupos de 6-8 mujeres.

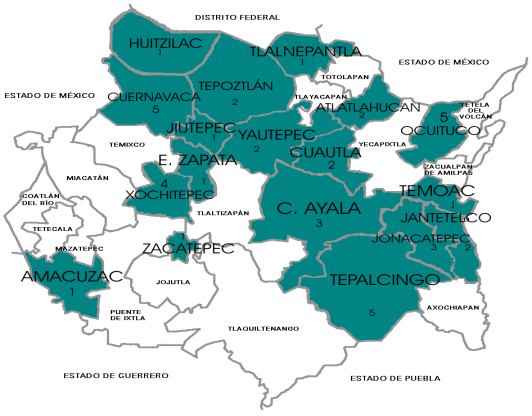


Figura 1. Municipios donde se cultiva *Pleurotus* spp. en el Estado de Morelos.



Módulo rústico



Módulo semitecnificado



Módulo tecnificado

Figura 2. Infraestructura típica encontrada en Morelos para el cultivo de setas *Pleurotus* spp.



Vendedora de hongos



Forma de transportar los hongos

Figura 3. Comercialización de setas *Pleurotus* spp. en Morelos.

CONCLUSIONES

En lo que respecta a la infraestructura, 82.5% de los encuestados cuenta con una infraestructura rústica, lo cual se puede interpretar que los productores solo cuentan con los elementos básicos para la producción de setas y que han adaptado lugares para este propósito o han construido lugares con materiales de bajo costo económico (lámina de cartón, plástico). Por otro lado 12.5% cuentan con instalaciones semitecnificadas o más adecuadas para la producción, ya que han solicitado apoyos económicos a diversas instituciones, para mejorar su infraestructura y así tener una buena producción y el restante 5% son productores con solvencia económica para construir módulos especialmente adecuados para la producción, ya sea en concreto o invernaderos especiales para este fin, con sistemas adecuados para controlar la temperatura, humedad y luz, principalmente. Del total de los módulos encuestados, sólo 35% cuenta con todas las áreas de trabajo (siembra, incubación, fructificación y bodega), el restante 65% sólo cuenta con el área de producción, ya que utilizan ésta misma para siembra e incubación, y un lugar adaptado para bodega. El tamaño de bolsa más utilizado fue el de 40X60 cm, de polietileno transparente. Mientras que el sustrato más utilizado fue el de paja de trigo. Con respecto a la comercialización del producto es de manera local o bien en los diferentes mercados o central de abasto de los diversos municipios de la entidad. Finalmente podemos señalar que el cultivo del hongo comestible oreja de cazahuate o seta *Pleurotus* spp. es una alternativa para la producción de alimentos, generación de empleos y obtención de recursos económicos mediante su venta. Por lo anterior se pretende fomentar su cultivo en el estado de Morelos, mediante el intercambio de experiencias, asesorías y capacitación con los productores, que permitan fortalecer esta actividad para un mejor desarrollo del cultivo de hongos comestibles.

REFERENCIAS

Alpuche O, Montiel E, Portugal D (1996) El fomento de granjas fúngicas en comunidades rurales del estado de Morelos, Resúmenes II Congreso Latinoamericano de Micología. La Habana, Cuba. p. 153.

Bautista N, Bautista-García N, Acosta-Urdapilleta L (2005) Evaluación del cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre paja de trigo bajo condiciones rústicas en Galeana, Zacatepec, estado de Morelos. Resúmenes, Primera Reunión Nacional sobre el Cultivo de *Pleurotus* en México. San Cristóbal de las Casas, Chiapas.

Martínez-Carrera D (2000) Perspectivas de los hongos comestibles en México para el siglo XXI. I Simposio Latinoamericano de Cultivo de Hongos Comestibles. Xalapa, Ver.

Martínez-Carrera D, López-Martínez de Alva L (2010) Historia del cultivo comercial de hongos comestibles en México II: éxitos y fracasos durante el período 1991-2009 En: Martínez-Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora VM (eds). *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI.* Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNS-CONACYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla. 648 pp.

Martínez-Carrera D, Morales P, Sobal M, Larqué-Saavedra A (1993) ¿Reconversión de la industria de los hongos?. *Tecnoindustria* 7: 52-59.

Martínez-Carrera D, Quitarte M, Soto C, Salmones D, Guzmán G (1984) Perspectivas sobre el cultivo de hongos comestibles en residuos agroindustriales en México. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 19: 207-219.

Mora VM, López-Eustaquio L, Bautista N, Portugal D, Montiel E (1990) Hongos comestibles silvestres que se venden en los principales mercados del estado de Morelos. *Rev. Universidad: Ciencia y Tecnología I* (1):21-26. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Portugal D, López-Eustaquio L, Montiel E, Mora VM, Acosta-Urdapilleta L (2002) Instalación de un módulo rústico de producción de *Pleurotus ostreatus*, oreja de cazahuate, en una comunidad del Corredor Biológico Chichinautzin, Morelos. Resúmenes del IV Congreso Latinoamericano de Micología, Xalapa, Ver. p. 596.

Portugal D, López-Eustaquio L, Bautista N, Mora VM (2006) Paquete tecnológico en la producción del hongo comestible, oreja de cazahuate *Pleurotus* spp. para comunidades rurales de Morelos. En: Sánchez-Salinas E, Ortiz-Hernández L, Macedo-Abarca B, Castrejon-Godines L (eds). Memorias en Extenso del V Congreso Internacional y XI Nacional de Ciencias Ambientales, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. pp. 1-5.

Portugal D, Aguilar W, Mora VM, López-Eustaquio L (2003) Instalación y construcción de módulos rústicos del hongo oreja de cazahuate *Pleurotus ostreatus*; dentro del Proyecto de Desarrollo Rural Tepoztlán, "Corredor Ecoturístico

Quetzalcoatl". Resúmenes del VIII Congreso Nacional de Micología, Toluca, estado de México. p. 110.

Portugal D, Juárez M (1998) Proyecto de instalación de módulos rústicos para la producción del hongo comestible oreja de cazahuate (*Pleurotus ostreatus*) en cuatro municipios del estado de Morelos. Resúmenes del III Congreso Mexicano de Etnobiología. "La Etnobiología en el contexto de la globalización". Xoxocotlán, Oaxaca. P. 115.

Portugal D, López-Eustaquio L, Mora VM, Montiel E (2007) Producción rústica de *Pleurotus ostreatus* en una comunidad indígena de Morelos. En: Sánchez JE, Martínez-Carrera D, Mata G, Leal H (eds). *El Cultivo de setas Pleurotus spp en México*. Ecosur-Conacyt. Pp. 123-130.

Sobal M, Morales P, Martínez W, Pegler DN, Martínez-Carrera D (1997) Cultivation of *Lentinus levis* in México. *Micol. Neotrop.Apl. 10*: 63-71.

4.5 ELABORACIÓN DE ABONO BOCASHI CON LA PAJA OBTENIDA DEL CULTIVO DE *PLEUROTUS PULMONARIUS*

Rigoberto Gaitán-Hernández, Martín Mata-Rosas, Agripino Julián Carlos y Elia del Carmen Muñoz

Instituto de Ecología, A.C.
Carretera antigua a Coatepec 351, El Haya, Xalapa, Veracruz, 91070, México
rigoberto.gaitan@inecol.edu.mx

RESUMEN

Los abonos orgánicos se componen de una mezcla de materiales que sufren un proceso de descomposición aeróbica por la acción de ciertos microorganismos. Se generan naturalmente o pueden ser elaborados bajo ciertas condiciones e ingredientes disponibles. Dentro de estos últimos abonos se puede encontrar el bocashi, el cual es de origen japonés y se ha adoptado en México y otros países, empleando diversos ingredientes, como: rastrojo, estiércol, carbón, cal, salvado, entre otros. Su producción requiere por lo menos un compostaje por un periodo de 30 a 40 días, dependiendo principalmente de las condiciones de humedad y temperatura a las cuales se lleva a cabo la descomposición. Por otra parte, en la actualidad la producción de hongos frescos del género *Pleurotus* en México se estima de aproximadamente 7,000 t anuales y representa una industria generadora de empleos, divisas, así como de abundantes residuos orgánicos. Se calcula que en México, después del cultivo de hongos se producen más de 600,000 t de residuos que pueden ser empleados para generar más de 300,000 t de abono orgánico, lo que representa una alternativa de aprovechamiento y valorización del residuo del cultivo de especies de *Pleurotus* (setas) para preparar abonos con cualidades para mejorar el suelo. En este trabajo se presenta una descripción del proceso de preparación del abono bocashi, utilizando como materia prima el residuo de paja generado después del cultivo de setas, los cambios sufridos durante el periodo de compostaje, su análisis químico y el efecto sobre la supervivencia y desarrollo de plantas de *Styrax glabrescens* cultivadas en vivero.

Palabras clave: Abono orgánico, aprovechamiento de residuos, bocashi, setas.

INTRODUCCIÓN

Se considera un abono orgánico todo material de origen animal o vegetal que se utilice principalmente para mejorar las características del suelo, como fuente de vida y nutrientes. Entre los abonos orgánicos más conocidos están la composta, el bocashi y la lombricomposta o lombrihumus, pero también son comúnmente utilizados las aplicaciones de gallinaza y otros desechos vegetales frescos, como la pulpa de café (Soto y Meléndez 2004).

El compostaje es un término utilizado desde el punto de vista del ser humano y que puede definir al conjunto de procesos físicos, químicos y biológicos, mediante los cuales el hombre promueve y maneja la descomposición de los residuos orgánicos para convertirlos en constituyentes naturales de los suelos. A veces se le distingue como descomposición aeróbica, ya que requiere de oxígeno con la consecuente liberación de bióxido de carbono, vapor de agua y temperatura. A diferencia de la descomposición anaeróbica, el compostaje no genera malos olores, ni requiere instalaciones, depósitos o equipos sofisticados de control, es un tratamiento seguro e importante para la protección del medio ambiente (Capistrán *et al*. 1999, Bravo y Giraldo 2003). Después del proceso de compostaje, al producto final se le conoce como humus, compost, composta o abono orgánico, entre otros. Este abono orgánico es el resultado de la transformación de materia con una apariencia y olor final a tierra fresca.

El bocashi es uno de los abonos orgánicos que resulta del proceso de compostaje y su empleo ha tomado cada vez mayor importancia como mejorador de suelos en cultivos agrícolas y forestales, su uso ha ido en aumento en México y Centroamérica. El bocashi originalmente se formuló en Japón con materiales locales, pero en otros países los agricultores han ido modificando su formulación empleando diversos materiales orgánicos disponibles. Como resultado se ha generado un abono, seguro, efectivo, económico, de fácil preparación y que puede abatir los costos por el uso de fertilizantes químicos (SAS 2002, Soto y Meléndez 2004).

Actualmente se considera el bocashi como una receta que busca estimular las poblaciones microbianas en el abono, que mezcla en general materias primas de partícula pequeña (gallinaza, carbón picado, suelo, granza, etc.) que evita temperaturas mayores a 45-50°C, que se humedece solamente al inicio y que se va secando mediante volteo frecuente, hasta estar listo para el almacenaje en una o dos semanas; se trata de un abono producto de un proceso de compostaje incompleto (Soto y Muñoz 2002, Soto 2003, citado por Soto y Meléndez 2004).

México es un país productor de gran cantidad de residuos orgánicos, tan sólo en el año 2000 se generaron más de 50 millones de toneladas de subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales como resultado de la utilización de los recursos naturales (Martínez-Carrera *et al*. 2000). De este volumen producido, se calcula que 70% es desperdiciado y desechado de manera incorrecta en el ambiente. Estos residuos contienen altos porcentajes de lignocelulosa, una molécula compleja de difícil degradación microbiana. Sin embargo, los hongos son organismos degradadores naturales de la lignocelulosa y otros compuestos recalcitrantes, proceso que logran mediante la secreción de diversas enzimas. Por lo tanto, las especies comestibles como *Pleurotus* spp., representan un potencial, no sólo para obtener fructificaciones para consumo directo, sino además, para generar un material residual que puede ser aplicado como fertilizante (Chang y Miles 2004). La actual producción rural y comercial de hongos en México utiliza más de 670 mil toneladas de residuos, con lo que se podrían generar alrededor de 300 mil toneladas de abono orgánico (Martínez-Carrera 2002, Martínez-Carrera *et al.* 2000). Entre estos residuos destacan, por los volúmenes anualmente producidos, el bagazo de caña de azúcar, la pulpa de café, el rastrojo de maíz y las pajas de gramíneas (FAO 2009). La mayoría de los residuos orgánicos son potencialmente adecuados como sustratos para el cultivo de hongos (Sánchez y Royse 2001, Sánchez Vázquez *et al.* 2007).

La producción de *Pleurotus* spp. en México se estima en más de 7 mil toneladas anuales de hongos frescos (Gaitán-Hernández 2007) y de esta industria se generan miles de toneladas de residuos orgánicos. Muchos de ellos son subutilizados, otros son desechados y representan fuentes de contaminación para el medio ambiente. Sin embargo, una buena parte de estos residuos se pueden reutilizar y considerar como recursos útiles para el sector agropecuario; representan una alternativa de aprovechamiento y valorización para preparar abonos de calidad y mejorar las condiciones físicas y químicas del suelo para los cultivos agrícolas.

Es reconocido por los productores agrícolas que el empleo de este tipo de sustratos enriquecidos por abonos orgánicos como el bocashi, pueden ayudar al desarrollo de especies hortícolas, ornamentales y forestales. Por lo cual es importante evaluar la calidad del sustrato enriquecido por este tipo de abonos orgánicos. Por ejemplo, los sustratos enriquecidos con bocashi pueden contribuir significativamente en el crecimiento de especies de interés forestal, ecológico y ornamental como en el caso de *Styrax glabrescens* Benth., planta de la familia Styracaceae que se distribuye en México en los estados de Puebla, Hidalgo, Veracruz, Oaxaca y Chiapas y en Guatemala, Honduras y Costa Rica (Pacheco 1983). Esta especie es empleada principalmente con fines ornamentales, es constituyente del bosque mesófilo de Montaña, ecosistema de los más perturbados y amenazados de México, el cual ha sufrido una de las mayores transformaciones de uso de suelo, provocando que muchas especies hayan visto disminuidas sus poblaciones y en el peor de los casos están en riesgo de desaparecer (Challenger 1998, Williams-Linera 2007). Este es el caso de *S. glabrescens,* donde es necesario tomar diferentes acciones para asegurar su supervivencia. Determinar las mejores condiciones para su óptimo desarrollo bajo cultivo en vivero es primordial, de ahí la importancia de explorar sustratos enriquecidos con abonos orgánicos alternativos para su rápido crecimiento.

En el presente trabajo se plantea como objetivo evaluar el efecto de dos diferentes formulaciones de bocashi, en la supervivencia y desarrollo de plántulas de *S. glabrescens* cultivadas bajo condiciones de vivero, así como determinar la proporción de elementos que componen las dos formulaciones evaluadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de abono por composteo

Para la elaboración del abono bocashi se utilizó como fuente de carbono y sustrato de prueba la paja de cebada obtenida después de la producción de *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél. Para ello, se evaluaron dos formulaciones: 1) Paja de cebada degradada por *P. pulmonarius*; 2) Paja de cebada no degradada. La paja degradada fue utilizada después de 75 días de crecimiento micelial y fructificación de *P. pulmonarius*.

Para la preparación del bocashi se eligió un lugar amplio, que contara con el suministro de agua y sombra, proporcionada por una zona arbolada. La paja de cebada y demás materiales utilizados fueron propios de la región de San Juan Acateno, Teziutlán, Puebla. La cantidad empleada para cada formulación se observa en la Tabla 1.

Tabla 1. Contenido de las formulaciones utilizadas en la preparación del abono tipo bocashi

Formula 1		Formula 2	
Material	Cantidad (kg)	Material	Cantidad(kg)
Paja degradada	60	Paja no degradada	60
Estiércol bovino	150	Estiércol bovino	150
Tierra de monte	130	Tierra de monte	130
Carbón	12	Carbón	12
Salvado	10	Salvado	10
Piloncillo	2	Piloncillo	2
Ceniza	12	Ceniza	12
Levadura	0.125	Levadura	0.125

El procedimiento para la elaboración del bocashi fue el siguiente: 1) se hizo una cama con la paja fragmentada, 2) se aplicó una capa de estiércol vacuno, el cual se mantuvo almacenado antes de su utilización, 3) se aplicó el carbón vegetal de mezquite fragmentado, el cual se mezcló homogéneamente, 4) se agregó la ceniza generada de leña usada como combustible en los hogares, 5) posteriormente se adicionó salvado, 5) el piloncillo y la levadura seca para repostería (La Florida®), los cuales fueron previamente disueltos en agua para incorporar a la mezcla, 6) se adicionó tierra de monte, 7) se mezclaron todos los ingredientes de manera uniforme hasta formar una pila o montón no mayor a 50 cm y finalmente se le agregó agua (SAS 2002) (Figura 1). Los tres primeros días se realizaron dos volteos de la mezcla por día, posteriormente sólo uno cada dos días.

El proceso de preparación se llevo a cabo bajo condiciones no controladas (sistema abierto), con volteos constantes (proceso aerobio), provocando el aumento de temperatura. La duración del composteo fue de 45 días y se registró la temperatura y el pH cada día.

Análisis químico y físico del abono obtenido

Para conocer la composición química y características físicas del abono, se tomaron muestras para su análisis. El porcentaje de humedad se determinó al secar la muestra en horno durante 24 h a 105°C, el pH por potenciómetro (1:2) (HI 9025 HANNA Instruments), conductividad por conductímetro (1:5) (541 Conductivity meter. CORNING Pinnacle) y densidad real con base en la NOM-021-SEMARNAT-200. La relación C:N se

determinó por analizador carbono-nitrógeno TruSpec Marca LECO y las cenizas al someter la muestra en horno durante 24 horas a 600°C (NMX-AA-18-1984). Además se realizó el análisis de macro y microelementos por absorción atómica.



Figura 1. Condiciones de preparación de abono bocashi; A) cama de paja fragmentada; B) aplicación de cada elemento para preparar la mezcla; C) composteo de la mezcla de sustrato en pleno proceso; D) abono bocashi terminado, después de 45 días de composteo.

Evaluación del abono con plántulas en vivero

Se realizaron cuatro diferentes mezclas de sustratos para el trasplante de plántulas de *Styrax glabrescens*. Las mezclas de sustrato base consistieron de: composta, tierra negra, tepetzil (o piedra pómez), en proporción 2:1:1 v/v, la variación en cada mezcla consistió en adicionar bocashi normal (abono generado a partir de paja de cebada no degradada) o bocashi degradado (abono generado a partir de paja de cebada obtenida del cultivo de *Pleurotus*) en 0.5 ó 1 parte. Las proporciones se midieron con la ayuda de contenedores de plástico de 20 l de capacidad. Se elaboraron 95.5 l de cada mezcla, las cuales fueron pasteurizadas con la ayuda de un esterilizador eléctrico (Pro-Grow SST-15) a 72°C por 2 h. Con el sustrato frío se llenaron bolsas de plástico para vivero negras de 22 x 22 cm calibre 400 de 1.89 l de capacidad. Se sembraron las plantas y se colocaron en el vivero (Figura 2). Las plantas fueron inicialmente medidas desde la base del tallo hasta la punta y durante dos meses se calculó el incremento en su talla mediante la fórmula: Incremento en Talla= Altura Tx – Altura To, donde Tx=talla de las plantas cada 30 días, To= talla inicial. El incremento de las plantas se analizó a través

de múltiples pruebas de t-student pareadas con α=0.05 con la ayuda del paquete estadístico SAS para Windows ver. 9.2.



Figura 2. Evaluación de mezclas de sustratos con abono bocashi para el trasplante de plántulas de *Styrax glabrescens*; A) trasplante con los abonos evaluados; B) arreglo de las muestras en vivero; C) plantas en pleno desarrollo; D) condiciones de medición mensual de cada planta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la primera etapa de compostaje, se observó un incremento gradual de la temperatura, en ambas condiciones (Formula 1 y 2), hasta casi 60°C (tercera semana) (fase termofílica), indicativo de la reproducción acelerada de microorganismos presentes que favorecen la descomposición de la materia orgánica (Velázquez-Cedeño *et al*. 2006), después, se mantuvo una temperatura sostenida mayor a 50°C durante tres a cinco días. Se sabe que muchos organismos patógenos termosensibles disminuyen significativamente a una temperatura mínima sostenida de 40ºC durante al menos 5 días o a temperaturas que excedan los 55ºC por al menos 4 horas, estas temperaturas por otro lado, favorecen la proliferación de aquellos que degradan la materia orgánica (Stölzler y Grabble 1991).

Posteriormente hubo un descenso de la temperatura del sustrato a casi 30°C, evidenciando una disminución de la actividad microbiana, ocasionada por una menor humedad y aeración del mismo (Soto y Muñoz 2002) (Figura 3). Es de esperar que si el abono está estable, la actividad microbiana y la tasa de respiración serán menores, pero si el material está a medio descomponer, la actividad microbiana será mayor (Soto y Meléndez

2004).

El pH de sustratos de crecimiento afecta la disponibilidad de nutrientes, especialmente micronutrientes; se recomienda un pH inicial de 6.5 a 8, ya que fuera de este intervalo el proceso de composteo se ve afectado (Alvarado 2006). En nuestro estudio, el sustrato inicialmente presentó un valor de pH elevado (pH 10), el cual disminuyó a casi pH 9 después de 45 días. Un intervalo de pH entre 5.5 y 8.5 resulta óptimo para los microorganismos del compost. A medida que las bacterias y hongos digieren la materia orgánica se liberan ácidos orgánicos. Consecuentemente, en las primeras fases del composteo se produce una caída del pH que favorece el crecimiento de los hongos (generalmente acidófilos) y la ruptura de la celulosa y la lignina. En general los ácidos orgánicos son consumidos en fases posteriores. Sin embargo, si el ambiente se vuelve anaeróbico la acumulación de ácidos como resultado de la fermentación puede disminuir el pH por debajo de 4-5 y limitar seriamente la actividad microbiana.

Los productos de procesos de compostaje incompletos como el bocashi aportan más nutrimentos a corto plazo que un compost terminado, además que incorporan una población microbiana diversa para continuar el proceso de descomposición en el campo, pero existe el riesgo de que aumenten la temperatura del suelo, lo cual podría afectar a los microorganismos benéficos, así como a los cultivos (Soto y Muñoz 2002).

La concentración de humedad en el proceso de composteo es de vital importancia, ya que la cantidad adecuada favorece las reacciones químicas y el movimiento de microorganismos; por su parte, una alta concentración de humedad disminuye la disponibilidad de oxígeno y como consecuencia provoca un estado anaerobio. En el bocashi final obtenido se registró una humedad de 55%; sin embargo, ésta no debe ser mayor a 40%, de tal manera que permita una conservación adecuada, manejo y posible venta (Figura 3, Tabla 2).

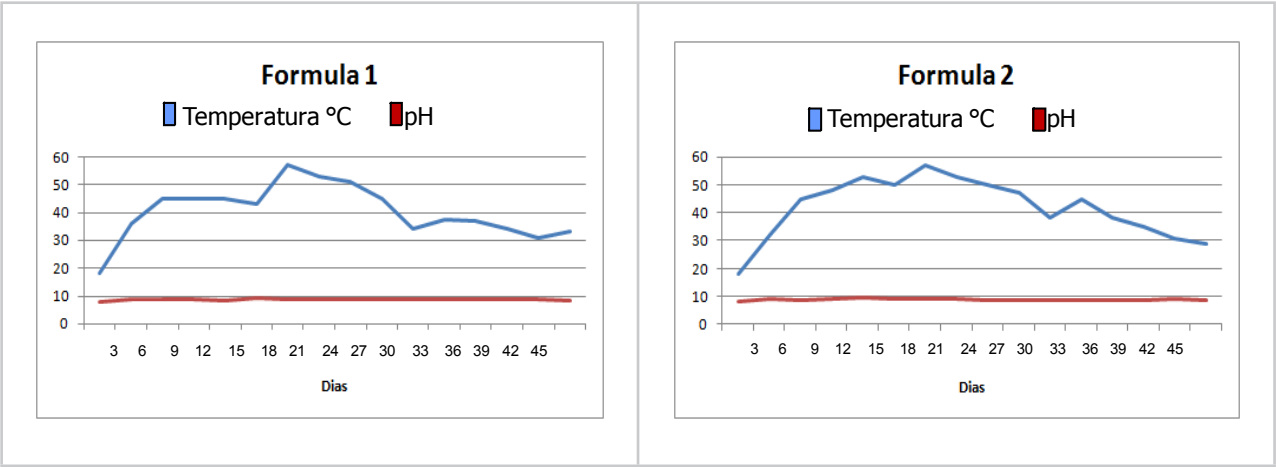


Figura 3. Variación en la temperatura y pH durante el proceso de fermentación de la mezcla con paja degradada (Formula 1) y no degradada (Formula 2).

Otras características consideradas para evaluar la calidad del abono obtenido son: el contenido de sales solubles, la relación carbono (C): nitrógeno (N) (estabilidad), entre otros. La relación C:N registrada en la Fórmula 1 fue de 15:1 y en la fórmula 2 de 14:1 (Tabla 2), lo cual se considera dentro de los valores adecuados para un abono de calidad. Algunos autores han citado una relación C:N entre 12-20:1 como recomendable para abonos terminados (Alvarado 2006). La concentración de N de bocashi en ambas fórmulas fue de 1.29 a 1.5%, lo cual coincide con el intervalo reportado por Soto y Meléndez (2004) para bocashi preparado en Costa Rica (0.9 a 1.5%).

Tabla 2. Características físicas y químicas del abono bocashi, obtenido después de 45 días de fermentación

Determinaciones	Formula 1 (con paja degradada)	Formula 2 (con paja no degradada)
Humedad	55.47%	55.61%
pH	8.58	8.43
CE Ds/m^3	4.07	4.43
Densidad Real g/cm^3	2.13	2.05
Nitrógeno	1.29 %	1.5 %
Carbono	19.5 %	20.3 %
C:N	15:1	14:1
Materia Orgánica	33.6 %	35 %
Cenizas	61.01 %	60.53 %
Fósforo (P_2O_5)	6.12 ppm	4.49 ppm
Potasio (K)	234 ppm	237 ppm
Calcio (Ca)	79.3 ppm	76.1 ppm
Magnesio (Mg)	227 ppm	152 ppm
Zinc (Zn)	4.8 ppm	4.0 ppm
Manganeso (Mn)	1.6 ppm	2.4 ppm
Hierro (Fe)	1.1 ppm	1.16 ppm
Sodio (Na)	15.7 ppm	14.3 ppm
Cobre (Cu)	0.47 ppm	0.46 ppm

La conductividad eléctrica (CE) es un parámetro de medición de la concentración de sales disueltas en el sustrato de crecimiento. Los valores obtenidos en el análisis del bocashi producido bajo las dos formulaciones probadas, indican que este abono es apto para uso en plantas tolerantes que soportan suelos con una CE de 4 a 8 Ds/m^3. Por su parte, la densidad real evaluada se refiere al material sólido que compone un sustrato y su valor varía según la materia de que se trate y oscila entre 2.5-3, los cuales coinciden con los registrados en el bocashi obtenido en este trabajo (Tabla 2). Respecto a la materia orgánica final del bocashi, se pudieron observar valores de 33% (Formula 1) y 35% (Formula 2); sin embargo, se han citado valores de 25% para un abono óptimo para uso en suelo, por lo que se recomendaría un mayor tiempo de composteo para que tanto la materia orgánica alcance los valores recomendados, como el pH pueda disminuir su valor (Bravo y Giraldo 2003). También se debe recordar que el bocashi es un abono no terminado, producto de un compostaje incompleto; sin embargo, se deberán realizar más estudios para conocer los parámetros adecuados de compostaje que permitan tener un producto de calidad para uso comercial.

Es importante considerar que la variación en los resultados obtenidos en los análisis realizados y comparados con los citados por otros autores, dependerán de la materia prima utilizada, el manejo que se haga de la misma previo al compostaje, las mezclas de materiales y el tipo de proceso (Soto y Meléndez 2004).

Respecto a la evaluación del bocashi en el crecimiento de plántulas en vivero, se observó que de manera general, la supervivencia en todos los casos fue alta. La menor supervivencia se registró en las plantas cultivadas en la Mezcla a: composta, tierra negra, tepezil: bocashi normal (2:1:1:1), obteniendo 85% de supervivencia. Esta disminución pudo ser debida al posible daño causado a la plántula al momento del trasplante (Tabla 3) y no necesariamente al sustrato empleado. La respuesta de las plántulas de *S. glabrescens* al cultivo en los ensayos realizados mostró diferencias significativas después de 60 días. En todos los casos el crecimiento fue constante y de manera lineal. La talla de las plantas se incrementó, pero el mayor desarrollo se logró en las plantas cultivadas en las mezclas suplementadas con bocashi degradado (formula 1), aunque a partir de la mezcla a base de composta, tierra negra, tepezil:bocashi degradado (2:1:1:0.5 v/v), se observó la única diferencia

significativa con respecto al resto de los tratamientos y la supervivencia más alta (Tabla 3).

Tabla 3. Incremento en la altura de planta de *Styrax glabrescens* después de 60 días cultivadas en diferentes sustratos enriquecidos con bocashi en diferentes proporciones

Sustrato	Incremento talla (cm)	% supervivencia
Mezcla a: Composta, tierra negra, tepezil: bocashi normal (2:1:1:1)	2.6± 0.37	85
Mezcla b: Composta, tierra negra, tepezil: bocashi normal (2:1:1:0.5)	2.88±0.39	95
Mezcla c: Composta, tierra negra, tepezil: bocashi degradado (2:1:1:1)	3.35±0.37	95
Mezcla d: Composta, tierra negra, tepezil: bocashi degradado (2:1:1:0.5)	4.42±0.66*	100

Valores marcados con * son estadísticamente diferentes mediante la prueba de t-student pareada (α=0.05).
Los valores presentados son la media de 30 datos ± error estándar.

El crecimiento de las plantas está determinado en mayor parte por el sustrato en que se desarrollan, éstas necesitan los elementos necesarios para continuar su crecimiento. La disposición de elementos mayores y menores en el sustrato juegan un papel importante para la misma planta; en el caso particular del bocashi con paja degradada, la proporción de elementos mayores (P, Ca, Mg) es ligeramente mayor al bocashi con paja no degradada y algunos elementos menores (Mn, Fe) están presentes en menor cantidad. Este cambio en la composición y disposición de los nutrientes fue, posiblemente, favorecida por la degradación ejercida por los hongos y con el enriquecimiento del sustrato base con 0.5 v/v de bocashi degradado. El beneficio en el crecimiento de las plantas fue notario, lo que demuestra la acción benéfica de este tipo de sustrato en pequeñas proporciones para potenciar el desarrollo, expresado en esta ocasión como incremento en la talla de las plantas.

Por otra parte, es importante considerar que el bocashi, al tratarse de un abono generado a partir de un proceso de compostaje incompleto, favorece el aporte de más nutrimentos que un compost terminado, además de incorporar flora microbiana diversa que continúa el proceso de descomposición (Soto y Muñoz 2002).

Es necesario continuar estudiando el efecto del bocashi en el enriquecimiento de sustrato útil para el cultivo de plantas, explorar proporciones, combinaciones con otros sustratos, tiempos de degradación, contenido y disposición de nutrientes al incrementar el tiempo de degradación, etc. Pero con el presente estudio se demuestra el gran potencial que tiene este tipo de sustratos en el uso agrícola y hortícola.

CONCLUSIÓN

La propuesta en este trabajo de generación de abono bocashi a partir de paja de cebada utilizada en el cultivo de *P. pulmonarius*, representa una alternativa viable de valorización del residuo dada la calidad obtenida de abono, comparado con el producido con materiales no degradados. La factibilidad de reutilización de un producto con dos propósitos -obtener proteína comestible (hongos) y producir un abono orgánico- se puso de manifiesto, de acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio. Las características del abono producido indicaron que la paja de cebada degradada durante el cultivo de *P. pulmonarius* puede tener un uso prometedor para la generación de un sustrato con los siguientes atributos: favorecer la calidad de los suelos, aumentar los niveles de nutrimentos para los cultivos, mejorar la salud de las plantas, con ello reducir el uso de plaguicidas y disminuir los costos ambientales, entre otros.

Con base en estos resultados, se recomienda un mayor tiempo de composteo para que tanto la materia orgánica alcance los valores recomendados, como el pH pueda disminuir y se obtenga un abono de mejor calidad. Asimismo, se debe poner especial atención a los siguientes aspectos: contenido de agua, de sales y de nutrientes en la materia orgánica, tamaño de partícula, entre otros elementos, así como relación C:N, la temperatura y el pH, ya evaluados en este trabajo, cuyos valores óptimos permitan que el abono sea comercialmente aceptable.

El presente estudio representa el inicio de una serie de investigaciones que buscan encontrar las mejores condiciones para producir un abono de calidad, a partir del uso de un residuo obtenido del cultivo de hongos. Por lo pronto, esto demuestra el potencial que tiene este sustrato para generar un abono de uso agrícola y hortícola.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a los estudiantes Sandra Luz González y Hugo Ballesteros por su colaboración en la parte experimental de vivero de este estudio. Así también agradecen al Biól. Carlos Ortega y personal del Jardín Botánico Francisco Javier Clavijero del INECOL, por su participación.

REFERENCIAS

Alvarado G (2006) Utilización de abonos orgánicos: Compost, vermicompost y bocashi. En*:* Vega A, Molina Bastidas JC, Cunningham R (eds) *I Encuentro nacional de investigadores en aprovechamiento de residuos agroindustriales y biodiversidad.* CYTED, Chiriquí, pp. 83-91.

Bravo I, Giraldo E (2003) Aprovechamiento de residuos agroindustriales para uso agropecuario. En*:* Molina JC, Montoya JC (eds) *I Encuentro nacional de investigadores de aprovechamiento de desechos agroindustrales.* CYTED. Cali. 47-66.

Capistrán F, Aranda E, Romero JC (1999) *Manual de reciclaje, compostaje y lombricompostaje.* Instituto de Ecología, A.C. Xalapa. 150 p.

Challenger A (1998) *Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México. Pasado, presente y futuro*. CONABIO, UNAM y Agrupación Sierra Madre, S.C. México. 813 p.

Chang ST, Miles PG (2004) *Mushroom: Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact.* CRC Press, Boca Raton. 451 p.

FAO (2009) Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. http://www.fao.org/index_es.htm (Julio, 2009).

Gaitán-Hernández R (2007) Transferencia de tecnología de cultivo de *Pleurotus* spp, como alternativa de beneficio social y económico en el estado de Veracruz. En: Sánchez Vázquez JE, Martínez-Carrera D, Leal H, Mata G (eds) *El cultivo de setas Pleurotus spp. en México*. El Colegio de la Frontera Sur, Tapachula. 101-112

Martínez-Carrera D (2002) Current development of mushroom biotechnology in Latin America. *Micol. Apl. Int.* 14: 61-74.

Martínez-Carrera D, Larqué-Saavedra A, Aliphat M, Aguilar, Bonilla M, Martínez W (2000) La biotecnología de hongos comestibles en la seguridad y soberanía alimentaria de México. En*:* Higuera Ciapara I, Larqué Saavedra A (eds) *II Foro Nacional sobre Seguridad y Soberanía Alimentaria.* Academia Mexicana de Ciencias. 193-207.

Pacheco L (1983) Styracaceae. En*:* Gómez-Pompa (ed) *Flora de Veracruz*. INIREB, Xalapa. 1-12.

Sánchez JE, Roye DJ (2001) *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* Noriega Editores-El Colegio de la Frontera Sur, Tapachula. 290 p.

Sánchez Vázquez J, Martínez-Carrera D, Mata G, Leal Lara H (2007) *El cultivo de setas Pleurotus spp. en México*. El colegio de la Frontera Sur, Tapachula. 236 p.

SAS (2002) Sistemas alimentarios sustentables. Taller de Intercambio Campesino y capacitación, Experiencia Piloto. Grupo de Estudios Ambientales (GEA). 5 p.

Soto G, Meléndez G (2004) Como medir la calidad de los abonos orgánicos. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 72: 91-97.

Soto G, Muñoz C (2002) Consideraciones teóricas y prácticas sobre el compost, y su empleo en la agricultura orgánica. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 65: 123-129.

Stölzler S, Grabble K (1991) Mechanisms of substrate selectivity in the cultivation of edible fungi. *Mushroom Science* 13: 141-146.

Velázquez-Cedeño MA, Mata G, Farnet AM, Savoie JM (2006) Estudio preliminar de la microflora bacteriana termotolerante de la pulpa de café y la paja de trigo con potencial de inhibición contra *Trichoderma viride* en el cultivo de *Pleurotus* spp. *Rev. Mex. Mic.* 22: 33-39.

Williams-Linera G (2007) *El bosque de niebla del centro de Veracruz: ecología, historia y destino en tiempos de fragmentación y cambio climático.* CONABIO-INECOL. México. 208 p.

CAPITULO 5

OTROS HONGOS COMESTIBLES

5.1 LOGROS Y DESAFÍOS DE LA PRODUCCIÓN MASIVA DE CUITLACOCHE *USTILAGO MAYDIS* EN MÉXICO

Vladimir Teodoro Castañeda de León y Hermilo Leal Lara

Departamento de Alimentos y Biotecnología. Facultad de Química. Edificio E, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Ciudad Universitaria Coyoacán 04510 México D.F.
vcastanedadeleon@yahoo.com, hermilo@servidor.unam.mx

RESUMEN

En México, el cultivo de hongos comestibles es una actividad productiva alternativa que ha adquirido gran importancia en años recientes. Principalmente tres especies de hongos saprobios son producidas comercialmente: *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* y *Lentinula edodes*. Sin embargo, otros hongos también son susceptibles de ser cultivados. *Ustilago maydis* es un hongo parasito del maíz que puede ser cultivado para producir cuitlacoche con fines alimenticios. Hasta hace pocos años, este hongo era vendido fresco únicamente durante la época de lluvias. Debido a la necesidad de satisfacer un mercado nacional e internacional cada vez más demandante, se han logrado establecer las bases biotecnológicas para el cultivo masivo fuera de temporada. En este trabajo se presenta un panorama actual de los avances científicos más importantes que se han implementado en México; así como los retos y perspectivas para el establecimiento de un sistema eficiente de cultivo de cuitlacoche durante todo el año. Avances en temas como: sistemas de producción, métodos de inoculación, variedades de maíz, factores ambientales, tratamientos post-cosecha, problemas del cultivo, son algunas variables de importancia para la producción de este hongo comestible.

Palabras clave: hongos exóticos, producción fuera de temporada, técnicas de cultivo, hongos parásitos, variedades de maíz susceptibles, hongos comestibles.

INTRODUCCIÓN

La cosecha de hongos comestibles alrededor del mundo se ha incrementado en forma considerable en los últimos años, pasando de 2.2 millones de toneladas en 1986 a más de 7.5 millones de toneladas en el año 2001. La mayoría de este incremento ocurrió recientemente con cambios dramáticos en los géneros que se están cultivando y comercializado. La derrama económica que se obtiene de esta actividad económica asciende a 22.5 mil millones de dólares anuales (Boa 2005). Actualmente una gran variedad de hongos comestibles considerados "exóticos" son producidos alrededor del mundo, entre ellos, el hongo chino *Volvariella volvacea* (Bull.) Singer, enokitake o enoki *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, maitake *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray, morchelas o morillas *Morchella esculenta* (L.) Pers., orejas de ratón *Auricularia* spp. y una cantidad más de hongos principalmente saprobios que son producidos en China, Japón, Estados Unidos y otros países Asiáticos.

En estados del centro y algunos del sur de México, el hongo *Ustilago maydis* (DC.) Corda, que parasita al maíz para formar agallas de cuitlacoche, ha sido apreciado y consumido desde épocas prehispánicas. Hasta hace 3 ó 4 años el cuitlacoche era vendido fresco durante la época de lluvias y únicamente se podía conseguir enlatado el resto del año. Recientemente se ha incrementado el gusto y la demanda de este hongo comestible tanto en México, algunas zonas urbanas de los Estados Unidos que tienen importante presencia de mexicanos, así como en Japón y la comunidad Europea. El consumo de este hongo en los platillos tradicionales y su exitosa inserción en la cocina gourmet (Valadez *et al.* 2011), ha provocado gran interés por parte de agricultores para cultivarlo con fines alimenticios, esperando conseguir beneficios económicos muy superiores a los obtenidos con la siembra de maíz para grano. En este capítulo se hace un análisis de los alcances, los retos y las perspectivas

que a corto y mediano plazo representa la implementación de un sistema de producción continua y masiva de cuitlacoche en México.

ANTECEDENTES DEL CULTIVO

De acuerdo con Christensen (1963), los primeros estudios sobre técnicas para causar la infección con cuitlacoche resultaron de los métodos desarrollados para conocer la enfermedad en Francia, a mediados del siglo XVIII. Durante el siglo pasado y este, se han desarrollado diferentes líneas de investigación utilizando *U. maydis* como un modelo biológico recurrente. Se le ha utilizado en experimentos relacionados con reparación y recombinación de ADN, entrecruzamiento y desarrollo sexual, ciclo celular, señalización y muchos otros tópicos sobre biología molecular y celular, así mismo, en estudios de interacción parasito-hospedero, resistencia a pesticidas y otras aplicaciones biotecnológicas (Ruiz-Herrera y Martínez-Espinosa 1998, Banuett 1995, Kronstad 2003). La investigación sobre los métodos para el cultivo de cuitlacoche inició en los Estados Unidos a principios del siglo XX. Subsecuentemente, varios aspectos sobre los sistemas de producción han sido estudiados tanto en México como en los Estados Unidos. Los primeros intentos para cultivar cuitlacoche con fines alimenticios fueron hechos por Pataky (1991), Pope y McCarter (1992). El Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN Irapuato), junto con el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) y la Universidad de Illinois, desarrollaron durante los años 1990´s algunos estudios para producir cuitlacoche de forma comercial. Investigaciones paralelas sobre la reacción a la inoculación artificial, han sido implementadas desde 1990 en la Universidad Autónoma Chapingo (UACh) y el Colegio de Posgraduados (COLPOS) (Villanueva 1997). En la actualidad únicamente la empresa Hongos de México ha implementado un método de producción masiva de cuitlacoche con buenos resultados. En este sentido, existen algunos productores y cooperativas en los estados de Morelos, Hidalgo, Puebla, Estado de México y San Luis Potosí, que producen de manera más o menos constante cuitlacoche fuera de temporada.

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN

Actualmente en México, se reconocen tres principales sistemas de producción de cuitlacoche: 1) Colecta de mazorcas infectadas: las mazorcas infectadas naturalmente con *U. maydis* son cosechadas de los campos que se utilizan principalmente en la siembra de maíz para grano, 2) Producción empírica: los agricultores toleran e inducen la alta incidencia de cuitlacoche en sus parcelas, colectando y dispersando teliosporas de *U. maydis* en sus terrenos, aplicando teliosporas al abono, sembrando variedades de maíz susceptibles a cuitlacoche, impregnando semillas de maíz con teliosporas y aplicando directamente teliosporas sobre los estigmas, 3) Producción inducida: los agricultores son asesorados por profesionales para aplicar técnicas de inoculación y producción para el desarrollo de la enfermedad en sus plantas. Estas incluyen detección y selección de variedades de maíz susceptibles, métodos de inoculación e inducción de la enfermedad, virulencia de cepas de *U. maydis*, fechas de siembra y cosecha, entre otros (Villanueva 1997, Villanueva *et al.* 2007). El reciente interés por desarrollar biotecnologías eficientes para la producción comercial de cuitlacoche ha dado como resultado diversos estudios para lograr la inducción exitosa de este hongo comestible.

Christensen (1963) realizó diversos estudios sobre métodos de inoculación que incluían: rociar las plantas con una suspensión de esporidias, la inducción de vacío parcial, la inoculación de verticilos, inyectar medios de cultivos incubados con *U. maydis* en plántulas de maíz mediante tubos de vidrio; también implementó el uso de jeringas hipodérmicas como un sistema de inoculación efectivo. Recientemente Thakur *et al.* (1988) reconocieron que los métodos de inoculación por inyección de una suspensión con esporidios es adecuada para los estudios de interacción parasito-hospedero entre *U. maydis* y *Zea mays*. Pope y McCarter (1992), mencionaron diferentes métodos para producir cuitlacoche incluyendo: "rociado", "rociado por chorro", "espolvoreado", "untado", "sumergido", inducción por vacío y la inyección de soluciones con esporidios o teliosporas para provocar la formación de agallas en diferentes partes de la planta, tales como: raíces, tallos, yemas, nudos,

inflorescencias y jilotes; estos autores reportaron que las inyecciones en las zonas aéreas de la planta dan como resultado altas incidencias de severidad de la infección. No obstante, los estudios realizados en los últimos 20 años se han enfocado principalmente a la infección de jilotes. Las agallas en mazorcas pueden ser inducidas efectivamente por la inoculación de una suspensión de esporidias en el canal de los estigmas (Thakur *et al*. 1989, Pataky 1991, Pope y McCarter 1992, Zimmerman y Pataky 1992, Valverde *et al.* 1993, Snetselaar y Mimms 1993, Pataky *et al*. 1995, Pataky 2002).

MÉTODOS DE INOCULACIÓN

Se han propuesto diferentes métodos para inducir la infección de cuitlacoche, estos se pueden clasificar en aquellos diseñados para la investigación de la interacción patógeno-hospedero y los desarrollados para el cultivo de cuitlacoche como alimento. Ambos estudios involucran, al órgano especifico de infección en la planta (tallos, nudos, hojas, mazorcas, etc.), las variedades de maíz (susceptibles vs resistentes) (criollas vs híbridos), el tipo de inoculo (teliosporas vs esporidias), la edad de la planta, el grado de madurez de los jilotes, y la densidad de inoculo, entre otros. De los métodos desarrollados para investigar aspectos fitopatológicos destacan los siguientes:

1. Pulverización. Las teliosporas se mezclan con la tierra donde se siembra el maíz.
2. Vacío. Se introducen plántulas en tubos que contienen una suspensión de teliosporas y se someten a un vacío durante 5 minutos.
3. Goteo. El inoculo es introducido en lo más profundo del cogollo o en el ápice de los jilotes en desarrollo usando una jeringa con aguja despuntada.
4. Jeringa hipodérmica. Este sistema se lleva a cabo inoculando directamente el órgano o tejido meristemático que se quiere infectar.

Los métodos diseñados específicamente para la producción de cuitlacoche como alimento involucran casi siempre una inoculación, es decir la inyección directa de cepas de *U. maydis* (el inóculo) en los jilotes. Esto se ha llevado a cabo con equipos improvisados que incluyen: jeringas hipodérmicas, mochilas con sistemas de inoculación de uso veterinario, mochilas de fumigación adaptadas con mangueras y pistolas de inoculación de acero inoxidable. Dentro de los principales sistemas de infección inducida de *U. maydis* (Paredes *et al.* 2000, Villanueva *et al.* 2007) se encuentran los siguientes:

1. Inoculación a través del canal de los estigmas.
2. Inyección transversal del jilote en tres sitios equidistantes.
3. Inyección de inoculo donde se encontraban los estigmas, previamente cortados.
4. Producir un daño mayor al jilote e inocular.
5. Inyección transversal a la mitad del jilote.

Con la implementación de los sistemas antes mencionados, se ha comprobado que la inoculación a través del canal de los estigmas, es uno de los métodos más eficaces para lograr la infección con *U. maydis*. Esta técnica para producir cuitlacoche ha sido utilizada extensivamente en estudios genéticos y para la producción de variedades de maíz resistentes a hongos patógenos, adicionalmente se le ha probado en experimentos de campo e invernadero resultando con una alta incidencia de infección en jilotes (Snetselaar y Mims 1993, Valverde *et al.* 1993, Pataky 1995, Du Toit y Pataky 1999a, 1999b, Pataky y Chandler 2003). El método consiste en elaborar una suspensión de esporidias con dos cepas compatibles de *U. maydis* (*a*1*b*1 y *a*2*b*2), las cepas son mezcladas y el inoculo es diluido con agua 1/10 antes de usarse, posteriormente se inocula al jilote con un volumen de 3 a 6 ml a través del canal de los estigmas, después de su emergencia (Du Toit y Pataky 1999a, 1999b, Pataky 2002). Se ha observado que la incidencia y severidad de los síntomas en las mazorcas se incrementan, cuidando rigurosamente la concentración de inoculo. Du Toit y Pataky (1999b), comprobaron que

la incidencia de las agallas aumentó más de 40%, pasando de una concentración de 10^3 a 10^6 esporidias/ml, en este sentido, es recomendable utilizar inóculos con concentraciones de 10^5 y 10^6 esporidias/ml, esto concuerda con las concentraciones usadas por varios autores en diferentes experimentos (Takur *et al*. 1989, Pataky 1991, Pope y McCarter 1992, Snetselaar y Mims 1993, Du Toit y Pataky 1999b, Villanueva *et al*. 2007).

VARIEDADES DE MAÍZ

Actualmente se reconoce que *U. maydis* crece en los órganos meristemáticos de la planta de maíz, la infección puede desarrollarse en cualquier parte tierna de la planta. El ciclo de vida de *U. maydis* debe pasar por los tejidos tiernos de la planta para completarse. La edad de la planta y los tejidos, así como su genotipo y vigor, son factores determinantes para el desarrollo del hongo. En la bibliografía se menciona que las variedades de maíz de grano dulce y de grano con endospermo harinoso (cacahuazintle) son más susceptibles al ataque de este hongo parásito (Pataky 1991, Pope y McCarter 1992, Banuett y Herskowitz 1988, Villanueva 1995). Chistensen (1963) reportó que la única manera fácil y práctica para controlar la infección de cuitlacoche era el uso de variedades de maíz resistentes. Desde hace tiempo se conoce que existen diferencias en la susceptibilidad a la infección entre las variedades de maíz. Hasta hace poco tiempo, debido a la inconsistencia en los resultados obtenidos al inocular plantas con *U. maydis* ya fuera por el sistema de infección, tipo de inóculo, o bien por la variabilidad genética y/o resistencia de la planta, la forma como se evaluaban a las diferentes variedades de maíz era por la susceptibilidad natural a la infección.

Evaluación de la reacción a la infección con *U. maydis*

Recientemente, gracias a los avances alcanzados en las técnicas de inoculación, y en el desarrollo de cepas de *U. maydis*, de inóculos y de variedades de maíz, entre otros, es posible evaluar la efectividad de la infección en plantas inoculadas artificialmente, estableciendo parámetros cuantitativos como: A) Grado de severidad: mide el desarrollo de las agallas en el elote de acuerdo a la cobertura de la mazorca por las agallas de cuitlacoche en una escala de 0, 25, 50, 75 y 100% que se califica como G_1, G_2, G_3, G_4 y G_5 respectivamente, B) Rendimiento por mazorca infectada: indica el peso total de cuitlacoche (g) de todas las mazorcas infectadas en el tratamiento entre el número total de elotes infectados para el mismo, C) Rendimiento por planta inoculada: indica el peso total de cuitlacoche (g) por tratamiento entre el correspondiente número de plantas inoculadas, D) Índice de severidad: es la medida ponderada de los grados de severidad, siendo el factor de ponderación el número de plantas en cada grado, E) Incidencia de la infección: registrado como el número total de elotes infectados entre el total de inoculados, multiplicados por cien (Martínez *et al.* 2000). Adicionalmente y como un complemento a las evaluaciones de susceptibilidad, existen otras variables que se proponen para medir y caracterizar las variedades de maíz desde una perspectiva "comercial"; la protección de las hojas sobre la mazorca, el tamaño y el peso de agallas, la precocidad de las líneas de maíz, el tiempo de maduración de las agallas y el sabor (dulzor, amargor), son algunas características que se plantean como factores por evaluar.

Evaluación de genotipos de maíz y producción de cuitlacoche

Thakur *et al*. (1989), reportaron el uso de 140 híbridos de maíz dulce encontrando buenas infecciones, igualmente indujeron exitosamente la formación de agallas en 94% de los híbridos evaluados en invernadero. Pataky (1991) probó un total de 370 híbridos comerciales de maíz dulce, 38 fueron identificados por su alta incidencia de agallas que excedían 40% de infección. Valverde *et al*. (1993) evaluaron el desarrollo de agallas en 350 híbridos de maíz dulce. Estos autores concluyeron que un gran número de estos híbridos podían ser utilizados para producir cuitlacoche ya que presentan una alta incidencia de mazorcas infectadas, agallas largas y buena protección de sus hojas. Pataky *et al*. (1995) estudiaron la reacción a la infección en un total de 750 híbridos comerciales de maíz dulce durante 1992, 1993 y 1994. Los maíces fueron divididos en grupos de 50 a 60 híbridos por presentar una mutación del endospermo, sugary-1 (*su*), sugary enhancer (*se*), y shrunken-2

(*sh2*). La incidencia de infección fue mayor para el grupo de híbridos *sh2* y mínima para *se*. Las variedades de maduración temprana, dentro de los tres grupos de híbridos estudiados, presentaron una mayor susceptibilidad a la infección que otros híbridos de maíz dulce. Estos autores concluyeron que la reacción a la infección de *U. maydis* en un híbrido de maíz en particular, debe de ser bien conocidas por los productores antes de tomar una decisión sobre la selección de las variedades que potencialmente pueden ser utilizadas para la producción de cuitlacoche.

En México, Paredes *et al.* (2000) evaluaron cuatro cepas de *U. maydis* y 19 híbridos de maíz, 14 maíces dulces, 4 de maíz palomero y uno de maíz dentado de Estados Unidos, los 4 materiales de origen mexicano fueron sembrados en campos experimentales del CINVESTAV-IPN Irapuato, INIFAP en Celaya y CIMMYT en el Batan, Edo. Méx. Por otro lado, los híbridos de maíz dulce de origen estadounidense fueron evaluados en la Universidad de Illinois. Las variedades de maíz C200F, 7525 y CBT, fueron inoculadas con *U. maydis* en las localidades antes mencionadas. Tanto para el porcentaje de incidencia del hongo como para el grado de severidad de la infección, se observó la misma tendencia; es decir, presentaron variabilidad entre las localidades, pero no entre las variedades de maíz. En El Batán, Estado de México, los grados de severidad fueron en promedio de 32 a 36%, en Celaya se obtuvieron grados de severidad de 64 y 65% en C200F y 7525 respectivamente, y 71% con el material CBT. En los experimentos con maíz dulce se encontró gran variación en los resultados de los materiales analizados. Estos autores proponen que quizá las condiciones ambientales sean un factor importante en la producción de cuitlacoche.

Martínez *et al.* (2000) evaluaron 300 familias de medios hermanos maternos en 1998, de éstas la número 79 presentó el mayor peso promedio de hongo/planta inoculada (151.87 g). De igual forma las familias 75 y 38 obtuvieron la incidencia del hongo más alta (92.86%). De las 300 familias se seleccionaron 16, con un promedio de 155 g en rendimiento de hongo/planta infectada, 113 g/planta inoculada; 77% de incidencia y 35% de severidad. Del total de las familias estudiadas, 14 fueron clasificadas como altamente resistentes (0% de incidencia) al ataque del cuitlacoche. Resultados preliminares en una serie de experimentos realizados por Castañeda *et al*. (2008) en la Universidad de Illinois, durante 2005 evaluaron 15 híbridos de maíz machos estériles. Se encontró que el peso promedio de hongo/planta inoculada y el rendimiento de hongo/planta infectada no fue significativamente diferente entre variedades. Los pesos fluctuaron entre 470 a 735 g/mazorca, la calidad de las agallas y la protección de las hojas fueron significativamente diferentes entre híbridos: 5 híbridos (3153RR, 3356BT, 2730, 3977 y 2656) presentaron la mejor protección de las hojas, 3 híbridos (3153RR, 3356BT, y 3977) mostraron la mayor calidad de agallas y se consideraron como los mejores híbridos para la producción de cuitlacoche. La protección de las hojas fue correlacionada positivamente con la calidad de las agallas, pero negativamente relacionada con el peso de las agallas. La continuación de estos experimentos se llevó a cabo en México, en localidades del Estado de México y Guerrero (2006-2009), donde se evaluaron 21 híbridos comerciales diseñados para valles altos. Se encontró que 7 híbridos (910, Matador, 720, 722, 7573, Cronos y Grano de oro), presentaron las mejores características "productivas" y "comerciales" para el cultivo de cuitlacoche, con un promedio de 281.2 g/mazorca de rendimiento de hongo por planta infectada y 97% de severidad. El híbrido 910 se propone como un candidato viable con características (rendimiento, severidad, protección de las hojas, tamaño y peso de agallas) idóneas para la producción masiva de cuitlacoche en valles altos.

Recientemente Valdez-Morales *et al.* (2009) evaluaron 15 genotipos de maíz criollo con floración intermedia. Encontraron diferencias significativas entre los maíces evaluados. Los porcentajes de incidencia variaron de 31 a 92% (promedio 72%), con grados de severidad que oscilaron entre 46 a 97%, con un valor promedio de 77%. El rendimiento, o peso de cuitlacoche por mazorca, varió considerablemente en las líneas de maíz (80 hasta 450 g). Se sugiere que la calidad de cuitlacoche mejora cuando las variedades de maíz utilizadas presentan mazorcas grandes y buena protección de las hojas. Estos autores proponen que el tiempo óptimo para cosechar cuitlacoche depende del estado de desarrollo de la planta en el momento de la inoculación y del genotipo del maíz. Los autores concluyen que existe un efecto de la variedad de maíz utilizada sobre la cobertura de la

mazorca y el rendimiento de cuitlacoche, y proponen a la variedad de maíz Criollo de Loma de Cabras como el más adecuado para llevar a cabo la producción de cuitlacoche a escala industrial.

Muchos genotipos de maíz dulce han sido evaluados en pruebas experimentales, mostrando una buena susceptibilidad a la infección, estas variedades extremadamente susceptibles pueden ser ideales para la producción de cuitlacoche. Asimismo, otros genotipos pueden existir entre las variedades de maíz hibrido que puedan presentar susceptibilidad a la infección para la producción masiva de cuitlacoche (Pataky 1991, Valverde *et al.* 1993). Algunos factores, en términos productivos, que deben ser considerados en la elección de una variedad de maíz para la producción masiva de cuitlacoche son: la incidencia a la infección, la severidad y el rendimiento de cuitlacoche.

El uso de variedades de maíz criollo representa desventajas importantes, debido a su heterogeneidad genética que produce resultados inconsistentes y un alto coeficiente de variación en los experimentos. Las variedades híbridas genéticamente uniformes presentan mejores resultados. Es también importante el uso de variedades locales, así como la experiencia de los agricultores acerca de las líneas de maíz que presentan alta susceptibilidad a la infección natural de *U. maydis* en sus regiones. Las variedades de maíz responden diferente a la infección por *U. maydis* según su genotipo, la localidad, la fecha de siembra, el clima, la densidad de inoculo, la cepa de *U. maydis*, etc. Es importante reformular el concepto de "variedades susceptibles" y más bien definir puntualmente qué características deben presentar los maíces seleccionados para la producción de cuitlacoche. Una opción interesante en este sentido, es "diseñar" variedades de maíz susceptibles a la infección localmente adaptada, que presenten características "comerciales" apropiadas para un ambiente y época del año en particular. Hoy en día se sabe que existe una amplia gama de variedades de maíz híbrido en las que se puede inducir la infección mediante la inoculación directa con cepas de *U. maydis*. Para lograr una eficiente producción masiva de cuitlacoche, además de considerar las características "productivas", otra condición fundamental es seleccionar líneas de maíz con características genotípicas y fenotípicas más bien "comerciales" tales como: porte de la planta, tamaño y peso de la mazorca y agallas, protección de las hojas, sabor, precocidad, tiempo de maduración, vida de anaquel, entre otras, todos atributos orientados a satisfacer un mercado en particular.

FACTORES AMBIENTALES

El tamaño de las agallas aparentemente depende de las condiciones fisiológicas de la planta hospedero influenciado por el ambiente en el que desarrolló (Thakur *et al.* 1989). Esta aseveración no es compartida por todos los autores y tampoco existe un punto de acuerdo acerca de qué condiciones ambientales son más favorables para el desarrollo de cuitlacoche.

Humedad

De acuerdo con Platz (1929) una lluvia ligera puede proveer humedad suficiente para la multiplicación de esporidios durante la inducción de la infección. En este sentido Kyle (1930) concluyó que la cantidad de agua en plántulas de maíz esta directamente asociado con el rango de desarrollo de *U. maydis* y el número relativo de agallas. López-Aceves (1988) observó que una alta concentración de humedad favorecía el desarrollo de cuitlacoche y la formación de agallas. La infección de *U. maydis* de manera natural, es más frecuente y severa en regiones con clima templado y húmedo que en regiones calientes y secas (Villanueva 1995).

Existe la idea contraria y se menciona que es más bien los períodos secos cuando se favorece la incidencia de cuitlacoche. Se ha reportando que los años con alta incidencia de cuitlacoche, fueron aquellos en los que se presentaron condiciones de clima seco con altos porcentajes de días soleados y pocos días de precipitación pluvial (Immer y Christensen 1928). Walter (1935) expresó sus dudas acerca de la influencia de la humedad como un factor en el desarrollo de cuitlacoche, encontró de 60 a 80% de tallos infectados en regiones semiáridas y probó

que las teliosporas germinan en zonas meristemáticas provocando infecciones aun sin adicionar agua. Otros autores, argumentan que existe un predominio de cuitlacoche en años secos y calurosos (Hirschhorn 1986, López 1988, Banuett y Herskowitz 1988, Konstandi y Geisler 1989).

Temperatura

Immer y Christensen (1928) consideraron que la temperatura era un factor poco relevante para la infección de plantas en campo. Temperaturas relativamente altas favorecen la germinación de teliosporas, la gemación de esporidias, el desarrollo del micelio y formación de teliosporas. Muchos autores concuerdan que una temperatura de 25 °C o superior, favorece el desarrollo de *U. maydis* en su hospedero. Se sabe que el desarrollo de las agallas y la maduración de teliosporas es mucho más rápido en temperaturas relativamente altas que en bajas (Christensen 1963). Valverde *et al.* (1993) reportaron que la maduración de cuitlacoche está relacionada con la maduración del hospedero. Ellos observaron que durante la estación de crecimiento de 1992 en Illinois central, la temperatura fue inusualmente fría y, que quizá por esta razón, el tiempo de maduración del hospedero y de cuitlacoche se vio afectado. Un fenómeno similar fue observado por uno de los autores en una zona de transición entre el estado de México y Guerrero durante el invierno de 2008-2009: durante los meses de noviembre a enero se presentó un clima más frío de lo normal, con temperaturas promedio por debajo de los 10°C en períodos de 12 horas, este suceso probablemente fue el que provocó un retraso considerable en la maduración de las plantas y de las agallas de cuitlacoche ocasionando pérdida total en la producción. Du Toit (1998) concluyó que los niveles de infección con cuitlacoche esperados en la Riviera de la Baja Columbia en 1999, podían ser determinados por las condiciones climáticas durante su desarrollo y no por la cantidad de infección que se presentó en 1998. Si las condiciones eran estresantes (mucho calor o frío) al momento que el polen se liberaba y emergían los estigmas, los productores podían esperar severos niveles de infección. Por otro lado, la incidencia del hongo inoculado artificialmente se incrementa si en los 20 días posteriores a la inoculación se tiene una humedad relativa alta (75 a 85%), mayor precipitación pluvial (43-53 mm), humedad del suelo apropiada (80-85% de humedad aprovechable) y temperaturas moderadamente cálidas (28 a 35°C) (Villanueva *et al.* 1997, Martínez *et al*. 2000, Cruz 2006).

Fertilización y otros factores

Brefeld (1888) concluyó que colocar estiércol en los campos de maíz favorece el desarrollo del hongo. La observación de este fenómeno provocó que algunos agricultores recomendaran no aplicar estiércol en los campos donde ya existía cierto daño de *U. maydis*. Walter (1935) observó que los fertilizantes comerciales y el estiércol no presentaban un efecto sobre la incidencia de cuitlacoche. No obstante, Mills *et al.* (1982) evaluaron el efecto del nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K) y estiércol (E) en la infección de *U. maydis* sobre maíz. Los autores encontraron una infección significativa en el tratamiento NE comparado con los otros tratamientos. Los tratamientos NP, NE y PE incrementaron la infección significativamente contrastados con los tratamientos NK y PK. El tratamiento con K redujo la incidencia de la infección significativamente. Se concluye que altas cantidades de nitrógeno y suelos fertilizados con materia orgánica favorecen la enfermedad (Texas Plant Disease Handbook 1996).

Existen otros factores que al parecer afectan la incidencia de cuitlacoche. Por ejemplo, el daño físico sobre los plantíos de maíz provocado por granizo o el paso de tractores que facilitan la invasión del hongo en su hospedero (Duncan *et al*. 1995, Gotlieb 1999). Otros factores que inciden en la infección de cuitlacoche son: daños mecánicos, aplicación de algunos herbicidas, riegos, desespigamiento, fallas en la polinización e incidencia de virus (Christensen 1963, López 1988, Pataky 1991, Pope y McCarter 1992). Finalmente, se asume que un ambiente de alta humedad y temperaturas templadas, son algunos de los factores climáticos esenciales para un buen desarrollo de cuitlacoche; siempre y cuando existan los cuidados agronómicos adecuados, variedades de maíz susceptibles y con atributos “productivos” y “comerciales” idóneos, un riguroso control de la técnica y

momento de inoculación, entre otros; aun en esos casos pueden presentarse diferencias en la infección del maíz por *U. maydis* entre localidades, temporadas y años.

MANEJO POST-COSECHA

Calidad de las agallas

Desde que se cosecha cuitlacoche en los campos de maíz infectados de forma natural, se ha discutido el tiempo preciso de colecta. Entre los 8 y 12 días después de la aparición de los estigmas, las agallas son relativamente pequeñas y esponjosas, además de que usualmente están protegidas por las hojas. Las agallas generalmente emergen de la protección de las hojas entre los 12 y 18 días y siguen creciendo aún después de los 19 días. La esporulación de *U. maydis* se incrementa en este período y pocos días después la mayoría de las agallas están demasiado maduras y con una calidad comercial inaceptable (Pataky 1991, Pope y McCarter 1992). Valverde *et al.* (1993) reportaron que en el intervalo de los 14 a 21 días después de la inoculación, las agallas incrementaron su tamaño de un 250 a 500% logrando un peso de 280 a 600 g/mazorca y que entre los 19 a 21 días postinoculación, el tejido de las agallas fue casi totalmente negro y perdió su integridad. Pataky (2002) a su vez reportó que a los 10 días después de la inoculación el peso de la mazorcas alcanzaba 225 g/mazorca y hasta 300 a 400 g/mazorca a los 17 días postinoculación. Lo anterior debe conjuntarse con que desde un punto de vista comercial, las agallas de grandes dimensiones, colores obscuros (gris plata a casi negro), intactas, con una textura esponjosa y aspecto fresco, son más cotizadas por los consumidores.

Tiempo de cosecha

Se considera que existe un período de 1 a 2 días de cosecha durante el cual la madurez, el peso y la calidad del cuitlacoche son más adecuados. Esto corresponde al momento en que 60 a 80% del tejido de las agallas es negro o bien el peridio tiene un color gris plata, no ha reventado, conserva una apariencia fresca y sin presencia aparente de contaminación. El tiempo óptimo de cosecha de cuitlacoche varía de 17 a 21 días después de la inoculación, aunque el período puede ser ampliado de 15 a 30 días postinoculación, según el estadío de desarrollo en el cual fue inoculado el hospedero y de las condiciones ambientales previas a la inoculación y durante el desarrollo de la infección. Después de este tiempo las agallas son usualmente muy maduras para presentar una calidad aceptable en el mercado. Inclusive, pueden aparecer algunos microorganismos (hongos y bacterias) (Christensen 1963, Banuett y Herskowitz 1988, Pope y McCarter 1992, Valverde *et al*. 1993, Pataky *et al.* 1995, Villanueva 2007). Pataky (2002) observó que después del intervalo óptimo de cosecha la calidad de las agallas se deteriora rápidamente, aun y cuando las agallas continúan creciendo ligeramente. Este deterioro es evidente por una pérdida en la integridad de las agallas (forma, frescura, textura, etc.), en el tejido de las agallas se forman más teliosporas y el peridio termina por romperse. Se ha observado que las agallas que no están cubiertas y protegidas por las hojas son frecuentemente más dañadas y contaminadas antes y después de la cosecha (Valverde 1993).

Cosecha y procesamiento de cuitlacoche

Poco se sabe acerca de los métodos de cosecha y post-cosecha, manejo y almacenamiento de cuitlacoche (Arnold 1992). Dado que las agallas son esponjosas y suculentas son difíciles de cosechar y comercializar sin que sufran daños; por lo mismo las agallas se deterioran rápido al almacenarse en frío. Se ha planteado el congelamiento como un método relativamente fácil para mantener la integridad de las agallas a largo plazo (Pataky 1991). Arnold (1992) propuso un sistema de congelamiento para el almacenamiento de cuitlacoche que consiste en colocar las mazorcas infectadas con *U. maydis* en cajas de cartón con divisiones, las mazorcas se congelan, posteriormente se desprenden las agallas colocándose en bolsas de polietileno, se sellan las bolsas al vacío y se congelan rápido. Se menciona que este método permite una excelente vida de anaquel de entre

6 meses y hasta 1 año. La textura ya no es crujiente pero al comparar el sabor, este es igual al del producto fresco. La liofilización es un proceso mucho más caro, no obstante también se ha propuesto como un método alternativo de almacenamiento.

Recientemente Martínez *et al.* (2008) realizaron un interesante trabajo sobre la vida de anaquel de cuitlacoche. Se evaluó el cambio de aspecto y de color, la pérdida de peso, la tasa de respiración, producción de etileno y el cambio en aminoácidos. Se observó que el cuitlacoche a temperatura ambiente es un producto altamente perecedero, ya que presenta una alta tasa de respiración, pérdida de peso (transpiración), sin producción de etileno y los mayores cambios en la coloración (oscurecimiento). Estos autores concluyen que el almacenamiento de cuitlacoche bajo condiciones de refrigeración a una temperatura de 3°C, entero (sin desgranar), reduce drásticamente los cambios antes mencionados, permitiendo incrementar por mucho la vida útil de este hongo comestible. No cabe duda, que la implementación exitosa de un sistema continuo de producción de cuitlacoche, es esencial para establecer parámetros y soluciones que permitan el desarrollo de sistemas eficaces de cosecha y post-cosecha, no solo en términos de vida de anaquel sino también de manejo, inocuidad y empaque del producto terminado.

Estimación de producción de cuitlacoche

En la década de 1980´s, se estimaba que alrededor de 400 a 500 t de cuitlacoche eran vendidas en fresco en los mercados durante la época de lluvias y que la compañía Herdez S. A. procesaba alrededor de 100 t anuales de este hongo para enlatado (Kealey y Kosikowski 1981, Arnold 1992). Paredes (1994) señaló que el abastecimiento de cuitlacoche enlatado se incrementó a seis compañías comercializadoras y no obstante que seguramente la producción de cuitlacoche tanto silvestre como cultivado se incrementó desde los 1980 hasta la fecha, no existe por parte de algún órgano gubernamental o institucional, un dato estadístico exacto acerca de la cantidad de cuitlacoche producido en México, tanto en temporada de lluvias, como para el resto del año. En la Tabla 1 se presenta una estimación actualizada por los autores, con la información que se ha podido recabar por las experiencias personales y los datos obtenidos de algunas comercializadoras, sobre la producción actual de cuitlacoche, tanto cultivada como el producto cosechado en forma silvestre.

Tabla 1. Estimación anual de producción de cuitlacoche en México

Producto	Comercialización	Comercializador	Volumen			Presentación	Producto desgranado (Equivalente) (t)
			t/sem	Período (semanas)	Total Anual (t)		
Cultivado	Central de abastos D.F.	Misceláneo	1.5	52	78	Desgranado	78
	Supermercados	Aztecas	1	52	52	Desgranado	52
	Supermercados	Monteblanco	1	52	52	Desgranado	52
Silvestre	Central de abastos D.F.	Misceláneo	20	20	400	Desg/Mazorca (50:50)	300
	Centrales Foráneas	Misceláneo	2.5	20	50	Desg/Mazorca (50:50)	37.5
	Enlatadoras	Monteblanco			100	Desgranado	100
		Herdez			100	Desgranado	100
		San Miguel			100	Desgranado	100
Total					932		819.5

PROBLEMAS DEL CULTIVO

En la actualidad se reconoce que algunos requisitos para el desarrollo de cualquier enfermedad patogénica son: variedad susceptible, virulencia del patógeno y clima favorable. Villanueva *et al.* (2007) mencionan que en el caso de cuitlacoche no es problema encontrar variedades susceptibles, patógenos virulentos ni climas favorables. Resulta entonces que, de acuerdo a estos autores, lo difícil es garantizar que el cultivo a campo abierto coincida con las condiciones de temperatura y humedad favorables para el desarrollo de las agallas los días después de la inoculación. Adicionalmente se pueden mencionar algunos otros factores, que de no tomarse las medidas preventivas pertinentes pueden convertirse en "serios problemas". Los cuidados agronómicos, los agentes biológicos y los sitios de producción, entre otros factores, son aspectos que deben cuidarse y tomarse en cuenta, ya que pueden afectar significativamente la producción masiva de cuitlacoche.

Cuidados agronómicos

Los cuidados agronómicos (preparación del terreno, aplicación de riegos y fertilización, control de plagas y malezas, etc.), son factores sumamente importantes para lograr éxito en la producción de cuitlacoche. El contar con variedades de maíz susceptibles con características "productivas" y "comerciales" adecuadas, son requisitos básicos para lograr una producción eficiente de cuitlacoche. Las plantas deben presentar un buen vigor y tamaño, la etapa correcta de desarrollo fisiológico, apariencia sana sin enfermedades, ni presencia de malezas y/o plagas; estas condiciones y el manejo de una densidad adecuada de plantas (60,000 pl/ha), son los factores que juegan un papel fundamental para el buen desarrollo del cuitlacoche. El diseñar y aplicar en tiempo y forma un paquete tecnológico, adecuado a las condiciones particulares del sitio de siembra, así como seguir las recomendaciones agronómicas al pie de la letra, son condiciones mínimas indispensables para cuidar al máximo los factores agronómicos y disminuir el fracaso durante el proceso del cultivo.

Agentes biológicos

Se ha discutido con anterioridad la importancia de contar con una variedad de maíz idónea para los requerimientos de cada cultivo en particular. Otro agente biológico importante es sin duda, una cepa agresiva y virulenta de *U. maydis*. El ser México el centro de origen del maíz y éste el principal hospederos de *U. maydis*, ambas condiciones representan grandes ventajas en términos de variabilidad genética y de adaptación a los climas de México. Villanueva *et al.* (2007) mencionan que es importante obtener una cepa específica de cuitlacoche para la localidad y variedad de maíz de interés. En una posición completamente contraria se encuentran otros agentes biológicos que se deben cuidar y tomar en cuenta para evitar que posteriormente sean un problema recurrente, sin solución. Las plagas que atacan al maíz afectan directamente al cuitlacoche. Los microorganismos, tales como: bacterias, mohos (*Fusarium* spp., *Penicillium* spp.) y levaduras (*Candida railenensis, C. quercitrusa* y *Pichia guilliermondii*) (Guevara-Vázquez *et al.,* 2009), algunos insectos (*Spodoptera* spp., *Drosophila* spp.), así como pequeños mamíferos, aves y rumiantes, entre otros, son todos antagonistas que afectan la producción masiva de cuitlacoche. Estos organismos dañan, consumen y contaminan a los jilotes y las agallas de manera importante, deteriorando el desarrollo y calidad del producto e impidiendo que el cultivo llegue a buen termino. En este sentido, es importante diseñar medidas preventivas y correctivas encaminadas a mantener la limpieza y salud de las parcelas destinadas a la producción de cuitlacoche, desde la preparación del terreno para la siembra de maíz y hasta el final de la cosecha de cuitlacoche. El implementar un manejo integral de plagas (MIP) se vuelve indispensable en cualquier empresa de cultivo de hongos comestibles, tanto en los sistemas de cultivo en espacios cerrados, así como de manera especial en sistemas de cultivo en áreas abiertas.

Sitios de producción

Finalmente, se ha hecho un recuento acerca de la trascendencia de los factores climáticos. Afortunadamente

México, en su amplia geografía cuenta en muchas regiones con características y climas propicios para el desarrollo óptimo del cultivo de maíz y de cuitlacoche. No obstante al ser un cultivo a campo abierto, el clima y sus consecuencias, se presentan como un factor de riesgo constante. En este orden de ideas la utilización e implementación de sistemas cerrados como son los invernaderos, se proponen como una alternativa viable. De esta manera, probablemente se podrían controlar más puntualmente los factores ambientales, tales como: la humedad relativa, la humedad de suelo, la temperatura, etc., así como, algunos factores biológicos, la polinización, las plagas y malezas, entre otros. No obstante, esta alternativa tiene que ser analizada en términos técnicos y de costos de producción, para evaluar y discutir ampliamente su implementación a gran escala.

DESAFÍOS

En México el consumo y producción de cuitlacoche fuera de temporada va en aumento. Durante el período 2009-2010, la empresa "Los aztecas", procesó alrededor de 1 t/semana de cuitlacoche fresco, llegando a alcanzar a un precio de venta de 100 pesos/kg en tiendas de autoservicio (Lic. Javier D. Maldonado C. Director general Los aztecas 2009. *Com. pers.)*. Adicionalmente en la Central de Abasto de la Ciudad de México llegan, provenientes principalmente de los estados de Morelos, Hidalgo, Puebla y Estado de México, un promedio de 1 a 1.5 t/semana de cuitlacoche fresco durante todo el año, incrementándose considerablemente en la época de lluvias (Sr. Magdaleno Gonzales 2009, acaparador de la central de abastos D. F. sección "La subasta" *Com. pers*.). En algunas ciudades de los Estados Unidos con importante presencia de mexicanos, existe una fuerte demanda de cuitlacoche fresco, este llega a venderse hasta en 40 US$/kg (Pataky y Chandler 2003) (480 pesos mex/kg). La potencial aplicación de cuitlacoche en las industrias alimenticia, farmacéutica y biotecnológica abre una amplia gama de posibilidades de uso que representan a corto, mediano y largo plazo beneficios económicos interesantes para la ya golpeada actividad agrícola. En México, el cultivo de cuitlacoche constituye una alternativa viable para los agricultores ya que los precios que llega a alcanzar el hongo fresco fuera de temporada son superiores a los precios que alcanzan otros hongos comestibles y su cultivo redituaría en mayores beneficios económicos que los obtenidos con la producción de maíz.

El desarrollo de biotecnologías intermedias encaminadas a lograr eficiencia en la producción masiva de cuitlacoche permitirá la implementación de estándares en los procesos productivos del cultivo. Esto involucra la implementación de calendarios de siembra de maíz, fechas y técnicas de inoculación y cosecha, procesamiento del producto terminado, así como un competitivo programa de ventas. No obstante los importantes avances que a la fecha se han alcanzado, existen muchos problemas por resolver para la consolidación de esta actividad productiva en el área de los hongos comestibles considerados "alternativos" y/o "exóticos". La investigación científica en el ramo del cultivo de cuitlacoche se encuentra en una etapa inicial, un amplio campo de estudio en las diferentes etapas del cultivo deben de ser afrontados. El análisis de los factores ambientales para el adecuado desarrollo de las plantas de maíz y del hongo *U. maydis* y de las agallas de cuitlacoche, los cuidados agronómicos durante el desarrollo de las plantas, antes y después de la inoculación, las variedades de maíz con características "productivas" (alta incidencia, severidad y rendimiento) y "comerciales (tamaño y peso de agallas, protección de las hojas, sabor) y el diseño de un plan de manejo integral de plagas (MIP), son algunos tópicos que deben ser abordados a la brevedad. Adicionalmente, la identificación de cepas agresivas y virulentas de *U. maydis*, los tratamientos post-cosecha, la vida de anaquel y nuevas formas de procesamiento, son para los investigadores en esta rama de la micología, todas áreas de oportunidad importantes.

REFERENCIAS

Arnold C (1992) Post-harvest and marketing of huitlacoche maize mushroom (*Ustilago maydis* – corn smut). *Acta Horti.* 318: 321-324

Banuett F (1995) Genetics of *Ustilago maydis*, a fungal pathogen that induces tumors in maize. *Ann. Rev. Genetics*. 29: 179-208.

Banuett PA, Herkowitz (1988) *Ustilago maydis*, the delightful blight. *Trends in Genetics* 8: 174-180

Bolaños TJ (1998) Guía fitosanitaria para el cultivo del maíz Publicaciones Sanidad Vegetal. http://www.iicasaninet.net/publsoft/fotorep/maiz/indice.htm. 16 de febrero de 2011.

Boa E (2005) *Los hongos silvestres comestibles perspectiva global de su uso e importancia para la población*. FAO. Roma Italia

Brefeld O (1988) Neue Untersuchungen über die Brandpilze und die Brandkrankheiten. II. *Nachr. aus d. Klub d. Landw. Berlin* 1888:1557-1584, 1588-1594, 1597-1601. (E. F. Smith. English transl. *J. Mycol*. 6:1-8, 59-71, 153-164. 1890-91)

Castañeda-de Leon VT, Pataky JK, Leal-Lara H (2008) Susceptibility to infection of different varieties of corn hybrids with *Ustilago maydis* under conditions of commercial production of "Cuitlacoche" for food purposes in México. 4th International *Ustilago* Conference. Exposición oral. August 20-24 Rauischholzhausen Schools Germany.

Christensen JJ (1963) Corn smut caused by *Ustilago maydis*. Monograph 2. APS. U.S.A.

Cruz SD (2006) Incidencia inducida de huitlacoche (*Ustilago maydis* (DC.) Cda.) en maíz. Tesis de Ingeniero Agrónomo especialista en Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.

Davis RM (1999) Common Smut. University of California. Statewide Integrated Pest Management Project. http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r113100311.html. 16 de febrero 2011.

Du Toit LJ (1998) Smut Rules. Pacific Northwest Vegetable association Annual Convention and Trade Show. Pasco WA. 34-44

Du Toit LJ, Pataky JK (1999/a) Effects of silk maturity and pollination on infection of maize ears by *Ustilago maydis*. *Plant Dis*. 83: 621-626

Du Toit LJ, Pataky JK (1999/b) variation associated with silk channel inoculation for common smut of sweat corn. *Plant Dis.* 83: 727-732.

Duncan HE, Leonard KJ, Payne G (1995) Major corn disease in North Carolina. http://ipmwww.ncsu.edu/corn/diseases/corn_diseases.html. 16 de febrero 2011.

Gotlieb A (1999) Corn smut—Garden Disease control leaflet 3. http://ctr.uvm.edu/logos/extlogo1.gif 16 de febrero 2011.

Guevara-Vázquez E, Valadez-Moctezuma E, Acosta-Ramos M, Espinosa-Solares T, Villanueva-Verduzco, C (2009) Identificación de levaduras asociadas al huitlacoche. *Rev. Chapingo. Serie horticultura*15(3):225-230.

Hirschhorn E (1986) Formas fisiológicas de *Ustilago zeae* de diversas localidades de Argentina. *Phycis*. 18:181-222, 1939.

Immer FR, Christensen JJ (1928) Influence of environmental factors on the seasonal prevalence of corn smut. *Phytopathol.* 18: 599-602

Kealey KS, Kosikowski FV (1981) Corn smut as a food source-perspectives on biology, composition and nutrition. *CRC. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 15:321-351.

Konstandi SF, Geisler G (1989) Maize smut induced by *Ustilago maydis* (DC.) Corda. Reaction of maize hybrids and lines to smut disease. *J. Agron. Crop Sci*. 163:149-156.

Kronstad JW (2003) Castles and Cuitlacoche: the first international *Ustilago* conference. *Fungal Genet. Biol.* 38:265-271

Kyle CH (1930) Relation between the vigor of the corn plant and its susceptibility to smut (*Ustilago zeae*). *J. Agr. Res.* 41:221-231

López-Aceves GF (1988) Factores que determinan el desarrollo de *Ustilago maydis* (D.C.) Cda; agente causal del huitlacoche del maíz, Tesis de Maestría, Colegio de Posgraduados de Chapingo, México.

Martínez ML, Villanueva VC, Sahagún CJ (2000) Susceptibilidad y resistencia del maíz al hongo comestible huitlacoche (*Ustilago maydis* Cda.) mejorando su resistencia. *Revista Chapingo serie Horticultura* 6(2):241-255.

Martínez-Flores A, Corrales-García JJ, Espinosa-Solares T, García-Gatica PG, Villanueva-Verduzco C (2008) Cambios postcosecha del hongo comestible Huitlacoche (*Ustilago maydis* (DC.) Corda). *Revista Chapingo serie Horticultura* 14(3):339-346.

Mills LJ, Kotzé JM, Nel PC (1982) The effects of fertilizers on boil smut of maize. *Phytophylactica* 14: 95-97

Paredes LO (1994) Entrevista con el Dr. Octavio Paredes López, del Cinvestav-Irapuato. 11 Octubre 1994. *La Jornada,* Sección Desarrollo, pág. 3.

Paredes LO, Valverde ME, Guevara LF, Vanegas EP (2000) Tecnologías para la producción masiva de huitlacoche. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Sistema de Investigación Miguel Hidalgo.

Pataky JK (1991) Production of cuitlacoche [*Ustilago maydis* (DC) Corda] on sweet corn. *Hort Sci.* 26(11):1374-1377

Pataky JK (2002) Production of huitlacoche (*Ustilago maydis*) using inoculation techniques developed to screen reactions of sweet corn to common smut. Pag. 31-41, En: Sánchez JE, Huerta G, Montiel E (eds). *Proceed. 4th Intl Conf. Mush. Biol. Mush. Prod.*, Cuernavaca, Mexico.

Pataky JK, Chandler MA (2003) Production of huitlacoche, *Ustilago maydis*: timing inoculation and controlling pollination. *Mycologia* 95: 1261-1270

Pataky JK, Nankam C, Kerns MR (1995) Evaluation of a silk-inoculation technique to differentiate reactions of sweet corn hybrids to common smut. *Phytopathol.* 35:1323-1328

Platz GA (1929) Some factors influencing the pathogenicity of *Ustilago zeae* (Beckm.) Unger. *Iowa State Col. J. Sci.* 3:177-214

Pope DD, McCarter SM (1992) Evaluation of inoculation methods for inducing common smut of corns ears. *Phytopathology*. 82: 950-955

Ruiz-Herrera J, Martínez-Espinosa AD (1998) The fungus *Ustilago maydis*, from the Aztec cuisine to the research laboratory. *Int. Microbiol*. 1:149-158

Snetselaar KM, Mims CW (1993) Infection of maize stigmas by *Ustilago maydis*: Light and electron microscopy. *Phytopathol.* 83:843-850

Thakur RP, Leonard KJ, Pataky JK (1989) Smut gall development in adult corn plants inoculated with *Ustilago maydis*. *Plant Dis*. 73 (11): 921-925

Valadez R, Moreno A, Gómez G (2011) Cujtlacochi. El cuitlacoche. IIA.UNAM

Valdez-Morales M, Valverde ME, Paredes-López O (2009) Procedimiento tecnológico para la producción masiva de huitlacoche. http://octi.gunajuato.gob.mx/sinnco/formulario/MT/MT2009/MT1/SESION2/MT1 27 de febrero 2011.

Valverde ME, Moghaddam PF, Zavala-Gallardo MS, Pataky JK, Paredes-Lopez O, Pedersen WL (1993) Yield and quality of huitlacoche on sweet corn inoculated with *Ustilago maydis*. *Hort. Sci.* 28 (8):782-785.

Valverde ME, Paredes-López O, Pataky JK, Guevara-Lara F (1995) Huitlacoche (*Ustilago maydis*) as a food source biology, composition and production. *CRC. Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 35 (3): 191-229.

Villanueva VC (1995) Estudios de la reacción del maíz al huitlacoche (*Ustilago maydis*). Tesis de Doctorado en Ciencias, Colegio de Posgraduados, Programa de Genética. México.

Villanueva VC (1997) Huitlacoche (*Ustilago maydis*) as a food in Mexico. *Micol. Neotrop. Apl*. 10:73-81.

Villanueva VC, Sánchez E, Villanueva E (2007) *El huitlacoche y su cultivo.* Mundi Prensa México, S.A. de C.V.

Walter JE (1935) Factors affecting the development of corn smut, *Ustilago zeae* (Beckm.) Unger. *Minnesota Agr. Expt. Sta. Tech. Bull.* 111

Zimmerman SA, Pataky JK (1992) Inoculation techniques to produce galls of common smut on ears of sweet corn. *Phytopathology.* 82:995

5.2 ASPECTOS DEL CULTIVO DE *GRIFOLA FRONDOSA*

Ana Laura Rendón-Ramírez*, Lourdes Acosta-Urdapilleta**, Francisco Abel Medrano-Vega** y Elba Villegas Villarreal***

*Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Micología. Centro de Investigaciones Biológicas CIB
**Cuerpo Académico Unidades Productivas Tradicionales. Centro de Investigación en Biotecnología CeIB
***Cuerpo Académico de Entomología y Fitopatología. Universidad Autónoma del Estado de Morelos
Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos. C.P. 62209. Fax (777) 329-7056
flash_0023@hotmail.com

RESUMEN

El carpóforo y el micelio de *Grifola frondosa* (maitake) poseen alto valor nutricional y medicinal porque contienen polisacáridos tipo glucanos β-1,6 y β-1,3 con actividad antitumoral e inmunomoduladora. El presente trabajo tiene por objetivo evaluar el rendimiento del micelio de una cepa en tres medios de cultivo así como determinar el sustrato óptimo para la elaboración de inóculo y el cultivo de basidiocarpos en sustratos lignocelulósicos esterilizados. Los medios de cultivo utilizados no presentaron diferencias significativas en las evaluaciones: velocidad de crecimiento y biomasa micelial. Se elaboró inóculo en frascos con aserrines de pino, encino y cedro, olote de maíz triturado y granos de trigo y en combinaciones 1:1 con granos de trigo. Se utilizaron como sustratos para la producción de cuerpos fructíferos: rastrojo-olote de maíz y aserrines de encino y pino. Los mejores inóculos fueron el olote de maíz y su combinación 1:1 con granos de trigo; el mejor sustrato fue rastrojo-olote de maíz obteniéndose basidiocarpos con una eficiencia biológica de 19.9% a los 120 días de incubación con características típicas de la especie. El micelio en inóculo primario y en sustrato presentó exudados en tonalidades que van de amarillo a naranja.

*Palabras clave***:** maitake, medicinal, comestibles, producción de semilla, carpóforos.

INTRODUCCIÓN

Grifola frondosa (Dicks.) Gray, también conocido como maitake, es un hongo Basidiomiceto, de la familia Meripilaceae (Dicks.) Gray 1821 (Index Fungorum 2008). Crece en bosques templados de Asia principalmente en las regiones de Japón y China, en Europa y también en Norteamérica, en el este de Canadá y el sureste de Estados Unidos (Stamets 2000). El maitake es uno de los hongos más apreciados en Japón y su reconocimiento se ha extendido mundialmente ya que presenta un gran valor nutricional así como medicinal debido a la presencia de la fracción D constituida por una mezcla de proteínas y polisacáridos tipo glucanos β -1,6 y β -1,3, identificada en 1984 por el Dr. Hiroaki Nanba; más tarde en la década de 1990, Nanba y Kubo continuaron estudiando este hongo y lograron purificar la Fracción D, que llamaron Fracción DM, que resulta ser más bioactiva y que posee actividad antitumoral e inmunomoduladora (Illana-Esteban 2008, Zapata *et al*. 2007). Otras propiedades reportadas son: antifúngico, antibacteriano y antiparasítico, antivírico: virus de la gripe y VIH (confirmado por el Instituto Nacional de la Salud de Japón y por el Instituto Nacional del Cáncer de EUA en 1992), antihipertensión y antihepatitis en ratas y humanos; anticolesterol, antidiabetes en ratones y humanos, antisíndrome de fatiga crónica, antiosteoporosis, antienfermedad de Alzheimer, antiobesidad, antiestreñimiento, antiartritis reumatoide en ratones, protector hepático, actividad antioxidante y control de candidiasis vaginal. Aunque las distintas investigaciones efectuadas en Japón parecen demostrar la efectividad del *maitake* en el tratamiento del cáncer, en 2007 el *MD Anderson Cancer Center,* de la Universidad de Texas, en Estados Unidos, comentó la necesidad de profundizar en la investigación sobre este tipo de terapias (Illana-Esteban 2008).

Japón es el mayor productor y consumidor de *G. frondosa* y China el segundo (Shen *et al*. 2004). El hongo maitake es producido principalmente en provincias Japonesas como Niigata, Nagano, Gunnma, y Shizuoka (Royse 1997). Actualmente su cultivo y producción se ha extendido a otras partes del mundo, como Estados Unidos y Alemania (Illana-Esteban 2008).

Stamets (2000) reportó que los sustratos naturales donde crece *G. frondosa* son: roble, encino, olmo, maple y pino. Švagelj *et al*. 2008 reportaron que *G. frondosa* se cultivó en estado sólido utilizando toda la planta de maíz molida con aditivos minerales y aceite de oliva con una humedad superior a 70% para obtener micelio de este hongo. El inóculo frecuentemente es elaborado con granos de cereales aunque también se pueden utilizar aserrines como sustratos. En la producción de inóculo primario se han utilizado granos de centeno, trigo y sorgo (Royse 1997). Este hongo ha sido cultivado en camas en las que se extiende el sustrato inoculado con el hongo. A partir del año 2000 se realiza el cultivo en botellas, para reducir la cantidad de sustrato empleado. Finalmente, se introdujo el método de cultivo en bolsas de polipropileno (Illana-Esteban 2008). Entre los sustratos más comunes para la producción de cuerpos fructíferos se han utilizado aserrín suplementado con salvado de arroz ó salvado de trigo en una proporción de 5:1, respectivamente (Royse 1997); otro sustrato empleado es la mezcla de aserrín de encino, aserrín de álamo y residuos de maíz en una proporción 15:5:2 (Stamets 2000). El hongo maitake en los países asiáticos es muy conocido, y se puede adquirir en fresco. A partir del micelio y del cuerpo fructífero se producen extractos líquidos, cápsulas, gránulos y tabletas que pueden ser adquiridos mediante importación a un costo elevado (Royse 1997). Por lo anterior está en aumento la demanda a nivel mundial de cuerpos fructíferos y de los productos que se obtienen de *Grifola frondosa.*

Debido a esto, el presente trabajo tuvo por objetivo buscar y proponer sustratos reciclables y de fácil disponibilidad en Morelos, como son los desechos agrícolas (rastrojo y olote de maíz) y de la industria forestal (aserrines de pino, encino y cedro) que faciliten el crecimiento del micelio y de cuerpos fructíferos, para determinar el sustrato más eficiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

La cepa de *Grifola frondosa* de origen japonés se encuentra depositada en el cepario de hongos del Laboratorio de Micología del CIB-UAEM, con la clave HEMIM-43 y fue adquirida de la compañía Fungi Perfecti.

Métodos empleados en el proceso de cultivo a nivel micelial

En esta etapa se determinaron las características morfológicas, la velocidad de crecimiento (mm/día) y la producción de biomasa (mg/caja Petri); estos tres parámetros se realizaron por triplicado sobre tres medios de cultivo: papa dextrosa agar (PDA marca Bioxon), agar con harina integral de trigo (HIT: 24.2% azúcar comercial, 48.4% harina integral de trigo y 27.4% agar-agar marca Hycel) y extracto de malta agar (EMA marca Becton Dickinson).

a) Características morfológicas del micelio
Se observaron y describieron la densidad (abundante, regular o escasa), color, textura (algodonosa, zonada, aterciopelada u homogénea) y tipo de micelio (aéreo, rastrero) registrando así las diferencias y semejanzas que presentan durante su crecimiento entre los tres medios de cultivo (PDA pH 3.5, HIT pH 5.51 y EMA pH 4.6) durante 32 días a una temperatura de 25°C.

b) Velocidad de crecimiento micelial en caja Petri
La cepa (inóculo 6mm) fue resembrada en cajas de Petri de 90 mm de diámetro con 20 ml de medio de cultivo

sintético (EMA, HIT y PDA) y se mantuvo en ausencia de luz a 25ºC durante el tiempo que el micelio colonizó totalmente la caja de Petri. El crecimiento del micelio fue determinado mediante la medición diaria del diámetro del micelio con un vernier (Martínez-Carrera 1984).

c) Producción de biomasa micelial
Se realizaron resiembras en cajas Petri de 90 mm por triplicado con 20 ml de medio sintético (HIT, EMA y PDA), se incubaron durante 45 días el tiempo que el micelio colonizó el sustrato a una temperatura de 25°C. El proceso de obtención de biomasa es el siguiente: en recipientes con 100 ml de agua destilada se coloca el medio de cultivo que contenga cada caja Petri y se calienta en horno de microondas durante 60-80 segundos dependiendo del medio empleado. Enseguida es separado el micelio por filtración en caliente, usando papel filtro previamente pesado. El papel con el micelio es secado a una temperatura de 65°C por 24 h y enseguida es nuevamente pesado el papel filtro con el micelio. El peso del micelio se obtiene por diferencias de pesos (Sánchez y Viniegra-González 1996).

Hidratación de los sustratos

Los sustratos empleados para la producción de inóculo primario o semilla y cuerpos fructíferos fueron sometidos a un proceso de hidratación en calor (70-75°C, 30 min) posteriormente fueron drenados en coladores plásticos durante 30 min para aserrines y viruta, en el caso de rastrojo y olote de maíz se drenaron por 45 min a temperatura ambiente.

Método y sustratos empleados en el proceso de producción de inóculo primario (semilla)

Preparación del inóculo primario
Se utilizaron granos de trigo previamente lavados y hervidos durante 20 min aproximadamente. Posteriormente se drenó el exceso de humedad hasta alcanzar 50-55% (Guzmán *et al.* 1993, Quimio 2001) y se le adicionó 0.5% de CaO y 2.0% de $CaSO_4$ por 1 kg de trigo seco; también se preparó inóculo en aserrín de pino, encino, cedro y olote de maíz 100% previamente hidratados; posteriormente se prepararon mezclas 1:1 de granos de trigo con olote de maíz y aserrines, cada frasco de vidrio contenía 200 g de material y fueron esterilizados a 121°C por 2 h. Una vez alcanzada la temperatura ambiente el sustrato fue inoculado con 1 cm^2 de micelio; el material sembrado fue incubado a 25°C hasta su completa colonización.

Sustratos utilizados para la producción de inóculo primario o semilla
En la producción del inóculo primario se planteó utilizar granos de trigo, aserrines de encino, pino y cedro, rastrojo y olote de maíz triturado. Los aserrines de encino y pino son sustratos naturales de *G. frondosa* (Stamets 2000), y han sido empleados para su cultivo en investigaciones anteriores; al igual que los granos de trigo y la planta de maíz (Švagelj *et al*. 2008, Royse 1997). Para el presente trabajo se realizaron 9 tratamientos que se describen en la Tabla 1. En todos los casos se prepararon 10 repeticiones que contenían 200 g de peso húmedo, de cada uno de los tratamientos.

Procedimientos y sustratos empleados en la producción de cuerpos fructíferos de *G. frondosa*

Preparación de los sustratos para la producción de cuerpos fructíferos
Los sustratos evaluados fueron aserrines de pino, encino y cedro, rastrojo y olote de maíz los cuales fueron conseguidos en madererías y terrenos agrícolas cercanos a Cuernavaca. La preparación de los sustratos consistió en fragmentar los materiales para reducir el tamaño de partícula y así permitir la colonización del hongo de manera más rápida. Para determinar el tamaño de partícula de los aserrines de pino y encino se utilizó un kilogramo de sustrato seco, se emplearon tamices metálicos marca Gibson No.10 (2 mm), No.14 (1.19 mm), No.20 marca Duvesa (0.84 mm). En viruta y aserrín de pino se obtuvieron tamaños de partícula mayores: de 6.7

x 3 cm= 780 g, de 2 mm= 105 g, de 1.19 mm= 55 g, de 0.84 mm y menores= 60 g. En viruta y aserrín de encino se obtuvieron tamaños de partículas: mayores de 4.5 x 0.5 cm= 500 g, de 2 mm= 135 g, de 1.19 mm= 90 g, de 0.84 mm y menores= 275 g. El olote y el rastrojo de maíz presentaron tamaño de partícula aproximado de 1 cm. Se hidrataron y posteriormente se drenó el exceso de humedad, posteriormente se pesaron 2 Kg (peso húmedo) de cada sustrato y se empacaron en bolsas de polipropileno/etilo de 46.5 x 13.5 cm provista de un filtro de micro poro de 4 x 4 cm ubicado a 11.5 cm de la parte superior de la bolsa. El siguiente paso fue esterilizar los sustratos a 121°C durante 2h, las bolsas con los sustratos se enfriaron hasta alcanzar la temperatura ambiente, después se colocaron de manera invertida para continuar el drenado de los sustratos por aproximadamente 6 h.

Tabla 1. Sustratos empleados en la producción de inóculo primario (semilla) de la cepa HEMIM-43 de *Grifola frondosa*

Tratamiento	Sustrato	Cantidad (%)	pH
T1	Aserrín de encino	100	4.15
T2	Aserrín de pino	100	3.60
T3	Aserrín de cedro	100	5.02
T4	Olote de maíz	100	4.43
T5	Granos de trigo	100	7.00
T6	Aserrín de encino/granos de trigo	50:50	4.19
T7	Aserrín de pino/granos de trigo	50:50	3.80
T8	Aserrín de cedro/granos de trigo	50:50	3.92
T9	Olote de maíz/granos de trigo	50:50	5.71

Sustratos empleados en la producción de cuerpos fructíferos

Para la producción de cuerpos fructíferos se evaluaron 5 tratamientos los cuales se mencionan en la Tabla 2. Se prepararon 10 bolsas por tratamiento, con 2 kg cada una. Para esta etapa no se utilizaron los tratamientos: granos de trigo 100% (T5), aserrín de cedro 100% (T3) y la combinación 50:50% de aserrín de cedro con granos de trigo (T8) los cuales fueron empleados en la etapa de producción de semilla; los motivos por los cuales se descartaron para ser utilizados en la producción de cuerpos fructíferos se mencionan en la sección de resultados.

Tabla 2. Sustratos evaluados para la producción en bolsa de cuerpos fructíferos de la cepa HEMIM-43 de *Grifola frondosa*

Tratamiento	Sustrato	Cantidad %
TB1	Aserrín de encino	100
TB2	Aserrín de pino	100
TB3	Olote de maíz	100
TB4	Aserrín de pino/olote de maíz	50:50
TB5	Rastrojo y olote de maíz	50:50

Siembra e incubación

Para la siembra se utilizaron 205 g de semilla (tasa de inoculación 10%), que fueron mezclados de manera homogénea con el sustrato. Posteriormente fueron colocados en el área de incubación durante 4 meses a una temperatura mínima de 15°C y máxima de 21°C, con una humedad relativa de 90-100%, en total oscuridad, se utilizó un termómetro de máximas y mínimas, y un higrómetro.

Análisis estadísticos

Los experimentos incluyen tres tratamientos (agar HIT, PDA y EMA), con tres repeticiones. Con los datos de velocidad de crecimiento, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba post hoc de comparación de medias por el método de Tukey, con un nivel de significancia de 0.05. Para comparar la biomasa micelial producida por el hongo en los tres medios de cultivo, antes mencionados, se uso la prueba no paramétrica de Kruskall-Wallis, se utilizó el programa Statistica 7. Para la elaboración del inóculo primario los experimentos incluyen 9 tratamientos con 10 repeticiones y se evaluó la media (en días) de la colonización entre los tratamientos.

RESULTADOS

Evaluación de la cepa HEMIM-43 de *Grifola frondosa*

En la Figura 1 y en la Tabla 3 se muestran las características morfológicas que presenta la cepa *G. frondosa* HEMIM-43 a los 32 días de cultivo en los tres medios. En el medio PDA, la cepa presentó crecimiento micelial abundante en algunas zonas (aglomeraciones miceliales de textura lanosa) mientras en otras zonas fue escaso. En el medio EMA, la cepa presentó aglomeraciones miceliales de textura lanosa, en mayor proporción en la periferia, solo en este medio se registraron los cambios de coloración amarillas y naranjas característicos de esta especie. En el medio HIT, la cepa presentó una zona concéntrica de 70 mm de diámetro con un crecimiento más abundante, con respecto a la periferia.



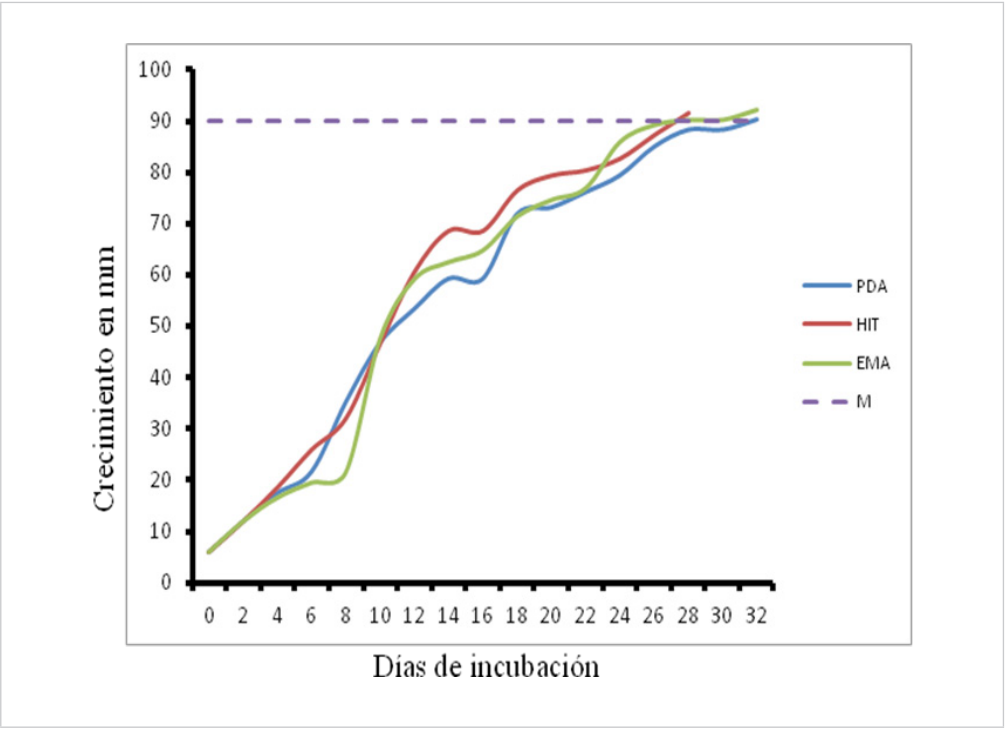
Figura 1. Aspecto de la cepa *G. frondosa* HEMIM-43 a los 32 días de cultivo, sobre PDA, EMA y HIT a 25°C.

Tabla 3. Características morfológicas del micelio

Medio de cultivo	Color	Textura	Densidad	Tipo de micelio
PDA	Blanco	Algodonosa y zonada	Regular	Aéreo
EMA	Blanco	Algodonosa y aterciopelada	Abundante	Aéreo y rastrero
HIT	Blanco	Aterciopelada y homogénea	Abundante	Rastrero

Velocidad de crecimiento micelial (mm/día)

Los resultados de la velocidad de crecimiento del hongo en los medios de cultivo PDA, HIT y EMA indican que no hubo diferencias significativas en ninguno de los casos (PDA vs. EMA p= 0.88765, PDA vs. HIT p= 0.99914, EMA vs. HIT p= 0.88300). Por lo que cualquiera de estos medios de cultivo podría utilizarse para la propagación del micelio de *G. frondosa*. En la Figura 2 se muestra la curva característica de crecimiento de *G. frondosa* graficando la media de la velocidad obtenida vs tiempo en caja de Petri, la forma de las curvas en los tres medios evaluados siguen la misma tendencia.



[v]Figura 2. Crecimiento micelial (mm/dia) de *Grifola frondosa* HEMIM-43 a 25ºC.

Producción de biomasa micelial (g/caja Petri)

La biomasa micelial obtenida a los 45 días de cultivo a 25ºC fue de 1.21, 1.13 y 1.34 g/caja de petri sobre PDA, EMA y HIT, respectivamente. El análisis realizado mediante la prueba de Kruskall-Wallis no mostró diferencia significativa entre ellos (p=0.01).

Humedad adquirida en los sustratos y pH

El porcentaje de humedad adquirido por cada sustrato en el proceso de hidratación y su pH, se muestra en la Tabla 4, el rastrojo de maíz tuvo el porcentaje de humedad más alto (75%), seguido por aserrín de cedro y pino con 73.7 y 70% respectivamente, olote de maíz 62.5% y aserrín de encino 59.4%. Por otro lado el sustrato con pH menor fue aserrín de pino 3.6 en contraste con rastrojo de maíz que tiene el valor más alto 5.3. Cabe resaltar que el aserrín de cedro con pH 5.02 y humedad de 73.7% no fue un buen sustrato para el crecimiento micelial de *G frondosa*.

Tabla 4. Porcentaje de humedad

Sustrato	Humedad (%)	pH
Aserrín de encino	59.4	4.15
Aserrín de pino	70.2	3.60
Aserrín de cedro	73.7	5.02
Olote de maíz	62.5	4.43
Rastrojo de maíz	75.0	5.36
Granos de trigo	45.0	7.00

Producción de inóculo primario (semilla)

De los nueve tratamientos para la producción de inóculo primario se descartaron tres tratamientos: T3 (aserrín de cedro), T5 (granos de trigo) y T8 (aserrín de cedro con granos de trigo en una relación 50:50) debido a que ninguno presentó crecimiento micelial en el periodo de estudio de 90 días, a una temperatura de 25°C. Los seis tratamientos restantes que se observan en la Figura 3, paneles a=T1, b=T2, c=T4, d=T6, e=T7 y f=T9, se seleccionaron para la siembra en bolsas en la producción de cuerpos fructíferos. En esta etapa destacan los tratamientos T4 (olote de maíz) y T9 (olote de maíz con granos de trigo en una relación 50:50), ambos tratamientos fueron los mejores para la producción del inóculo primario ya que el micelio de *G. frondosa* colonizó estos sustratos al término de 55 días, en comparación con los tratamientos T1, T2, T6 y T7 los cuales fueron colonizados hasta los 90 días.

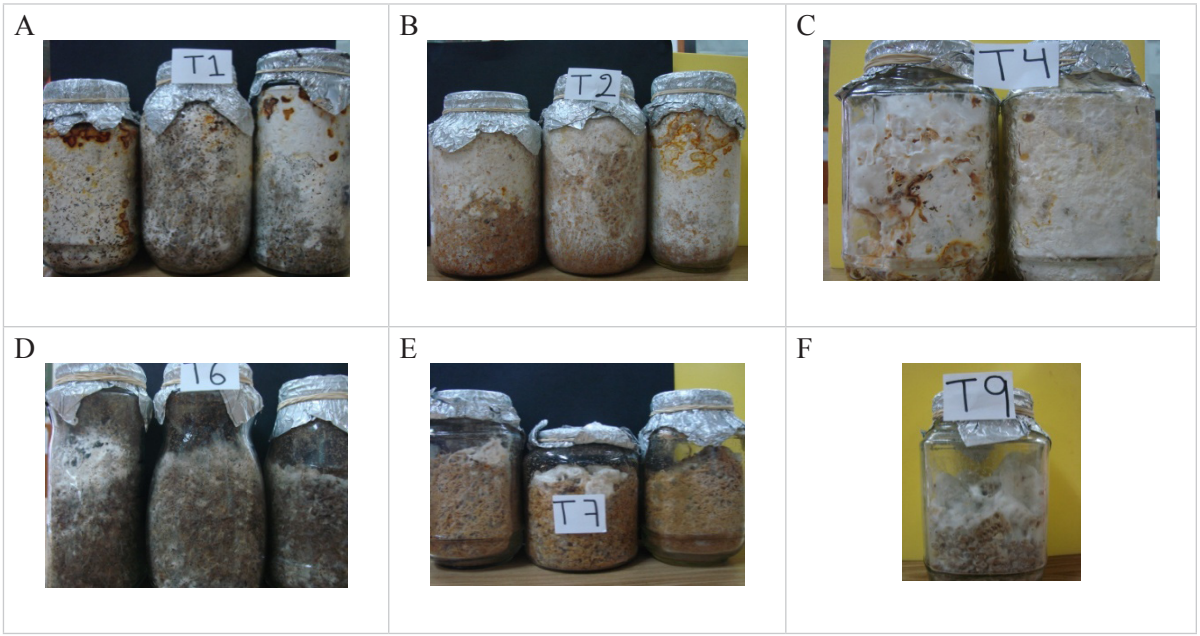


Figura 3. Inóculo primario con 90 días de incubación paneles A, B, D y E; con 55 días paneles C y F, utilizados para la producción de cuerpos fructíferos de *G. frondosa*

Cabe destacar que el micelio en el inóculo primario y en el sustrato de cultivo presentó exudados en tonalidades que van de amarillo a naranja, en todos los tratamientos (Figura 4).

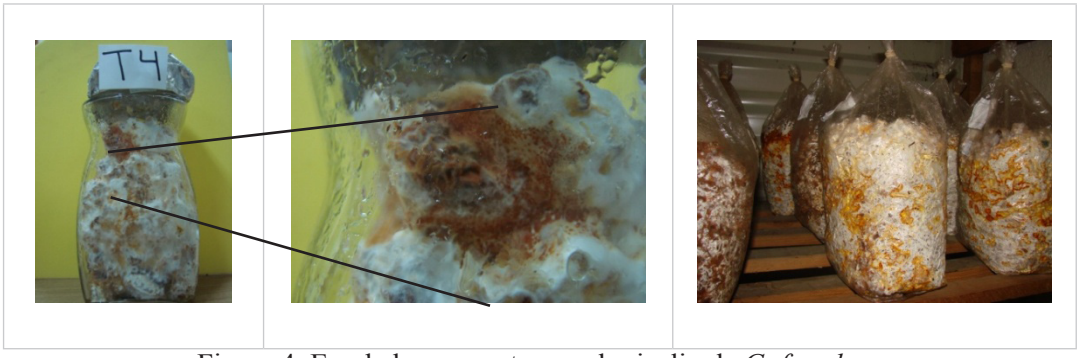


Figura 4. Exudados presentes en el micelio de *G. frondosa*

Las bolsas con 2 kg de sustrato (peso húmedo) se muestran en el área de incubación en donde se registró una

temperatura máxima de 20.9°C y mínima de 15.0°C (Figura 5).



Figura 5. Incubación de sustratos

Producción de cuerpos fructíferos de *G. frondosa*

A los 120 días de incubación se evaluó la primera cosecha del tratamiento cinco en bolsa de cultivo (TB5), con rastrojo de maíz y olote (50:50). Se colocó en el módulo de fructificación hasta que se realizó la cosecha de basidiocarpos a los 14 días, obteniendo una eficiencia biológica de 19.9%. Cabe resaltar que el micelio, primordios y cuerpo fructífero presentaron las características típicas de la especie, tales como producción de exudados de coloraciones amarillas y naranjas en el micelio, primordios con bordes infundibuliformes (Figura 6, A, B y C) y cuerpos fructíferos con crecimiento cespitoso (Figura 6, D). Los cuatro tratamientos en bolsa restantes se encuentran aún en incubación y serán evaluados posteriormente.

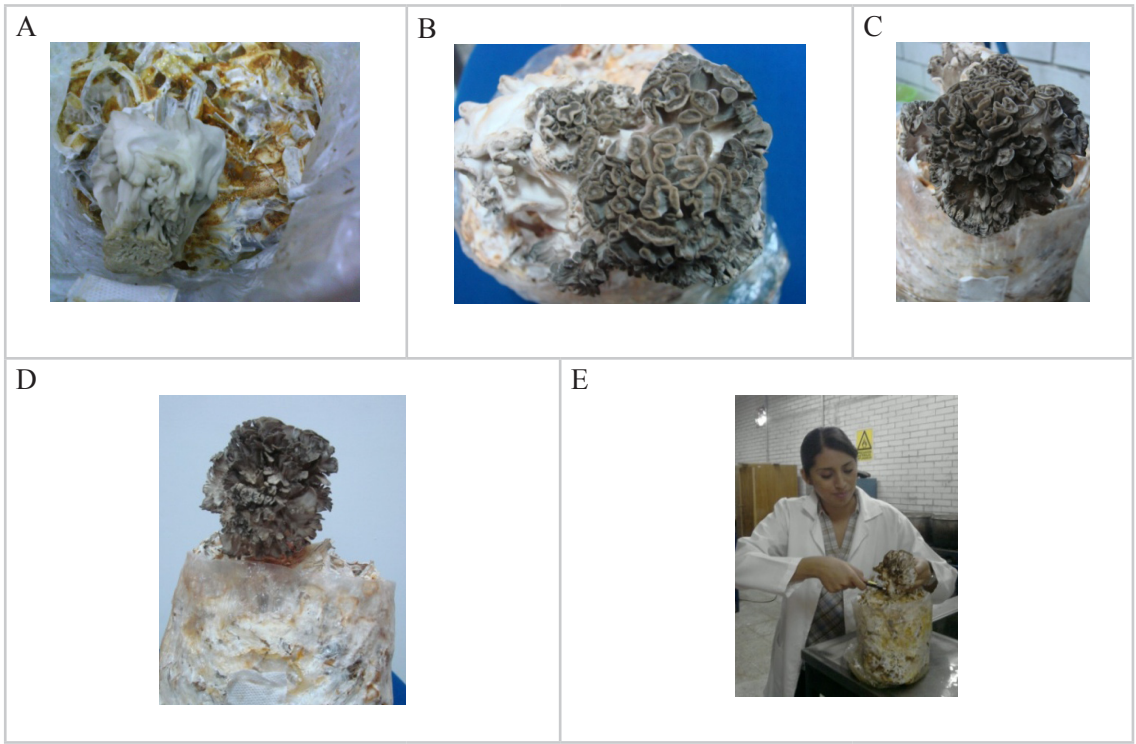


Figura 6. Cuerpos fructíferos obtenidos de *G. frondosa* en la mezcla de sustratos rastrojo y olote maíz (50:50) que corresponde al tratamiento TB5. A= Formación de primordios, B= Desarrollo frondoso con bordes infundibuliformes, C, D= Crecimiento de cuerpos fructíferos, E= Cosechando basidiocarpos maduros.

DISCUSIÓN

Las características que presenta la cepa *G. frondosa* HEMIM-43 en los medios de cultivo PDA, HIT y EMA, coinciden con los cambios de coloraciones amarillo-naranjas reportadas por Stamets (2000). Luego de evaluar su crecimiento micelial en cada uno de los medios de cultivo se encontró que entre estos medios no existen diferencias significativas, siendo factible utilizar cualquiera de los tres propuestos para la propagación del micelio, pues el hongo presenta una velocidad de crecimiento y biomasa micelial similar. En cuanto a costos PDA o HIT son recomendables de utilizar en comparación con EMA.

Entre los sustratos utilizados para la producción de inóculo primario se propusieron nueve tratamientos constituidos por aserrines, semillas y la planta de maíz siguiendo lo reportado en la literatura y que generalmente se usan para la generación del micelio (Royse 1997, Stamets 2000). Švagelj *et al*. (2008) reportaron el uso de toda la planta de maíz para la producción de micelio, por lo que en el presente trabajo se propuso investigar el uso de olote de maíz triturado para la producción del inóculo primario y la mezcla de rastrojo y olote de maíz para la obtención de cuerpos fructíferos.

No se recomiendan utilizar los tratamientos T3= aserrín de cedro, T5= granos de trigo y T8= aserrín de cedro/ granos de trigo 50:50, debido a que no hubo crecimiento micelial. En el cedro se registró un porcentaje de humedad de 73% y pH de 5, ambos adecuada para el crecimiento de *G. frondosa*, sin embargo el cedro contiene, aceites esenciales, gomas, terpenos, triterpenos, fenoles, flavonoides, proantocianidinas y aldehídos (Rosales-Castro *et al.* 2010), compuestos que pueden ser tóxicos a ciertos organismos, como bacterias y hongos, y pudieran relacionarse con la inhibición del crecimiento micelial de este hongo. La relación C/N indica la fracción de carbono orgánico frente a la de nitrógeno presente en un residuo y que está disponible para el crecimiento del hongo. Los valores de C/N en trigo, cedro y olote de maíz son respectivamente 4, 6 y 16 (Donnelly *et al*. 1973, Gonzales s/a), sustratos con una relación C/N entre 14 y 16 contienen los nutrientes idóneos para el cultivo del champiñón (García 2007), por lo que el olote de maíz con una C/N de 16 resultó ser el mejor sustrato para el cultivo de este hongo. Para la elaboración de inóculo primario, el tratamiento T4 = olote de maíz triturado y el tratamiento T9 = olote de maíz/granos de trigo (50:50), presentaron un crecimiento abundante y homogéneo, colonizando totalmente el sustrato a los 55 días de incubación. Ambos tratamientos contienen olote de maíz y fueron los mejores sustratos para la producción de inóculo primario. El resto de los tratamientos (T1= aserrín de encino, T2= aserrín de pino, T6= aserrín de encino/trigo 50:50 y T7= aserrín de pino/trigo 50:50) colonizaron totalmente el sustrato hasta los 90 días. Todos los tratamientos que presentaron crecimiento micelial (T1, T2, T4, T6, T7 y T9) se emplearon como inóculo para la siembra de bolsas en la producción de cuerpos fructíferos.

En cuanto a la producción de basidiocarpos en bolsa, a reserva de hacer el análisis cuando termine la producción, por el momento se sugiere utilizar rastrojo y olote de maíz como sustrato para el cultivo de *G. frondosa*.

AGRADECIMIENTOS

Al Laboratorio de Micología del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos por las facilidades otorgadas para la realización del proyecto. Al Biol. Elizur Montiel Arcos por su ayuda en la identificación y caracterización del hongo.

REFERENCIAS

Donnelly BJ, Helm JL, Lee HA (1973) The carbohydrate composition of corn cub hemicelluloses. *Cereal Chem.* 50:548-552.

Garcia A (2007) Cultivo y producción del champiñón un enfoque tecnológico. En*:* Sánchez JE, Royse DJ, Leal H (eds) *Cultivo, mercadotecnia e inocuidad alimenticia de Agaricus bisporus*. ECOSUR. 75-79.

Gonzales SS (s/a) *Aprovechamientos de esquilmos y subproductos del ganado*. SAGARPA. 1-8.

Guzmán G, Mata G, Salmones D, Soto-Velazco C, Guzmán-Dávalos L (1993) *El cultivo de los hongos comestibles. Con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales*. Instituto Politécnico Nacional. 63-64.

Illana-Esteban C (2008) El hongo maitake (*Grifola frondosa*) y su potencial terapéutico. *Rev. Iberoam. Micol*. 25:141-144.

Index Fungorum (2008) The global fungal nomenclator. http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp Consultado el 24 de junio de 2010.

Martínez-Carrera D (1984) Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre desechos agrícolas. I. Obtención y caracterización de cepas nativas en diferentes medios de cultivo sólido en el laboratorio. *Biótica* 9 (3):243-248.

Martínez-Carrera D, Morales P, Sobal M, Bonilla M, Martínez W (2007) México ante la globalización en el siglo XXI: el sistema de producción-consumo de los hongos comestibles. En: Sánchez JE, Martínez-Carrera D, Mata G, Leal H (eds) *El Cultivo de Setas Pleurotus* spp. *en México*. ECOSUR-CONACYT. 209-224.

Quimio TH (2001) Preparación de la semilla. En: Sánchez JE, Royse DJ (eds) *La Biología y el cultivo de Pleurotus* spp. ECOSUR y UTEHA. 141-156.

Rosales-Castro M, Reyes-Navarrete MG, Honorato-Salazar JA (2010) Estudios fotoquímicos realizados en especies vegetales maderables para evaluar factores y variables que influyen en la concentración de fenoles. VII EncuentroNacional de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional. Memorias del Cartel sección Salud. Red de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional, 11-13 de Octubre 2010, Mazatlán, Sinaloa, México. 13-14. http://www.dcb.rsip.ipn.mx/encuentro/resumenes/salud/carteles/Rosales%20Castro%20Martha%201.pdf

Royse D (1997) Specialty mushrooms: consumption, production and cultivation. *Rev. Mex. Mic.* 13:1-11.

Sánchez JE (2001) Crecimiento y fructificación. En: Sánchez JE, Royse DJ (eds) *La Biología y el cultivo de Pleurotus* spp. ECOSUR y UTEHA. 55-56.

Sánchez C, Viniegra-González G (1996) Detection of highly productive strains of *Pleurotus ostreatus* by their tolerance to 2-deoxy-D-glucose in starch-based media. *Mycol. Res.* 100: 455-461.

Shen Q, Tan Q, Royse DJ (2004) Growing *Lentinula edod*es and other mushrooms in China a low input technology alternative. *Rev. Mex. Mic.*18:15-20.

Stamets P (2000) *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms*. Ten Speed Press, Berkeley, California. 367-375.

Švagelj M, Berovič, M, Boh B, Menard A, Simčič S, Wraber B (2008) Solid-state cultivation of *Grifola frondosa* (Dicks: Fr) S.F. Gray biomass and immunostimulatory effects of fungal intra- and extracellular beta-polysaccharides. *New Biotechnol.* 25(2-3):150-6.

Zapata P, Rojas D, Fernández C, Ramírez D, Restrepo G, Orjuela V, Arroyabe M, Gómez T y Atehortúa L (2007) Producción de biomasa y exopolisacáridos de *Grifola frondosa* bajo cultivo sumergido utilizando fuentes de carbono no convencionales. *Eia* 7: 134-144.

5.3 OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES PARA EL CULTIVO DE SHIITAKE

Lidia P. Curiel Pérez, Cristina J. Morales Olivares, Erika G. Sánchez Marín,
Rebeca Ramírez Carrillo y Hermilo Leal Lara

Facultad de Química, Departamento de Alimentos y Biotecnología, UNAM
rebecarc@servidor.unam.mx

RESUMEN

Lentinula edodes es un hongo comestible apreciado por sus características organolépticas y propiedades funcionales. Es el segundo hongo comestible cultivado comercialmente en el mundo y en México su cultivo se realiza a baja escala, requiriéndose mayores investigaciones para hacerlo más atractivo tanto para productores, como para los consumidores. Con el propósito de optimizar su producción, se evaluó la composición de 9 diferentes sustratos, 3 tiempos de incubación y el efecto del choque térmico sobre la forma de inducir la fructificación bajo 3 condiciones. Los resultados indican que la cascarilla de algodón puede ser utilizada en concentraciones de 36 a 40%. Para los tiempos de incubación (6, 8 y 10 semanas), las mayores EB (79%) se obtuvieron a las 6 semanas de incubación para la cepa L9 y 10 semanas para la cepa L15. Para inducir la fructificación se evaluó el efecto del choque térmico bajo 2 condiciones: choque térmico por inmersión en agua fría (5°C) durante 48 horas y choque térmico en cuarto frío durante 48 horas, y el tratamiento sin choque térmico como control. Las mayores eficiencias biológicas para las 3 cepas (120 a 168%) se obtuvieron con choque térmico por inmersión en agua (48 horas).

Palabras clave: *Lentinula edodes*, formulación de sustratos, tiempo de incubación, formas de inducción para la fructificación.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, tradicionalmente se realiza en troncos de maderas duras con costos de producción muy bajos. Sin embargo, este método presenta las desventajas de una producción estacional; es decir sólo durante otoño y primavera se dan las condiciones naturales de humedad y temperatura necesarias para que el hongo fructifique, además de periodos de incubación y producción sumamente largos (hasta 5 años en total) y muy bajos niveles de producción (20 a 30% de eficiencia biológica). Con la finalidad de reducir la duración del ciclo de cultivo y favorecerlo bajo condiciones controladas se ha sustituido el método tradicional por el uso de sustratos sintéticos estériles como virutas y aserrines de maderas duras y algunos suplementos como salvado de trigo, arroz, avena, cebada, mijo y sorgo entre otros. Este nuevo método ha permitido una producción continua, pero con mayores costos de inversión y un alto consumo de energía (Kalberer 2000, Kilpatrick *et al*. 2000, Ramírez y Leal 2002).

En trabajos previos se observó una disminución muy drástica en la eficiencia biológica de 2 cepas de *L. edodes*, L5 y L9, de 146 y 261% usando un sustrato comercial (Ramírez y Leal 2002) hasta 35 y 77% respectivamente, al usar un sustrato formulado en el laboratorio a base de aserrín (Mireles Palomares y López García 2005). En un trabajo posterior usando el sustrato formulado en el laboratorio a base de aserrín, Ayala Piña (2008) obtuvo un incremento en la eficiencia biológica al utilizar 10 semanas de incubación (EB de 96 y 127% para las cepas L5 y L9), así como al utilizar cultivos de estas cepas que no habían sido sometidas a resiembras sucesivas (EB de 90 y 114% para las cepas L5 y L9). No obstante, estos rendimientos todavía estaban por debajo de los

reportados en los experimentos iniciales (Ramírez y Leal 2002). En este trabajo se planteó evaluar la posibilidad de incrementar los rendimientos con el uso de cepas sin resiembras sucesivas e incorporando cascarilla de algodón al sustrato ya que el sustrato comercial que produjo altos rendimientos contenía una alta proporción de cascarilla de algodón. Además, se consideró importante evaluar el efecto de componentes secundarios tales como: salvado de trigo o sorgo molido ya que la industria productora de shiitake utiliza estos dos materiales en forma indistinta (Mireles Palomares y López García 2005). Al mismo tiempo se evaluó el efecto de algunos componentes terciarios como sulfato de amonio, ácido cítrico y benlate o $CaCO_3$ y $CaSO_4$ recomendados por los productores de shiitake. Para ello se planteó determinar en una primera evaluación la eficiencia biológica de dos cepas de *L. edodes* (L5 y L9) utilizando nueve formulaciones diferentes.

En México se han adaptado y modificado las técnicas tradicionales para reducir el ciclo de cultivo y bajar los costos de producción al usar como sustrato materiales antes no considerados, así como varios subproductos agrícolas (Bernabé González *et al*. 2006, Peralta Márquez y Frutis Molina 2010, Sobal *et al*. 2010). En trabajos previos realizados en nuestro laboratorio, se ha observado que la invasión total del sustrato se logra completar después de la quinta semana de incubación. Sin embargo, por lo general se ha dejado incubar el sustrato por 10 semanas considerando las recomendaciones de la literatura. Por ello como parte de este trabajo, en una segunda etapa, se evaluó también el efecto del tiempo de incubación (6, 8 y 10 semanas) sobre la producción de hongos, para su posterior aplicación a escala comercial.

Finalmente en la literatura para inducir la fructificación, el método más recomendado es la inmersión de los sustratos en agua. Así Royse (1997) recomienda sumergir los sustratos al final de la incubación en agua a 12°C por 3 a 4 horas. Stamets (1993) recomienda sumergir los sustratos en agua a temperatura ambiente por 28 a 48 horas, mientras que Rinker (1991) lo recomienda por 12 horas también a temperatura ambiente. En este trabajo se planteó en una tercera etapa, comparar la inducción sin choque térmico respecto a un choque térmico por 48 horas con o sin inmersión en agua fría (5°C).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Para este estudio se emplearon las cepas *Lentinula edodes* L5, donada por el Dr. Ian Reid del Consejo de Investigación Nacional de Canadá, y las cepas L9 y L15 donadas por el Dr. Tai-Soo Lee del Instituto de Investigación Forestal de Corea.

Preparación de medio de extracto de malta agar (EMA)

Este medio se prepara disolviendo 1.5% de extracto de malta 2% de agar en agua destilada, se esteriliza en autoclave por 30 minutos y se vierten 10 ml del medio en cajas de Petri estériles. El medio estéril se utiliza tanto para la resiembra de las cepas, como para su propagación (Ramírez *et al*. 2007).

Evaluación de diferentes formulaciones del sustrato

Para inocular los sustratos se utilizó inóculo de grano preparado con grano de trigo estéril propagado con el micelio de cada cepa de *L. edodes* (Ramírez *et al.* 2007). Se probaron distintas formulaciones de sustrato. Una vez que se disponía de todos los componentes del sustrato se determinó tanto la humedad, como la capacidad de retención de agua del aserrín de encino, cascarilla de algodón y mijo. Estos datos permitieron calcular las cantidades requeridas de cada componente para cada formulación evaluada. Para la preparación de cada sustrato se hidrataron durante 24 horas el aserrín de encino, mijo y cascarilla de algodón. Posteriormente se drenó el exceso de agua y se pesó la cantidad de cada componente del sustrato establecida en cada formulación en base húmeda. Una vez pesados todos los componentes del sustrato, éstos fueron mezclados y de cada sustrato se colocó 1.5 kg de la mezcla

húmeda en bolsas de polipapel (35 x 45 cm) que se esterilizaron en autoclave durante 2 horas a 121°C y 1.05 kg/cm^2 de presión. Los sustratos fríos se inocularon con la semilla de grano en una proporción 5% y se registraron los pesos de cada bolsa. Las bolsas inoculadas fueron agitadas en forma manual para distribuir el inóculo de grano en forma homogénea en todo el sustrato. A continuación la bolsa fue cerrada colocando en la boca un tubo de PVC de 5 cm de largo, el cual se tapó con un cuadro de hule espuma estéril, sujetado con una liga. En todos los casos para cada variable (cepa, sustrato, tiempo de incubación y tratamiento de inducción para la fructificación) se realizaron 10 réplicas. Las bolsas ya inoculadas se incubaron en total oscuridad a 24°C durante 10 semanas.

La humedad del sustrato es un factor importante para obtener una buena fructificación y para calcular la producción de hongos en términos de eficiencia biológica (g de hongo fresco/100 g de sustrato seco). La humedad del sustrato se determinó después de esterilizarlo, colocando 5 muestras (10 g) de cada sustrato en una estufa a 60°C hasta peso constante (24 horas).

En esta evaluación sólo se cuantificó la eficiencia biológica de las cepas L5 y L9 en los nueve sustratos probados. Al término del período de incubación los sustratos fueron transferidos al cuarto de fructificación y para su inducción se realizaron 4 riegos de 20 minutos cada 6 horas, 2 horas de ventilación con aire húmedo después de cada riego e iluminación continua. La cosecha de hongos se realizó por 10 semanas. Los carpóforos obtenidos en cada bolsa se cortaron y pesaron, con estos valores se calculó la eficiencia biológica semanal y la eficiencia biológica semanal acumulada.

Evaluación del tiempo de incubación

Para evaluar el efecto del tiempo de incubación se utilizó la formulación del sustrato 2 reportada en la Tabla 1, el cual contiene aserrín de encino, cascarilla de algodón, sorgo, mijo, sulfato de amonio, ácido cítrico y benlate. Una vez inoculados los sustratos con las tres cepas (L5, L9 y L15), los tiempos de incubación evaluados fueron 6, 8 y 10 semanas (10 bolsas para cada cepa y tiempo de incubación). Al terminar el período de incubación la fructificación se indujo de igual forma que para la evaluación de sustratos. En este caso la cosecha de hongos sólo se realizó para el primer brote (3 semanas de corte).

Efecto del choque térmico sobre la forma de inducir la fructificación

El sustrato 2 inoculado con las tres cepas de *L. edodes,* fue incubado por 10 semanas y al finalizar el período de incubación, 10 bolsas de cada cepa fueron sometidos a los siguientes tratamientos para inducir la fructificación:

1) Choque térmico con inmersión en agua a 5°C durante 48 horas.
2) Choque térmico sin inmersión en agua a 5°C, durante 48 horas.
3) Control sin choque térmico y sin inmersión en agua.

Los choques térmicos por inmersión en agua fría se realizaron en dos ocasiones durante las 14 semanas de producción, al inicio de la etapa de fructificación (antes de ser trasladado al cuarto de fructificación), y a la 8^a semana (cuando disminuyó la producción de hongos). Después de someter los sustratos a los diferentes tratamientos de inducción para la fructificación se pasaron al cuarto de fructificación, donde las condiciones fueron semejantes a la evaluación de los sustratos. El control se mantuvo en el cuarto de fructificación durante las 14 semanas de cosecha.

Evaluación del nivel de contaminación de las bolsas de sustrato.

Durante el período de incubación las bolsas fueron revisadas semanalmente para observar el avance del cre-

cimiento micelial y en caso de presenciar la aparición de manchas de color verde o negras, las bolsas fueron retiradas del área de incubación y consideradas como contaminadas.

Análisis estadístico de los resultados

Determinación de la semana con el rendimiento máximo significativo (RMS).

Para cada variable (cepa, sustrato y forma de inducir la fructificación) se determinó la semana donde se obtuvo el rendimiento máximo significativo, es decir cuando los incrementos posteriores en la eficiencia biológica ya no fueron estadísticamente significativos (Ramírez Carrillo y Leal Lara 2001-2003). Para ello con los valores de eficiencia biológica semanal acumulada (correspondiente a las 10 o 14 semanas de producción) se realizó un análisis de varianza para cada cepa y sustrato, así como para cada cepa y tratamiento de choque térmico. Si como resultado del análisis de varianza se obtuvieron diferencias significativas entre las semanas de corte, con la prueba de Duncan se determinó la semana donde se obtuvo el Rendimiento Máximo Significativo (RMS). Esta prueba permitió conocer la semana donde se obtuvo el último incremento estadísticamente significativo en la eficiencia biológica.

Análisis de los RMS para cada variable

Una vez identificada la semana donde se obtuvo el RMS, con estos valores de eficiencia biológica se realizó un segundo análisis de varianza. Si como resultado del análisis de varianza se observaron diferencias significativas (cepas, sustratos, tiempos de incubación y forma de inducir la fructificación), por medio de la prueba de Duncan se identificaron las condiciones donde se obtuvo la mayor producción de hongos. Todos los análisis de varianza y pruebas de rango múltiple de Duncan se realizaron con ayuda del paquete estadístico SPSS versión 17 para Windows.

RESULTADOS

Formulación de sustratos

En el primer experimento se evaluaron los primeros 5 sustratos que se presentan en la Tabla 1. Las formulaciones fueron establecidas considerando la información previa o experiencia del laboratorio en el cultivo de otros hongos de tipo ligninolítico. En experimentos previos, se observó que un sustrato rico en cascarilla de algodón (sustrato 1) fue muy productivo para el hongo *Pleurotus eryngii* (DC.) Quél. (Márquez Mota 2009), el cual se caracteriza al igual que *L. edodes* por ser un hongo degradador de lignina. Por otro lado, una empresa local productora de shiitake recomendó el uso de sustratos formulados con mayores proporciones de aserrín de encino que de cascarilla de algodón (sustrato 2). A partir de las formulaciones de los sustratos 1 y 2 se probaron diferentes proporciones de cascarilla de algodón y aserrín, ajustando a 100% la composición de cada sustrato con los componentes secundarios: salvado de trigo y mijo.

En la Tabla 2 se presentan los resultados del análisis estadístico del primer experimento para cada una de las variables de manera independiente (sustratos y cepas). Así los sustratos 2 y 4 fueron los más productivos con EB de 90 y 80% y la cepa L9 fue la más productiva (EB = 78%).

Tabla 1. Composición de sustratos evaluados para el cultivo de las cepas L5 y L9 de *Lentinula edodes*

Componentes del sustrato	Composición de sustratos (base húmeda %)								
	Control	Nuevas formulaciones							
	Primer experimento					Segundo experimento			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Aserrín		50		40	20	50	50	50	60
Cascarilla de algodón	80	36	70	40	60	34	38	36	26
Mijo		6				6	6	6	6
Salvado de trigo	16	6	26	16	16				
Sorgo molido						6	6	6	6
Sulfato de amonio		0.5						0.5	0.5
Ácido cítrico		0.5						0.5	0.5
Benlate		1						1	1
$CaCO_3$	3		3	3	3	3			
$CaSO_4$	1		1	1	1	1			

Tabla 2. Eficiencia biológica acumulada al RMS de las cepas L5 y L9 de *L. edodes* en los cinco sustratos evaluados en el primer experimento

Sustratos	RMS		Promedio sustratos
	Cepas		
	L5	L9	
1[◈]	Sin crecimiento micelial		
2[◆]	79.4 ± 28	101.3 ± 27	90.4 ± 29 c
3[◈]	9.7 ± 12	27.2 ± 5	20.2 ± 12 a
4[◈]	70.3 ± 28	88.9 ± 15	80.0 ± 24 bc
5[◈]	67.3 ± 24	65.7 ± 23	66.7 ± 23 b
Promedio cepas	65.0 ± 32	77.6 ± 33 b	

[◈]Con $CaCO_3$ (3%), $CaSO_4$ (1%)

[◆]Con sulfato de amonio (0.5%), ácido cítrico (0.5%) y benlate (1%)

Letras diferentes en valores promedio de RMS para cepas y sustratos indican diferencias significativas según Duncan (α= 0.05).

Con los resultados previos se plantearon las formulaciones del segundo experimento donde se usó una concentración semejante de cascarilla de algodón (34 a 38%) a la del sustrato 2 (36%) con excepción del sustrato 9 donde se redujo hasta 26%. La concentración de aserrín en los nuevos sustratos se mantuvo semejante al sustrato 2 (50%), excepto en el sustrato 9 donde se incrementó a 60%. Como componentes secundarios se evaluó el uso de sorgo molido en el sustrato, en vez de salvado de trigo de acuerdo a la propuesta de Mireles y López (2005). Además como componentes terciarios nuevamente se probó el uso de $CaCO_3$ y $CaSO_4$ o ácido cítrico, sulfato de amonio y benlate.

En la Tabla 3 se presenta la eficiencia biológica acumulada obtenida al rendimiento máximo significativo para las cepas L5 y L9 en los nueve sustratos evaluados en los dos experimentos. Además se indica el nivel de contaminación observado durante la etapa de incubación de los sustratos. Finalmente para cada cepa se resaltan los sustratos donde se obtuvieron los mayores rendimientos según la prueba de Duncan.

Tabla 3. Eficiencia biológica acumulada al RMS de las cepas L5 y L9 de *L. edodes* en los nueve sustratos evaluados en los dos experimentos

Experimentos y sustratos		Aserrín	Cascarilla de algodón	Salvado	Mijo	Sorgo	EBA al RMS (%)		Contaminación (%)	
							Cepas		Cepas	
							L5	L9	L5	L9
1er	1◈		80	16			Sin crecimiento micelial		25	25
	2◆	50	36	6	6		79.4±28 d	101.3±27 e	0	0
	3◈		70	26			9.7±12 a	27.2±5 a	9	9
	4◈	40	40	16			70.3±28 cd	88.9±15 de	0	0
	5◈	20	60	16			67.3±24 cd	65.7±23 bc	0	50
2do	6◈	50	34		6	6	47.8±9 bcd	53.6±13 b	0	0
	7	50	38		6	6	44.3±7 bc	66.7±10 bc	10	0
	8◆	50	36		6	6	48.4±13 bcd	72.6±9 bcd	50	0
	9◆	60	26		6	6	31.0±31 ab	84.5±20 cde	60	0

◈Componentes terciarios utilizados: $CaCO_3$ (3%) y $CaSO_4$ (1%).

◆ Componentes terciarios utilizados: sulfato de amonio y ácido cítrico (0.5%) y benlate (1%).
Sustrato 7 sin adición de componentes terciarios.

Letras diferentes en los valores de EBA al RMS de las cepas L5 y L9 indican diferencias significativas según Duncan ($\alpha = 0.05$)

Los resultados de los 9 sustratos evaluados permitieron identificar algunas condiciones para obtener altos rendimientos. Altas concentraciones de cascarilla de algodón (80%) no permitieron el crecimiento micelial de las dos cepas de *L. edodes*, y una concentración del 70% de cascarilla de algodón, (sustrato 3, sin adición de aserrín en su formulación), produjo las más bajas eficiencias biológicas para las dos cepas. En los sustratos con concentraciones intermedias de cascarilla de algodón y aserrín de encino, se observó que la composición del sustrato influyó de manera distinta dependiendo de la cepa. Así, una concentración de 34 a 60% de cascarilla de algodón produjo altos rendimientos con la cepa L5, mientras que la cepa L9 requirió de 26 a 40% de cascarilla de algodón. Por otro lado, la proporción más adecuada de aserrín de encino se encuentra aparentemente alrededor de 50%.

Con relación al uso de componentes secundarios, con la cepa L5 fue indistinto utilizar salvado de trigo o sorgo molido, mientras que con la cepa L9 el salvado de trigo resultó más apropiado.

Como se observa en la Tabla 3, los sustratos 2 y 4 fueron los más productivos para ambas cepas. El uso de los componentes terciarios: ácido cítrico, sulfato de amonio y benlate, presentó una respuesta distinta para cada cepa, tanto en la eficiencia biológica, como en la susceptibilidad a la contaminación. En términos generales, la cepa L9 fue menos susceptible a la contaminación. Todo lo anterior apunta a los distintos requerimientos nutricionales que presentan cada una de las dos cepas evaluadas, L5 y L9. No obstante, la cepa L9 fue más productiva que la cepa L5.

Tiempo de incubación

Al concluir el período de incubación la fructificación se indujo de igual forma que para la evaluación de sustratos y la cosecha de hongos sólo se realizó para el primer brote (3 semanas de corte). Con los valores de eficiencia biológica acumulada obtenidos a las tres semanas de la cosecha se realizó un análisis de varianza de tipo factorial para las variables: 1) Cepas, 2) Tiempo de incubación y 3) Interacción cepas con tiempos de incubación. Como resultado del análisis estadístico se observaron diferencias altamente significativas para las variables cepas y la interacción, mientras que para el tiempo de incubación sólo se obtuvo diferencia significativa. Dado que la interacción (cepas

con tiempo de incubación) presentó un efecto altamente significativo, esto indica que no se deben interpretar las variables por separado. Para interpretar la interacción (cepas con tiempo de incubación) se realizó la prueba de rango múltiple de Duncan para las 9 condiciones (3 cepas y 3 tipos de incubación). La prueba de Duncan clasificó las variables en tres grupos estadísticamente diferentes. En la Tabla 4, se observa que la mayor producción de hongos para la cepa L5 se obtuvo a las 8 y 10 semanas de incubación, mientras que para las cepas L9 y L15 correspondió a las 6 y 10 semanas de incubación respectivamente. (EB = 79%).

Tabla 4. Eficiencia biológica de cepas L5 y L9 a tres tiempos de incubación

Cepas	Tiempo de incubación (semanas)	EB (%)*			
L5	6	28.0	±	7.8	a
	8	48.1	±	4.5	b
	10	62.8	±	20.7	b
L9	10	47.3	±	5.7	b
	8	54.0	±	6.5	b
	6	78.8	±	21.8	c
L15	8	46.1	±	7.4	b
	6	59.7	±	12.8	b
	10	79.6	±	5.4	c

*Letras diferentes indican diferencias significativas según Duncan ($\alpha = 0.05$).

Efecto del choque térmico sobre la forma de inducir la fructificación

Al realizar el análisis de varianza con los valores de eficiencia biológica semanal acumulada (correspondientes a cada cepa y tratamiento de choque térmico) se obtuvieron diferencias altamente significativas entre las semanas de corte. Por medio de la prueba de Duncan se determinó la semana donde se obtuvo el Rendimiento Máximo Significativo (RMS) para cada caso (Tabla 5).

Con los valores del RMS para cada cepa y tratamiento se realizó un segundo análisis de varianza de tipo factorial aleatorio considerando como variables: 1) Tratamientos (efecto del choque térmico sobre la forma de inducir la fructificación), 2) Cepas y 3) Interacción de cepas con tratamientos. En dicho análisis se obtuvieron diferencias altamente significativas para las tres variables: tratamientos, cepas y para la interacción cepas con tratamientos. Como la interacción cepas con tratamiento presentó una diferencia altamente significativa, esto indicó que las variables cepas y tratamientos no se comportaron de manera independiente y por ello no se deben interpretar por separado. Para su interpretación se realizó la prueba de rango múltiple de Duncan para las 9 condiciones de la interacción (3 cepas y 3 tratamientos). Como resultado las 9 condiciones se clasificaron en 5 grupos estadísticamente diferentes. En la Tabla 6, se observa que los rendimientos de las 3 cepas aumentaron significativamente (al doble o hasta 8 veces) en los 2 tratamientos con choque térmico, respecto al control (sin choque térmico). Entre los tratamientos con choque térmico los mayores rendimientos se obtuvieron cuando se realizó una inmersión de los sustratos en agua fría, siendo la cepa L9 la que produjo los mayores rendimientos (EB = 168%).

Tabla 5. Eficiencia biológica semanal acumulada de 3 cepas de *Lentinula edodes* bajo tres formas de inducir la fructificación

Eficiencia biológica semanal acumulada (g hongos frescos/ 100 g sustrato seco)									
Semana de corte	Control (sin choque térmico)			Choque térmico en cuarto frío					
				Sin inmersión en agua fría			Con inmersión en agua fría		
	L-5	L-9	L-15	L-5	L-9	L-15	L-5	L-9	L-15
1	9 ± 4	11 ± 5	24 ± 19	14 ± 8	19 ± 2	18 ± 7	27 ± 8	63 ± 15	46 ± 8
2	9 ± 4	13 ± 5	24 ± 19	26 ± 8	42 ± 5	35 ± 7	59 ± 1	100 ± 13	82 ± 10
3	10 ± 5	13 ± 5	32 ± 15	28 ± 8	71 ± 7	48 ± 9	62 ± 3	118 ± 11	89 ± 11
4	10 ± 5	19 ± 9	37 ± 9	42 ± 11	74 ± 4	53 ± 8	89 ± 1	131 ± 12	100 ± 11
5	10 ± 5	22 ± 8	40 ± 12	52 ± 8	87 ± 12	63 ± 6	90 ± 1	150 ± 16	114 ± 13
6	15 ± 4	22 ± 8	48 ± 10	61 ± 13	100 ± 7	68 ± 9	92 ± 1	156 ± 11	118 ± 13
7	15 ± 4	29 ± 4	50 ± 10	73 ± 5	108 ± 12	73 ± 7	93 ± 1	157 ± 11	119 ± 12
8	15 ± 4	29 ± 4	50 ± 10	75 ± 6	110 ± 9	74 ± 7	96 ± 6	157 ± 11	119 ± 12
9	15 ± 4	31 ± 6	50 ± 10	77 ± 6	119 ± 13	77 ± 9	105 ± 8	164 ± 12	126 ± 13
10	15 ± 4	32 ± 5	51 ± 9	77 ± 7	122 ± 12	79 ± 7	108 ± 8	167 ± 12	128 ± 12
11	15 ± 4	32 ± 5	51 ± 9	81 ± 7	125 ± 11	83 ± 6	113 ± 5	168 ± 12	129 ± 14
12	15 ± 4	32 ± 5	52 ± 9	84 ± 6	128 ± 10	86 ± 9	121 ± 13	172 ± 14	135 ± 12
13				88 ± 8	131 ± 11	88 ± 8			
14				90 ± 6	135 ± 12	91 ± 8			
	Semana donde se alcanza el rendimiento máximo significativo								

Tabla 6. Eficiencias biológicas acumuladas al RMS (%) de tres cepas de *L. edodes* bajo tres formas de inducir la fructificación

Cepas	Control (sin choque térmico)			Choque térmico en cuarto frío					
				Sin inmersión en agua fría			Con inmersión en agua fría		
L5	15	±	4 [a]	81	±	7 [c]	121	±	13 [d]
L9	29	±	4 [a]	125	±	11 [d]	168	±	12 [e]
L15	48	±	10 [b]	83	±	6 [c]	135	±	12 [d]

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las 9 condiciones evaluadas según Duncan ($\alpha = 0.05$).

DISCUSIÓN

Formulación de sustratos

En este trabajo se obtuvo una eficiencia biológica acumulada al rendimiento máximo significativo para la cepa L5 de 79.4 ± 28% en el sustrato 2 en la octava semana de cosecha, mientras que para la cepa L9 fue de 101.3 ± 27 a la séptima semana de cosecha en ese mismo sustrato (con una composición de 50% de aserrín y 36% de cascarilla de algodón). La incorporación de cascarilla de algodón como uno de los componentes principales en la formulación del sustrato produjo un incremento significativo en la EB comparado con el trabajo de Mireles Palomares y López García (2005) donde la cepa L5 produjo una EB al rendimiento máximo significativo de 35.5 ± 6 en un sustrato con 60% de aserrín y sin cascarilla de algodón y la cepa L9 dio una EB al RMS de 77.5 ± 2 en un sustrato con 50% de aserrín y sin cascarilla de algodón. Con respecto al trabajo de Ayala Piña (2008) donde se utilizó el sustrato más productivo (reportado por Mireles Palomares y López García 2005) y cepas sin haber sido sometidas a resiembras sucesivas se obtuvieron eficiencias biológicas al RMS semejantes a los

valores obtenidos en este trabajo (cepa L5 = 90.4 ± 17 con respecto a 79.4 ± 28 y cepa L9 = 114.05 ± 12 con respecto a 101.3 ± 27). Finalmente al comparar con el trabajo de Ramírez Carrillo y Leal Lara (2002) los valores actuales de EB al RMS fueron significativamente menores a los de dicho trabajo (EBL5 = 143.9 ± 11 al tercer brote y EBL9 = 261.3 ± 7 al tercer brote). Con respecto al comportamiento de las cepas en las investigaciones previas realizadas en nuestro laboratorio se observó que la cepa L9 fue más productiva que la cepa L5, lo cual también se confirmó en este trabajo.

Al comparar los resultados aquí presentados con investigaciones realizadas en otros centros de investigación se ha observado una tendencia a disminuir la cantidad de aserrín para incorporar a la formulación del sustrato otros componentes para tratar de incrementar los valores de eficiencia biológica. En este sentido se ha evaluado una gran cantidad de formulaciones obteniéndose diversos beneficios como incrementos en la EB y reducción en los costos de producción (por el uso de residuos agroindustriales de bajo costo). Así el reporte de Fung *et al*. (2005) evaluó varios sustratos en los que se incorporaron diferentes residuos agroindustriales como bagazo de caña de azúcar y residuos de algodón. La composición del sustrato fue: 78% de bagazo de caña o residuo de algodón, 20% grano de trigo, 1% azúcar y 1% $CaSO_4$. La cepa de *L. edodes* usada fue incubada durante 70 días. Los autores reportan EB de 94% para el bagazo de caña de azúcar y 47% para el residuo de algodón, durante 148 y 127 días de producción respectivamente. Al comparar con los valores de EB obtenidos en el presente estudio al utilizar cascarilla de algodón casi se obtiene el doble de sus valores, EB = 79 y 101% con respecto a 47%. Sin embargo, al comparar nuestros resultados con el sustrato donde ellos incluyeron bagazo de caña de azúcar se puede decir que en ambos casos se obtienen EB muy semejantes, de 79 y 101% con respecto a 94%. Este indica que los valores de EB obtenidos en este trabajo están dentro de los valores reportados en la bibliografía e incluso al usar cascarilla de algodón en el sustrato se obtuvieron rendimientos altos, semejantes a los obtenidos con otros sustratos.

Por otro lado Royse (2001) menciona que una formulación comúnmente utilizada en Estados Unidos para el cultivo de *L. edodes* contiene aserrín como componente básico, así como algunos otros componentes como paja, mazorcas de maíz o ambos. También indica que se deben utilizar suplementos en concentraciones entre 10 y 60% y entre ellos incluye al salvado de trigo, salvado de arroz, mijo, centeno y maíz. Los sustratos así formulado producen una EBA entre 75 y 125%. Así observamos que los resultados de este trabajo concuerdan con lo mencionado por Royse (2001). Es decir en el sustrato donde se obtuvieron los mayores rendimientos (50% aserrín, 36% cascarilla de algodón, 6% mijo, 6% salvado de trigo, 0.5% sulfato de amonio, 0.5% ácido cítrico, 1% benlate) se utilizó como componente basal el aserrín y los suplemento empleados están incluidos dentro de los mencionados (a excepción de la cascarilla de algodón) y en la proporción sugerida (10 a 60%). Bajo estos parámetros los valores de EBA obtenidos en este trabajo (79 y 101%) también entran dentro del rango mencionado (75 a 125%).

Tiempo de incubación

Como resultado del análisis estadístico se observó una diferencia altamente significativa en los valores de EB de las tres cepas evaluadas al ser sometidas a diferentes tiempos de incubación. A diferencia de los resultados de Rinker (1991) y Delpech y Olivier (1991) que no observaron diferencias significativas entre los niveles de producción relacionados con la duración del período de incubación, nuestros resultados indicaron diferencias entre algunos tiempos de incubación, pero dichas diferencias dependieron en gran medida de las cepas evaluadas. En ese sentido los resultados de este estudio apoyan lo reportado por Royse (1985) quien observó un efecto significativo sobre la eficiencia biológica al extender el período de incubación de 58 a 116 días. Sin embargo en nuestros resultados, al evaluar tres diferentes cepas observamos que no siempre el mayor período de incubación es donde se presenta la mayor eficiencia biológica. Así para la cepa L5 la mayor eficiencia biológica se obtuvo a las 8 y 10 semanas de incubación y para la cepa L15 correspondió a las 10 semanas de incubación. Sin embargo, la cepa L9 produjo mayor eficiencia biológica cuando se incubó por 6 semanas. Este resultado muestra la diferencia intrínseca propia del genotipo de cada cepa. Esto es algo que debe tomarse en cuenta y que no había sido señalado anteriormente, remarcando así la necesidad de evaluar para cada cepa los diferentes parámetros de cultivo.

Efecto del choque térmico sobre la forma de inducir la fructificación

Como resultado global se observó que el choque térmico (con y sin inmersión en agua) produjo un incremento significativo en los rendimientos de las tres cepas, siendo el choque térmico con inmersión en agua fría (48 h) donde se obtuvieron los mayores rendimientos para ellas: EB=168% para la cepa L9, 135% para L15 y 121% para L5. Si comparamos estos resultados con la bibliografía encontramos que por ejemplo Chang (2002) indica que la eficiencia biológica promedio en sustratos sintéticos es de 60 a 80% en un período de 6 meses, valores inferiores a los obtenidos en este estudio pero que tal vez disminuyan al usar estas formulaciones a mayor escala, pero aun así se encuentran dentro de los niveles aceptados para su cultivo. Por otro lado Royse *et al*. (2002) hacen una comparación entre la inducción de la fructificación por medio de inmersión en agua a 13°C e inmersión en agua bajo condiciones de vacío. Como resultado observó que la EB promedio por brote fue de 46 y 58%, lo cual representa entre 138 y 174% de eficiencia biológica total, valores muy semejantes a los obtenidos en este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Colegio de Profesores de la Facultad de Química y a la sección 024 de las AAPAUNAM el apoyo brindado a la alumna Cristina Morales a través de la Cátedra: "Raúl Cetina Rosado".

REFERENCIAS

Ayala Piña P (2008) Evaluación de la producción del hongo comestible *Lentinula edodes* (shiitake) en 2 tiempos de incubación con cepas almacenadas con y sin resiembras. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, Distrito Federal.

Bernabé-González T, Mata G, Cayetano-Catarino M, Gutiérrez-Reyes G (2006) Cultivo experimental del hongo shiitake, *Lentinula edodes*, sobre dos subproductos agrícolas en Guerrero. México. *Rev. Mex. Mic*. 23: 63-68.

Chang ST (2002) Past and present trends in the production of *Lentinula edodes*. En*:* Sánchez JE, Huerta G, Montiel E (eds) *Proceed. IV Int. Conf. Mush. Biol. Mush. Prod.* UAEM, Cuernavaca. 1-8.

Delpech P, Olivier JM (1991) Cultivation of shiitake on straw based pasteurized substrates. En: Maher (ed). *Science and Cultivation of Edible Fungi*. Balkema, Rotterdam. 523-528.

Fung YW, Fung TW, Franco M (2005) Evaluation of different Colombian agroindustrial wastes as substrates for the growth and production of *Lentinula edodes*. *Acta Edulis Fungi* 12: 285-290.

Kalberer PP (2000) Influence of urea and ammonium chloride on crop yield and fruit boby size of shiitake (*Lentinula edodes*). *Mush. Sci.* 15*:* 361-366.

Kilpatrick M, Murray DJ, Ward F (2000) Influence of substrate formulation and autoclave treatment on *Lentinula edodes* production. *Mush. Sci*. 15: 803-810.

Márquez Mota CC (2009) Evaluación de la producción del hongo comestible *Pleurotus eryngii* empleando sustratos disponibles en México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, Distrito Federal.

Mireles Palomares C, López García E (2005) Evaluación de la producción del hongo comestible *Lentinula edodes* (shiitake) en sustratos de aserrín con suplementos. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, Distrito Federal.

Peralta Márquez H, Frutis Molina I (2010). Cultivo de *Lentinula edodes* utilizando paja de trigo pasteurizada y suplementada. En*:* Martínez Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora VM (eds). *Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y perspectivas en el siglo XXI. Red Latinoamericana de hongos comestibles y medicinales: producción, desarrollo y consumo.* COLPOS-UNS-CONACYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla. 169-174.

Ramírez Carrillo R, Leal Lara H (2002) Culture conditions for increasing yields of *Lentinula edodes*. En: Sánchez JE, Huerta G, Montiel E (eds) *Proceed. IV Int. Conf. Mush. Biol. Mush. Prod.* UAEM, Cuernavaca. 289-294.

Ramírez Carrillo R, Leal Lara H (2001-2003). El rendimiento máximo significativo para el análisis estadístico de la producción de *Lentinula edodes* en sustrato comercial de aserrín. *Rev. Mex. Mic*. 17: 7-10.

Rinker DL (1991) The influence of heat treatment, genotype and other cultural practices on the production of Shiitake mushrooms on sawdust. En: Maher (ed). *Science and Cultivation of Edible Fungi*. Balkema, Rotterdam. 497-502.

Royse DJ (1985) Effect of spawn run time and substrate nutrition on yield and size of the shiitake mushrooms. *Mycologia*. 77 (5): 756-762.

Royse DJ (1997) Specialty mushrooms: consumption, production and cultivation. *Rev. Mex. Mic*. 13: 1-11.

Royse DJ (2001) *Cultivation of shiitake on natural and synthetic logs*. Publications Distribution Center, The Pennsylvania State University.

Royse DJ, Rhodes TW, Sanchez JE (2002) Vacuum soaking of wood chips shiitake *Lentinula edodes* long to reduce soak time and stimulate mushroom yield. En: Sánchez JE, Huerta G, Montiel E (eds) *Proceed. IV Int. Conf. Mush. Biol. Mush. Prod.* UAEM, Cuernavaca. 295-301.

Sobal M, Morales P, Bonilla M, Martínez W, Galván F, Sihuacan D, Quiriz F, Juárez M, Martínez-Carrera D (2010) Formulaciones para la producción intensiva de *Lentinula edodes* y *L. boryana* en México. En: Martínez Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora VM (eds) *Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y perspectivas en el siglo XXI. Red Latinoamericana de hongos comestibles y medicinales: producción, desarrollo y consumo.* COLPOS-UNS-CONACYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla. 175-187.

Stamets P (1993) *Growing gourmet and medicinal mushrooms*. Mycomedia, Olympia, Washington.

5.4 CULTIVO DE *LENTINULA EDODES* EN ASERRÍN DE JACARANDA CON NUTRIENTES

Itzel Nayeli Manero Colín, Ma. de Lourdes Acosta-Urdapilleta, Elizur Montiel Arcos y
Francisco Abel Medrano-Vega

Facultad de Ciencias Biológicas, UAEM. Laboratorio de Micología, Centro de Investigaciones Biológicas,
Cuerpo Académico de Unidades Productivas Tradicionales. UAEM
Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Mor. C.P. 62209.
nayeli_imc19@hotmail.com, urdapilletal@yahoo.com, montiel_amanita@yahoo.com

RESUMEN

A través de los últimos años se ha incrementado el cultivo del hongo comestible *Lentinula edodes* (shiitake) por su alto valor nutricional y medicinal. El sustrato base para su cultivo ha sido tradicionalmente el aserrín de encino, por lo que se buscan sustratos alternativos. En el presente estudio se evaluaron las cepas HEMIM-122 y HEMIM-188 en tres sustratos. Destacó la cepa HEMIM-122 (Biomasa media 0.1140 g/caja Petri y velocidad de crecimiento micelial media de 6.16 mm/día). Para la producción de carpóforos fueron evaluados: el aserrín de jacaranda 100% (T1), y las mezclas jacaranda 90% + nutrientes 10% (T2) y jacaranda 80% + nutrientes 20% (T3). La mejor cepa fue la HEMIM-188. Se observó un incremento en la EB al adicionar nutrientes al aserrín de jacaranda que obtuvo valores de 50% (T1), 55% (T2) y 70% (T3); su tasa de producción varió de 0.22 (T1) a 0.49 (T3). Las características morfológicas de los hongos cosechados coincidieron con las típicas de la especie. Concluimos que el aserrín de jacaranda es un buen sustrato para la producción de carpóforos de *L. edodes* y que la producción aumenta al adicionar nutrientes (salvado de trigo, cal y yeso).

Palabras clave: shiitake, sustrato, aserrín de jacaranda, nutrientes, cultivo.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad el cultivo de los hongos es una alternativa para la alimentación del hombre. A nivel mundial, el cultivo del champiñón *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach, es el más conocido, enseguida es el shiitake *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, que tuvo una producción de 1,564,000 t en 1997. Los principales productores son China, Japón, Taiwán y Corea (Gaitán-Hernández *et al.* 2005). En México se estima que los volúmenes de producción de hongos ascienden a más o menos 38,708 toneladas anuales, generando alrededor de 59% de la producción total de Latinoamérica (Martínez-Carrera *et al*. 2004), y la producción de shiitake en México corresponde a 18.2 ton/año (Martínez-Carrera *et al.* 2007). El hongo comestible *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler (shiitake) es un hongo degradador de la madera. Tiene un píleo amplio de 5-25 cm de diámetro, convexo, hemisférico y expandible, eventualmente plano en su madurez, píleo color marrón oscuro al inicio, casi negro, en su estado de madurez cuando se deshidrata llega a ser marrón claro, el margen del píleo suele ser irregular, enrollándose al final, algunas veces curveado, conforme madura y frecuentemente ondulado con la edad. Presenta escamas blancas al inicio sobre el píleo, manchas color café cuando se oxidan o se dañan. Estípite fibroso, central a excéntrico, fibroso, textura dura. Carne marrón y un fuerte aroma farináceo, sabor agradable (Delgado *et al*. 2005). Crece en los países asiáticos en su hábitat natural sobre troncos de árboles muertos principalmente: *Castanopsis cuspidata*, *Pasania* spp., *Quercus* spp., robles y hayas, en climas templados y húmedos (Stamets 2000). San Antonio (1981) y Mata *et al*. (1990, 1991) lo reportan en abedul, castaño, chopo, liquidámbar, maple, sauce y sochilcorona; Guzmán *et al*. (1993) lo refieren además en árboles de ilite (*Alnus jorullensis*), y pipingue (*Carpinus caroliniana*) estas últimas dos especies evaluadas en México. Su cultivo se ha incrementado por sus altos contenidos nutricionales y medicinales, sin embargo el sustrato base para su cultivo ha sido

tradicionalmente el aserrín de encino. Royse y Shen (2005), reportaron que el aserrín es el ingrediente básico más popular para el cultivo de shiitake en bolsa en los EE.UU. Los suplementos (10-60% peso seco) basados en almidón como el salvado de trigo, salvado de arroz, mijo, centeno, y maíz se agregan a la mezcla. Estos suplementos sirven como nutrientes para proporcionar un medio de crecimiento óptimo. Otros suplementos que se agregan en menores cantidades incluyen el $CaCO_3$, el yeso y el azúcar común. En este trabajo se planteó la necesidad de buscar sustratos alternativos y de fácil acceso que permitan su cultivo, encontrando el aserrín de jacaranda, un residuo forestal obtenido de podas fitosanitarias, como un sustrato alternativo para su cultivo. Los suplementos considerados fueron materiales comunes en la región, tales como salvado de trigo, cal y yeso.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el cultivo de *Lentinula edodes* se utilizaron dos cepas comerciales que se encuentran en el Centro de Recursos Genéticos del Colegio de Postgraduados *Campus* Puebla, México que proceden de Asia y fueron donadas al cepario de Hongos del Laboratorio de Micología del Centro de Investigaciones Biológicas UAEM registradas con las claves HEMIM-122 y HEMIM-188 (HEMIM = Herbario Micológico de Morelos "Dr. Gastón Guzmán").

Evaluación de las cepas en el laboratorio

El micelio fue reactivado sobre medios de cultivo sintéticos Agar Dextrosa y Papa (PDA) pH = 5.6 y Agar Extracto de Malta (EMA) pH = 4.6; para cada evaluación se hicieron 4 réplicas y se incubaron a 25°C en oscuridad (Sobal *et al*. 2007). En las características morfológicas del micelio, se determinó el color, textura, densidad (abundante, regular o escasa), tipo de micelio (aéreo o rastrero). Se registró la velocidad de crecimiento micelial (diámetro, mm/día) y se determinó la biomasa micelial (g/caja) mediante el siguiente procedimiento: las placas de agar inoculadas con micelio de las cajas de Petri se depositaron una a una en un frasco de vidrio conteniendo 100 ml de agua destilada y se colocó a ebullición durante 1 min con el objeto de separar el micelio del agar mediante filtración, posteriormente se puso el sobrenadante (micelio) en papel filtro previamente rotulado y pesado en balanza analítica, los papeles filtro con el micelio se dejaron hasta su deshidratación mediante técnicas de secado en laboratorio, y por diferencia de peso entre el papel filtro y el micelio se obtuvo el peso de la biomasa micelial.

Producción de inóculo o semilla

La preparación del inóculo, también conocido comercialmente como "semilla" se hizo en granos de trigo los cuales se limpiaron eliminando la cascarilla y la basura, posteriormente fueron lavados con abundante agua y se hidrataron durante 30 min aproximadamente hasta obtener una consistencia blanda; se drenó el exceso de humedad con ayuda de coladeras plásticas. Posteriormente se le adicionó cal y yeso (5 g de cal y 20 g de yeso por kg de trigo seco) al trigo hasta obtener una mezcla homogénea; despues los granos de trigo fueron colocados en frascos de vidrio que se esterilizaron a 121°C durante 1.5 h. Este material se dejó enfriar a temperatura ambiente; una vez frío se hizo la inoculación, la cual consistió en poner en cada frasco una quinta parte de placa inoculada contenida en la caja de Petri; posteriormente se incubaron a 25°C hasta que los granos de trigo fueron completamente colonizados (Guzmán *et al.* 1993).

Preparación de los sustratos

Los sustratos evaluados fueron residuos forestales de jacaranda *Jacaranda mimosifolia*, mezclas de jacaranda con nutrientes y se utilizó como testigo el aserrín de encino por ser su sustrato natural y únicamente con fines de comparar el peso en gramos de basidiocarpos. La preparación de los sustratos se realizó con base en Acosta-Urdapilleta *et al.* (2010), y consistió en:

a) Fragmentación: Las ramas de la jacaranda (secas) se trituraron para el buen crecimiento del hongo. La reducción del tamaño de partícula se hizo con trituradora eléctrica; el tamaño aproximado tuvo un intervalo de 4.25 mm x 13.5 mm.
b) Hidratación: consistió en sumergir los sustratos por separado, en agua caliente (70-75°C) por aproximadamente 30 min.
c) Drenado: los sustratos fueron drenados en coladeras plásticas por 30 min aproximadamente, o hasta que dejó de fluir agua; la humedad final de los sustratos evaluados fue de 68% en jacaranda, 70% en salvado de trigo y 50% en encino; enseguida se agregó la cal y el yeso.
d) Pesado y empacado: cada sustrato fue pesado con una balanza granataria, en bolsas de polipropileno/etilo de 48.5 x 22 cm, provista de un filtro de micro poro de 7 x 4.5 cm ubicado a 13 cm de la parte superior de la bolsa, en cada bolsa se pesó 1 kg de sustrato (peso húmedo).
e) Esterilización: Los sustratos se esterilizaron a 121°C durante 2 h.

Tratamientos evaluados: se realizaron tres tratamientos y un testigo para cada cepa, de cada tratamiento se hicieron 10 repeticiones con un 1 kg de sustrato húmedo cada uno.

Cada repetición de los tratamientos 2 y 3, de ambas cepas, contenían mezclas con suplementos en diferente proporción: salvado de trigo 5%=50g y 15%=150g, cal 2.5%=25g y yeso 2.5%=25g.

Tabla 1. Tratamientos evaluados para el cultivo de *L. edodes* usando aserrines y su adición de nutrientes

Cepa	Tratamiento	Sustrato	% de sustrato	% nutrientes		
				S	C	Y
HEMIM-122	1	jacaranda	100	–	–	–
	2	jacaranda	90	5	2.5	2.5
	3	jacaranda	80	15	2.5	2.5
	testigo	encino	100	–	–	–
HEMIM-188	1	jacaranda	100	–	–	–
	2	jacaranda	90	5	2.5	2.5
	3	jacaranda	80	15	2.5	2.5
	testigo	encino	100	–	–	–

S= salvado de trigo C= cal Y= yeso

Siembra de *Lentinula edodes*

Una vez preparados los sustratos, se realizó una mezcla homogénea inóculo-sustrato en las bolsas con filtro, utilizando 160 g de semilla para la siembra de cada repetición la cual se realizó en condiciones de esterilidad en campana de flujo laminar. Posteriormente se trasladaron a un área en oscuridad para la etapa de incubación, y durante este periodo se registró diariamente la temperatura ambiente (°C) con un termómetro de mercurio.

Producción de *Lentinula edodes*

Una vez que los bloques con el sustrato fueron colonizados por el micelio y aparecieron los primordios se llevaron al módulo de fructificación previamente acondicionado, en donde se les retiró la bolsa y se colocaron sobre charolas plásticas para iniciar la fructificación. Durante este periodo se registró diariamente la temperatura ambiente (ºC) con un termómetro, así como la humedad relativa (%) con un higrómetro. También se evaluó el patrón de producción que consiste en los siguientes parámetros:

1.- Número de cosechas.
2.- Periodo de cosechas en días.
3.- Duración del ciclo de cultivo, es el periodo de incubación + el periodo de fructificación.
4.- Características morfológicas de los cuerpos fructíferos cosechados.
5.- Se determinó la eficiencia biológica según Tschierpe y Hartmann (1977).
6.- Tasa de producción, se calculó con base a la fórmula propuesta por Royse (1989).

Para inducir la fructificación, después de cada cosecha, los bloques se sometieron a choque térmico por inmersión en agua fría durante 24 h.

Análisis estadísticos
Para los estudios de biomasa y velocidad de crecimiento micelial se consideraron las dos cepas ya mencionadas y dos medios de cultivo, cada medio con 4 repeticiones; para el análisis estadístico se realizó una prueba de *t-student* y una comparación múltiple con un ANOVA. Para la producción se evaluaron las mismas dos cepas, cada una con tres tratamientos diferentes y de cada tratamiento 10 repeticiones dando un total de 60 unidades experimentales. Para la evaluación de la producción de basidiomas se realizó una prueba de U (Mann-Whitney) y un ANOVA.

Para la descripción de los especímenes cultivados se utilizaron las guías especializadas de hongos de Laessoe (2000) y Delgado *et al.* (2005) y la coloración de los carpóforos se determinó siguiendo las cartas de Munsell (1992).

RESULTADOS

Evaluación de las cepas en el laboratorio

Características morfológicas del micelio
Los parámetros evaluados variaron según la cepa y los medios sintéticos en el que fueron reactivados. El micelio mostró una coloración de blanco a blanco translúcido, color café con partes blancas, y presentó dos tipos de textura: algodonosa aterciopelada (zonada) en la mayoría y solo una totalmente algodonosa. La densidad fue muy diversa, según la cepa y el medio de cultivo. Se presentó como abundante, regular, hasta escasa; se observó micelio aéreo y rastrero en igual proporción; ambas cepas presentaron aglomeraciones miceliales sobre el inóculo, en la parte media y en la periferia (Tabla 2).

Tabla 2. Características morfológicas del micelio de 2 cepas de *L. edodes* sobre PDA y EMA a 25ºC

Cepa HEMIM	Medio	Color	Textura	Densidad A/R/E	Tipo de micelo
122	PDA	Blanco	Algodonosa	A	Aéreo
	EMA	Blanco/ translúcido	Zonada	R	Aéreo
188	PDA	Blanco	Zonada	R	Rastrero
	EMA	Café / blanco	Zonada	E	Rastrero

Zonada= Aterciopelada/algodonosa A= abundante R= regular E= escaso

Curvas de crecimiento
En la Figura 1: A) y B), se muestran las curvas de crecimiento de las cepas HEMIM-122 y HEMIM-188 de *L. edodes* evaluadas sobre PDA y EMA en las cuales se muestran las diferentes fases de crecimiento del micelio (Sánchez y Royse 2001): fase de adaptación, fase exponencial, fase de declinación y la fase estacionaria. Las curvas obtenidas en EMA tanto de la cepa HEMIM-122 como HEMIM-188, presentaron crecimiento lineal al inocularlo sobre medio de cultivo sólido y concuerdan con lo descrito en Sánchez y Royse (2001); sin embargo

las curvas obtenidas en PDA difieren debido a que presentaron un crecimiento de tipo exponencial similar al cultivo en medio líquido.

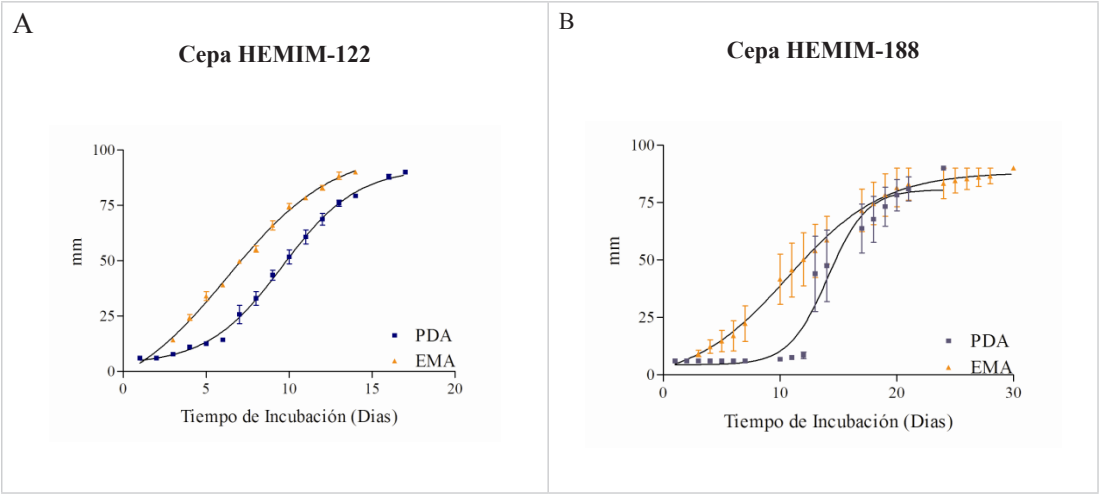


Figura 1. Crecimiento de *Lentinula edodes* en 2 medios de cultivo PDA y EMA a 25ºC. A) cepa HEMIM-122 y B) cepa HEMIM-188.

Velocidad de crecimiento micelial

La velocidad registrada varió en un intervalo de 4 mm/día (HEMIM-188 en EMA) a 6.7 mm/día (HEMIM-122 en EMA). La cepa HEMIM-122 tuvo una velocidad de crecimiento micelial media de 6.1 mm/día; mientras que la cepa HEMIM-188 tuvo una media de 4.0 mm/día (Tabla 3). Los días que tardó en crecer el micelio (llenar la caja de Petri) varió de 13 a 23 días, según la cepa y el medio de cultivo utilizado. La cepa HEMIM-122 tuvo una media de 15 días y la cepa HEMIM-188 de 23 días; en la Tabla 3 se muestra la velocidad de crecimiento de las cepas estudiadas. Se realizó una prueba de *t-student* para probar diferencias significativas en la velocidad de crecimiento de las cepas HEMIM-122 y HEMIM-188 en los medios de cultivo EMA y PDA, ambas no mostraron diferencias significativas (t=-0.729261, p= 0.4718, n=30), (t=- 2.01434, p= 0.0509, n=41) respectivamente. Una comparación múltiple con un ANOVA para comparar la velocidad de crecimiento entre las dos cepas y los dos medios de cultivo solo mostró diferencias significativas en la velocidad de crecimiento de la cepa HEMIM-122 en el medio EMA ($F_{2,71}$=139.3221, p=0.000000).

Cepa	Medio	V.C. * (mm/día)	V. C. mm/día $\overline{X}$	D.C.	D.C.
HEMIM-122	PDA	5.62	6.16	16	15
	EMA	6.70		13	
HEMIM-188	PDA	4.10	4.05	22	23
	EMA	4.00		23	

Tabla 3. Velocidad de crecimiento micelial (mm/día) de dos cepas de *Lentinula edodes* a 25ºC
V.C. = Velocidad de Crecimiento, D.C. = Días en crecer. *= Medias de 4 repeticiones.

Producción de biomasa micelial

La biomasa producida por las cepas en estudio varió en un intervalo de 0.0682 g/caja Petri a 0.1413 g/caja Petri (HEMIM-188 en EMA y HEMIM-122 en PDA respectivamente). Para la cepa HEMIM-122 la biomasa media fue de 0.1140 g/caja Petri y para la cepa HEMIM-188 fue de 0.093 g/caja Petri (Tabla 4). PDA fue el medio de cultivo que presentó mayor biomasa con una media de 0.1227 g/caja Petri, mientras que en el medio EMA se obtuvo menos biomasa micelial con una media de 0.0775 g/caja Petri, la cepa HEMIM-122 mostró mayor biomasa micelial en comparación con la cepa HEMIM-188.

Se realizó una comparación múltiple con un ANOVA para comparar la biomasa producida de las dos cepas en los dos medios de cultivo y solo mostró diferencias significativas en la biomasa producida en el medio PDA (F_2,14=92.55, p=0.000001).

Tabla 4. Biomasa obtenida de las cepas de *Lentinula edodes* en medio de cultivo sintético a 25 ºC durante 25 días de incubación

Cepa	Medio	Biomasa* (g/caja Petri)	Biomasa $\overline{X}$	Medio	Biomasa $\overline{X}$
HEMIM-122	PDA	0.1413	0.1140	PDA	0.1227
	EMA	0.0868			
HEMIM-188	PDA	0.1041	0.0930	EMA	0.0775
	EMA	0.0682			

* = Media de 4 repeticiones.

Periodo de incubación, fructificación y ciclo de cultivo de las cepas estudiadas

La incubación de los sustratos evaluados en las dos cepas se completó en un periodo de 76 días, tiempo relativamente corto en comparación con el periodo de incubación de los testigos utilizados (aserrín de encino) que fue de 102 y 131 días (cepa HEMIM-122 y HEMIM-188 respectivamente), más largo que el de los sustratos evaluados. La temperatura osciló entre los 18 y 20°C.

El periodo de fructificación registró un intervalo de 65 a 146 días (para el tratamiento 3 y el tratamiento 1 respectivamente de la cepa HEMIM-188). Para los tratamientos 1 y 3 de la cepa HEMIM-122 fue de 72 días, sin embargo no se cosecharon cuerpos fructíferos del tratamiento 2 (aserrín de jacaranda 90% y 10% nutrientes); y para el testigo fue de 90 días. Para la cepa HEMIM-188 fue de 146, 77 y 65 días en los tratamientos 1, 2 y 3, respectivamente; y del testigo fue de 66 días. El ciclo de cultivo tuvo un intervalo de 141 a 222 días correspondiente a los tratamientos 3 y 1 de la cepa HEMIM-188 (Tabla 5).

Tabla 5. Periodo de incubación, fructificación y ciclo de cultivo (en días) de los bloques de producción de *Lentinula edodes*

Cepa	Tratamiento	Incubación (I)	Fructificación (F)	Ciclo de cultivo
HEMIM-122	T1	76	72	148
	T2*	76	-	-
	T3	76	72	148
	Testigo	102	90	192
HEMIM-188	T1	76	146	222
	T2	76	77	153
	T3	76	65	141
	Testigo	131	66	197

* = No se obtuvieron cuerpos fructíferos.

Tasa de producción, y eficiencia biológica de las cepas HEMIM-122 y HEMIM-188.

Se obtuvieron 2 cosechas en promedio en cada tratamiento y solo el tratamiento 1 de la cepa HEMIM-188 tuvo 3 cosechas; El peso en gramos de la primer cosecha fue mayor en comparación con la siguiente. Los tratamientos de la cepa HEMIM-188 fueron los que presentaron valores más altos en el peso total. En cuanto a la EB

más alta de la cepa HEMIM-122, correspondió al tratamiento 1 con 32.6% y para la cepa HEMIM-188 fue de 70.4%. La Tasa de Producción mínima fue de 0.17 del tratamiento 3 de la cepa HEMIM-122 y la máxima fue de 0.49 del tratamiento 3 de la cepa HEMIM-188.
Los testigos tuvieron una EB de 23.8% y 31.1%; una T.P. de 0.12 y 0.15 en las cepas HEMIM-122 y HEMIM-188, respectivamente (Tabla 6).

Cabe destacar que la cepa HEMIM-122 de *L. edodes* presentó baja producción de carpóforos obteniendo solo dos cosechas, del tratamiento 2 no se cosecharon cuerpos fructíferos debido a que los bloques se contaminaron probablemente por la adición de nutrientes que pudieron haber hecho al sustrato más susceptible a contaminantes oportunistas. Villegas *et al*. (2007) reportaron la contaminación en bloques de cultivo de shiitake adicionados con salvado de trigo (20-25%).

La cepa HEMIM-188 presentó la producción de carpóforos más alta, lo cual se ve reflejada en la EB al adicionar nutrientes al sustrato: el tratamiento 1 (sin adicionar nutrientes) presentó la EB mas baja (50%), a medida que se aumentaron los nutrientes al sustrato (aserrín de jacaranda) aumentó la EB. El tratamiento 2 con 10% de nutrientes registró 54% de EB. La mejor formulación resultó ser el tratamiento 3 (correspondiente a la mezcla de aserrín de jacaranda 80% y 20% de nutrientes), dicha mezcla alcanzó una eficiencia biológica de 70%. Además la adición de nutrientes se reflejó en el incremento de la tasa de producción que pasó de 0.22 (sin nutrientes) a 0.35 (con 10% de nutrientes) y 0.49 con 20% de nutrientes (Tabla 6).

Tabla 6. Número de cosechas, Eficiencia Biológica y Tasa de Producción de dos cepas de *Lentinula edodes* cultivados en tres sustratos y aserrín de encino como testigo, a 14-19ºC.

CEPA	TRATAMIENTO	COSECHAS (g)			TOTAL (g)	DIÁMETROS		E.B.%	C.C. días	T.P.
		1	2	3		máx.	mín.			
HEMIM-122	1	33.3	78.0	-	111.3	10.5	7.5	32.6	148	0.22
	2	-	-	-	-	-	--	--	--	--
	3	29.6	59.4	--	89.0	7.8	6.3	25.3	148	0.17
	Testigo	61.4	57.6	--	119.0	6.5	4.0	23.8	192	0.12
HEMIM-188	1	96.5	34.2	30.0	160.7	10.5	5.8	50.2	222	0.31
	2	125.0	68.0	--	193.0	11.6	6.8	54.6	153	0.35
	3	194.2	53.2	-	247.4	11.7	5.1	70.4	141	0.49
	Testigo	59.2	59.6	32.7	151.1	11.1	7.2	31.5	197	0.16

E.B.= Eficiencia Biológica C.C.= Ciclo de Cultivo T.P.= Tasa de Producción.

Análisis estadísticos practicados a la producción de basidiomas
Para la cepa HEMIM-122 se realizó una prueba de U de Mann-Whitney que comparó la producción de los cuerpos fructíferos cosechados entre los tratamientos 1 (aserrín de jacaranda 100%) y 3 (aserrín de jacaranda 80% y nutrientes 20%) el cual no mostró diferencias significativas ($z= 0.288675$, $n=8$, $p< 0.05000$).

Para la cepa HEMIM-188 se realizó una ANOVA que comparó la producción de cuerpos fructíferos entre los tres distintos tratamientos la que mostró diferencias significativas al comparar el tratamiento 3 (aserrín de jacaranda 80% y nutrientes 20%) y el tratamiento 1 aserrín de jacaranda 100% (Tukey= 0.031163, n=17, $p< 0.05000$), pero no hubo diferencias significativas entre el tratamiento 1 (aserrín de jacaranda 100%) y el tratamiento 2 (aserrín de jacaranda 90% y nutrientes 10%). La mayor producción obtenida fue del tratamiento 3 (aserrín de jacaranda 80% y nutrientes 20%) de la cepa HEMIM-188 ($x=220.91$ g + 101.87 g).

Características morfológicas de los basidiomas cosechados

La cepa HEMIM-122 en general tiene un diámetro promedio del píleo que varió de 6.3 – 9.5 cm, una forma de convexo a plano color marrón rojizo claro, con láminas de color blanquecinas a color crema independientes del pie; concoloro al estípite central a excéntrico, contexto sólido, no presentó escamas en el sombrero, en general tuvo un color marrón con diferentes tonalidades y olor fúngico tenue, en el estípite y en la parte central del píleo presentaron manchas oscuras por el envejecimiento (Tabla 7, Figura 2).

La cepa HEMIM-188 en general tiene un diámetro promedio del píleo que varió de 5.8 a 11.7 cm, una forma de convexo a umbonado, parte central umbonada, presentan escamas fimbriadas planas que son restos del velo universal con coloración blanquecina (M), el himenio tiene láminas continuas de color blaquecinas a color rosado; el contexto esponjoso, flexuoso; el color de los carpóforos fue marrón con diferentes tonalidades predominando el amarillento; y un fuerte olor fúngico en comparación con la cepa HEMIM-122 (Tabla 7, Figura 3).

Tabla 7. Características morfológicas que presentan los basidiomas cosechados según el sustrato utilizado

Cepa	T	Píleo	Himenio	Estípite	Contexto	Diámetro (cm) máx. y min.
HEMIM-122	1	Forma de convexo a plano, margen enrollado,color marrón rojizo claro (M) 5YR 6/4	Láminas blanquecinas a color crema independientes del pie	Central, concoloro al píleo	Sólido	9.5 -7.5
	2	*				
	3	Forma de convexo a plano, color pardo amarillo (M) 10YR6/8	Láminas blanquecinas a color crema independientes del pie	Central concoloro al píleo	Sólido	7.8-6.3
HEMIM-188	1	Forma de convexo a umbonado, pocas escamas en la parte central, color marrón pálido (M) 10YR 7/4	Láminas continuas blanquecinas a color rosado	Concoloro al píleo	Esponjoso, flexuoso	10.5-5.8
	2	Forma de convexo a umbonado, borde apendiculado, parte central umbonada. Periferia con escamas, color marrón amarillo pálido (M) 10YR 6/4	Láminas continuas blanquecinas a color rosado	Central, concoloro al píleo	Esponjoso, flexuoso.	11.6-6.8
	3	Forma de convexo a umbonado, parte central umbonada, con escamas píleo color marrón	Láminas continuas blanquecinas a color rosado	Concoloro al píleo, consisten-cia correosa y contexto sólido	Esponjoso, flexuoso.	11.7-5.1

T = tratamiento M = cartas de Munsell (1992). * = En el tratamiento 2 no se obtuvieron cuerpos fructíferos.



Figura 2. Cuerpos fructíferos de la cepa HEMIM-122 (Tratamiento 1)

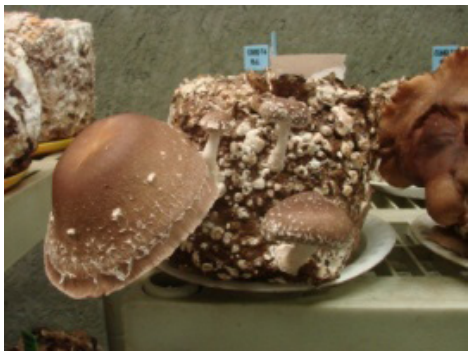


Figura 3. Cuerpos fructíferos de la cepa HEMIM-188 (Tratamiento 3)

El sustrato utilizado para el cultivo de *L. edodes* es un factor determinante en cuanto a las características morfológicas del basidioma cosechado, dichos cambios se observan por ejemplo en la descripción de las características morfológicas reportadas por Laessoe (2000) cuando los hongos crecen en su hábitat natural.

Condiciones ambientales durante el periodo de incubación y fructificación

Durante el periodo de incubación se registraron temperaturas de 18.7 - 20.9°C y la temperatura ambiente media mensual registrada en el módulo de fructificación fue de 14 - 19.1°C. La humedad relativa media mensual durante el periodo de fructificación tuvo un intervalo de 72.5 - 89.4% (Figura 4) con una media de 81%, la cual coincide con lo recomendado por Stamets (2000) para el cultivo de *L. edodes* (60-80%).

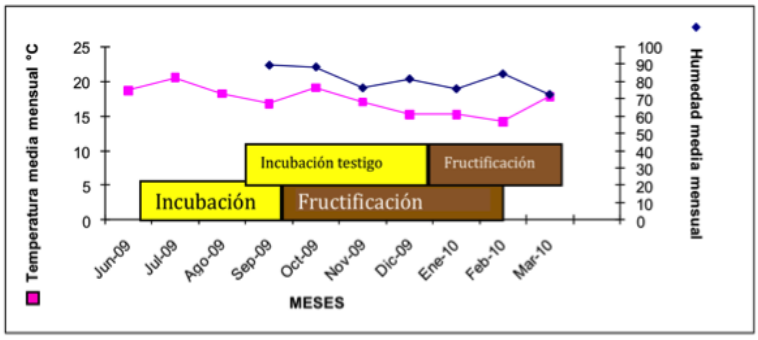


Figura 4. Variación de la media mensual de temperatura (ºC, cuadro) y humedad relativa (%, rombo) durante la incubación y la fructificación de las cepas de *Lentinula edodes* estudiadas.

Todos los análisis muestran que las dos cepas se desarrollan bien en los medios seleccionados, pero, la cepa HEMIM-122 se desarrolla mejor en EMA. Sin embargo, el medio más adecuado para producir biomasa es PDA.

Las cepas evaluadas de *L. edodes* tuvieron periodos de incubación de 76 días, ciclo de cultivo de 141 días y tasa de producción de 0.49. El tratamiento 3 de la cepa HEMIM-188 (80% aserrín de jacaranda y 20% nutrientes, de los cuales 15 % salvado de trigo y 5% cal/yeso) resultó idónea para el cultivo comercial de shiitake utilizando técnicas de cultivo en bloques de aserrín. Esta alternativa contribuye a reducir el daño ecológico al reducir el uso de troncos de encino para cultivar shiitake. Por el contrario, los subproductos forestales que se proponen

resultan de las podas fitosanitarias realizadas a los árboles de jacaranda, que son común en la región. Se obtuvo una EB de 70%, comparable a lo reportado por Royse y Shen (2005), quienes utilizaron nutrientes similares a los utilizados en este trabajo, con lo cual dichos autores alcanzaron una EB de 75% a 125%.

Este trabajo constituye el primer reporte del cultivo de *L. edodes* utilizando como sustrato alternativo el aserrín de jacaranda adicionado con nutrientes. Si un productor tiene acceso a plantaciones importantes de jacaranda, puede destinarlas al cultivo de la cepa de shiitake que haya adquirido siempre y cuando haya evaluado las condiciones de la localidad dónde se vaya a realizar el cultivo y las condiciones del sustrato. El procedimiento deberá ser seguramente similar a lo aquí propuesto, así como, el módulo piloto que generará el patrón de producción de los basidiocarpos cosechados.

AGRADECIMIENTOS

A las autoridades de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, por las facilidades otorgadas para realizar la presente investigación y a los integrantes del Laboratorio de Micología del Centro de Investigaciones Biológicas UAEM.

REFERENCIAS

Acosta-Urdapilleta L, Alonso GA, Rodríguez A, Adame M, Salgado D, Salgado J, Montiel-Peña M, Medrano-Vega F, Villegas EC (2010) *Pycnoporus sanguineus*, un hongo con potencial biotecnológico En: Martínez-Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Mora VM (eds) *Hacia un Desarrollo Sostenible de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el siglo XXI*. Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales: Producción, Desarrollo y Consumo. 14:184-220.

Chang ST (1999) Global impact of edible mushroom on human welfare in the 21st century: non-green revolution. *Int. J. Med. Mush.*1:1-7.

Delgado A, Villegas M, Cifuentes J (2005) *Glosario ilustrado de los caracteres macroscópicos en Basidiomycetes con himenio laminar* 1ª ed. Universidad Nacional Autónoma de México. 84.

Gaitán-Hernández R, Esqueda M, Gutiérrez A, Sánchez A, Beltrán M, Mata G (2006) Bioconversion of agrowastes by *Lentinula edodes*: the high potential of viticulture residues. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 71:432-439.

Guzmán G, Mata G, Salmones D, Soto-Velazco C, Guzmán-Dávalos L (1993) *El cultivo de los hongos comestibles, con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos agrícolas y residuos agroindustriales*. IPN/ CECODES. México 63-74.

Laessoe T (2000) *Mushrooms*. 2a ed. Darling Kindersley Handbooks. London. 304.

Martínez-Carrera D, Sobal M, Morales P, Martínez W, Martínez M, Mayett Y (2004) Los hongos comestibles: propiedades nutricionales, medicinales, y su contribución a la alimentación Mexicana. COLPOS-BUAP-UPAEP-IMINAP, Puebla. 3-44.

Mata G (1991) The optimum percentage of water content in the micelial growth of *Lentinus boryanus* in five different woods. *Crypt. Bot*. 2:387-390.

Mata G, Salmones D, Guzmán G (1990) Cultivo del Shiitake japonés *Lentinula edodes*, en bolsas con viruta de madera. *Rev. Mex. Mic*. 6:245-251.

Munsell (1992) *Soil color charts.* Macbeth Division of Kallmorgen Instruments Corp. Newburgh, Nueva York.

Royse D (1989) Factors influencing the production rate of Shiitake. *Mush. J. Tropics* 9:27-138.

Royse D (1997) Specialty mushrooms and their cultivation. *Hort. Review* 19:59-97.

Royse DJ, Shen Q (2005) Shiitake Bag Cultivation in the U.S. En: *Shiitake Cultivation Mushroom Growers'* Handbook 2. 4:88-90.

San Antonio JP (1981) Cultivation of the shiitake mushroom. *Hort. Science* 16:151-156.

Sánchez JE, Royse D (2001). *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* Editorial LIMUSA, México D.F.

Stamets P (2000) *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms*. 3a ed. Ten Speed Press, Berkeley, California. 259-275.

Sobal M, Martínez-Carrera D, Morales P, Roussos S (2007) Classical characterization of mushroom genetic resources from temperate and tropical regions of México. *Mic. Apl. Int.* 19 (1):15-23.

Tschierpe HJ y Hartmann K (1977) A comparison of different growing methods *Mush. J.* 60: 404-416.

Villegas EV, Pérez AM, Arredondo C (2007) Evaluación de la producción del hongo *Lentinula edodes* Pegler en bloques sintéticos a base de residuos agroindustriales. *Ingeniería y Ciencia* 6:23-30.

5.5 REQUERIMIENTOS FISIOLOGICOS QUE INCIDEN EN EL CRECIMIENTO MICELIAL Y LA DEGRADACIÓN DEL SUSTRATO POR *AGROCYBE AEGERITA*

Ruth De León, Dalia Lau, Reginaldo Vallejo y Carlos Klee

Planta Productora de Hongos Comestibles "Ocox"
7 calle 33-26 zona 7 Jardines de Tikal II. C.P. 01007 Guatemala, Guatemala
rdeleon@itelgua.com

RESUMEN

La presente investigación se realizó utilizando tres cepas de *Agrocybe aegerita*; dos guatemaltecas y una cepa comercial europea. El experimento se dividió en dos fases: la fase I proporcionó datos para determinar el medio de cultivo y la temperatura más adecuada para la producción del micelio, la humedad de la paja de cebada sobre la que el micelio degrada mayor porcentaje de sustrato, y la fuente y la concentración de nitrógeno en donde se presenta el mayor porcentaje de degradación del sustrato. En la fase II se analizó el contenido de carbono, nitrógeno y fósforo, las relaciones C:N y N:P y el pH de la paja de cebada no suplementada y suplementada (testigos no degradados por el micelio). En base a los resultados obtenidos se calculó estequiométricamente el contenido de estos elementos en la paja de cebada suplementada con $NaNO_3$ y $(NH_4)_2HPO_4$ a concentraciones variables de nitrógeno entre 0.16 y 0.80 g N/100 g de paja de cebada, para conocer los requerimientos fisiológicos donde el micelio de *A. aegerita* degradó en mayor porcentaje la paja de cebada. La temperatura donde se produjo la mayor cantidad de biomasa fue 26ºC (cepas guatemaltecas) y 22ºC (cepa europea). El medio de cultivo donde se obtuvo mayor cantidad de micelio fue AEM. La mayor degradación del sustrato para las tres cepas ocurrió cuando la paja de cebada tenía una humedad entre 82 y 85.5%. La fuente de nitrógeno donde el micelio produjo una mayor degradación de la paja de cebada fue $(NH_4)_2HPO_4$ a concentraciones de nitrógeno entre 0.48 y 0.64%. Esto equivale a un porcentaje entre 1.21 y 1.57% de nitrógeno y una relación C:N de 41.57 y 36.65 respectivamente.

Palabras clave: medios de cultivo, producción de biomasa o micelio, degradación del sustrato, fuentes de nitrógeno, contenido de nitrógeno, fósforo, relación C:N, relación N:P y pH.

INTRODUCCIÓN

Agrocybe aegerita (V. Brig.)Singer crece en Guatemala en forma silvestre sobre árboles de *Sambucus mexicana* encontrados en jardines de granjas y en áreas perturbadas sobre los 2000 msnm. En el área occidental del altiplano de Guatemala, la población los consume en la época de lluvia (Morales 2001). En Europa, este hongo es apreciado por su suave sabor a queso. Ha sido utilizado en estudios de genética, por su capacidad para desarrollar cuerpos fructíferos en agar (Stamets 2000). El cultivo experimental inició en Guatemala en el año 2000, solo para conocer la viabilidad técnica de cultivarlo en sustratos como paja de trigo y desecho de algodón (De León 2003). Sin embargo para optimizar el cultivo de este hongo es necesario conocer los requerimientos nutricionales y ambientales ya que sin estos datos es difícil cultivarlo adecuadamente (Landecker 1990).

MATERIALES Y MÉTODOS

En mayo del 1997 se colectaron esporocárpos de *A. aegerita* que crecían de manera silvestre en árboles de *Sambucus mexicana* K. Presl ex DC. en el municipio de Tecpán Chimaltenango, a 84 km de la ciudad de Guatemala; a partir de ellos, se aislaron dos cepas registradas en la Planta Productora de Hongos Comestibles Ocox como AA G1 y AA G2 que fueron mantenidas en agar extracto de malta y ambas fueron utilizadas en este estudio. Se

utilizó también una cepa procedente de Alemania de la cual se desconoce su origen y está registrada como AA O, que es utilizada en Alemania para cultivo comercial y en el presente estudio se utilizó como testigo.

Primera fase

1) Efecto de la temperatura y los medios de cultivo sobre la producción de micelio (biomasa) *A. aegerita*
Se utilizaron cajas de Petri con 25 ml de agar Sabouraud dextrosa –ASD-, agar papa dextrosa –APD- y agar extracto de malta –AEM-. Las cajas fueron incubadas a las temperaturas de 18, 22 y 26ºC durante 14 días. Para determinar la producción de micelio, se utilizaron discos de papel filtro de 6 cm de diámetro los que fueron llevados a peso constante (24 horas en horno a 105ºC). Después de transcurrido el tiempo de incubación, se licuó el medio de cultivo de cada una de las cajas de Petri en un horno a 95ºC durante dos horas; el medio ya licuado se filtró en los discos de papel filtro previamente tarados, luego se secaron los discos de papel filtro en un horno a 105ºC durante 40 horas; posteriormente se pesó cada disco de papel con el micelio sobre ellos. Posteriormente se calculó el peso del micelio por diferencia de peso con la tara del papel.

2) Efecto del contenido de humedad de la paja de cebada sobre la degradación del sustrato por *A. aegerita*
Se utilizaron frascos de vidrio, que se llevaron a peso constante en un horno a 105ºC/20 horas, luego fueron pesados para conocer la tara de cada uno. Se agregó posteriormente 25 g de paja de cebada, previamente molida (partícula entre 1 a 10 mm) a cada uno de los frascos. Se adicionó agua en los volúmenes de 50, 75, 100 y 125 ml/25 g paja de cebada; luego se esterilizaron a 122ºC durante cuatro horas y se dejaron enfriar. Una vez frío el sustrato, éstos fueron inoculados (excepto los testigos de cada volumen) con dos fragmentos (7 mm de diámetro/fragmento) de agar extracto de malta con el micelio de las cepas guatemaltecas a evaluar y el testigo. Se incubaron durante 40 días a la temperatura de 26ºC la que fue establecida en la fase anterior. Terminado el período de incubación, se procedió a secar los frascos con el sustrato y el micelio a 105ºC por 40 horas, luego se enfriaron para ser pesados. El porcentaje de degradación del sustrato se calculó por diferencia de peso inicial - final.

3) Efecto de la suplementación de la paja de cebada con cuatro fuentes de nitrógeno a diferentes concentraciones sobre la degradación del sustrato de *A. aegerita*
Se utilizó la misma metodología de la fase anterior, pero con la variante de que se agregaron separadamente al sustrato cuatro fuentes de nitrógeno inorgánico y orgánico en solución: nitrato de sodio ($NaNO_3$), fosfato ácido de amonio [$(NH_4)_2HPO_4$], urea [CH_4N_2O] y ácido aspártico [$C_4H_7NO_4$], a las concentraciones de 0.16, 0.32, 0.48, 0.64 y 0.80 g N/100 g de paja de cebada previo a la esterilización del sustrato contenido en los frascos.

Segunda fase

1) Análisis químico de la paja de cebada sin y con suplementos utilizada para el cultivo de *A. aegerita*
Por los resultados obtenidos sobre la degradación del sustrato suplementado con cuatro fuentes de nitrógeno, se escogió realizar análisis químicos a la paja de cebada testigo (no suplementada con fuentes de nitrógeno) y paja de cebada suplementada con nitrato de sodio ($NaNO_3$) y fosfato ácido de amonio [$(NH_4)_2HPO_4$] y degradada por el micelio de *A. aegerita* cepa AA O, los análisis realizados fueron: a) contenido de cenizas b) análisis de nitrógeno (método de Kjeldahl), c) análisis de fosforo usando el método espectrofotométrico con fosfovanadato molibdato y d) determinación del pH.

RESULTADOS

Primera fase

1) Efecto de la temperatura sobre la producción de micelio (biomasa) de *A. aegerita*
Los resultados en la Tabla 1, indican que la cepa AA G1 produjo la mayor cantidad de micelio 0.2260 y 0.2174 g /25 ml en AEM y APD a 26ºC no habiendo diferencia significativa entre estos dos medios de cultivo a la temperatura indicada con anterioridad y la cepa AA G2 produjo la mayor cantidad de micelio 0.1003 g /25 ml en AEM a 26ºC. La cepa AA O produjo la mayor cantidad de micelio 0.4357 g/25 ml en AEM a 22ºC.

2) Efecto de los medios de cultivo sobre la producción de micelio (biomasa) de *A. aegerita*
Sobre el ASD la cepa AA G1 a 18°C es donde se observó menor producción de micelio. A 22 y 26°C es donde se alcanza mayor producción (0.0940 y 0.1170 g/25 ml agar) y no hay diferencia significativa de biomasa a estas dos temperaturas. La producción de micelio de la cepa AA G1 sobre APD incubada a 18, 22 y 26°C fue de 0.0447, 0.0887 y 0.2174 g/25 ml de agar respectivamente; no hubo diferencia significativa entre la producción de micelio a 18 y 22°C, pero si entre estas dos temperaturas con respecto a 26°C donde se alcanzó la mayor producción de biomasa en APD. Al utilizar AEM, la cepa AA G1 produjo 0.0594, 0.1194 y 0.2260 g micelio/25 ml agar a las temperaturas respectivas de 18, 22 y 26°C; hubo diferencia significativa en la producción de micelio sobre AEM al incubar a 26°C con respecto a la producción obtenida a 18 y 22°C (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto de la temperatura sobre la producción de micelio (biomasa) de *A. aegerita*

		Producción de micelio (g/25 ml de agar)		
Temperatura °C	Medio de Cultivo*	Cepa AA G1	Cepa AA G2	Cepa AA O
	ASD	0.0267 ± 0.004 a	0.0284 ± 0.008 b	0.1704 ± 0.012 ab
18	APD	0.0447 ± 0.006 a	0.0304 ± 0.004 b	0.1674 ± 0.015 b
	AEM	0.0594 ± 0.011 a	0.0797 ± 0.006 a	0.2180 ± 0.006 a
	ASD	0.0940 ± 0.004 a	0.0450 ± 0.003 a	0.2684 ± 0.015 b
22	APD	0.0887 ± 0.015 a	0.0567 ± 0.011 a	0.2734 ± 0.024 b
	AEM	0.1194 ± 0.046 a	0.0927 ± 0.009 a	0.4357 ± 0.015 a
	ASD	0.1170 ± 0.014 b	0.0343 ± 0.013 b	0.1796 ± 0.008 c
26	APD	0.2174 ± 0.010 a	0.0647 ± 0.022 b	0.2607 ± 0.004 b
	AEM	0.2260 ± 0.018 a	0.1003 ± 0.012 a	0.2663 ± 0,014 ab

* Medio de cultivo: ASD = Agar Sabouraud Dextrosa; APD = Agar Papa Dextrosa; AEM = Agar Extracto de Malta. Letras minúsculas iguales en cada temperatura, indica que no hay diferencia significativa ($p < 0.005$, $\alpha = 0.05$) entre los tres medios de cultivo.

Al utilizar ASD como medio de cultivo para la cepa AA G2 se observó que no hubo diferencia significativa al ser incubada a 18, 22 y 26°C. La misma cepa cultivada sobre APD e incubada a 18°C fue donde se obtuvo la menor producción de micelio 0.0304 g/25 ml de agar y hubo diferencia significativa entre ésta temperatura

con respecto a 22 y 26°C; sin embargo la producción de micelio en APD a 22 y 26°C no presentó diferencia significativa entre ambas (0.0567 y 0.0647 g/25 ml agar) respectivamente. Al utilizar AEM como medio de cultivo e incubando a 22 y 26°C fue donde se presentó la mayor producción de micelio 0.0927 y 0.1003 g/25 ml agar respectivamente y no hubo diferencia significativa a estas dos temperaturas (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto del medio de cultivo sobre la producción de micelio (biomasa) de *A. aegerita*

		Producción de micelio (g/25 ml de agar)		
Medio de Cultivo*	Temperatura °C	Cepa AA G1	Cepa AA G2	Cepa AA O
	18	0.0267 ± 0.004 c	0.0284 ± 0.008 a	0.1704 ± 0.012 b
ASD	22	0.0940 ± 0.004 b	0.0450 ± 0.003 a	0.2684 ± 0.015 a
	26	0.1170 ± 0,014 ab	0.0343 ± 0.013 a	0.1796 ± 0.008 b
	18	0.0447 ± 0.006 b	0.0304 ± 0.004 b	0.1674 ± 0.015 c
APD	22	0.0887 ± 0.015 b	0.0567 ± 0.011 a	0.2734 ± 0.024 a
	26	0.2174 ± 0.010 a	0.0647 ± 0.022 a	0.2663 ± 0.014 ab
	18	0.0594 ± 0.011 c	0.0797 ± 0.006 b	0.2180 ± 0.006 c
AEM	22	0.1194 ± 0.046 b	0.0927 ± 0.009 a	0.4357 ± 0.015 a
	26	0.2260 ± 0.018 a	0.1003 ± 0.012 a	0.2607 ± 0.004 b

* Medio de cultivo: ASD = Agar Sabouraud Dextrosa; APD = Agar Papa Dextrosa; AEM = Agar Extracto de Malta. Letras minúsculas iguales en cada medio de cultivo, indican que no hay diferencia significativa ($p < 0.005$, $\alpha = 0.05$) entre las tres temperaturas.

Con la cepa AA O al utilizar ASD como medio de cultivo la máxima producción de micelio 0.2684 g/25 ml agar ocurrió al incubar a 22°C y sí se determinó una diferencia significativa al incubar esta cepa en ASD a 22°C con respecto a 18 y 26°C. Al utilizar APD se produjo más micelio al incubar a 22°C pero no hay diferencia significativa de este medio incubando a 26°C. Al cultivar AA O sobre AEM, la máxima producción de micelio 0.4357 g/25 ml agar ocurrió al incubar a 22°C y también se encontró una diferencia significativa al incubar a 18 y 26°C (Tabla 2).

Las tres cepas evaluadas presentaron micelio algodonoso, blanco al inicio y luego con una coloración café en algunas áreas conforme transcurrió el tiempo de incubación. La velocidad de crecimiento sobre la superficie de los tres medios de cultivo evaluados fue mayor para la cepa AA O, ya que para cubrir la superficie del agar requirió aproximadamente 8 días y las cepas AA G1 y AA G2 escasamente alcanzaron los bordes de la caja de Petri hasta el día 14 de incubación.

Efecto del contenido de humedad de la paja de cebada sobre la degradación del sustrato por *A. aegerita*

Para evaluar el efecto de la humedad sobre la degradación de la paja de cebada por *A. aegerita*, a 25 g de paja de cebada partícula de 1 a 10 mm se le adicionó 50, 75, 100 y 125 ml de agua, lo que originó cuatro diferentes porcentajes de humedad: 70.74, 78.13, 82.54 y 85.47% respectivamente. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 3.

La cepa AA G1 presentó el mayor porcentaje de degradación del sustrato 10.64% a un contenido de humedad

de 82.54%; pero no se observo diferencia significativa a porcentajes de humedad de 78.13 y 85.47%. Para la cepa AA G2 la mayor degradación de la paja de cebada fue de 19.18% a un contenido de humedad del sustrato de 85.47%; habiendo diferencia significativa a 85.47% de humedad con respecto a los otros porcentajes de humedad del sustrato de 70.74, 78.13 y 82.54%. Con la cepa AA O la mayor degradación de la paja de cebada fue de 25.82% a una humedad del sustrato de 85.47% (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto del contenido de humedad de la paja de cebada sobre la degradación del sustrato por *A. aegerita*

Humedad	Degradación del sustrato (%)*		
(%)	Cepa AA G1	Cepa AA G2	Cepa AA O
70.74	2.12 ± 0.43 a	3.79 ± 0.30 a	5.09 ± 0.21 a
78.13	9.57 ± 0.67 bcd	8.14 ± 4.33 b	17.58 ± 4.10 b
82.54	10.64 ± 1.02 c	9.46 ± 0.21 c	15.35 ± 1.49 bc
85.47	8.02 ± 0.58 d	19.18 ± 0.54 d	25.82 ± 1.56 d

*Letras minúsculas iguales significa que no hay diferencia significativa ($p < 0.005$, $\alpha = 0.05$) entre los diferentes contenidos de humedad.

Efecto de la suplementación de la paja de cebada con cuatro fuentes de nitrógeno a diferentes concentraciones sobre la degradación del sustrato de *A. aegerita*

En esta fase fue necesario retirar del análisis estadístico los resultados obtenidos en la degradación del sustrato por las cepas AA G1 y AA G2, debido principalmente a problemas de contaminación.
La cepa AA O en la paja suplementada con $NaNO_3$ presentó la mayor degradación del sustrato 20.26, 21.74 y 22.56 % a las concentraciones de 0.16, 0.32 y 0.48 g N/100 g sustrato y no se encontró diferencia significativa entre estos tres resultados. Cuando la paja de cebada fue suplementada con $(NH_4)_2HPO_4$, la mayor degradación del sustrato 25.64 y 25.06% ocurrieron a concentraciones de 0.48 y 0.64 g N/100 g de paja de cebada y no hay diferencia significativa entre ambos resultados. Al suplementar el sustrato con urea, el mayor porcentaje degradación se obtuvo entre 0.16, 0.32 y 0.48 g N/100 gramos de paja de cebada y fue de 21.66, 21.66 y 21.57% respectivamente, no habiendo diferencia significativa entre estos datos. Al suplementar la paja con ácido aspártico el micelio de la cepa AA O degradó en mayor porcentaje el sustrato 23.26%, cuando éste tenía 0.64 g N/100 gramos de paja, existiendo diferencia significativa entre este resultado y los obtenidos en las otras cuatro concentraciones de nitrógeno (Tabla 4).

Al comparar la degradación de la paja de cebada por el micelio de AA O en cada una de las concentraciones de las diferentes fuentes de nitrógeno se observó que a la concentración de 0.16 g N/100 g de sustrato, el micelio de AA O degrado en mayor porcentaje cuando este fue suplementado con $(NH_4)_2$ HPO_4, sin embargo a esta concentración no existe diferencia significativa con las otras fuentes de nitrógeno. Al utilizar el nitrógeno a una concentración de 0.32 g/100 g de paja de cebada, la mayor degradación ocurrió con $(NH_4)_2HPO_4$ y fue de 23.48%, habiendo diferencia significativa al suplementar la paja con las otras cuatro fuentes de nitrógeno. Al suplementar la paja con las cuatro fuentes de nitrógeno a las concentraciones de 0.48, 0.64 y 0.80 g N/100 g de sustrato, se observa la misma tendencia, que el micelio de AA O degrada en porcentaje mayor el sustrato en presencia de $(NH_4)_2HPO_4$ (Tabla 5).

Segunda fase

1) Análisis químico de la paja de cebada sin y con suplementos utilizada para el cultivo de *A. aegerita*
Por los resultados obtenidos en la primera fase del experimento, se decidió realizar los análisis químicos de la paja de cebada: a) no suplementada, b) suplementada con $NaNO_3$ y $(NH_4)_2HPO_4$ a las cinco con-

centraciones citadas en la fase uno; se escogieron esas fuentes de nitrógeno porque la primera carece de fósforo y en la segunda fue donde mejor degradó el sustrato el micelio de la cepa AA O.

Tabla 4. Efecto de la suplementación de la paja de cebada con diversas fuentes de nitrógeno a diferentes concentraciones sobre la degradación del sustrato por *A. aegerita*

		Degradación del sustrato (%)		
Fuentes de nitrógeno	Concentración	Cepa AA G1	Cepa AA G2	Cepa AA O
NS		17.79 ± 0.00*	17.79 ± 0.00*	19.74 ± 0.92
$NaNO_3$ Nitrato de sodio	0.16	16.34 ± 0.31	27.72 ± 0.00*	20.26 ± 0.91 a
	0.32	16.70 ± 0.92	31.74 ± 1.23	21.74 ± 0.62 a
	0.48	16.56 ± 0.62	19.09 ± 0.00*	22.56 ± 0.61 a
	0.64	28.94 ± 0.00*	26.41 ± 4.33	17.53 ± 0.92 b
	0.80	14.34 ± 0.62	21.70 ± 0.00*	17.02 ± 0.00 b
$(NH_4)_2HPO_4$ Fosfato ácido de amonio	0.16	19.58 ± 0.00*	19.26 ± 0.30	22.51 ± 0.00 d
	0.32	22.66 ± 0.62	20.00 ± 0.61	23.48 ± 0.00 c
	0.48	21.60 ± 0.00*	18.14 ± 0.30	25.64 ± 0.30 a
	0.64	41.18 ± 0.00*	24.40 ± 3.36	25.06 ± 0.62 a
	0.80	27.71 ± 0.00*	16.02 ± 0.30	24.14 ± 0.30 b
CH_4N_2O Urea	0.16	20.65 ± 0.31	19.26 ± 0.00*	21.66 ± 0.31 a
	0.32	18.38 ± 0.30	22.68 ± 4.00	21.66 ± 0.00 a
	0.48	17.32 ± 0.62	13.51 ± 0.00*	21.57 ± 0.31 a
	0.64	13.80 ± 2.17	14.26 ± 0.30	18.64 ± 0.31 b
	0.80	19.54 ± 0.00*	19.39 ± 8.32	18.08 ± 0.31 b
$C_4H_7NO_4$ Ácido aspártico	0.16	20.74 ± 0.93	20.87 ± 0.00*	20.62 ± 0.28 b
	0.32	38.41 ±0.00*	31.69 ± 0.00*	20.99 ± 0.00 b
	0.48	09.83 ± 0.30	27.15 ± 0.00*	21.55 ± 0.00 b
	0.64	12.34 ± 0.30	08.48 ± 0.92	23.26 ± 0.92 a
	0.80	07.40 ± 0.62	07.35 ± 0.00*	20.75 ± 0.61 b

NS = paja de cebada no suplementada. Concentración = g N/100 g sustrato.

* El dato escrito es único, sin repeticiones, por lo que no presenta desviación estándar. Letras minúsculas iguales en cada fuente de nitrógeno indican que no hay diferencia significativa ($p = 0.005$, $\alpha = 0.05$) entre las cinco diferentes concentraciones de nitrógeno.

2) Efecto del contenido de carbono en el sustrato, sobre la degradación de la paja de cebada
El contenido de carbono en la paja de cebada no suplementada y suplementada con $NaNO_3$ y $(NH_4)_2HPO_4$ respectivamente y a las concentraciones de 0.16, 0.32, 0.48, 0.64 y 0.80 g N/100 g sustrato no varían, están en el rango de 51.28 y 50.49% cuando este fue calculado en base al análisis de cenizas [%C = 100-% cenizas/1.8]. Los datos evidencian que el sustrato no fue suplementado con fuentes de carbono y por eso no existe diferencia entre los resultados obtenidos (Tabla 6 y Figura 1).

3) Efecto del contenido de nitrógeno en el sustrato, sobre la degradación de la paja de cebada
La muestra de paja de cebada no suplementada fue analizada por medio del método de Kjeldahl, el resultado fue que contiene 0.73% de nitrógeno. A partir de este dato se calculó por medio de un análisis estequiométrico, el porcentaje de nitrógeno de la paja de cebada suplementada con 0.16, 0.32, 0.48, 0.64 y 0.80 g N/100 g de $(NH_4)_2HPO_4$; obteniéndose para cada uno de ellos un porcentaje de nitrógeno de 0.89, 1.05,

1.21, 1.37 y 1.53 respectivamente. Al comparar el porcentaje de degradación del sustrato con el contenido de nitrógeno de la paja, se observa que a las concentraciones entre 0.48 y 0.64 g N/100 g sustrato es donde se obtuvo mayor degradación (Tabla 4) esto equivale a que el porcentaje de nitrógeno en la paja de cebada está entre 1.17 y 1.37% (Tabla 6 y Figura 2).

Tabla 5. Efecto de la degradación de la paja de cebada por *A. aegerita* cepa AA O a una misma concentración pero frente a diversas fuentes de nitrógeno

	Degradación del sustrato (%)				
Concentración		$NaNO_3$	$(NH_4)_2HPO_4$	Urea	Ácido aspártico
NS	19.74 ± 0.92				
0.16		20.26 ± 0.91 a	22.51 ± 0.00 a	21.66 ± 0.31 a	20.62 ± 0.28 a
0.32		21.74 ± 0.62 b	23.48 ± 0.00 a	21.66 ± 0.00 b	20.99 ± 0.00 b
0.48		22.56 ± 0.61 b	25.64 ± 0.30 a	21.57 ± 0.31 b	21.55 ± 0.00 b
0.64		17.53 ± 0.92 c	25.06 ± 0.62 a	18.64 ± 0.31 c	23.26 ± 0.92 bc
0.80		17.02 ± 0.00 c	24.14 ± 0.30 a	18.08 ± 0.31 c	20.75 ± 0.61 b

Concentración = g N/100 g de paja de cebada. NS= Sustrato no suplementado.
Letras minúsculas iguales en cada concentración, indica que no hay diferencia significativa ($p < 0.005$, $\alpha = 0.05$) entre las fuentes de nitrógeno.

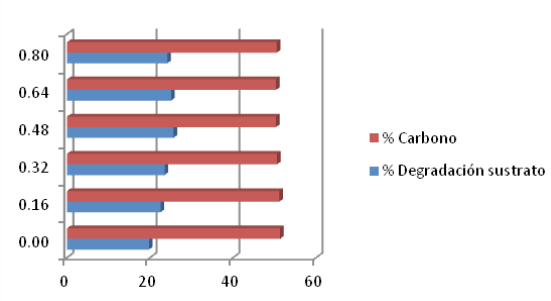


Figura 1. Contenido de carbono y degradación del sustrato.

Tabla 6. Efecto del contenido de carbono, nitrógeno, relación C:N, fósforo y relación N:P en el sustrato suplementado con $(NH_4)_2HPO_4$, sobre la degradación de la paja de cebada por *A. aegerita* cepa AA O

Paja de cebada con $(NH_4)_2HPO_4$ (g N/100 g sustrato)	Degradación del sustrato (%)	Carbono (%)	Nitrógeno (%)	Relación C:N	Fósforo (%)	Relación N:P
NS (testigo)	19.74 ± 0.92 a	51.28	0.73	69.9	0.13	5.62
0.16	22.51 ± 0.00 b	51.11	0.89	57.2	0.31	2.87
0.32	23.48 ± 0.00 c	50.55	1.05	47.98	0.48	2.19
0.48	25.64 ± 0.30 e	50.31	1.21	41.57	0.66	1.83
0.64	25.06 ± 0.62 de	50.31	1.37	36.63	0.84	1.63
0.80	24.14 ± 0.30 cd	50.49	1.53	32.78	1.01	1.51

NS = sustrato no suplementado (testigo).
Letras minúsculas iguales indica que no hay diferencia significativa ($p < 0.005$, $\alpha = 0.05$) entre las concentraciones de nitrógeno y el % de degradación del sustrato.

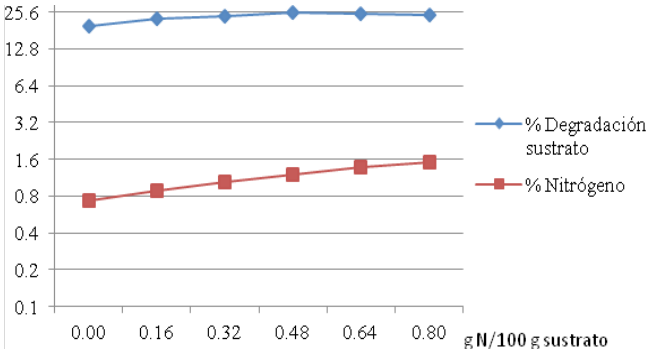


Figura 2. Efecto del contenido de nitrógeno sobre la degradación del sustrato.

4) Efecto de la relación C:N sobre la degradación de la paja de cebada

La relación C:N óptima que promueve el mayor porcentaje de degradación de la paja de cebada por el micelio de *A. aegerita* cepa AA O, está entre 41.57 y 32.78 (grupos estadísticos c y d, μ=0.05, Tabla 6) para el sustrato suplementado con $(NH_4)_2HPO_4$, valores de C:N de 47.98 y mayores tienden a disminuir la actividad de degradación del micelio en el sustrato. La paja suplementada con $NaNO_3$ presentó la mayor degradación a una relación C:N de 42 (Figuras 3 y 4).

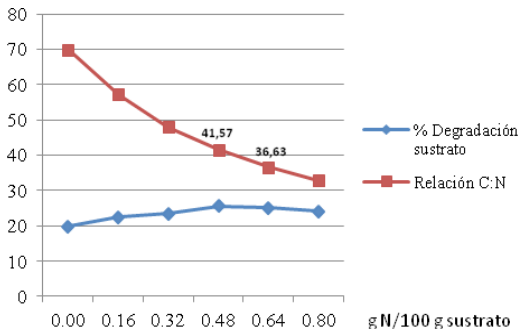


Figura 3. Efecto de la relación C:N y degradación del sustrato [$(NH_4)_2HPO_4$].

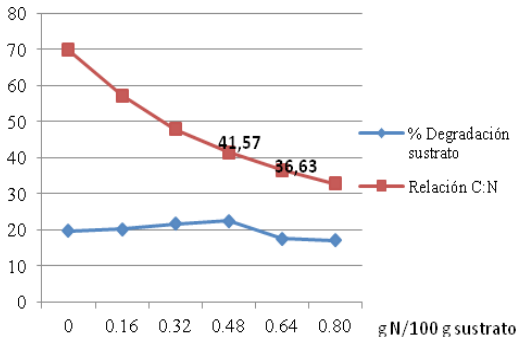


Figura 4. Efecto de la relación C:N y degradación del sustrato ($NaNO_3$).

5) Efecto del contenido de fósforo y la relación N:P

El contenido de fósforo en la paja de cebada no suplementada, fue de 0.13% y a partir de este dato se calculó estequiométricamente el contenido de fósforo en la paja suplementada con $(NH_4)_2HPO_4$ y $NaNO_3$ a 0.16, 0.32, 0.48, 0.64 y 0.80 g N/100g de sustrato. Los resultados obtenidos fueron de 0.31, 0.48, 0.66, 0.84 y 1.01% en las muestras respectivas suplementadas con $(NH_4)_2HPO_4$ y de 0.13% en todas las muestras suplementadas con $NaNO_3$ ya que este compuesto nitrogenado carece de fósforo y no se adicionó fósforo en otra presentación (ver tablas 6 y 7). Con respecto a la relación N:P, se observó que al incremen-

tar la concentración de N de $(NH_4)_2HPO_4$ en el sustrato, la relación N:P va disminuyendo. En la paja de cebada no suplementada se obtuvo una relación N:P de 5.62 y cuando la paja de cebada fue suplementada con $(NH_4)_2HPO_4$ a 0.16, 0.32, 0.48, 0.64 y 0.80 g N/100g sustrato los resultados en la relación N:P fueron de 2.87, 2.19, 1.83, 1.61 y 1.51. La degradación óptima del sustrato se obtuvo a una relación N:P entre 1.83 y1.63 (Tabla 6 y Figura 5).

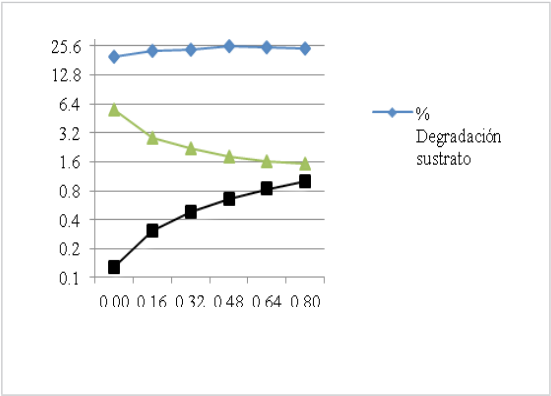


Figura 5. Efecto del fósforo, relación N:P en la degradación del sustrato[$(NH_4)_2HPO_4$]

Para la paja de cebada suplementada con $NaNO_3$ las concentraciones de 0.16, 0.32, 0.48, 0.64 y 0.80 g N/100g sustrato, mostraron que la relación N:P se incrementa cuando su contenido de nitrógeno se aumenta. Los resultados obtenidos fueron de 6.85, 8.01, 9.31, 10.54 y 11.77 respectivamente y al compararlo con el porcentaje de degradación del sustrato se tiene que una relación N:P de 9.31 es donde se presentó una mayor degradación del sustrato 22.56% y al aumentar la relación N:P, la degradación del sustrato disminuye 17.02% (Tabla 7 y Figura 6).

6) Efecto de la degradación de la paja de cebada sobre los cambios del pH en el sustrato
Los resultados obtenidos en la paja de cebada suplementada con $NaNO_3$, el sustrato testigo (no inoculado con micelio de *A. aegerita* cepa AA O) y el sustrato degradado por el micelio de la cepa AA O, se observa que el pH inicial es en general aproximadamente de 5 y se convierte a un pH de 6.5 cuando la paja de cebada es degradada por el micelio (Tabla 8). Cuando la paja de cebada fue suplementada con $(NH_4)_2HPO_4$ los rangos del cambio de pH entre el sustrato testigo y el degradado por el micelio de *A. aegerita* cepa AA O son menores; de 4.8 cambia a 5.5 aproximadamente (Tabla 8).

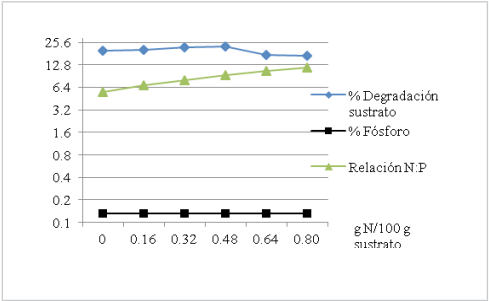


Figura 6. Efecto del fósforo y la relación N:P en la degradación del sustrato ($NaNO_3$)

Tabla 7. Efecto del contenido de nitrógeno, fósforo y la relación N:P en el sustrato suplementado con $NaNO_3$ sobre la degradación de la paja de cebada por *A. aegerita* cepa AA O

Paja de cebada con $NaNO_3$ (g N/100 g sustrato)	Degradación del sustrato (%)	Nitrógeno (%)	Fósforo (%)	Relación N:P
NS (testigo)	19.74 ± 0.92 a	0.73	0.13	5.62
0.16	20.26 ± 0.91 a	0.89	0.13	6.85
0.32	21.74 ± 0.62 a	1.05	0.13	8.01
0.48	22.56 ± 0.61 a	1.21	0.13	9.31
0.64	17.53 ± 0.92 a	1.37	0.13	10.54
0.80	17.02 ± 0.00 a	1.53	0.13	11.77

NS = sustrato no suplementado (testigo).

Letras minúsculas iguales indica que no hay diferencia significativa ($p < 0.005$, $\alpha = 0.05$) entre las concentraciones de nitrógeno y el % de degradación del sustrato.

Tabla 8. Efecto de la degradación de la paja de cebada por *A. aegerita* cepa AA O sobre los cambios del pH en el sustrato

	g N/100 g paja de cebada	Degradación del sustrato (%)	pH
NS	XX	T N D	
	XX	19.74 ± 0.92	6.45
$NaNO_3$	0.16	T N D	5.34
		20.26 ±0.91 a	6.76
	0.32	T N D	5.18
		21.74 ±0.62 a	6.54
	0.48	T N D	4,90
		22.56 ±0.61 a	6.53
	0.64	T N D	5.23
		17.53 ±0.92 b	6.56
	0.80	T N D	5.13
		17.02 ±0.00 b	6.53
$(NH_4)_2HPO_4$	0.16	T N D	4.78
		22.51 ±0.00 d	5.76
	0.32	T N D	5.16
		23.48 ±0.00 c	5.53
	0.48	T N D	4.83
		25.64 ±0.30 a	5.26
	0.64	T N D	5.25
		25.06 ±0.62 a	5.25
	0.80	T N D	4.93
		24.14 ±0.30 b	5.00

XX = Paja de cebada original a la que no se le suplemento con fuentes de nitrógeno.

T N D = Sustrato testigo, suplementado con fuentes de nitrógeno pero no degradado por el micelio de *A. aegerita.*

Letras minúsculas iguales en cada fuente de nitrógeno indican que no hay diferencia significativa ($p = 0.005$, $\alpha = 0.05$) entre las cinco diferentes concentraciones de nitrógeno.

DISCUSIÓN

En el presente estudio, se comparó el comportamiento de tres cepas de *A. aegerita*, para conocer las diferencias y similitudes fisiológicas y los efectos de varios factores ambientales y nutricionales para el cultivo de dicha especie.

La mayor cantidad de micelio producido por la cepa AA G1 fue de 0.2260 g/25 ml de AEM a 26ºC, observando que para esta cepa el medio de cultivo no es tan importante como la temperatura a la que se incube para la producción de biomasa. Para la cepa AA G2 la mayor producción de micelio 0.1003 g/25 ml se obtuvo en AEM a 26ºC, sin embargo para esta cepa, el medio de cultivo influye en la cantidad de micelio que se produzca, mientras que la temperatura no. Para la cepa AA O, el mayor crecimiento de biomasa 0.4357 g/25 ml se dio en AEM incubando a 22ºC; para esta cepa tanto el medio de cultivo como la temperatura son importantes para el desarrollo del micelio. La temperatura de 26ºC donde las dos cepas guatemaltecas utilizadas en la presente investigación producen más micelio, coincide con los resultados obtenidos por Andrade (2007) en el estudio con seis cepas guatemaltecas de *A. aegerita*. Al principio la coloración del micelio sobre los tres medios de cultivo fue blanca y posteriormente sobre el AEM aparecieron manchas irregulares de color café, esto es mencionado por Stamets (2000) como una característica del micelio. El medio ASD empleado tiene peptonas y D(+)glucosa, se usa más para aislamiento e identificación de hongos patógenos; debido al contenido de glucosa el medio es adecuado para dermatofitos, mientras que la variación de maltosa se prefiere para cultivo de mohos y levaduras (Merck 2000). El agar de papa dextrosa contiene infusión de papa y D(+)glucosa, fue creado para el cultivo, aislamiento e identificación de levaduras y mohos en alimentos y su mecanismo de acción se basa en que la glucosa y la infusión de papa promueven el crecimiento de levaduras y mohos mientras que el pH de 5.6 inhibe parcialmente el crecimiento de la microbiota bacteriana acompañante (Merck 2000). El agar extracto de malta, donde las tres cepas produjeron las mayores cantidades de micelio, posee características nutritivas que favorecen el crecimiento de la mayoría de hongos, esto por los ingredientes del medio, extracto de malta obtenido de la cebada malteada y peptona de soya. La cebada malteada contiene varios carbohidratos, particularmente maltosa que es un producto de la hidrólisis del almidón; el cual consiste en moléculas de glucosa; la maltosa y la celobiosa son las fuentes de carbono más ampliamente utilizadas por los hongos (Landecker 1990, Merck 2000). La importancia del carbono y por lo tanto de los carbohidratos, radica en que cerca de la mitad del peso seco de las células fúngicas es carbono (Landecker 1990, Alexander 1980, Ainsworth 1967). Las peptonas son productos que resultan de la digestión de materiales proteicos; la peptona de soya se obtiene de la harina de soya que es digerida por la enzima papaína; esto contiene carbohidratos, vitaminas y nitrógeno amínico que constituye una fuente de nitrógeno orgánico para la mayoría de hongos (Merck 2000, Pelczar 1995) posiblemente la presencia de fuentes de nitrógeno en el AEM ayudó a que las cepas de *A. aegerita* usadas en el presente estudio produjeran más biomasa. La temperatura de 26ºC fue donde se obtuvo mayor producción de micelio para las cepas AA G1 y G2; Andrade (2007) obtiene los mismos resultados al evaluar el comportamiento de seis cepas guatemaltecas de *A. aegerita*. Mientras que AA O fue de 22ºC, esto podría explicarse por las condiciones geográficas y climatológicas propias de las regiones donde crecían los cuerpos fructíferos que dieron origen a las cepas utilizadas. Los cuerpos fructíferos de donde se obtuvieron las cepas AA G1 y G2 fueron colectados en Tecpán Chimaltenango, cerca de un bosque húmedo montano bajo subtropical con altitudes entre 2000 a 2500 msnm y temperaturas promedio anuales de 18ºC. La cepa AA O es de origen europeo, donde la temperatura es extrema con inviernos bajo cero y veranos cortos que oscilan entre 15 y 35ºC.

Con respecto a la humedad del sustrato, se sabe que la nutrición de los hongos depende directamente del agua, ya que adquieren sus alimentos por absorción, por lo tanto azúcares simples y aminoácidos que se encuentran en solución pueden ser absorbidos directamente. La celulosa, el almidón y las proteínas antes de ser absorbidas deben ser atacadas por enzimas extracelulares, que a través de reacciones hídricas rompen las moléculas grandes en componentes más sencillos, liberando moléculas que pueden ser absorbidas donde moléculas intracelulares las metabolizan por medio de enzimas. Chang-Ho y Yee (1977) observaron que la actividad celulolítica de

Volvariella volvacea (Bull.) Singer, se incrementa en forma proporcional al incrementar la humedad del sustrato; posiblemente esto haya ocurrido con las cepas de *A. aegerita* evaluadas en el presente estudio ya que donde más degradaron la paja de cebada fue cuando esta tenía porcentajes de humedad entre 82 y 85%.

Con respecto a la importancia del nitrógeno, esto radica en que es indispensable para la síntesis de aminoácidos y proteínas que son requeridas para construir el protoplasma; sin las proteínas no puede haber crecimiento y el nitrógeno es componente de ácidos nucleicos y algunas vitaminas. En el presente estudio se utilizan cuatro fuentes de nitrógeno, dos inorgánicas [$NaNO_3$ y $(NH_4)H_2PO_4$] y dos orgánicas (urea y ácido aspártico); ya en 1937 Robins, mencionado por Ainsworth y Sussman (1967), clasificó a los organismos en base al tipo de fuente de nitrógeno utilizada; y se tiene que los hongos de la clase II que utilizan nitrato comúnmente utilizan amonio y nitrógeno orgánico, las cepas de *A. aegerita* utilizadas en este estudio podrían ser clasificados como hongos de clase dos ya que utilizaron nitrato, amonio y nitrógeno orgánico. Los hongos de la clase III utilizan amonio y nitrógeno orgánico pero no nitrato y aquí en esta clase están la mayoría de hongos superiores. Para que el nitrógeno del ión nitrato pueda ser utilizado debe ser reducido al nivel de oxidación del amoníaco, la vía para la reducción de nitrato a amonio involucra dos enzimas, la nitrato reductasa y la nitrito reductasa. La nitrato reductasa reduce el nitrato a nitrito y la segunda enzima reduce el nitrito a amonio. Con respecto a los resultados obtenidos en este trabajo, se observa que la cepa AA G1 y AA O presentaron una mayor degradación del sustrato cuando este fue suplementado con $(NH_4)_2HPO_4$; pero también ocurre una leve degradación del sustrato cuando este fue suplementado con $NaNO_3$. Lo que podría indicar que *A. aegerita* asimila más fácilmente las moléculas de NH_{4+} y otra razón podría ser que el nitrógeno del $NaNO_3$ en el proceso metabólico es necesario convertirlo de NO_{3-} a NH_{4+} y esto puede significar perdidas de N_2 en el proceso. Chandra y Purkayastha (1977) refieren que todas las especies de hongos comestibles cultivados que estudiaron tuvieron preferencia por el nitrógeno orgánico proveniente de 16 aminoácidos evaluados, además observaron que la urea dio resultados inferiores a los obtenidos en comparación a los aminoácidos, por lo tanto es posible que la urea no siempre sea favorable para el crecimiento de los hongos. En la presente investigación realizada con *A. aegerita*, los porcentajes de degradación del sustrato obtenidos con urea fueron en algunos casos superiores a los obtenidos en el sustrato suplementado con ácido aspártico.

En el presente experimento, se observó que la mayor degradación del sustrato con la cepa AA O ocurre cuando la paja de cebada fue suplementada con nitrógeno entre 0.48 y 0.64 g/100 g paja, equivalente a 1.17 y 1.37% de nitrógeno en dicho sustrato; pero esta degradación no es afectada por el contenido de carbono ya que este permaneció constante (Figura 1); por lo tanto como lo menciona Wang (1982) no son las fuentes de carbono las que inducen la actividad enzimática que degrada celulosa y lignina, concluye que las fuentes de carbono son fácilmente asimilables y promueven el crecimiento micelial pero no inducen la producción de enzimas celulolíticas.

La relación C:N en el sustrato es muy importante y un factor decisivo para evaluar la calidad del mismo pues a esa concentración de nitrógeno se suplementa el sustrato (Nair 1982, Gerrits 1988, Chang 1993); pero el valor de la relación C:N en si no tiene tanta importancia como la cantidad de carbono y nitrógeno realmente disponibles en el sustrato. Esto se puede observar en los resultados obtenidos en el presente estudio, ya que la relación C:N óptima para la mayor degradación del sustrato está entre 42 y 32.7 pero la mayor degradación del sustrato ocurrió cuando este fue suplementado con $(NH_4)_2HPO_4$, por lo tanto la disponibilidad de la fuente de nitrógeno es importante para aprovechar eficientemente los nutrientes. Posiblemente *A. aegerita* asimila mejor el NH_4 y probablemente carece de la enzima nitrato reductasa responsable de reducir el NO_{3-} a NH_{4+}, paso necesario en el ciclo de conversión de NO_{3-} a aminoácidos, sin embargo es necesario comprobar si carece de la enzima o la enzima nitrato reductasa solo se activa en determinados circunstancias (Höfte 1992).

Después del nitrógeno, es el fósforo el segundo de los compuestos inorgánicos requeridos tanto por plantas como por microorganismos; su principal función fisiológica radica en la acumulación y liberación de energía

durante el metabolismo celular (Alexander 1980). El fósforo está presente en los hongos como ATP, en los ácidos nucleicos y en los fosfolípidos de las membranas. El metabolismo del fósforo esta interrelacionado con la respiración y el metabolismo de los carbohidratos; se ha observado que a una alta concentración de fósforo en el medio se incrementa la utilización de carbohidratos (Moore-Landecker 1972). La liberación del fósforo es más rápida bajo condiciones que favorecen la amonificación (Alexander 1980); es posible que esto haya contribuido a que en la paja de cebada suplementada con $(NH_4)_2HPO_4$ la degradación del sustrato fue mayor en comparación a la paja suplementada con NaNO3, donde no hubo presencia del ion amonio o poca presencia de dicho ion (Tabla 5).

Los hongos generalmente mantienen invariable el pH del medio donde crecen; pero la absorción de cationes o aniones por el hongo puede cambiar el pH del medio en direcciones opuestas, dependiendo principalmente de la fuente de nitrógeno. Si el nitrógeno proviene de una sal de amonio, la utilización del ion amonio hace que el medio se vuelva más ácido; pero si la fuente de nitrógeno es $NaNO_3$, el medio de cultivo se vuelve más alcalino ya que el ion nitrato es removido por el hongo como lo indica Moore-Landecker (1972), y como lo observaron Chang- Ho y Yee (1977) en su estudio con *V. volvacea*. Como se puede observar en los resultados (Tabla 8) en la paja de cebada suplementada con $NaNO_3$ el pH inicial fue de 5.5 (ácido) aproximadamente y después del desarrollo del micelio en el sustrato, el pH de la paja se torno a 6.8 (neutro) aproximadamente, es posible que el ión NO_{3^-} fue removido por *A. aegerita*. Con la paja de cebada suplementada con $(NH_4)_2HPO_4$ el pH permaneció casi invariable entre el sustrato testigo (pH inicial) y el pH del sustrato después de degradado por el micelio de *A. aegerita* (Tabla 8), posiblemente se debe a que esta fuente de nitrógeno actuó como un amortiguador (buffer) en el sustrato.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a las escuelas de Química Biológica y Química, de la facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, por las facilidades en equipo e instalaciones prestadas; a la Planta Productora de Hongos Comestibles "Ocox" por las cepas proporcionadas y el material para el cultivo de los hongos. Así también al Químico Oscar Monzón del Laboratorio LASER quienes corroboraron los análisis de nitrógeno y fósforo.

REFERENCIAS

Ainsworth GC, Sussman AS (1967) *The fungi*. *An advanced treatise*. Academic Press 229-268.

Alexander M (1980) *Introducción a la microbiología del suelo*. AGT editor S.A. 350-371.

Andrade C (2007) Descripción de las características macroscópicas, de cultivo *in vitro* y producción de inoculo en paja y granos de trigo de *Agrocybe aegerita* (Brig.)Sing. Tesis Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.

Chandra A, Purkayastha RP (1977) Physiological studies on Indian edible mushrooms. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 69:63-70.

Chang-Ho Y, Yee, NT (1977) Comparative study of the physiology of *Volvariella volvacea* and *Coprinus cinereus*. *Trans. Br. Mycol. Soc*. 68:167-172.

Chang ST (1993) Mushroom biology: the impact on mushroom production and mushroom products. En: Chiu SW, Buswell J, Chang ST(eds) *Mushroom Biology and Mushroom Products*. The Chinese University Press. 3–20.

De León R (2003) Cultivation of edible and medicinal mushrooms in Guatemala, Central America. *Micol. Apl. Int.* 15(1):31-35.

Gerrits JPG (1988) Nutrition and compost. En: van Griensven LJLD *The cultivation of mushrooms*. GRAFIGROEP Waalwijk. 29-72.

Höfte M 1992 Cultivation of edible mushrooms on tropical agricultural waste. I Biology. Training Course. The Belgian Administration for Development Cooperation and The University of Gent-Belgium. 35, 45.

Landecker E (1990) *Fundamentals of the fungi*. 3rd ed.: Printice-Hall. 171, 213, 275-303.

Merck (2000) *Microbiology Manual*. Merck KgaA, Darmstadt

Moore-Landecker E (1972) *Fundamentals of the fungi*. Ed. Prentice-Hall Inc. 163-165.

Morales OI (2001) Estudio etnomicológico de la cabecera municipal de Tecpán, Chimaltenango. Tesis Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.

Nair NG (1982) Substrates for mushroom production. En: Chang ST, Quimio TH *Tropical Mushrooms, Biological Nature and Cultivation Methods*. The Chinese University Press. 46-61

Pelczar MJ (1995) *Microbiología*. Mc Graw Hill 92-93.

Stamets P (2000) *Growing gourmet and medicinal mushrooms*. Ten Speed Press Canada.225-228.

Wang CW (1982) Cellulolytic enzymes of *Volvariella volvacea*. En: Chang ST, Quimio TH *Tropical Mushrooms, Biological Nature and Cultivation Methods*. The Chinese University Press. 167-186.

5.6 ADAPTACIÓN AL CULTIVO INTENSIVO DEL HONGO SILVESTRE *POLYPORUS TENUICULUS* (BASIDIOMYCETES, POLYPORALES) EN SUSTRATOS FORMULADOS Y EN TRONCOS

Edgardo Albertó y Alejandra Omarini

Lab. Micología y Cultivo de Hongos Comestibles. Instituto de Investigaciones Biotecnológicas. IIB-INTECH (UNSAM-CONICET). CC 164. 7130 Chascomús. Argentina
ealberto@intech.gov.ar

RESUMEN

Se evaluaron diferentes cepas y sustratos para determinar las condiciones óptimas para la producción de esta especie nunca antes cultivada. Se emplearon bolsas con paja de trigo y aserrín de *Salix*, luego de ser esterilizadas se inocularon e incubaron a 25°C en oscuridad durante 60 días. Posteriormente, las bolsas fueron removidas y los bloques resultantes llevados a una sala de producción con condiciones controladas a 20°C, riego por aspersión, humedad >70%, ventilación y un fotoperíodo de 9h luz/15 oscuridad. El aserrín de *Salix* suplementado resultó ser el sustrato formulado que produjo mayores EB (82%). Se evaluaron diferentes métodos de inducción, como la inmersión en agua y el "golpe de frío" los que no produjeron aumentos en los rendimientos. El número de oleadas obtenidas a lo largo de los 90 días de cultivo varió entre 4 y 6. En la condición no suplementada el número de oleadas fue generalmente 4, mientras que en los sustratos suplementados fue principalmente 5. Las oleadas estuvieron separadas por 13 o más días en los cuales no se observaron fructificaciones. El diámetro promedios de los píleos varió entre 5.9 ± 0.57 y 8.1 ± 1.4 cm, mostrando diferencias significativas sólo a nivel de sustratos También fue posible la producción de esta especie sobre troncos de *Populus* y *Eucalyptus,* para ello fue necesaria una incubación de 12 meses. Las EB obtenidas después de dos años fueron bajas variando de 8 a 24%. Nutricionalmente, *P. tenuiculus* es rico en proteína y posee bajo contenido de grasa.

Palabras clave: cepas silvestres, propiedades nutricionales.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, muchos estudios están enfocados en la optimización de los parámetros de cultivo que permitan cultivar nuevas especies silvestres de hongos comestibles y de esta manera poder obtener fructificaciones para consumo humano, búsqueda de propiedades medicinales, estudios taxonómicos, etc (Albertó 1995, Lechner y Albertó 2007, Uhart *et al*. 2008).

Ruán-Soto *et al.* (2004, 2006) informaron que los pobladores de varias regiones de México, de la Amazonia brasileña y de la zona tropical de Guatemala, han mostrado una tendencia al conocimiento y al consumo de especies silvestres tales como, *Schizophyllum commune* Fr.*, Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc.*, Auricularia delicata* (Mont.) Henn.*, Pseudofistulina radicata* (Schwein.) Burds.*, Cookeina sulcipes* (Berk.) Kuntze*, Hohenbuehelia petaloides* (Bull.) Schulzer y *P. tenuiculus* (P. Beauv.) Fr., muchas de las cuales se encontraron a la venta en diferentes mercados. Garibay-Orijel *et al.* (2007) realizaron un estudio en varias regiones de México sobre el significado cultural de muchas especies de hongos silvestres comestibles para definir el rol que cada organismo tiene con una cultura particular y poder determinar el conocimiento y uso que realizaban sus habitantes. De las 37 especies analizadas, muchas de ellas tuvieron un índice de consumo alto, entre las que se destacan varias de los géneros *Cantharellus*, *Pleurotus*, además de *Sparassis crispa* (Wulfen) Fr. y *Laccaria laccata* (Scop.) Cooke, siendo catalogadas como de "buen sabor". Además cabe destacar, que en muchos lugares donde se consumen diversas especies de hongos silvestres, sus pobladores son de escasos recursos y

reemplazan la ingesta de carne por la de hongos. Por otra parte, muchos pobladores utilizan los hongos con fines medicinales o religiosos (Guzman 2008).

De León (2003) destacó que en Guatemala hay una gran variedad de especies de hongos silvestres que son comercializados en el mercado, entre ellos, *Cantharellus cibarius* Fr., *C. odoratus* (Schwein.) Fr., *Amanita caesarea* (Scop.) Pers., *Schizophyllum commune*, *Pleurotus levis* (Berk. & M.A. Curtis) Singer, *Lactarius deliciosus* (L.) Gray, *Hypomyces lactifluorum* (Schwein.) Tul. & C. Tul., *Tremella reticulata* (Berk.) Farl., *Helvella crispa* (Scop.) Fr., *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fr. y *Agrocybe aegerita* (V. Brig.) Singer.

Hasta el momento, *Polyporus umbellatus* era la única especie del género *Polyporus* que pudo ser cultivada industrialmente, para ser utilizada con fines medicinales (en polvo o pastillas) ya que sus fructificaciones son muy duras para ser ingeridas (Ishida *et al.* 1999, Sekiya *et al.* 2005, Stamets 1993). Recientemente Omarini *et al*. (2009) publicaron algunos conceptos referentes a como cultivar esta especie en sustratos formulados. Este conocimiento previo de las especies de hongos que crecen en la naturaleza y que son utilizadas en varios lugares por sus cualidades como comestibles, ha estimulado a muchos grupos de investigación en el estudio de los parámetros para su cultivo y de esta manera permitir un incremento en cuanto a nuevas especies disponibles en el mercado para ser ofrecidas al consumidor de manera continua.

Los hongos silvestres comestibles que tienen mayor aceptación en el mercado crecen en regiones con clima templado. En la Argentina solo se comercializan cinco especies de hongos silvestres comestibles (Albertó *et al.* 2010). *Phlebopus bruchii* (Speg.) Heinem. & Rammeloo (hongo del coco), se encuentra en las zonas serranas de Córdoba y San Luís; es una de las especies más codiciadas dentro de las boletáceas. También se puede nombrar a *Suillus luteus* (L.) Roussel, asociados a los bosques de pinos en la zona cordillerana de Argentina y Chile, y a *S. granulatus* (L.) Roussel, asociados a bosques de pinos en la zona litoral atlántica de Argentina y Uruguay. *Lactarius deliciosus* (lactarios, robellones o níscalos) asociados a los mismos bosques mediterráneos o de pinos californianos en los bosques patagónicos. Por último *Morchella intermedia* (morillas o morchelas) del sur patagónico que pareciera estar asociada a los bosques de ciprés de la cordillera. Por lo general estas especies silvestres se comercializan frescas en la zona donde son cosechadas o bien deshidratadas.

Polyporus tenuiculus: una especie comestible no cultivada

Ruán Soto *et al*. (2004, 2006) informaron que ejemplares de *Polyporus tenuiculus* cosechados de la naturaleza son comercializados principalmente en mercados del llano costero del Golfo de México, además de ser consumida en otras regiones de Latinoamérica. Sin embargo, hasta la actualidad no se conoce nada sobre su cultivo en sustratos lignocelulósicos.

Polyporus tenuiculus (P. Beauv.)Fr. también conocida con el nombre de *Favolus brasiliensis* (Fr.) Fr., es una especie polimórfica que ha dado origen a un importante número de sinónimos con más de 63 nombres (véase index fungorum: www.indexfungorum.org), el nombre aceptado actualmente como taxonómicamente válido es el de *Favolus tenuiculus* P. Beauv. Esta especie pertenece al Orden Polyporales y a la Familia Polyporaceae. Presenta un basidiocarpo anual, solitario a imbricado, lateral a excéntrico o centralmente estipitado, píleo flabeliforme a circular, más raramente espatuliforme, 1.0-18.0 x 0.6-11.00 cm. y 0.5-10 mm de grosor (contexto), carnoso a membranáceo cuando fresco, frágil, quebradizo al secarse (Figura 1).

La superficie del píleo es glabra, de lisa a radialmente estriada y arrugada cuando seca; es blanca a crema cuando fresco y crema amarillenta cuando seco. El margen del píleo varía de entero a globulado, liso o fimbriado, involuto y, a veces castaño claro cuando seco. El estípite es cilíndrico, de 0.2-4.0 cm. de largo, 0.1-1.3 cm de diámetro, fibroso cuando fresco, rígido a frágil cuando seco, con superficie glabra, lisa a arrugada cuando seca, concoloro o un poco más claro que la superficie del píleo. El himenóforo es blanco a crema cuando fresco y

beige a amarillento o castaño claro cuando seco. Tiene poros circulares a angulares, radialmente alargados, decurrente sobre el pie, con los bordes enteros a fimbriados, 0.6-1.5 por mm, tubos 0.5-9.0 mm de profundidad. El contexto es homogéneo, algodonoso tenaz a corchoso, blanco a crema o beige, 0.3-2.0 mm de grosor, a veces indiscernible.



Figura 1. Ejemplares de *Polyporus tenuiculus.* Se observan los poros himeniales característicos por su gran tamaño.

Está caracterizado microscópicamente por un sistema hifal dimítico; con hifas generativas con fíbulas, hialinas, de paredes delgadas a levemente engrosadas, abundantes en toda la fructificación, hifas esqueleto-ligadoras de paredes engrosadas a muy gruesas, dominando en el contexto y estípite. Crece sobre madera muerta de dicotiledóneas y gimnospermas indeterminadas, produciendo pudrición blanca (Borges da Silveira 2001). Tiene distribución Pantropical, habiéndose coleccionado en la Argentina, Brasil, Perú, Colombia, Ecuador, Bolivia, México, Venezuela, Paraguay, Cuba, Guayana Francesa, Trinidad e Indonesia (Nuñez y Ryvarden 1995, Ruán-Soto *et al.* 2004, 2006).

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas empleadas: se utilizaron cepas de origen argentino y brasileño cuyos datos se hayan resumidos en la Tabla 1.

Tabla 1. Listado de especies y cepas utilizadas

Especie	Nº ICFC	Procedencia	Sustrato
Polyporus tenuiculus	233/00	Brasil, Río Grande do Sul, Viamao, Parque St. Hilaire	Madera muerta
Polyporus tenuiculus	383/00	Brasil, Río Grande do Sul, Porto Alegre, Parque Farouquilla	-
Polyporus tenuiculus	418/01	Argentina, Misiones, Iguazú, Bosque Palo Rosa, Palmital	-

ICFC: colección de cultivos fúngicos del IIB-Intech.

Temperatura óptima de crecimiento

Se evaluó el crecimiento vegetativo de *P. tenuiculus* en cajas de Petri conteniendo medio sólido APG a 20, 25 y 30ºC. Como era de esperar, tratándose de una especie de distribución tropical, se obtuvo el crecimiento óptimo entre 25 y 30ºC. En este ensayo se seleccionaron las cepas ICFC 233/00 y 383/00. Dado que la cepa 418/01

tuvo un crecimiento lento y produjo un micelio más débil, se descartó para ensayos de producción.

OBTENCIÓN DE FRUCTIFICACIONES EN SUSTRATOS FORMULADOS

Para producir esta especie se ensayaron dos sustratos base de características conceptualmente diferentes y de gran disponibilidad en la región como lo son paja de trigo (*Triticum* sp.) y el aserrín de Sauce (*Salix* sp.). La paja de trigo es un material más rico en celulosa y hemicelulosa, mientras que el aserrín de *Salix* posee además de los componentes citados lignina, la que solo puede ser aprovechada por hongos de pudrición blanca por tener las enzimas que permiten su degradación. De este modo, con estos dos sustratos, fue posible evaluar cual es la preferencia de nutrientes para esta especie. Para determinar si el agregado de suplementos mejoraba los rendimientos de estos dos sustratos se realizaron ensayos adicionando a estos sustratos harina de soya, salvado de trigo, avena arrollada y semillas de mijo. La Tabla 2 muestra la composición de los sustratos formulados evaluados.

Tabla 2. Composición de sustratos evaluados

Sustratos	Composición (%)	Suplementos (%)				
		Harina de soja	Salvado de trigo	Semilla de mijo	Avena arrollada	$CaCO_3$
PT	Paja de trigo (98)	-	-	-	-	2
PTs	Paja de trigo (78)	5	15	-	-	2
AS	Aserrín de sauce (98)	-	-	-	-	2
AS1	Aserrín de sauce (78)	5	15	-	-	2
AS2	Aserrín de sauce (73)	5	15	5	-	2
AS3	Aserrín de sauce (78)	10	-	-	10	2

Preparación del inóculo o "semilla"

El inóculo o "semilla" se preparó en bolsas de polipropileno de 25 x 45 cm y 30 μm de grosor, conteniendo 600 g de granos de trigo (*Triticum* sp.) suplementado con 2% p/p de $CaCO_3$. Las bolsas se esterilizaron en autoclave a 121ºC durante 2 h e inocularon con 2 tacos de agar con micelio crecido en medio sólido APG (agar papa glucosa) y se incubaron a 25ºC en oscuridad, durante tres semanas hasta la completa colonización del grano.

Condiciones de cultivo y parámetros evaluados

Los sustratos fueron colocados en bolsas de polipropileno de 25 x 45 cm y de 30 μm de espesor con 1 kg de sustrato húmedo (70% de humedad). Las bolsas fueron cerradas mediante el empleo de cilindros de PVC y tapones de algodón y se esterilizaron en autoclave a 121°C durante 2.5 h, dos veces a intervalos de un día. Una vez que las bolsas alcanzaron la temperatura ambiente, fueron inoculadas con 5% p/p de "semilla" e incubadas a 25°C en oscuridad por 60 días, tiempo que se consideró óptimo después de varios ensayos.

Se recolectaron de una a seis oleadas durante el período de cosecha, definido como el tiempo entre el día de inducción (en el que se trasladan las bolsas a la sala de fructificación) y el último día de cosecha. Los períodos de cosecha duraron entre 30 y 90 días, según la cepa y la fórmula empleada. Se colectaron fructificaciones maduras y se registraron los siguientes parámetros de producción: i) precocidad: tiempo (en días) desde la inducción hasta la cosecha de los primeros cuerpos fructíferos (Larraya *et al.* 2003); ii) eficiencia biológica (EB): peso fresco de las fructificaciones (o rendimiento total, RT)/peso seco del sustrato (expresado como porcentaje); iii) número de oleadas y distribución del rendimiento por oleada, expresado como porcentaje; iv) número de fructificaciones colectadas en la primer oleada; v) diámetro del píleo (cm); vi) peso promedio de cada fructificación

(peso fresco total de hongos cosechados/número total de hongos cosechados).

Al evaluar los resultados se observaron que los hongos producidos eran semejantes a los coleccionados en la naturaleza, sin deformaciones. Los rendimientos fueron variables (Figura 2), obteniéndose valores promedios de EB que oscilaron entre 40 y 82.7% según el sustrato utilizado.

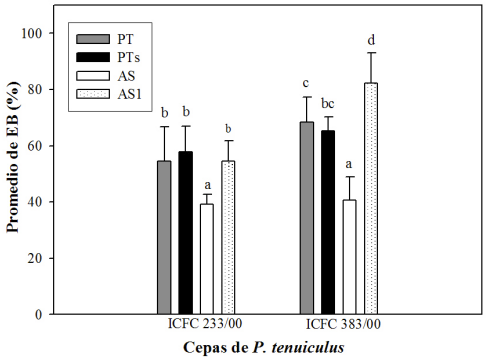


Figura 2. Eficiencia biológica de dos cepas de *P. tenuiculus* (ICFC 233/00 y 383/00) cultivadas en paja de trigo (PT) y aserrín de sauce (AS) con y sin suplemento (PTs y AS1, respectivamente). Se utilizaron letras para destacar la significancia estadística.

El uso de suplemento afectó en gran medida los parámetros de producción, especialmente los rendimientos y el tamaño de las fructificaciones (Figura 2). El mayor rendimiento fue obtenido empleando aserrín de sauce suplementado con harina de soja (15%) y salvado de trigo (5%), con 82.7% de EB. Dado que la cepa 383/00 tuvo un muy buen desarrollo y fue con la que se obtuvo el mayor valor de EB, fue seleccionada para evaluar otros suplementos e intentar de ese modo aumentar los rendimientos.

Durante la etapa de cultivo se observó que el hongo produce un bloque más o menos sólido, dado que el micelio crece en forma aplicada formando una matriz que aglomera al sustrato. También se observó la aparición de manchas marrones, las que, a diferencia del aspecto uniforme que se observa en los bloques que produce el shiitake, tienen un parámetro discontinuo con manchas marrones dispersas (Figura 3). Dado que el hongo tiene una incubación relativamente prolongada (de 60 días), donde además de la formación del bloque se observa una pérdida de peso y de humedad, se intentó mejorar los parámetros productivos evaluando la aplicación de un shock térmico y de la aplicación de luz para generar un "oscurecimiento" percibido como la aparición de manchas marrones.



Figura 3. Bloque de sustrato de 45 días de incubación inoculado con *P. tenuiculus*. Obsérvese la formación de manchas marrones.

El resultado de esto fue que la aplicación de tratamientos de inducción no tuvo efecto sobre el rendimiento, la precocidad y el diámetro de las fructificaciones. Sin embargo con la aplicación del shock térmico se logró una sincronización en la aparición de los primordios, rasgo deseado por cultivadores ya que facilita el manejo del cultivo al obtener una oleada más homogénea.

Tabla 3. Rendimiento, tiempo de aparición de primordios, distribución del rendimiento en oleadas y número de cuerpos fructíferos de *P. tenuiculus* ICFC 383/00 cultivado en aserrín de sauce con y sin suplementar sometidos o no a tratamientos de inducción

Sustratos	Tratam.	Pre-cocidad (días)	Distribución de la producción por oleada (%)						Total EB (%)[a]	Nº Cuerpos fructíferos [b]
			1ra.	2da.	3ra.	4ta.	5ta.	6ta.		
AS	S	8	47.8	21.5	14.1	9.0	7.5	-	45.3±19.4[a]	231±12.97[a, 1]
AS	EL	13	38.1	31.8	16.9	13.1	-	-	23.1±12.6[a]	105 ± 3.74[a, 1]
AS	ST	14	44.5	29.2	15.9	10.3	-	-	31.2±13.9[a]	130 ± 6.37[a, 2]
AS1	S	8	39.6	21.3	13.7	9.3	7.5	8.4	71.18±16[b]	440 ± 8.00[b, 1]
AS1	EL	11	51.14	22.4	14.4	11.9	-	-	69.8 ±12.5[b]	354 ± 5.26[b, 1]
AS1	ST	13	44.3	16.2	14.2	12.8	12.3	-	63±16.4[b]	212 ± 5.16[b, 2]
AS2	S	10	37.2	24.0	16.7	12.1	9.9	-	69.45±15.8[b]	378 ± 8.32[b, 1]
AS2	EL	14	33.3	25.8	17.5	12.9	10.3	-	82.7±17.2[b]	495 ± 6.20[b, 1]
AS2	ST	13	54.9	21.1	13.7	6.1	4.0	-	60.86±22.8[b]	230 ± 5.28[b, 2]

[a, b] Valores promedio de ocho replicas, se utilizaron letras para destacar la significancia estadística entre los valores tomados en los tres tratamientos para cada sustrato, y números para destacar la significancia estadística entre los valores de los distintitos tratamientos en cada sustrato. Los valores que no comparten letras/números son significativamente diferentes a $p< 0.05$. Sustratos: AS: Aserrín de sauce; AS1: Aserrín de sauce + salvado de trigo + harina de soya; AS2: Aserrín de sauce +salvado de trigo+ harina de soja + mijo. Tratamientos: S: sin tratamiento, EL: exposición a la luz, ST: shock térmico.

El número de oleadas obtenidas a lo largo de los 90 días de cultivo varió entre 4 y 6 (Tabla 3). En la condición no suplementada el número de oleadas fue generalmente 4, mientras que en los sustratos suplementados fue principalmente 5. Las oleadas estuvieron separadas por 13 o más días en los cuales no se observaron fructificaciones. Cabe destacar que los sustratos suplementados aumentaron el número de oleadas, generalmente de 4 a 5, lo cual contribuyó al incremento en el rendimiento. Este efecto también fue observado con tres cepas de *Agrocybe cylindracea* (DC.) Maire, por Uhart *et al.* (2008), en las cuales el número de oleadas aumentó de 2 a 3 cuando se utilizaron sustratos suplementados (Figura 4).



Figura 4. Aspecto de las fructificaciones obtenidas en cultivo sobre sustrato formulado con aserrín

suplementado.

La distribución de la producción en las distintas oleadas tuvo un patrón similar, independientemente de la composición del sustrato o aplicación de algún tratamiento de inducción. Se pudo determinar que en las primeras dos oleadas se obtiene más de 65% de la EB total. En cuanto al porcentaje de hongos cosechados por oleada, *P. tenuiculus* tuvo un comportamiento similar que *L. edodes* (Berk.) Pegler (Gaitán-Hernández *et al.* 2006, Philippoussis *et al.* 2007), *P. ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., *P. pulmonarius* (Fr.) Quél. y *P. eryngii* (DC.) Quél. (Philippoussis *et al.* 2001), obteniendo valores promedios en la primer oleada de 45.9% y en la segunda de 25.5%. El empleo de diferentes suplementos no mejoró la producción, por lo que no fue posible superar el valor de 82.7% de EB.

La morfología de los cuerpos de fructificación obtenidos en cultivo tuvo un desarrollo normal comparado con los especímenes recolectados de la naturaleza. Como se puede observar en la Tabla 4, los valores promedios de diámetro de los píleos variaron entre 5.9 ± 0.57 y 8.1 ± 1.4 cm, mostrando diferencias significativas sólo a nivel de sustratos ($p<0.05$). El diámetro de los cuerpos de fructificación de *P. tenuiculus* se incrementó con la adición de mayor porcentaje de suplemento, los cosechados en AS2 fueron de mayor tamaño y significativamente diferentes a los cosechados de AS1 y AS ($p<0.05$) a diferencia de lo informado por Yildiz *et al.* (2002), quienes obtuvieron píleos más grandes de *P. ostreatus* cuando emplearon aserrín no suplementado. Philippoussis *et al.* (2007) por el contrario, no encontraron diferencias significativas en el diámetro de los píleos de *L. edodes* producidos mediante el empleo de diferentes sustratos suplementados. Por otro lado, se observó que la aplicación de algún tratamiento de inducción no tuvo un efecto significativo en el tamaño de los hongos cosechados. El peso fresco promedio de las fructificaciones osciló entre 4.01 y 6.36 g (Tabla 4).

Tabla 4. Peso y diámetro promedio del píleo de los cuerpos de fructificación de *P. tenuiculus* cultivados sobre aserrín de sauce con y sin suplemento sometidos o no a tratamientos de inducción

Sustrato	Tratamiento	Diám. de basidiocarpo cm	Peso promedio basidiocarpo (g)
AS	S	6.02 ± 0.64 [a]	5.81
AS	EL	6.08 ± 0.59 [a]	4.01
AS	ST	6.71 ± 1.10 [a]	4.23
S1	S	6.10 ± 0.37 [a]	5.21
S1	EL	5.90 ± 0.57 [a]	4.67
S1	ST	6.20 ± 0.18 [a]	4.28
S2	S	7.30 ± 0.50 [b]	6.01
S2	EL	6.30 ± 0.60 [b]	4.41
S2	ST	8.10 ± 1.40 [b]	6.36

a Valores promedio de ocho replicas, se utilizaron letras para destacar la significancia estadística entre los tres sustratos. Los valores que no comparten letras son significativamente diferentes a $p< 0.05$. Sustratos: AS: Aserrín de sauce; AS1: Aserrín de sauce + salvado de trigo + harina de soja; AS2: Aserrín de sauce +salvado de trigo+ harina de soja + mijo. Tratamientos: S: sin tratamiento, EL: exposición a la luz, ST: shock térmico.

Los resultados obtenidos con la cepa de *P. tenuiculus* ICFC 383/00 cultivada sobre aserrín de sauce suplementado, indicaron que fue posible obtener fructificaciones de buen tamaño y peso, sin la necesidad de la aplicación de tratamientos de inducción, lo que simplifica el proceso de cultivo y asegura una buena producción.

OBTENCIÓN DE FRUCTIFICACIONES EN TRONCOS

Preparación de troncos y condiciones de cultivo

Se utilizaron troncos recién cortados de tres especies de árboles presentes en la región pampeana (una amplia zona de aproximadamente 60 millones de hectáreas localizada en el centro este de Argentina): *Eucalyptus camaldulensis* (ECa), *Populus alba* (PA) y *Eucalyptus cinerea* (ECi). Se seleccionaron troncos con un diámetro entre 10 y 25 cm y 1 m de largo con el fin de estandarizar los tamaños y facilitar su manejo. Se hicieron agujeros con un taladro usando una mecha especial con tope de 1.5 cm de diámetro y 3 cm de profundidad como los que se emplean para el cultivo de shiitake. Los orificios se realizaron a una distancia de 10 cm a lo largo y ancho de cada tronco. Los troncos de *E. calmadulensis* y *P. alba* fueron inoculados con las cepas de *P. tenuiculus* ICFC 233/00 y 383/00, y los de *E. cinerea* sólo con la cepa ICFC 383/00. Cada agujero se llenó con inoculo (empleándose como soporte granos de sorgo) y posteriormente se sellaron con parafina derretida. Luego de la inoculación, los troncos se colocaron en una fosa o trinchera, cavada en la tierra bajo un bosque de árboles y tapada con chapa y bolsas de plástico negra y finalmente cubierta por una capa de tierra de manera de poder mantener la temperatura entre 15 ± 10ºC y una humedad entre 65-75%. Se realizaron 6 réplicas por cada especie de árbol y cepa.

Los troncos se incubaron hasta que el micelio los invadió completamente. Luego se pasaron a una sala de fructificación con fotoperíodo de 9 h luz/15 h oscuridad y humedad del 75-85% (riego por aspersión 5 min. cada 8 h/día) para inducir la formación de basidiocarpos. Se trató de mantener las condiciones similares a la naturaleza por lo que no se tuvo control de la temperatura ambiente durante todo el ciclo de cultivo.
El período de cosecha se contabilizó durante 2 años, según la cepa y la madera empleada. Se colectaron fructificaciones maduras y se registraron los parámetros de producción y calidad i) eficiencia biológica (EB); ii) número de fructificaciones colectadas en la primera oleada; iii) Peso fresco de los CF; iv) diámetro de los píleos (cm); v) distribución de tamaño de fructificaciones cosechadas. Los parámetros de peso fresco, diámetro y distribución de tamaños de los cuerpos de fructificación se registraron utilizando únicamente basidiocarpos de la primera oleada.

Rendimientos

Los troncos de álamo, *E. camaldulensis* y *E. cinerea* inoculados con las cepas de *P. tenuiculus*, ICFC 233/00 y 383/00, tuvieron un seguimiento mensual durante toda su etapa de incubación, con el objeto de observar la colonización del micelio. Luego de 12 meses, se observó el micelio en la superficie de los troncos, debajo de la corteza y principalmente en los extremos, signos que son considerados como indicadores del final de esta etapa para el caso de shiitake (Przybylowicz y Donoghue 1988). Posteriormente, se desenterraron y trasladaron a la sala de fructificación, donde recibieron riego y luz, permaneciendo a temperatura ambiente. Las fructificaciones comenzaron a aparecer a los 30 días aproximadamente de haber sido trasladados.

Los troncos inoculados tardaron aproximadamente de 12 a 13 meses en fructificar. Este mismo comportamiento lo observó Stamets (2005) con *A. cylindracea.* Campbell y Racjan (1999), informaron que la aparición de primordios en *Lentinula edodes* (Shiitake) cultivado en troncos de roble en condiciones semicontroladas (5-26ºC, 70 a 100% de humedad), ocurrió después de 18 meses de incubación. Es probable que la duración del período de incubación haya estado influenciado por las temperaturas experimentadas, las que fueron muy bajas durante el invierno (5-10ºC). Para reducir el tiempo se debería mantener la temperatura controlada a 25ºC, tal como se realizó con los bloques de sustratos.

Se obtuvieron fructificaciones a partir de las dos cepas en la mayoría de los troncos de *P. alba* durante toda la

etapa de cultivo, sin embargo, los troncos de *Eucaliptus camaldulensis,* no registraron cosechas (Figura 5).

Cuando se compararon las EB de dos cepas de *P. tenuiculus,* ICFC 233/00 y 383/00, cultivadas en troncos de *P. alba*, se observaron bajos rendimientos, entre 7.5 y 11.7% respectivamente, comparados con los valores conseguidos en los bloques de sustrato, no obteniéndose diferencias significativas entre ellas, debido principalmente a la gran dispersión de los datos. Trabajos realizados con *L. edodes* cultivado sobre *Quercus* sp. evidenciaron valores más altos en los rendimientos, favorecido además porque el período de producción se extendió durante tres años (Campbell y Racjan 1999). Royse (2001) informó que en el caso de shiitake (*L. edodes*) cultivado sobre troncos se podían obtener EB de 33% logrando 75% de la producción durante el segundo y tercer año de cultivo.



Figura 5. Producción de *P. tenuiculus* en troncos. Tronco de *E. cinerea* (izquierda) y troncos de álamo (centro y derecha).

Las fructificaciones fueron obtenidas únicamente durante la primavera y verano, donde las temperaturas medias oscilaron entre 25±5ºC. El número de oleadas variaron en ambas cepas entre 1 y 3 durante todo el cultivo.

El peso fresco promedio de los cuerpos de fructificación de *P. tenuiculus*, no mostró variaciones entre las dos cepas, el peso promedio de basidiocarpos de la cepa ICFC 383/00 fue de 5.52g y el de la cepa 233/00 fue de 4.98 g. Estos valores son similares a los obtenidos en los bloques de sustrato.

La morfología de los cuerpos de fructificación fue similar a los especímenes colectados sobre los bloques de sustratos o los coleccionados en la naturaleza. Los valores promedios de diámetro de los píleos de ambas cepas de *P. tenuiculus* variaron de 7.00 ±1.86 cm para la cepa ICFC 383/00 y 6.57±2.69 cm para la cepa 233/00, no obteniéndose diferencias significativas. Estos valores son 0.2 veces superiores con los obtenidos en los bloques de sustrato formulados con aserrín de sauce (AS, AS1 y AS2).

Los troncos de eucalipto inoculados con la cepa ICFC 383/00 de *P. tenuiculus*, tuvieron un seguimiento mensual durante la etapa de incubación, y al igual que ocurrió con los troncos de álamo, el período de incubación fue

de 12 meses. Una vez cumplida ésta etapa, fueron trasladados a la sala de fructificación, donde recibieron riego y luz a temperatura ambiente y los primordios comenzaron a aparecer a los 30 días aproximadamente del traslado.

Se obtuvieron fructificaciones en la mayoría de los troncos de *E. cinerea* durante toda la etapa de cultivo. Cuando se compara las EB de la cepa ICFC 383/00 de *P. tenuiculus* cultivada en troncos de *E. cinerea* con los valores obtenidos en *P. alba*, es posible observar que si bien en los troncos de *E. cinerea* se obtuvieron bajos rendimientos (12.5%), cuando es comparado con la EB obtenida por la misma cepa en *P. alba* no se encontraron diferencias significativas. Estos resultados fueron inesperados ya que en general ésta especie de eucalipto no es considerado un buen sustrato para cultivar hongos. Además, existen pocas especies de hongos comestibles que crecen sobre eucaliptos, en forma saprofítica, tal como *Gymnopilus spectabilis* var *pampeanus* (Speg.) Singer *o Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill (Wright y Deschamps 1975, Wright y Albertó 2002, 2006). En los últimos años se han realizado varias investigaciones con el fin de poder utilizar madera de especies de árboles disponibles en la zona, tal como el *Eucaliptus* sp. para el cultivo de hongos, hasta ahora solo se había podido cultivar en esta especie el shiitake (Queiroz *et al.* 2004, Pire *et al*. 2001, Albertó 2008).

Se evaluó el peso y el diámetro de los píleos de la cepa ICFC 383/00 de *P. tenuiculus* cosechados en troncos de *E. cinerea*. La morfología de los cuerpos de fructificación fue similar a la de los especímenes colectados de los bloques de sustratos y los obtenidos en troncos de álamo.

Los valores promedios de diámetro de los píleos de *P. tenuiculus* fueron de 7.24 cm y no tuvieron diferencias significativas cuando se compararon con los valores promedios para esta cepa obtenidos en tronco de álamo.

Se determinó el peso fresco promedio de los cuerpos de fructificación, el cual tuvo un valor promedio de 9.2 g y no mostró variaciones con los valores obtenidos en los especímenes de esta cepa colectados de tronco de álamo.

DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE *P. TENUICULUS* COSECHADOS DE SUSTRATOS TRADICIONALES

Se determinó la composición nutricional de esta cepa con el objeto de conocer qué nutrientes aporta la ingesta. Se colectaron cuerpos de fructificación de *P. tenuiculus* (250 g de una combinación de basidiocarpos jóvenes y maduros) de los bloques de sustrato (PT, PTs, AS, AS1, L y E).

La composición proximal de las muestras de hongos (expresadas en porcentaje de muestra seca) se realizó por triplicado. Se realizaron las siguientes determinaciones según la metodología propuesta por AOAC (1990): i) Humedad: secando en estufa a 100ºC hasta peso constante, ii) Cenizas*:* por incineración en una mufla a 550±15ºC, iii) Grasa cruda: extracción por Soxhlet utilizando hexano como solvente, iv) Fibra bruta: digestión con ácido y álcali y v) Proteína: se cuantificó mediante la determinación de nitrógeno total por el método de Kjeldahl utilizando como factor de conversión el valor de 4.38 (Miles y Chang 1997). La fracción de Extractivos No Nitrogenados (ENN), la cual incluye carbohidratos solubles, fue calculada por diferencia entre 100 menos todos los demás resultados obtenidos en el análisis proximal (Barros *et al.* 2008). En la Tabla 5 se presentan los valores del contenido de humedad, proteína, fibra bruta, cenizas, grasa cruda y carbohidratos solubles de los cuerpos de fructificación de *P. tenuiculus* cosechados de diferentes sustratos lignocelulósicos (PT, PTs, AS y AS1).

El contenido de humedad de los cuerpos de fructificación de *P. tenuiculus* no mostró diferencias significativas entre las muestras obtenidas de los diferentes sustratos, obteniendo un valor promedio de 90.0%, confirmando el alto contenido de humedad de estos productos (Breene 1990). Los resultados obtenidos en *P. tenuiculus* son similares a los informados por otras especies de hongos comestibles, tales como, *P. ostreatus*, *P. eryngii*, *P.*

pulmonarius, P. florida, P. sajor-caju y *Lentinula edodes,* los cuales varían entre 85.2 y 93.5% (Ponmurugan *et al.* 2007, Manzi *et al.* 1999, Bonati *et al.* 2004). Según Bano y Rajarathnam (1988), ésta variabilidad es exclusivamente dependiente de la especie de hongo, de la temperatura y la humedad relativa durante el crecimiento.

El contenido de cenizas de los basidiocarpos cosechados de los diferentes sustratos mostró diferencias significativas, el valor más bajo fue obtenido en PT (5.7%; $p<0.05$). Tal como fue informado para *P. ostreatus* y *P. sajor-caju,* el contenido de cenizas fue afectado por la composición del sustrato (Bonati *et al.* 2004). En la literatura se han citado valores 0.3 veces más altos para *P. ostreatus* cosechados de paja de trigo suplementada con remolacha (Manzi *et al.* 1999). Es importante resaltar que los sustratos ricos en N_2 (PTs y AS1) afectaron positivamente el contenido de cenizas, provocando un aumento del mismo. Este hecho implicaría un incremento de la biodisponibilidad de minerales que pueden ser ingeridos al consumir los hongos con la dieta (Silva *et al.* 2007).

El rango de valores obtenidos varió entre 10.6 y 15.9% (Tabla 5), siendo los sustratos suplementados (PTs y AS1) los que obtuvieron los mayores porcentajes de este componente ($p<0.05$). Estos valores están dentro del rango informado para *P. ostreatus*, *P. sajor-caju, L. edodes*, aunque existe una gran variabilidad en estos valores debido principalmente a la variación entre las distintas especies y cepas utilizadas (Bonati *et al.* 2004, Manzi *et al.* 1999).

Por lo tanto, se podría sugerir que para *P. tenuiculus* el tipo de sustrato utilizado para cultivo podría tener una influencia en la composición nutricional de los cuerpos de fructificación, ya que incrementó el contenido de proteína cuando se emplearon sustratos suplementados. Este mismo comportamiento fue observado en especies del género *Pleurotus*, cuya composición nutricional varió dependiendo de la cepa, composición del sustrato y estado de desarrollo del cuerpos de fructificación (Silva *et al.* 2007, Valencia del Toro *et al.* 2006, Shashirekha *et al.* 2005).

El contenido de grasa cruda fue mayor en los sustratos no suplementados, siendo el AS el que obtuvo el mayor valor ($p<0.05$). Por otro lado, el AS1 tuvo mayor porcentaje de grasa cruda que la PTs ($p<0.05$). El contenido de grasa cruda de *P. tenuiculus* fue similar al informado para otras especies (*P. ostreatus* y *P. sajor-caju*), donde además se encontraron diferencias en este componente entre los diferentes sustratos empleados (Ortega *et al.* 1993, Bonatti *et al.* 2004). En la Tabla 5 se observa que cuando el contenido de proteína aumenta en los sustratos suplementados, el contenido de grasa cruda disminuye, al igual que lo informado por Silva *et al.* (2007) para *P. sajor-caju* cultivado con sustratos con diferente composición de N_2.

Tabla 5. Composición proximal de los cuerpos de fructificación de *P. tenuiculus* cosechados de diferentes sustratos lignocelulósicos (en base al peso seco)

		Sustratos*		
Componentes (%)	PT	PTs	AS	AS1
Cenizas	5.7 ± 0.2^{a}	6.6 ± 1.1^{b}	6.5 ± 0.2^{b}	6.6 ± 0.1^{b}
Grasa cruda	8.6 ± 0.1^{c}	5.2 ± 0.1^{a}	9.2 ± 0.2^{d}	5.7 ± 0.4^{b}
Proteína	10.8 ± 0.3^{a}	15.8 ± 0.6^{b}	10.6 ± 0.2^{a}	15.4 ± 0.3^{b}
Carbohidratos	47.2 ± 0.9^{a}	48.2 ± 1.0^{a}	51.6 ± 0.7^{c}	48.2 ± 0.2^{a}
Fibra bruta	12.1 ± 0.2^{c}	7.5 ± 0.4^{a}	7.6 ± 0.2^{a}	8.3 ± 0.4^{b}
Humedad	89.1 ± 0.7^{a}	90.0 ± 0.2^{a}	89.9 ± 0.3^{a}	90.8 ± 0.1^{a}

* Valores expresados como porcentaje, promedios de tres réplicas. Se utilizaron letras para destacar la significancia estadística entre los valores obtenidos para cada sustrato en cada componente ($p<0.05$). Proteína: N x 4.38. PT: paja de trigo; PTs: paja de trigo suplementada con harina de soja (5%) y salvado de trigo (15%);

AS: aserrín de sauce; AS1: aserrín de sauce trigo suplementado con harina de soja (5%) y salvado de trigo (15%). En cuanto al contenido de fibra bruta, los valores más altos fueron obtenidos en los basidiocarpos cosechados de PT ($p<0.05$). Cuando se utilizó aserrín de sauce como sustrato, el mayor contenido de fibra bruta fue obtenido en AS1 ($p<0.05$), mientras que en paja de trigo, la adición de suplementos disminuye los valores de este componente ($p<0.05$). Este comportamiento puede deberse a las diferencias de componentes que tienen la paja de trigo y el aserrín de sauce. Los valores de fibra bruta informado para *P. tenuiculus* fueron inferiores comparados con los encontrados en la literatura, los cuales varían entre 20.0-34.8% en *P. ostreatus* cultivado en paja de trigo (Justo *et al.* 1999, Ragunathan y Swaminathan 2003). Por otro lado, se han registrado valores de fibra bruta similares para varias especies del género *Pleurotus* cultivados en diferentes residuos agro-industriales, comprendidos entre 7.6-18.0% (Patrabansh y Madan 1997, Bonati *et al.* 2004, Valencia del Toro *et al.* 2006). El amplio rango de valores reportados por diversos autores podría ser explicado por la influencia del sustrato empleado para cultivo y por las diferencias debidas a que son especies distintas.

El contenido de carbohidratos solubles tuvo los valores más altos en los cuerpos de fructificación obtenidos de AS ($p<0.05$). Por el contrario, los menores valores de este componente fueron obtenidos de hongos cosechados de paja de trigo (PT). El contenido de carbohidratos solubles obtenido en *P. tenuiculus* cosechado en PT fue similar al informado para especies del género *Pleurotus* cultivadas sobre diferentes residuos agro-industriales, comprendidos entre 42.8-47.7% (Patrabansh y Madan 1997, Ragunathan y Swaminathan 2003).

Estos resultados son similares a los obtenidos por otros investigadores en donde los sustratos utilizados afectaron las características nutricionales de los hongos comestibles. En el caso de *P. tenuiculus,* el cultivo sobre residuos lignocelulósicos suplementados (PTs y AS1) permitiría obtener cuerpos de fructificación con un alto contenido de proteína, bajas cantidades de grasa y carbohidratos. Por otra parte, el contenido de fibras y cenizas presentaron algunas variaciones entre ambos tipos de sustratos (PT-PTs y AS-AS1). Según Sturion y Oetterer (1995), el valor nutricional de los hongos puede ser enormemente afectado por el sustrato utilizado para el cultivo, tal como sucedió con nuestros resultados.

Al ser comparado con valores de composición nutricional de las especies más consumidas, tal como *Agaricus bisporus, L. edodes y P. ostreatus*, *P. tenuiculus* sobresale por su mayor contenido en fibras (2.5 veces mayor, aproximadamente); y con respecto al contenido de proteínas es similar al informado para *L. edodes* y *P. ostreatus*, y menor que el informado para *A. bisporus* (Chang *et al.* 1993). Estos resultados señalan a *P. tenuiculus* como un alimento especialmente rico en dichos componentes contribuyendo a la nutrición humana. Adicionalmente, Omarini *et al*. (2010a, 2010b) estudiaron las propiedades organolépticas de esta especie. Ellos describieron que el compuesto volátil mayoritario fue el 1-octen-3-ol y es uno de los compuestos responsable del olor característico de este hongo.

Mediante este estudio se definieron los parámetros de cultivo, tiempos requeridos y rendimientos en sustratos formulados y en troncos para poder cultivar una especie nunca antes cultivada.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas de la Argentina (CONICET) por el financiamiento de este trabajo.

REFERENCIAS

Albertó E (1995) Studies on fruitbody production of naturally occurring species of *Agaricus* in *A. bisporus* compost *Indian J. Mycol. Pl. Pathol* 25(3):266-269.

Albertó E (2008) *Cultivo Intensivo de los Hongos Comestibles*. Hemisferio Sur. Buenos Aires. 265 pp.

Albertó E, Curvetto N, Deschamps J, González Matute R, Lechner B (2008) Hongos Silvestres y de Cultivo en Argentina:

Historia, regiones y sistemas de producción, hongos silvestres de valor económico, consumo, mercado interno y externo, legislación, oferta tecnológica e investigación y desarrollo. En: Martínez-Carrera D, Curvetto N. Sobal M, Morales P, Mora VM (eds). *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI.* Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales: 19: 333-358. COLPOS-UNSCONACYT- AMC-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla. 648 pp.

Bano Z, Rajarathnam S (1988) *Pleurotus* mushrooms, part II. Chemical composition, nutritional value, post-harvest physiology, preservation and role as human food. *Crit. Rev. Food Sci. Nutrition* 27:87-158.

Barros l, Venturini BA, Baptista P, Estevinho LM, Ferreira ICFR. 2008. Chemical composition and biological properties of portuguese wild mushrooms: a comprehensive study. *J. Agric. Food Chem*. 56:3856-3862.

Bonati M, Karnopp P, Soares HM, Furlan SA (2004) Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chem*. 88:425–428.

Borges da Silveira RM (2001) Tesis doctoral: Contribución al conocimiento del género *Polyporus* s. str. (Basidiomycetes) en el Cono Sur de América en base a sus características morfológicas, biológicas y moleculares. Inédita. Biblioteca de la Facultad e Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

Breene WM (1990) Nutritional and medicinal value of specialty mushrooms. *J. Food Protect.* 53:883-894.

Campbell AC, Racjan M (1999) The commercial exploitation of the white rot fungus *Lentinula edodes* (shiitake). *Int. Biodeter. Biodegr*. 43:101-107.

Chang ST, Buswell JA, Miles PG (1993) *Genetics and Breeding of Edible Mushroom*. Godon and Breach Science Publishers, Amsterdam, 324 pp.

De León R (2003) Cultivation of edible and medicinal mushroom in Guatemala, Central America. *Micol. Apl. Int.*15:31-35.

Gaitán-Hernández R, Esqueda M, Gutiérrez A, Sánchez A, Beltrán-García M, Mata G (2006) Bioconversion of agrowastes by *Lentinula edodes*: the high potential of viticulture residues. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 71:432-439.

Garibay-Orijel R, Caballero J, Estrada-Torres A, Cifuentes R (2007) Understanding cultural significance, the edible mushrooms case. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* doi:10.1186/1746-4269-3-4.

Guzman G (2008) Diversity and Use of Traditional Mexican Medicinal Fungi. A review. *Int. J. Med. Mush.* 10(3):209-217.

Ishida H, Inaoka Y, Shibatani J, Fukushima M, Tsuji K. (1999) Studies of the active substances in herbs used for hair treatment. II. Isolation of hair regrowth substances, acetosyringone and polyporusterone A and B, from *Polyporus umbellatus* Fries. *Biol. Pharm. Bull.* 22:1189–1192.

Justo MB, Guzmán GA, Mejía EG, Díaz CLG, Martinez G, Corona EB (1999) Calidad proteínica de tres cepas mexicanas de setas (*Pleurotus ostreatus*). *Arch. Lat. Nutrición* 49(1):81–85.

Larraya LM, Alfonso M, Pisabarro AG, Ramirez L (2003) Mapping of genomic regions (quantitative trait loci) controlling production and quality in industrial cultures of the edible basidiomycete *Pleurotus ostreatus*. *Appl. Environ. Microbiol*. 69:3617-3625.

Lechner BE, Albertó E (2007) Optimal conditions for the fruit body production of natural occurring strains of *Lentinus tigrinus*. *Biores. Technol*. 98:1866-1869.

Manzi P, Gambelli L, Marconi S, Vivanti V, Pizzoferrato L (1999) Nutrients in edible mushrooms an inter-species comparative study. *Food Chem*. 65:477-482.

Miles PG, Chang ST (1997) *Biologia de las setas: fundamentos básicos y acontecimientos actuales*. Hong Kong: World Scientific 1997. 133 pp.

Nuñez M, Ryvarden L (1995) *Polyporus (Basidiomycotina) and related genera*. Fungiflora. Oslo. 85 pp.

Omarini AB, Lechner BE, Albertó E (2009) *Polyporus tenuiculus*: a new naturally occurring mushroom that can be industrially cultivated on agricultural waste. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 36:635–642.

Omarini A, Nepote V, Grosso N, Zygadlo J y Albertó E (2010a) Analysis and fruiting bodies characterization of the edible mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Polyporus tenuiculus* obtained on leaf waste from the essential oil production industry. *Int. J. Food Sci. Technol.* 45:466-474.

Omarini, AB, Henning C, Ringuelet J, Zygadlo JA, Alberto E (2010b) Volatile composition and nutritional quality of the edible -mushroom *Polyporus tenuiculus* grown on different agro-industrial waste. *Int. J. Food Sci.Technol.* 45:1603-1609.

Ortega GM, Martinez EO, Betancourt D, Gonzalez AE, Otero MA (1993) Enzyme activities and substrate degradation during white rot fungi growth on sugar-cane straw in a solid state fermentation. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 9:210–212.

Patrabansh S, Madan M (1997) Studies on cultivation, biological efficiency and chemical analysis of *Pleurotus sajor-caju*

(FR.) Singer on different bio-wastes. *Acta Biotechnology* 17:107–122.

Philippoussis A, Diamantopoulou P, Israilides C (2007) Produtivity of agricultural residues used for the cultivation of the medicinal fungus *Lentinula edodes*. *Int. Biodeter. Biodegr*. 59:216-219.

Philippoussis A, Zervakis G, Diamantopoulou P (2001) Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita, Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp. *World J. Microbiol. Biotechnol*. 17:191-200.

Pire G, Wright JE, Albertó E (2000) Cultivation of shiitake using sawdust of widely available local woods in Argentina. *Micol. Appl. Int*. 13:87.91.

Ponmurugan P, Nataraja SeKhar Y, Sreesakthi TR (2007) Effect of various substrates on the growth and quality of mushrooms. *Pakistan J. Biol. Sci*. 10:171-173.

Przybylowicz P, Donoghue J (1988) *Shiitake Growers Handbook*. The Art and Science of Mushroom Cultivation. Kendall/ Hunt Publishing Company, Dubuque, Iowa, USA.

Queiroz EC, Marino RH, Ferreira da Eira A (2004) Mineral supplementation and productivity of the Shiitake mushroom on *Eucalyptus* logs. *Sci. Agric*. 61:260-265.

Ragunathan R, Swaminathan K (2003) Nutritional status of *Pleurotus* spp. grown on various agro-wastes. *Food Chem*. 80:371-375.

Royse DJ (2001) *Cultivation of Shiitake on natural and synthetic logs*. The Pennsylvania State University. Penn State´s College of Agriculture Sciences on the web:http://www.caps.psu.edu.

Ruán-Soto F, Garibay-Orijel R, Cifuentes J (2004) Conocimiento micológico tradicional en la Planicie del Golfo de México. *Rev. Mex. Mic*. 19:59-70.

Ruán-Soto F, Garibay-Orijel R, Cifuentes J (2006) Process and dynamics of traditional selling wild edible mushrooms in tropical México. *J. Ethnobiol. Ethnomed*. 2:1746-4269

Sekiya N, Hikiami H, Nakai Y, Sakakibara I, Nozaki K, Kouta K, Shimada Y, Terasawa K (2005) Inhibitory effects of triterpenes isolated from Chuling (*Polyporus umbellatus* Fries) on free radical-induced lysis of red blood cells. *Biol. Pharm. Bull*. 28:817–821.

Shashirekha MN, Rajarathnam S, Bano Z (2005) Effects of supplementing rice straw growth substrate with cotton seeds on the analytical characteristic of the mushroom*, Pleurotus florida* (Block & Tao). *Food Chem*. 92:255-259.

Silva GE, Souza Díaz E, Siqueira FG, Schwan RF (2007) Chemical analysis of fructification bodies of *Pleurotus sajor-caju* cultivated in several nitrogen concentrations. *Ciênc. Tecnol. Aliment*. 27:72-75.

Stamets P (1993) *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms* (Press TS, ed.). Berkeley, USA, pp. 554.

Stamets, P (2005) *Mycelium running*. T.s. Press, Toronto, 339 pp.

Sturion GL, Oetterer M (1995) Composição química de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp.) originados de cultivos em diferentes substratos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 15:189–193.

Uhart M, Piscera JM ,Albertó E (2008) Utilization of new naturally occurring strains and supplementation to improve the biological efficiency of the edible mushroom *Agrocybe cylindracea. J. Ind. Microbiol. biotechnol*. 35:595-602.

Valencia del Toro G, Castelán Vega R, Garín-Aguilar ME, Leal Lara H (2006) Biological quality of proteins from three strains of *Pleurotus* spp. *Food Chem*. 94:494–497.

Wright JE, Deschamps JR (1975). Basidiomicetos xilófagos de la región mesopotámica II.Los géneros *Daedalea, Fomitopsis, Heteroporus, Laetiporus, Nigroporus, Rigidoporus, Perenniporia y Vanderbylia*. *Rev. Inv. Agrop. INTA, Serie 5, Pat. Veg.* 12:127-204.

Wright JE, Albertó E (2002) *Guía de hongos de la región pampeana. I. Hongos con laminillas.* Literature of Latin America (Lola). Bs. As. 278p.

Wright JE, Albertó E (2006) *Guía de hongos de la región pampeana. II. Hongos sin laminillas.* Literature of Latin America (Lola). Bs. As. 410 p.

Yildiz S, Yildiz UC, Gezer ED, Temiz A (2002) Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. *Process Biochem.* 38:301-306.

5.7 CULTIVO DE HONGOS COMESTIBLES SILVESTRES EN GUATEMALA: INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA

María del Carmen Bran, Roberto Cáceres, Osberth Morales

Unidad de Biodiversidad, Tecnología y Aprovechamiento de Hongos, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. Edificio T-12, 2º. Nivel, Ciudad Universitaria, zona 12, Ciudad de Guatemala, Guatemala, Centroamérica
Programa Universitario de Investigación en Desarrollo Industrial –PUIDI-, Dirección General de Investigación, Universidad de San Carlos de Guatemala. Edificio S-11, 3er. Nivel, Ciudad Universitaria, zona 12, Ciudad de Guatemala, Guatemala, Centroamérica
mdcbran@yahoo.com

RESUMEN

El presente trabajo resume los estudios impulsados por la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala –USAC-, con respecto al cultivo de especies de hongos comestibles silvestres de uso tradicional en Guatemala. Se presentan las experiencias de seis años de trabajo (2004-2009) en investigación, principalmente con cepas nativas de *Agrocybe cylindracea, Neolentinus suffrutescens, N. ponderosus* y *Schizophyllum commune*. Se describen también los logros en la transferencia de tecnología del cultivo de *Pleurotus albidus, P. djamor* y *P. ostreatus* en comunidades rurales del país, enfatizándose aquellos obtenidos por la Cooperativa COINPU R.L. y la Asociación ADIFE.

Palabras clave: cepas nativas, semilla, módulos de producción, comunidades rurales.

INTRODUCCIÓN

Guatemala es un país con un conocimiento ancestral sobre el consumo de hongos, en particular de los comestibles. Cerca de 80 especies se recolectan y consumen en más de veinte municipios, principalmente en aquellos que forman parte de alguna de las 23 comunidades etnolingüísticas que habitan el país (Sharp 1948, Lowy 1974, Sommerkamp 1990 y 1994, Bran *et al.* 2003a, Morales *et al.* 2010). Como parte de este conocimiento tradicional, se conocen diversas especies que crecen sobre madera o materia vegetal en descomposición, entre ellas, *Agaricus campestris* L.*, Agrocybe cylindracea, Armillaria obscura* (Schaeff.) Herink*, Auricularia* spp., *Neolentinus* spp., *Pleurotus* spp. y *Volvariella* spp., algunas de las cuales se cultivan desde la antigüedad en algunos países de Asia y en otros casos, se ha desarrollado la tecnología de cultivo (Chang y Miles 2004).

En la búsqueda de soluciones alimenticias y económicas que ayuden al desarrollo de Guatemala, se vio en los hongos una oportunidad para realizar bioprospección utilizando las especies que tuvieran potencial de ser cultivadas, y que además fueran conocidas por las comunidades rurales del país. Fue así como en el año 2001, se inició un extenso proyecto de investigación cuyo objetivo era establecer el inventario de las especies de hongos comestibles silvestres que se consumen tradicionalmente en el interior, principalmente en comunidades indígenas, el cual duró hasta el año 2004 ((Bran *et al.* 2001, 2002, 2003b y 2004).

Durante estos años se visitaron numerosos bosques y mercados del centro, occidente y norte del país, logrando documentar no solamente especies comestibles, sino que también se obtuvieron aislamientos y se formó un banco de germoplasma fúngico, con el cual se investigó el cultivo de varias especies a nivel de planta piloto. Durante los años 2007 a 2009 se desarrolló la tecnología del cultivo de cepas nativas de *Agrocybe cylindracea, Neolentinus ponderosus, N. suffrutescens* (Brot.) T.W. May & A.E. Wood y *Schizophyllum commune* (Bran *et*

al. 2007, 2008 y 2009), para su posterior transferencia a las comunidades rurales, y para contribuir a su desarrollo a través de una alternativa económica y alimenticia.

El objetivo de este trabajo es dar a conocer los avances en la investigación sobre el cultivo de hongos comestibles silvestres en Guatemala, así como los logros en la transferencia de tecnología principalmente en comunidades indígenas.

INVESTIGACIÓN

Aislamiento de cepas y estudios piloto

Durante la documentación de las especies comestibles se logró el aislamiento de 50 cepas de hongos comestibles saprobios, principalmente de los géneros *Pleurotus, Agrocybe, Neolentinus, Lepista* y *Schizophyllum,* las cuales constituyeron el germoplasma sujeto a investigación sobre el cultivo hongos comestibles en los años subsiguientes (Tabla 1).

Tabla 1. Cepas de hongos comestibles silvestres aisladas[1]

Especie	Aislamientos	Nombres comunes en idioma Español y otros de origen Maya
Agrocybe cylindracea (DC.) Maire	5	Hongo del Sauco, Hongo del Soico, Rukoxil Tunay Che' (Kaqchikel), Tx'yol B'aqman (Mam),
Neolentinus ponderosus (O.K. Mill.) Redhead & Ginns	3	Hongo de verano, Kulich (Chuj)
N. lepideus (Fr.) Redhead & Ginns	1	Oreja de Pino, Xikin Chaj (K'iche')
Pleurotus albidus (Berk.) Pegler	1	Saqitaj (Chuj), Saqtub' (Kaqchikel)
P. djamor (Rumph. ex Fr.) Boedijn	5	Saq Okox (Tzutujil), Saqitaj (Popti'), Saqiokox (Q'eqchi')
P. ostreatus (Jacq.) P. Kumm.	1	Hongo Blanco
Schizophyllum commune Fr.	5	Xikin che' (Itza'), Xikin kuk (Kaqchikel), Asam (Q'eqchi'), 'Asn (Chuj), Esem (Popti'), Isem (Poqomchi')

[1]: Fuente: Bran *et al.* 2003b y 2004.

En el año 2004 se comenzaron a realizar pruebas piloto sobre el cultivo de varios de los aislamientos, evaluándose la producción de semilla (inóculo) en sorgo para las cepas de *N. ponderosus, N. suffrutescens, P. djamor, P. ostreatus, P. albidus, Pleurocybella porrigens* (Pers.) Singer y *S. commune,* o paja de trigo para las cepas de *A. cylindracea* (Bran *et al.* 2004). Asimismo, se evaluó preliminarmente la eficiencia biológica de tres cepas de *N. ponderosus* sembradas sobre una mezcla de aserrín de pino y salvado de arroz (5%), obteniéndose los cuerpos fructíferos en un lapso de 165 a 182 días y con eficiencias biológicas de 17.8 a 38.3%. En el caso de *S. commune,* se evaluó una sola cepa, la cual produjo cuerpos fructíferos en 21 días, con una EB de 24%, utilizando el mismo sustrato donde se cultivó *N. ponderosus.* También fueron evaluadas dos cepas de *P. djamor* las cuales produjeron fructificaciones en un lapso de 80 a 122 días, con EB de 67.1 a 89.2%, en tanto que la cepa de *P. albidus* mostró una EB de 50.3% en un lapso de 100 días de cultivo (utilizando pulpa de café como sustrato). En esa ocasión no fue posible obtener cuerpos fructíferos de las cepas de *A. cylindracea* (Bran *et al.* 2004).

Para obtener un eficiente cultivo de cepas de *Pleurotus,* se deben seleccionar variedades adaptadas a diferentes sustratos y condiciones de cultivo, mediante procedimientos de mejoramiento genético de las cepas nativas, los cuales constituyen el medio por el que se obtienen nuevas cepas. Por tal motivo se efectuaron estudios de

mejoramiento genético del germoplasma de *Pleurotus* nativos, con el objetivo de seleccionar cepas de rápido desarrollo micelial y alta producción de cuerpos fructíferos. Para la realización del estudio se aislaron 11 monocariones de las cepas parentales de *P. djamor* var. *djamor* y de 12 de dos cepas de *P. ostreatus*. Producto de las cruzas se obtuvieron 12 dicariones: 4 de *P. djamor* var. *djamor* y 8 de *P. ostreatus*, mostrando todos ellos colonias con mayor diámetro que las parentales. En cuanto a la productividad, evaluada en pulpa de café, solamente un dicarión obtenido de las cruzas de *P. djamor* presentó la mayor eficiencia biológica sobrepasando a las cepas parentales. Ninguno de los dicariones de *P. ostreatus* cultivados en olote de maíz, superó a las cepas parentales (Bran *et al.* 2006).

Los resultados obtenidos en las investigaciones realizadas preliminarmente sirvieron como base para estudiar con mayor detenimiento cuatro especies: *Agrocybe cylindracea, Neolentinus suffrutescens, N. ponderosus* y *Schizophyllum commune.* Los resultados obtenidos en cada uno de los experimentos se resumen a continuación.

Cultivo de *Agrocybe cylindracea*

Uno de los hongos más apreciados en el occidente del país es *Agrocybe cylindracea*, especie que es utilizada como alimento por personas de la etnia Mam de los municipios de los departamentos de Quetzaltenango y San Marcos, lugares donde se denomina Tx'yol B'aqman u Hongo del Soico. También es apreciada por personas de la etnia Kaqchikel del municipio de Tecpán, Chimaltenango, donde se le conoce como Rukoxil Tunay Che'(Hostnig e*t al.* 1998, Bran *et al.* 2003a,b).

Dada la importancia de esta especie, se estudiaron cinco cepas nativas*,* evaluándose su crecimiento micelial*,* producción de inóculo y fructificación sobre dos sustratos. Se determinó que el medio agar extracto de malta (MEA) incubado a una temperatura de 18°C, fue el más adecuado para el cultivo de las cepas evaluadas. En la producción de inóculo, los granos de trigo fueron los más apropiados para el crecimiento de las cepas. Asimismo, todas las cepas colonizaron el sustrato constituido por paja de trigo y harina de soya. Solamente la cepa *A. cylindracea* 638.08 produjo cuerpos fructíferos en este sustrato, obteniéndose una eficiencia biológica de 15.2% (Tabla 2) (Bran *et al.* 2009).

Tabla 2. Condiciones de cultivo de cepas nativas de *Agrocybe cylindracea*

Parámetro	Medio/ Sustrato	Código				
		58.01	59.01	60.01	112.02	638.08
Crecimiento micelial (mm)[1]	PDA	43.02±23.69				
	MEA		37.77 ±20.92	36.74±21.95	32.44±18.64	42.89±23.28
Inóculo (días)[2]	Trigo	2.29±0.14	1.57±0.20	3.86±0.13	1.66±0.24	
	Cebada					1.79±0.20
Eficiencia biológica (%)[3]	HSP	-----	-----	-----	-----	15.23

1: Diámetro del micelio después de 21 días de incubación a 26°C; MEA: agar extracto de malta; PDA: agar papa dextrosa (media de 20 repeticiones ± desviación estándar).
2: Se estimó la Tasa de Extensión Radial (RER): $RER=X_2-X_1/T_2-T_1$ (mm/días), donde X_1 es el diámetro inicial de la colonia en mm, X_2 el diámetro final, T_1 el tiempo inicial en días y T_2 el tiempo final de incubación a 26°C.
3: Eficiencia Biológica ± desviación estándar; HSP: 29% de paja de trigo, 1% Harina de soya y 70 % de humedad, a temperatura ambiente.

Cultivo de *Neolentinus suffrutescens* y *N. ponderosus*

Neolentinus suffrutescens es una especie que se consume tradicionalmente en el departamento de Totonicapán, donde se le conoce con los nombres de Oreja de pino y Xikin Chaj (idioma K'iche'). *N. ponderosus* se utiliza en varias localidades del departamento de Huehuetenango, donde se le denomina Hongo de verano y Kulich (idioma Chuj). Ambas especies se recolectan durante los meses de marzo y abril (Bran *et al.* 2003a).

Aprovechando que estas especies son apreciadas en el país, se planteó la iniciativa para investigar las características miceliales de cultivo *in vitro* de cuatro cepas nativas para determinar el medio donde éstas presentaran un mejor desarrollo. Asimismo, evaluar la producción de inóculo para determinar el mejor sustrato y evaluar la productividad en función de la eficiencia biológica.

Como resultado del estudio se determinó que bajo las condiciones evaluadas, el medio más apropiado para el desarrollo micelial fue el medio MEA incubado a una temperatura de 26ºC. Para la producción de inóculo, el aserrín de pino incubado a la misma temperatura, resultó más adecuado para la cepa *N. ponderosus* 02.02, en tanto que para las restantes (*N. ponderosus* 02.03, *N. ponderosus* 145.02 y *N. suffrutescens* 90.02), fueron los granos de trigo. Para la producción de cuerpos fructíferos, las mejores eficiencias biológicas se observaron en el sustrato formulado con aserrín de pino enriquecido con 5% de salvado de arroz, incubados a temperatura ambiente. Se determinó que la cepa *N. ponderosus* 02.02 es promisoria para estudiar su cultivo y producción de cuerpos fructíferos (Tabla 3) (Bran *et al.* 2007).

Tabla 3. Condiciones de cultivo de cepas silvestres de *Neolentinus*

Parámetro	Medio/Sustrato	Código			
		02.02	02.03	145.02	90.02
Crecimiento micelial (mm)[1]	MEA	42.1±22.7	50.4±24.1	39.5±21.4	53.1±23.7
Inóculo (Días)[2]	Aserrín de pino	40.60±2.90			
	Trigo		41.07±2.89	40.60±2.89	30.33±4.32
Eficiencia biológica (%)[3]	AP + SA 5 %	29.91±4.73	12.84±4.33	21.62±6.78	11.27±2.99

1: Diámetro del micelio después de 12 días de incubación a 26°C; MEA: agar extracto de malta (media de 20 repeticiones ± la desviación estándar). 2: Días necesarios para colonizar y compactar 200 gramos de sustrato a 26°C. 3: Eficiencia Biológica ± desviación estándar; AP + SA 5%: sustrato formulado con 1 Kg de aserrín de pino más salvado de arroz al 5 %, a temperatura ambiente.

Cultivo de *Schizophyllum commune*

Schizophyllum commune es una especie de gran popularidad en el país, ya que se consume y vende en grandes cantidades en los mercados de varios municipios. Se conoce con varios nombres, entre ellos, Asam (idioma Q'eqchi), 'Asn (idioma Chuj), Esem (idioma Poqomchi'), Isem (idioma Popti'), Xikin Che' (idioma Itza') y Xikin Kuk (idioma Kaqchikel) (Bran *et al.* 2008).

Debido a que el consumo de *S. commune* está ampliamente difundido en Guatemala, se consideró pertinente estudiar el crecimiento micelial de cinco cepas nativas en diferentes medios de cultivo y temperaturas, la producción de inóculo sobre diferentes granos y la fructificación sobre varios desechos agrícolas y forestales. Como producto de esta investigación se establecieron las condiciones de cultivo de cada una de las cepas evaluadas, determinándose que los medios de cultivo agar PDA y MEA incubados a 26^{O}C son los más adecuados para el crecimiento micelial dependiendo de las cepas. Se determinó también que la producción de inóculo debe reali-

zarse en granos de trigo a 26ºC y la fructificación en rastrojo-olote de maíz picado (Tabla 4) (Bran *et al.* 2008).

Tabla 4. Condiciones de cultivo de cepas nativas de *Schizophyllum commune*

Parámetro	Medio/ Sustrato	Código				
		52.03	108.01	296.02	30.07	46.02
Crecimiento micelial (mm)[1]	PDA	48.71±27.11	45.16±26.19	43.98±25.10		25.48±3.35
	MEA				29.24±20.29	
Inóculo (Días)[2]	Trigo	10.30±0.73	14.00±1.77			
	Cebada			11.40±0.94	12.20±1.28	
						12.40±0.82
Eficiencia biológica (%)[3]	RMO	5.50±1.47	4.54±1.09	3.30±1.29	1.95±1.19	1.83±1.09

1: Diámetro del micelio después de 8 días de incubación a 26°C; MEA: agar extracto de malta; PDA: agar papa dextrosa (media de 20 repeticiones ± la desviación estándar).
2: Días necesarios para colonizar y compactar 200 gramos de sustrato a 26°C.
3: Eficiencia Biológica ± desviación estándar; RMO: rastrojo de maíz picado en fragmentos de 2-3 cm más olote de maíz picado en fragmentos de 2.0 a 3.0 cm (50: 50 porcentaje p/p).

TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA

En los inicios, la transferencia de la tecnología se realizó mediante 15 actividades de capacitación durante los meses de febrero a agosto de 2005, entrenándose a 245 personas quienes establecieron 235 módulos artesanales de producción de hongos comestibles. Durante el proceso se enseñó la producción de cuerpos fructíferos de *Pleurotus albidus* (Figura 1)*, P. djamor* var. *djamor* y *P. ostreatus*, utilizando la técnica de desinfección del sustrato por pasteurización en inmersión en agua caliente (60 minutos a 90°C) (Bran *et al.* 2005).

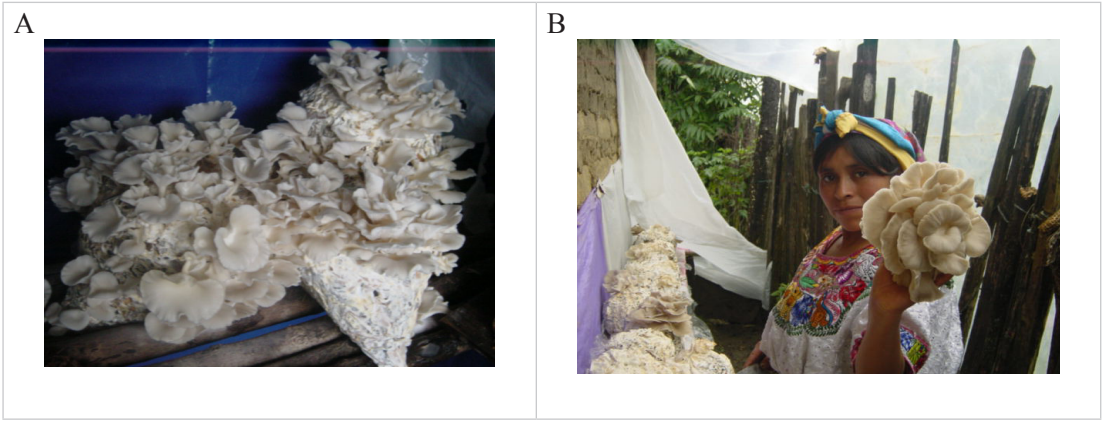


Figura 1. Cuerpos fructíferos de *P. albidus* producidos artesanalmente por mujeres de la etnia Chuj. A) Detalle de los sustratos en fructificación sobre olote de maíz. B) Vista del recinto de fructificación en condiciones rústicas y al aire libre.

El desecho más utilizado para el cultivo de *Pleurotus* spp. fue el olote (90.2% de los módulos), seguido de olote y pulpa de café (5.2%); el sustrato menos utilizado fue el rastrojo de maíz más pulpa de café (0.4%) (Tabla 5). Para asegurar la adecuada producción de los hongos en las comunidades, se efectuaron 52 visitas de campo entre los meses de marzo a diciembre, donde se supervisó a las personas capacitadas con relación a la construcción del módulo de producción, manejo de plagas, tratamiento de agua para riego y buenas prácticas agrícolas (Bran *et al.* 2005).

Tabla 5. Producción artesanal de *Pleurotus* spp durante el año 2005 en los 235 módulos establecidos

Departamento	Grupo	Módulos	Especie cultivada	Kg	EB (%)
Alta Verapaz	Talita Kumi	17		276.7	38.0
	INDIS	2		4.5	25.0
Chimaltenango	AFDISAL	1		97.5	71.0
	ADIFE	1		68.0	62.0
	Utz K'aslem	1		27.2	60.0
	COCODE	1		18.1	45.0
Guatemala	San Juan	1	*P. ostreatus*	9.5	24.0
Huehuetenango	ADECAF	12		40.8	75.0
Quetzaltenango	APROPA	2		27.2	75.0
San Marcos	Grupo Tacaná	4		15.9	87.0
Sololá	Visión Maya	45		483.98	21.0
	ADIFAS	46		272.1	18.0
	Santa Catarina	1		11.3	65.0
Huehuetenango	CISP-PRODEDI	100	*P. djamor*	45.4	63.0
	Bulej	1	*P. albidus*	46.3	85.0
	Total	235		1444.48	

Fueron más de doscientas personas, pertenecientes a 15 asociaciones comunitarias, las que se capacitaron en el cultivo de *Pleurotus* spp, sin embargo solamente dos de éstos grupos continuaron con el cultivo y buscaron financiamiento externo para lograr construir módulos formales, con el objetivo de aumentar la producción. A continuación se exponen los logros de las dos asociaciones del área rural que se han destacado por su trabajo y empeño en la producción de hongos comestibles.

ASOCIACIÓN DE DESARROLLO INTEGRAL FEMENIL EL ESFUERZO –ADIFE-

Antecedentes

En el año 1997 se conformó un grupo de mujeres y hombres que se denominó "Comité de desarrollo femenil El Esfuerzo hacia la superación", en el Parcelamiento la Giralda, del municipio de Tecpán Guatemala, en el departamento de Chimaltenango. Este primer grupo estuvo integrado por dieciocho mujeres y siete hombres. Las experiencias que se lograron con este pequeño comité permitieron que se realizaran algunos proyectos de beneficio social, sin embargo algunas personas perdieron el interés y se retiraron (ADIFE 2005).

Con el paso del tiempo, un pequeño grupo decidió reorganizarse y solicitar la validez jurídica y es así como el 12 de abril del año 2005 se constituye la Asociación de desarrollo integral del parcelamiento la Giralda "Femenil El Esfuerzo" –ADIFE-, la cual tiene como misión trabajar por el desarrollo de las familias y comunidad, promover proyectos de desarrollo sostenible y buscar soluciones o alternativas a los problemas que los afectan, procurando mejorar el nivel de vida de los asociados (ADIFE 2005).

Cultivo de *P. ostreatus*

En el año 2005, por iniciativa de la municipalidad de Tecpán, se reunieron diversas asociaciones de mujeres,

con el fin establecer módulos rurales para el cultivo de hongos comestibles, con el apoyo de la Unidad de Biodiversidad, Tecnología y Aprovechamiento de Hongos –BioTAH- de la Universidad de San Carlos. En el mes de junio de ese año se realizó una actividad de capacitación, en la cual se transfirió la tecnología del cultivo de *P. ostreatus* en condiciones rústicas, aplicando la técnica de desinfección por inmersión en agua alcalina (Contreras *et al.* 2004). A partir de esa fecha, con esfuerzo y con recursos propios las asociadas construyeron un módulo rústico, de madera y block, con techo de lámina de metal, en el cual se produjeron alrededor de 10 a 30 libras mensuales (Figura 2).



Figura 2. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* realizado por mujeres de la etnia Kaqchikel. A. Detalle de los sustratos en fructificación. B. Hongos producidos en un módulo rústico.

Esta producción continuó por más de tres años, hasta que el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación –MAGA- y la Fundación Ágil, reconstruyeron el módulo rústico con block, piso de cemento y techo de metal. En estas instalaciones funcionó la producción hasta febrero del año 2009, cuando por parte del Fondo Indígena Guatemalteco, se construyó un nuevo módulo con condiciones más adecuadas para el cultivo de *Pleurotus.* Los detalles del proceso de producción de hongos se muestran en la Tabla 6.

COOPERATIVA INTEGRAL DE PRODUCCION PUEBLO UNIDO (COINPU R.L.)

Antecedentes

Al finalizar el conflicto armado interno de Guatemala el 29 de Diciembre de 1996, se firmaron los Acuerdos de Paz. Como parte de ese proceso se firmó el Acuerdo "Bases sobre Incorporación de los miembros de Unidad Revolucionaria Nacional Guatemalteca –URNG- a la legalidad". A raíz de este Acuerdo Base, surgió La Comunidad 29 de Diciembre, en jurisdicción del municipio de Zaragoza, en el departamento de Chimaltenango, donde se ubicó un proyecto habitacional de cien viviendas de techo mínimo, que planificó la Fundación Guillermo Toriello (FGT) durante el año 1997 para igual número de familias de desmovilizados de la URNG (COINPU 2007).

Cultivo de *P. ostreatus*

Durante la primera quincena del mes de Octubre de 2005 se promovió una reunión en la comunidad 29 de

Diciembre, con la participación de la Universidad de San Carlos para dar información sobre el proyecto de cultivo de hongos comestibles, en la cual se interesaron 7 socios de la cooperativa COINPU. El 20 de Octubre de 2005, se inició el proyecto cultivo de hongo ostra, con un capital inicial de $860.00 USD aportado por los socios, recursos que se utilizaron para alquilar un terreno de 5x10 metros cuadrados y para realizar la primera fase de experimentación. Los resultados satisfactorios motivaron a los socios a seguir produciendo y ampliando el cultivo de hongo ostra. En el año 2009, se logró la aprobación de un proyecto para la construcción de un nuevo modulo de cultivo, por parte del Fondo Indígena Guatemalteco –FODIGUA-. En la actualidad el hongo ostra *P. ostreatus* se comercializa entre los habitantes de la comunidad (COINPU 2007) (Tabla 6).

Tabla 6. Sistemas y proceso de producción de hongos comestibles y semilla en condiciones rústicas

Actividad	Insumos / métodos	Proceso
Producción de cuerpos fructíferos *P. ostreatus*	Sustratos	Rastrojo y olote de maíz picados (*Zea mays*), tamaño de partícula entre 2-4 cm. (50:50 p/p)
	Desinfección	Inmersión en agua alcalina (cal comercial 2%) 36-48 horas.
	Siembra	A granel, sobre mesas de acero inoxidable desinfectadas con etanol al 70%.
	Cantidad de inóculo o semilla	5%
	Unidades de producción	Bolsas de 11.3 kg de capacidad, transparentes (peso con el sustrato húmedo entre 4.5 y 5.4 kg cada una), con respiradero de papel en la parte superior
	Incubación	Temperatura ambiente, en oscuridad por 25-40 días
	Fructificación	Anaqueles de madera o metal
	Agua para riego	Potable, desinfectada con hipoclorito de sodio al 1%
	Iluminación	Natural, 10-12 horas diarias
	Frecuencia de riego	3-4 veces por día
	Cosechas	3-4 durante un mes
	Producción	1-1.3 kg por bolsa (65-70% eficiencia biológica)
	Manejo de desechos	Mezcla de los desechos del cultivo con tierra para la agricultura
Producción de inóculo o semilla	Sustrato	Sorgo *Sorghum bicolor* lavado y humedecido por 16 horas
	Unidades de producción	0.5-1 Kg en bolsas de polipapel
	Esterilización	Autoclave, 121°C y 1.0 kg/cm^2, por 1 hora
	Inoculación o siembra	En cámara bacteriológica, inoculación de 5 cm^2 por unidad de producción
	Incubación	25-30 días en oscuridad
	Contaminación	2-3%, principalmente por *Aspergillus* spp y *Trichoderma* spp.
	Cantidad producida	30-50 kg mensuales, dependiendo de la demanda

Producción de semilla (inóculo)

Era de sumo interés para la Universidad de San Carlos de Guatemala, no solamente continuar con la transferencia de tecnología del cultivo de *Pleurotus* spp., sino también el de la producción de inóculo o semilla. Esta iniciativa nació debido a que muchos de los productores rurales (principalmente del occidente de Guatemala) no podían dar continuidad al cultivo de *P. ostreatus* por la escasez de semilla.

Para dar una solución a ese problema durante el mes de diciembre del año 2007 se inició la capacitación de dos personas en la producción de semilla, utilizando los métodos estándares de producción (Sánchez y Royse 2001), la cual continúa hasta la actualidad (Figura 3, Tabla 6).



Figura 3. Capacitación y producción de semilla en la Cooperativa COINPU. A) Transferencia de tecnología a miembros de la comunidad, explicación del uso de la autoclave. B) Producción de semilla en bolsas de polipapel utilizando sorgo como sustrato.

De acuerdo con los datos de comercialización, 39 grupos comunitarios que se dedican al cultivo de *P. ostreatus,* compran la semilla que produce COINPU. Estos grupos se encuentran ubicados en 13 departamentos y 25 municipios, principalmente de la parte central y occidental del país (Tabla 7, Figura 4).

Tabla 7. Municipios donde se cultiva *Pleurotus ostreatus* de acuerdo con la comercialización de semilla

Departamentos	Código	Municipios	No. de grupos
Baja Verapaz	1	Purulhá	3
Chimaltenango	2	San Andrés Itzapa	1
	3	San Juan Comalapa	2
	4	San Martín Jilotepeque	1
	5	Tecpán Guatemala	4
Escuintla	6	Escuintla	2
Guatemala	7	Villa Nueva	2
Huehuetenango	8	San Juan Ixcoy	2
	9	Santa Eulalia	2
Jalapa	10	Mataquescuintla	1
	11	San Pedro Pinula	1
Petén	12	Poptún	1
Quetzaltenango	13	Almolonga	1
	14	San Martín Sacatepéquez	1
Quiché	15	Chichicastenango	1

	16	Santa Cruz del Quiché	1

Continúa Tabla 7

Sacatepéquez	17	San Antonio Aguas Calientes	1
	18	San Bartolomé Milpas Altas	1
	19	Santa María de Jesús	2
	20	Santo Domingo Xenacoj	1
San Marcos	21	Nuevo Progreso	1
	22	San Marcos	2
Sololá	23	Panajachel	2
	24	San Andrés Semetabaj	1
Suchitepéquez	25	Mazatenango	2
		Total	39

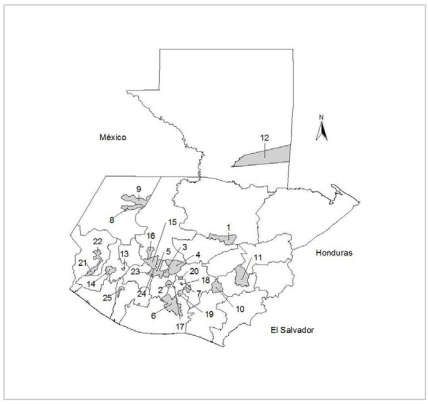


Figura 4. Localización geográfica de los productores de *P. ostreatus,* de acuerdo con la comercialización de semilla[1].

[1]Los números corresponden a códigos de los municipios indicados en la tabla 7.

PANORAMA ACTUAL

En Guatemala, a nivel comunitario, el cultivo de *Pleurotus* spp. dio origen en el año 1990, cuando por medio de un proyecto financiado por Chrisitian Children Foundation, se capacitó a personas de Santa María de Jesús, Sacatepéquez (De León 2003, 2007), esta actividad se ha difundido ampliamente en el país. Actualmente, diversas instituciones han capacitado personas en las áreas rurales y se ha informado de la existencia de proyectos de 150 grupos comunitarios, aproximadamente, dedicados al cultivo de especies de *Pleurotus*, estos grupos se encuentran ubicados principalmente en los Departamentos de Huehuetenango, San Marcos, Chimaltenango y Alta Verapaz. Estas familias y cooperativas venden el producto localmente o lo utilizan para su propio consumo. Únicamente la cooperativa Visión Maya ubicada en el Departamento de Sololá, ha llegado a vender el producto esporádicamente a supermercados de la cadena comercial Wall-Mart (De León 2010).

Varias organizaciones no gubernamentales, así como la Universidad de San Carlos de Guatemala, el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación –MAGA- y el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas –ICTA-, han ayudado en la asistencia técnica de los grupos que se dedican a la producción rural de *Pleurotus* spp*,* sin embargo el personal es insuficiente para cubrir la demanda.

Ante tal situación, desde el año 2008 la Universidad de San Carlos de Guatemala ha realizado diversos cursos sobre el cultivo de especies de *Pleurotus,* invitando a profesionales de amplia experiencia procedentes del Colegio de Postgraduados –COLPOS- y de El Colegio de la Frontera Sur –ECOSUR- ambos de México, para capacitar a personal relacionado con proyectos de cultivo de hongos en las diferentes instituciones del país, brindando de esta manera una mejor asesoría a los campesinos.

PERSPECTIVAS

La alta demanda de hongos comestibles ha generado un mercado competitivo y exigente de la calidad y diversidad de especies cultivadas, constituyendo un reto para los productores. Algunas asociaciones y personas individuales han logrado desarrollar la producción de hongos a niveles competitivos, que están evolucionando a pequeñas empresas semi - industrializadas, superando aquellos que aún mantienen su infraestructura rústica. Entre ellas se encuentra la cooperativa COINPU, que han logrado equipar y poner en funcionamiento un laboratorio de producción de semilla.

El desafío para los próximos años es lograr el cambio de la producción rústica a empresas semi o industrializadas, capaces de satisfacer la demanda de un mercado de hongos comestibles en el país y el exterior.

AGRADECIMIENTOS

Se reconoce a la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala, por el financiamiento otorgado a través de los proyectos PUIDI (años 2005 a 2010). A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por el apoyo logístico y económico otorgado. De manera particular a las personas de las comunidades rurales quienes aportando recursos, tiempo y dedicación hicieron posible que el cultivo de hongos se difundiera ampliamente en el país.

REFERENCIAS

ADIFE (2005) Plan estratégico empresarial 2006-2007. Informe final. Ministerio de Economía, Vice-ministerio para el desarrollo de la MIPYME, Dirección de servicios de desarrollo empresarial. Guatemala. 61p.

Bran M, Morales O, Cáceres R, Flores R (2001) Hongos comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula, Fase I. Informe técnico final. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Guatemala. 85 pp.

Bran M, Morales O, Flores R, Rodríguez E, Salazar J, Cáceres R, García L, Alarcón D (2002) Hongos comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula, Fase II. Informe técnico final. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Guatemala. 50 pp.

Bran M, Morales O, Cáceres R, Flores R (2003a) Contribución al conocimiento de los hongos comestibles en Guatemala. *Revista científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia,* Universidad de San Carlos de Guatemala (edición especial) 1 (1): 5-24.

Bran M, Morales O, Flores R, Rodríguez E, Salazar J, Cáceres R, García L (2003b) Hongos comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula, Fase III. Informe técnico final. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Guatemala. 48 pp.

Bran M, Morales O, Flores R, Rodríguez E, Salazar J, Cáceres R, Andrade C, Quezada A, Carranza C (2004) Hongos comestibles de Guatemala: diversidad, cultivo y nomenclatura vernácula, Fase IV. Informe técnico final. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Guatemala. 60 pp.

Bran M, Morales O, Cáceres R, Mazariegos A, Quan L, Flores R, Álvarez G (2005) Producción de inóculo de cepas nativas para estimular el cultivo de hongos comestibles en comunidades campesinas, como alternativa de autoconsumo y comercialización. Informe técnico final. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Guatemala. 27 pp.

Bran M, Morales O, Cáceres R, González M, Flores R (2006) Mejoramiento genético y producción de inóculo de cepas nativas de *Pleurotus* spp. Informe técnico final. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Guatemala. 44 pp.

Bran M, Morales O, Cáceres R, Blanco R, Flores R (2007) Caracterización *in vitro* y producción de cuerpos fructíferos

de cepas nativas de *Neolentinus ponderosus* y *N. lepideus*. Informe técnico final. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Guatemala. 53 pp.

Bran M, Morales O, Cáceres R, Flores R (2008) Caracterización y producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas del hongo comestible Asam (*Schizophyllum commune* Fr.). Informe técnico final. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Guatemala. 59 pp.

Bran M, Morales O, Cáceres R, Flores R (2009) Cultivo de cepas guatemaltecas del hongo comestible Tx'yol B'aqman (*Agrocybe cylindracea* (DC.: Fr.) Maire): caracterización y producción de cuerpos fructíferosMaire). Informe técnico final. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Guatemala. 46 pp.

Chang S, Miles P (2004) Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. 2nd Edition. CRC Press. Boca de Ratón, Florida, USA. 451p.

COINPU R. L. (2007) Proyecto Laboratorio para laboratorio de producción de semilla. Guatemala. 13p.

Contreras E, Sokolov M, Mejía G, Sánchez J (2004) Soaking of substrate in alkaline water as a pretreatment for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *J. Hort. Sc. & Biotechnol.* 79 (2): 234-240.

De León R (2003) Cultivation of edible and medicinal mushrooms in Guatemala, Central America. *Micol. Apl. Int.* 15 (1): 31-35.

De León R (2007) Cultivo de *Pleurotus* spp y buenas prácticas de manejo para la producción de cuerpos fructíferos inocuos. En: Sánchez J, Martínez-Carrera D, Mata G, Leal H (eds). *El cultivo de setas Pleurotus* spp *en México*. El Colegio de la Frontera Sur –ECOSUR, México. 1ª. Ed. 177-183.

De León (2010) Producción comercial de *Pleurotus* spp y *Lentinula edodes* en Guatemala. En: Martínez-Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora V (eds). *Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: avances y perspectivas en el Siglo XXI*. Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNSCONACYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla, México. 465-487.

Hostnig, R., R. Hostnig & L. Vásquez (1998) *Etnobotánica Mam*. GTZ, Guatemala. 366 pp.

Lowy B (1974) *Amanita muscaria* and the thunderbolt legend in Guatemala and Mexico. *Mycologia* 66 (1): 188-191.

Morales O, Bran M, Cáceres R (2010) Los hongos comestibles de uso tradicional en Guatemala. En: Martínez-Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora V (eds). *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNSCONACYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla, México. 437-464.

Sánchez J, Royse D (2001) *La biología y el cultivo de Pleurotus spp*. Ed. LIMUSA, S. A. México. 294p.

Sharp A (1948) Some fungi common to the highlands of Mexico and Guatemala and Eastern United States. *Mycologia* 40 (4): 499-502.

Sommerkamp Y (1990) *Hongos comestibles en los mercados de Guatemala*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Guatemala. 68p.

Sommerkamp Y (1994) Los hongos macromicetos de Guatemala. En*:* Ohi K, Torres MF (eds). *Piedras Hongo*. Museo de Tabaco y Sal, Japón. 67-72.

5.8 EL CULTIVO DE HONGOS EN MÉXICO: UNA INDUSTRIA CON POSIBILIDADES DE DIVERSIFICACIÓN

Gerardo Mata, Rigoberto Gaitán-Hernández y Dulce Salmones

Red de manejo Biotecnológico de Recursos, Instituto de Ecología, A.C., Carretera antigua a Coatepec No. 351, El Haya, CP 91070, Xalapa, Veracruz, México
gerardo.mata@inecol.edu.mx

RESUMEN

A pesar de que México posee una enorme tradición micófaga que se mantiene viva, las investigaciones sobre el cultivo de hongos comestibles son relativamente recientes. La producción comercial de hongos rebasa actualmente las 40 mil toneladas, de las cuales más de 95% corresponde al champiñón *Agaricus bisporus* y el resto a varias especies del género *Pleurotus*, conocidas popularmente como setas. También se producen de manera comercial otras especies como el shiitake *Lentinula edodes*. Si bien la industria del champiñón se estableció en México a partir de tecnología importada directamente de Europa y prácticamente sin la participación del sector académico nacional, el cultivo de setas ha sido impulsado fuertemente por las investigaciones realizadas en diferentes Instituciones del país. La demanda de hongos comestibles, medicinales y nutraceúticos ofrecen un nuevo abanico de posibilidades para el cultivo de especies lo que genera oportunidades temáticas de investigación que permitirán apoyar el desarrollo de la industria nacional.

Palabras clave: hongos comestibles, *Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinula*, champiñón, setas, shiitake, producción comercial.

INTRODUCCIÓN

México, pueblo micófago

México es un país que conserva una importante tradición en el consumo de hongos silvestres desde tiempos prehispánicos. Aunque se desconoce con exactitud el número de especies silvestres que son consumidas en el país, se estima que existen por lo menos 200 (Villarreal y Pérez-Moreno 1989) de las cuales 50% son comercializadas en los mercados tradicionales (Pérez-Moreno *et al*. 2010). En varios estados del centro de México, la venta de hongos silvestres durante la época de lluvias pone de manifiesto la diversidad e importancia de algunas especies que son designadas con nombres populares que hacen alusión a las principales características morfológicas de las mismas, así se pueden encontrar los hongos silvestres llamados "escobetas", "panalitos", "azulitos", "clavitos", "elotitos", "panzas", "trompas", "enchilados", incluso algunas especies mantienen sus nombres en lenguas indígenas como los "tecomates", "tzensos", "huitlacoche", "totolcoxcatl". La nomenclatura tradicional de los hongos es parte de un importante acervo cultural que se conserva aún en México. Guzmán (1997) por ejemplo, registró más de 1000 nombres comunes para designar a las especies comestibles silvestres en el país. El conocimiento etnomicológico existente en México permite que nuestro país pueda ser designado como un pueblo micófago (comedor de hongos). Dicho conocimiento es abundante y existen vocablos específicos para designar a los hongos en distintas lenguas indígenas como purépecha (Mapes *et al*. 1981), maya (Mata 1987), totonaco (Chacón 1988), náhuatl (Pérez-Moreno et al. 2008), zapoteco (Garibay Orijel 2009), lacandón (Ruan-Soto *et al*. 2009) y mazahua (Aguilar Cruz y Villegas 2010), entre otros.

El conocimiento tradicional de los hongos se muestra también en los diferentes dibujos, códices, esculturas y figuras de cerámica que han llegado hasta nuestros días. Entre los códices se encuentra un representación del

llamado "Lienzo de Zacatepec" en el que se muestra un cerro con una cabeza humana en la cima de la que brotan hongos, en clara alusión a los famosos hongos sagrados o alucinógenos (Guzmán y Mata 2002). Un caso particularmente interesante se refiere al nombre de uno de los municipios del estado de Tlaxcala: "Nanacamilpa". La toponimia del lugar indica que Nanacamilpa proviene de la palabra *nanacamilpan* en lengua náhuatl, vocablo a su vez, derivado de *nanaca* de *nanacatl*, que significa hongo; así como *mil* de *milli*, vocablo que indica cementera o campo sembrado; y finalmente *pan* cuya partícula implica en o sobre de, de tal modo que nanacamilpa quiere decir "campo sobre los hongos" o en la "cementera de los hongos" (Anónimo 2008). La existencia de este vocablo podría sugerir que en la zona se realizó algún tipo de manejo para la producción de hongos, sin embargo, no existe ninguna evidencia de ello. Si bien dicho conocimiento es ancestral, en México no se tienen registros del cultivo de hongos comestibles en la época prehispánica, lo que contrasta con los datos del cultivo de ciertas especies en Asia como *Auricularia auricula* (L.) Underw.,que se cultiva desde el año 600, *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, desde el año 800 y *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, desde el año 1000 de nuestra era (Miles y Chang s/f). El conocimiento tradicional de los hongos en México ha servido de base para la introducción de especies comestibles cultivadas, ya que los hongos han formado parte de la alimentación de nuestro pueblo y no son un producto ajeno a la cultura y la cocina nacionales.

Los temas más importantes en las investigaciones realizadas en México

Las investigaciones sobre el cultivo de los hongos comestibles en México comenzaron de manera sistemática en la década de los 80's. Si bien en un principio la temática principal fue la evaluación de la productividad de diferentes especies, los temas de investigación se diversificaron rápidamente abarcando aspectos básicos y aplicados (Figura 1) que han sustentado en buena medida el desarrollo del cultivo comercial de varias especies, principalmente del género *Pleurotus*.

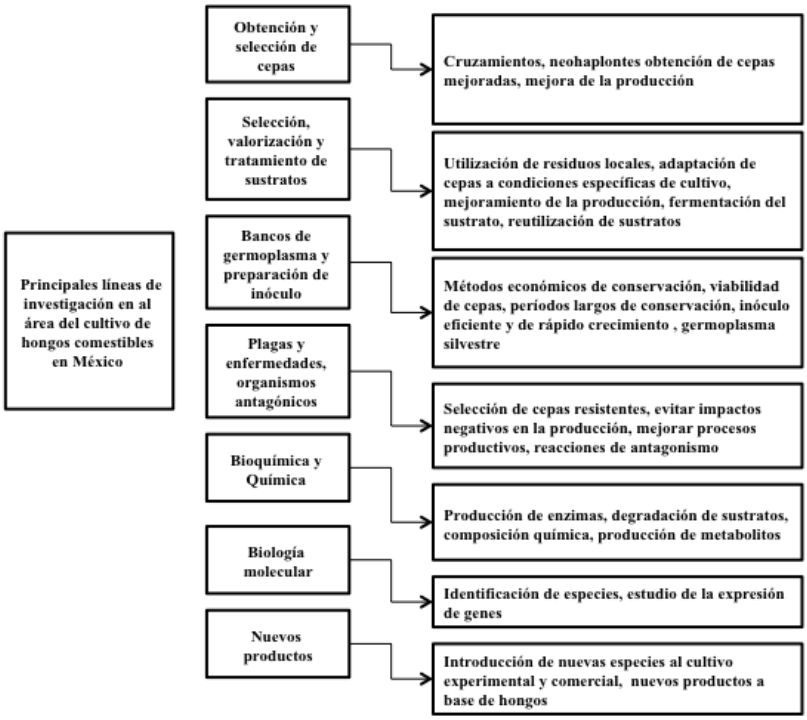


Figura 1. Principales temas de investigación abordados en México en relación al cultivo de hongos comestibles.

Según Mata *et al*. (2008) el tema "cultivo de hongos" representa 10% de los más de 600 trabajos publicados por la Revista Mexicana de Micología en sus primeros 40 años de existencia (1968-2008). En ese sentido se debe

destacar la importante participación de la revista Micología Aplicada International que durante más de 20 años ha sido un importante foro para la difusión de los resultados de la investigación en el área de la Biotecnología y el cultivo de hongos.

Sin duda alguna otro aspecto que ha contribuido al desarrollo de la temática del cultivo de hongos en México ha sido la publicación en español de libros especializados en el tema. Algunos de estos libros son considerados actualmente como "clásicos" y se encuentran agotados después de varias reimpresiones. La publicación de estos materiales ha impulsado la difusión del conocimiento y ha servido de apoyo básico para un numeroso grupo de pequeños productores que han encontrado en dichos libros las respuestas a la problemática cotidiana. Los temas comprendidos van desde las especies tropicales y subtropicales en lo general (Guzman *et al*. 1993), la Biología y cultivo de especies del género *Pleurotus* (Sánchez y Royse 2001, Sánchez Vázquez *et al*. 2007), el cultivo del champiñón (Sanchez *et al*. 2007) y la reciente publicación de un libro que reúne la experiencia de América Latina (Martínez-Carrera *et al*. 2010). En varias instituciones de México se han publicado además manuales prácticos sobre el cultivo de diversas especies comestibles, los cuales explican de manera sencilla la metodología general del cultivo incluyendo, de manera ilustrada, el proceso de preparación del inóculo, sustrato, siembra y cosecha. La realización de foros ha sido otro elemento detonador del intercambio de ideas y ha permitido la interacción entre los grupos que realizan investigación en el área. En la última década se han realizado varias reuniones académicas que han permitido la interacción de productores, investigadores, estudiantes y autoridades en torno a la problemática del cultivo de hongos comestibles: I Simposio Latinoamericano de Cultivo de Hongos Comestibles (Xalapa 2000), Fourth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (Cuernavaca 2002), I Reunión Nacional Sobre el Cultivo de *Pleurotus* (San Cristobal de las Casas 2005), Curso Internacional Sobre el Cultivo, Mercadotecnia e Inocuidad Alimenticia de *Agaricus bisporus* (México D.F. 2007), I Taller Iberoamericano de Hongos Comestibles (San Cristobal de las Casas 2010). Además, la reciente creación de la Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales ha promovido el intercambio de información y ha facilitado el contacto entre los miembros de la Red en diferentes países.

Los principales hongos cultivados

En México, el cultivo comercial de hongos se ha realizado durante más de 70 años (Martínez-Carrera y Larqué-Saavedra 1990, Martínez-Carrera 2000) y actualmente, la producción comercial se estima en más de 46 mil toneladas anuales (Martínez-Carrera y López-Martínez de Alva 2010). Las principales especies cultivadas son *Agaricus bisporus* (champiñón), *Pleurotus* spp. (setas) y *Lentinula edodes* (shiitake). De éstas, el champiñón representa casi 94% del total de hongos producidos a nivel nacional.

Generalidades del cultivo de las tres principales géneros de hongos en México

1) Agaricus bisporus (J.E. Lange) Imbach
De las más de 46 mil toneladas de hongos frescos que se producen en el país, *Agaricus* representa 93.7% de la producción total, *Pleurotus* 6.3% y *Lentinula* tan sólo 0.04% (Martínez-Carrera y López-Martínez de Alva 2010). En México, el cultivo de hongos comestibles se ha realizado a pequeña y gran escala, esta última representada mayoritariamente con la producción de *Agaricus*. Durante su historia en México, el cultivo de champiñón se ha llevado a cabo por varias compañías, algunas ya desaparecidas, las más representativas son: Grupo Monte Blanco, Champiñones Los Altos, Champiñones de Occidente, Champiñones San Miguel, Champiñones de Camargo, Champiñones Las Capillas, Agroindustrias Marvel, Michoacana de Champiñones, Alimentos Selectos de Tlaxcala, Riojal, entre otras. La ubicación de estas empresas ha sido a lo largo del territorio nacional, desde Chihuahua, Estado de México, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Puebla, San Luis Potosí, Tlaxcala y Veracruz, principalmente.

El interés por el cultivo y consumo de este hongo en el país se ha mantenido de manera constante desde sus

inicios y esto ha sido, en parte, gracias a la difusión que se ha dado en medios de comunicación, publicaciones, realización de conferencias internacionales, entre otras, que han permitido conocer empresas de producción comercial, especialistas y proveedores de materias primas, insumos, equipos, herramientas y maquinarias, indispensables para una producción rentable y exitosa. Así también, la inversión de capital extranjero en esta industria ha sido crucial para su establecimiento y desarrollo.

Los sistemas actuales de producción comercial de champiñón en México son el americano, el holandés y el francés. El sistema americano es conocido también como "sistema en camas" y se caracteriza por utilizar una base de madera donde se coloca el sustrato de crecimiento del hongo (composta). El sistema holandés, como su nombre lo indica, fue creado en Holanda y se trata de un proceso de producción de champiñones con la mayor tecnología, es conocido también como sistema de bandejas. Por su parte el sistema francés, se trata del cultivo en bolsa plástica y es ampliamente utilizado por ser práctico y ajustable a diferentes niveles de inversión.

El cultivo del champiñón se divide en las siguientes etapas: Fermentación al aire libre (Fase I o compostaje), fermentación controlada (Fase II o pasteurización), siembra e incubación, cobertura, inducción, producción, cosecha y manejo post-cosecha.

Durante la fase I se lleva a cabo, por la acción de microorganismos como bacterias y hongos, la transformación de los materiales empleados en la composta, para generar un sustrato adecuado para el desarrollo del champiñón. Este proceso es conocido como compostaje. Durante esta etapa el sustrato es removido periódicamente durante 3 a 4 semanas para permitir la obtención de un material homogéneo. Los materiales utilizados en México pueden variar según la región de producción. Estos pueden ser pajas de cebada, trigo, avena, bagazo de caña, además de suplementos como harinas de soya, cártamo, así también urea y gallinaza para acelerar el proceso de fermentación y proveer al sustrato de nitrógeno. Posteriormente el sustrato o composta sufre un tratamiento térmico por medio de pasteurización con el propósito de eliminar o reducir las poblaciones microbianas que se desarrollan durante el compostaje y de esta manera el sustrato tendrá las características específicas ideales para el adecuado crecimiento del champiñón.

La siembra es realizada al terminar la Fase II, cuando la temperatura de la composta se encuentre entre 20 y 24°C (Chang y Miles 2004). Este proceso se realiza con inóculo de champiñón previamente preparado en semillas de centeno, avena o mijo, entre otras. La siembra se lleva a cabo por medio de máquinas que mezclan el sustrato y el inóculo de manera automatizada, y colocan el sustrato en un recipiente adecuado, según el sistema de producción empleado.

Previo a la fructificación del hongo, es necesario aplicar al sustrato tierra de cobertura. Se trata de una combinación de turba (peat moss) y otros ingredientes, que tiene por función mantener un microambiente donde las condiciones de humedad, temperatura y CO_2 sean favorables para el desarrollo del hongo. Una vez invadida la tierra de cobertura por el micelio, se procede a la inducción, la cual consiste en disminuir la temperatura del cuarto de 27-28°C a 14-16°C, lo que provoca la formación de primordios. Posteriormente viene la cosecha. En México las áreas de producción de champiñón son, en su mayor parte, invernaderos automatizados con control de los parámetros ambientales como humedad, temperatura y ventilación.

2) Pleurotus spp.

Las especies del género *Pleurotus* son popularmente conocidas como orejas blancas u orejas de izote o cazahuate (Guzmán 1977), comercialmente han sido introducidas al mercado con el nombre de "setas". Este término es aplicado en México únicamente para referirse a las especies del género *Pleurotus* mientras que en España se utiliza de manera general para referirse a los hongos macroscópicos que presentan forma de sombrilla, repisa.

Estos hongos son de fácil cultivo y pueden desarrollarse en una gran variedad de sustratos lignocelulósicos

(Muez y Pardo 2001, Oei 2003, Poppe 2004); actualmente el género ocupa el tercer lugar de los hongos cultivados a nivel mundial, después de *Agaricus* y *Lentinula*, siendo China, Japón, Corea y Tailandia los principales productores (Chang y Miles 2004). De los géneros de hongos cultivados, *Pleurotus* tiene varias especies de una importancia económica significativa, entre ellas *Pleurotus ostreatus* (Jacq. : Fr.) P. Kumm. y *Pleurotus pulmonarius* (*P. florida* Eger s. auct.) (*P. ostreatus* var. *florida* Eger). Éstas especies están distribuidas en Europa, Asia y Norte América en donde se les conoce como "oyster mushroom", al primero y "phoenix-tail mushroom" al segundo (Buchanan 1993, Guzmán *et al.* 1993). De las más de 20 especies reconocidas y variedades cultivadas a través del mundo (Buchanan 1993), *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* se cultivan comúnmente en países tropicales de manera comercial, y aunque la presencia de formas silvestres de *P. ostreatus* en México está en discusión (Guzmán 2000, Camacho Sánchez 2010), el cultivo de ambas especies sobre diversos residuos lignocelulósicos, empleando cepas extranjeras, ha tenido un gran desarrollo en México. Se han realizado además estudios con *P. djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn, una especie de amplia distribución pantropical que presenta dos variedades morfológicas: *P. djamor* var. *djamor* con fructificaciones blancas y *P. djamor* var. *roseus* con basidiomas color rosa. Esta especie representa una alternativa de producción con amplio potencial por sus ciclos de cultivo cortos y por su capacidad de desarrollarse a temperaturas superiores a 30°C. Por otra parte, México es uno de los países con mayor generación de residuos orgánicos, cuya disponibilidad representan una ventaja para el cultivo de *Pleurotus*. Las diferentes investigaciones realizadas con este hongo han impulsado la evaluación de más de 30 residuos lignocelulósicos tan diversos como las pajas de cereales, los subproductos de la cosecha del café, de la caña de azúcar, del maguey tequilero, del maíz, del frijol, hojas de plantas, hojarasca, cáscaras, entre otros (Mora y Martínez-Carrera 2007).

Entre los sustratos evaluados algunos sobresalen por presentar alta productividad como la pulpa de café, paja de cebada, rastrojos de jícama, maíz y tomate, entre otros (Tabla 1). Los trabajos del cultivo de *Pleurotus* inician en la década de los 80´s, con la propuesta de tecnologías simples y un modelo de cultivo relativamente fácil de desarrollar. En la actualidad, existen varios grupos académicos, distribuidos en todo el país, dedicados al estudio de *Pleurotus*. Algunas de las investigaciones que se han realizado o que se encuentran en marcha se han enfocado a temas como optimización de residuos agrícolas como sustrato de cultivo, selección genética de cepas con alta productividad y resistentes a enfermedades, así como las técnicas de conservación, ensayos con organismos antagónicos, bioconversión de residuos por fermentación sólida, mejoramiento de inóculo, entre otros. Algunos de los artículos que reportan trabajos desarrollados sobre esta temática son: Guzmán *et al*. 1994, Guzmán *et al.* 1995, Salmones *et al*.1995, Gaitán-Hernández y Salmones 1996, Salmones *et al*. 1997, Vogel y Salmones 2000, Salmones y Mata 2002, Valencia del Toro y Leal-Lara 2002, Coutiño *et al*. 2004, Mata *et al*. 2004, Velázquez-Cedeño *et al*. 2006 a, Salmones y Mata 2007. También se ha estudiado la producción de enzimas extracelulares en cultivos de *Pleurotus* con la finalidad de identificar las adaptaciones fisiológicas desarrolladas por estos hongos para lograr la degradación del sustrato, lo que permite seleccionar cepas altamente transformadoras de compuestos antifisiológicos y/o capaces de reducir sustancialmente el contenido lignocelulósico del sustrato, como por ejemplo: Salmones y Mata 2002, Pardo y García 2002, Velázquez-Cedeño *et al.* 2002, Mata *et al*. 2005, Salmones *et al.* 2005, Salmones y Mata 2005.

En la actualidad, existen en México empresas capaces de cultivar *Pleurotus* usando alta tecnología, pero en la gran mayoría se trata de compañías pequeñas que lo siguen produciendo de manera rústica (Martínez-Carrera *et al*. 2010). El proceso se basa en utilizar sustratos que sufren un tratamiento térmico previo, con la finalidad de disminuir la flora microbiana nociva que está presente en el mismo. En algunos casos, los sustratos se compostean, sobre todo cuando se trata de grandes volúmenes de producción a nivel industrial. Sin embargo, a pesar de la importancia que tiene la transformación del sustrato por medio de la fermentación, las investigaciones realizadas en este tema aún son escasas. Algunas de ellas son las de: Velázquez Cedeño *et al*. 2006 b, 2008, Mata y Torres Hernández 2008, Barrios Espinoza *et al*. 2009). En México el sustrato se somete a un tratamiento térmico, por medio de dos métodos principales: inmersión en agua caliente o inyección de vapor. Además, aunque no se trata de un tratamiento térmico propiamente dicho, se ha utilizado también con

bastante éxito la inmersión del sustrato en una solución alcalina. Las contribuciones que han aportado a este respecto son: Bernabé-González y Cayetano-Catarino 2009, Contreras *et al*. 2004, De León-Monzón *et al*. 2004, Bautista-Galvez *et al.* 2005. Después del tratamiento térmico, el sustrato se siembra bajo condiciones de asepsia, de forma manual (cultivo rústico) o por medio de máquina semiautomatizada (cultivo industrial). Las condiciones de incubación permiten que el sustrato sea invadido por el micelio y posteriormente de desarrollan las fructificaciones bajo invernaderos climatizados o galeras rústicas con control limitado de variables ambientales.

3) *Lentinula edodes*

El llamado shiitake japonés *Lentinula edodes*, también conocido como Xiang-gu u hongo de encino, es uno de los hongos mejor conocidos y más estudiados. Este hongo se ha cultivado en troncos, pero este sistema de producción se ha venido sustituyendo paulatinamente por un método más moderno que utiliza bolsas de plástico con sustratos lignocelulósicos (Oei 2003, Chang y Miles 2004, Chen 2005).

La producción de shiitake a nivel mundial se estima en casi 900,000 toneladas. Actualmente uno de los principales productores es China, con una producción de ~75,000 t de hongo seco. El cultivo del shiitake se ha expandido desde China a Australia, Estados Unidos, Canadá, Alemania, Francia, Italia, Holanda y algunos países de América Latina como Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Guatemala y México (Kües y Liu 2000, Lin *et al*. 2000, Savoie *et al*. 2000, Lahman y Rinker 2004). En México, la producción registrada de esta especie en 2002 fue de 30 t de hongos frescos (Lahman y Rinker 2004), sin embargo, en 2009 se reportaron sólo 18.2 t (Martínez-Carrera y López- Martínez de Alva 2010).

Para el cultivo de shiitake, tradicionalmente se utilizan maderas duras (Chang y Miles 1989, Kozak y Krawczyk 1993, Sobata y Nall 1994), pero como se ha mencionado previamente, un sistema más eficiente y rápido se ha enfocado a utilizar un sustrato con aserrín enriquecido el cual es colocado en bolsas de plástico (Przybylowicz y Donoghue 1990, Chen 2005). Este método permite obtener altos rendimientos en poco tiempo y en espacios relativamente reducidos. También se han probado distintos sustratos alternativos, los cuales generalmente son abundantes de manera local y de precio accesible (Chen 2005). La selección de los sustratos alternativos está fuertemente ligada a la selección de cepas con capacidad para crecer y fructificar en dichos sustratos a través de la producción de enzimas capaces de degradarlo (Mata y Savoie 1998).

En México se ha ensayado la producción de *L. edodes* en virutas de madera de diferentes árboles como *Carpinus*, *Bursera*, *Alnus, Quercus* y *Eliocarpus*, entre otras (Mata *et al*. 1990, Morales y Martínez-Carrera 1991, Morales *et al*. 1991). Así mismo en residuos agroindustriales como la pulpa de café, el bagazo de caña de azúcar y los residuos del cultivo de la vid (Mata y Gaitán-Hernández 1992, 1994, Salmones *et al*. 1999, Gaitán-Hernandez *et al*. 2006).

Con la finalidad de disminuir los costos de producción de shiitake, se ha desarrollado un método que permite utilizar paja de cereales pasteurizada con vapor como sustrato para el cultivo (Delpech y Olivier 1991). Este proceso requiere de una rigurosa selección de cepas así como de la producción de inóculo de rápido crecimiento que ayude a limitar la aparición de mohos antagonistas (Mata *et al*. 1998, 2001, 2002, Savoie *et al*. 2000, Mata y Savoie 2005 a, b). En México se han realizado avances sobre el cultivo del shiitake en paja de cereales pasteurizada (Gaitán-Hernández y Mata 2004, Peralta Márquez y Frutis Molina 2010), sin embargo, esta tecnología no se ha implementado aún a nivel comercial.

Los trabajos desarrollados en México sobre esta especie no sólo se han enfocado a su cultivo en sustratos alternativos como los ya citados, también se han realizado investigaciones que han tenido el objetivo de seleccionar cepas que se adapten a los diferentes residuos probados, ensayos con hongos antagonistas, hibridación, mejoramiento de inóculo y condiciones de cultivo para incrementar los rendimientos (Mata y Guzmán 1989, Savoie *et al*. 2001, Mata *et al*. 2002, Ramírez-Carrillo y Leal Lara 2002).

Tabla 1. Eficiencias biológicas citadas en algunos de los estudios realizados en México sobre cultivo de *Pleurotus* spp.

Especie	Sustrato	Eficiencia biológica (%)	Fuente bibliográfica
Pleurotus spp.	Paja de trigo	17-74	Valencia del Toro *et al*. 2003
Pleurotus djamor	Pulpa de café	52-92	Hernández-Ibarra *et al*. 1995
	Paja de cebada	25-123	Gaitán-Hernández y Salmones 1999
	Rastrojo de calabaza	130	Cetz *et al*. 2000
	Paja de cebada	53.6-114.4	Salmones *et al*. 2004
	Rastrojo de maíz/de alabaza /henequén	3.5-83.9	López-Cobá *et al*. 2005
	Pulpa de café	116-178	Huerta *et al*. 2009
P. ostreatus	Pulpa de café-paja de cebada	102.6	Martínez-Carrera *et al*. 1985
	Pulpa de café	142-152.7	Soto-Velazco *et al,* 1987
	Bagazo de maguey/paja de trigo	96.4	Soto-Velazco *et al.* 1989
	Bagazo de maguey tequilero		Guzmán-Dávalos *et al*. 1987 a
	Cáscara de cacahuate/hojas de maíz	95-144	Bernabé-González y Arzeta-Gómez 1994
	Paja de sorgo/cáscara de cacahuate	108-132	Bernabé-González y Garzón- Mayo 1995
	Hojas de caña de azúcar	40.9-70.6	Mata y Gaitán-Hernández 1995
	Paja de cebada/pulpa de café	59-82	Gaitán-Hernández y Salmones 1996
	Olote/rastrojo de maíz	67.7	De León-Monzón *et al*. 2004
	Viruta de pino/paja de cebada	27.9-106	Pérez-Merlo y Mata 2005
	Rastrojo de tomate/madera de vid/paja de trigo	92-139	Sánchez *et al*. 2008
	Tallos de Jamaica/de plátano-paja de arroz	69.4-99.8	Cayetano-Catarino, Bernabé-González 2008
	Pasto pangola	91-117	Barrios-Espinoza *et al*. 2009
P. pulmonarius	Bagazo de caña	44-49	Guzmán-Dávalos *et al*. 1987 b Sánchez *et al*. 2008
	Fibra de coco/pulpa de café	80.6-152.2	Bernabé-González *et al*. 1993
	Hojas de caña de azúcar	79-84.4	Mata y Gaitán-Hernández 1995
	Paja de cebada/pulpa de café	118-125	Gaitán-Hernández y Salmones 1996
	Rastrojo de jícama/maíz/maguey/paja de arroz	111.1-163.7	Bernabé-González *et al*. 2004
	Rastrojo de tomate/madera de vid/paja de trigo	112-118	Sánchez *et al*. 2008
	Tallos de Jamaica/de plátano /paja de arroz	64.5-96.4	Cayetano-Catarino, Bernabé-González 2008
	Pulpa de café	110-140	Huerta *et al.* 2009

Continúa Tabla 1.

P. eryngii	Paja de cebada	55.7-71.2	Gaitán-Hernández *et al*. 2009
	Paja de cebada/viruta de encino	49-57	Gaitán-Hernández 2005

En la actualidad es notable el poco éxito de las plantas comerciales de shiitake establecidas en México, la mayoría enfrenta problemas de mercado, comercialización y abasto; no se cubre la demanda existente. A pesar de que algunos empresarios han logrado un desarrollo eficaz, con técnicas propias de cultivo de shiitake en diferentes sustratos, es necesario un constante mejoramiento de los sistemas de producción y la solución de problemas cotidianos como la disponibilidad de inóculo y la adaptación de la tecnología.

PERSPECTIVAS

La diversidad biológica de México ofrece posibilidades interesantes de especies que pueden incorporarse al cultivo con algún uso bien definido. De esta forma destacan las especies medicinales, algunas de las cuales ya se han popularizado a causa de la publicidad que se realiza en los medios masivos de comunicación. *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., se conoce popularmente como el "hongo michoacano", cuando en realidad se trata de una especie que no crece silvestre en México (Torres Torres 2007). Esta especie se cultiva de forma masiva en Asia, principalmente en China en donde se le conoce como Ling Zhi y en Japón en donde se le denomina Reishi (Chen 2004), y sus propiedades terapéuticas están bien demostradas. El cultivo de *G. lucidum* podría ser introducido en áreas con clima subtropical que son relativamente abundantes en nuestro país en donde los sustratos para su cultivo son fáciles de conseguir. Algunas especies filogenéticamente cercanas a *G. lucidum*, crecen de manera silvestre en México y sería importante estudiar sus capacidades para producir metabolitos y determinar las propiedades terapéuticas de los mismos. Sin embargo, la identificación taxonómica en este grupo, requiere de la participación de especialistas ya que se trata de un grupo complejo en donde la mayor parte de estas especies muestran una enorme semejanza morfológica con *G. lucidum*.

Otra especie muy interesante que con certeza ganará importancia en México es *Agaricus subrufescens* Peck (= *A. blazei*), un hongo comestible y medicinal que actualmente es considerado como un "hongo gourmet". Esta especie fue inicialmente colectada en Brasil y después ha sido intensamente estudiada en Asia, se ha confirmado que este hongo activa significativamente el sistema inmune (de Mendoza *et al*. 2005). Actualmente *A. subrufescens* es comercializado con varios nombres, entre los que se incluyen cogumelo de vida, himematsutake, agarico de sol real y hongo almendra. Entre los principales atractivos del cultivo de *A. subrufescens* destaca su capacidad para crecer a temperaturas relativamente altas, lo cual potenciaría amplias regiones de México para su cultivo.

Entre las especies que tienen un futuro prometedor para su cultivo en México se encuentra el llamado shiitake americano, *Lentinula boryana* (Berk. et Mont.) Pegler. Esta especie es un hongo neotropical comestible que crece en los bosques subtropicales y tropicales de Coahuila, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla y Veracruz. Su distribución abarca también el sureste de los Estados Unidos, el Caribe, América Central y América del Sur (Guzmán 1972, Mata y Guzmán 1991, Guzmán *et al.* 1997). Aunque no es de las especies más cotizadas en los mercados populares, se le encuentra frecuentemente en venta en el centro del estado de Veracruz en donde se le conoce como "hongo de encino", "hongo de palo", "cuerudo" (Mata y Guzmán 1989) mientras que en Chiapas recibe el nombre indígena de "nla" (Guzmán 1997). Actualmente no se tienen datos sobre su producción comercial y sólo se han realizado diversos estudios sobre la factibilidad de su cultivo en distintos sustratos (Mata y Guzmán 1993, Soto-Velazco *et al*. 1995, Gaitán-Hernández 2001, Mata *et al*. 2001, Salmones y Gutiérrez-Lecuona 2008), sin embargo, debido a la similitud morfológica de *L. boryana* con el shiitake, el mercado potencial de la especie americana es enorme.

Posiblemente las mayores oportunidades de crecimiento para la industria del cultivo de los hongos en México

se encuentren entre las especies tropicales y subtropicales. La diversidad de hongos con posibilidades de domesticación es amplia, sobre todo porque entre las especies tropicales abundan las destructoras de madera y saprófitas en general. Sin embargo, generalmente los estudios son escasos y por lo tanto el conocimiento sobre la biología de las especies dificulta su domesticación. Uno de los hongos tropicales más estudiados en México es *Volvariella volvacea* (Bull.: Fr.) Singer, especie cultivada de manera comercial principalmente en Asia y conocida como "paddy straw mushroom" o "chinese mushroom" (Reyes *et al*. 2004). Esta importante especie aporta cerca de 6% de la producción total mundial de hongos comestibles (Julián Carlos y Salmones 2006). En México *V. volvacea* no se cultiva de manera comercial a pesar de que se han realizado diferentes estudios desde la década de los 80's (Vela y Martínez-Carrera 1989) y de que es un hongo muy apreciado en el medio rural en donde recibe los nombres de "hongo del bagazo, de la pulpa de café o del rastrojo", "hongo rosado" y "pecho de gavilán" (Guzmán 1997). Sus características de crecimiento hacen de *V. volvacea* una especie idónea para la producción en zonas tropicales ya que su temperatura de incubación está en el intervalo de 30 a 35ºC y sus fructificaciones pueden obtenerse entre 28 y 30ºC (Reyes *et al*. 2004). En México se han realizado cultivos experimentales de esta especie en sustratos a base de bagazo de henequén, paja de cebada, pulpa de café y desechos del cultivo de plátano (Vela y Martínez-Carrera 1989, Ancona y Salmones 1996, Salmones y Guzmán 1994, Salmones *et al*. 1996, Julián Carlos y Salmones 2006). Si bien *V. volvacea* es una especie reconocida principalmente por su delicado sabor, recientemente algunos estudios han reportado que este hongo tiene también propiedades inmunobiológicas, lo que oferta un valor agregado al cultivo de dicha especie (Reyes *et al*. 2004). Entre las especies tropicales vale la pena mencionar a los hongos llamados "orejas, orejas chiclosas, orejas de cochi, orejas de judío, orejas de viejo" (Guzmán 1997), que pertenecen al género *Auricularia* y que son considerados los primeros hongos de los que se tiene registro de su cultivo, alrededor del año 600 DC (Chang y Miles 1989). En México las especies de *Auricularia* son comunes en zonas tropicales y subtropicales en donde se consumen de manera tradicional (Garibay-Orijel *et al*. 2010). Como otras especies con gran potencial de cultivo, los hongos del género *Auricularia* se han cultivado en el país únicamente de manera experimental (Calvo-Bado *et al*. 1995, Castillejos-Puón *et al.* 1996, Sánchez-Vázquez *et al*. 1995), sin embargo dadas sus características se podrían cultivar sobre una gama amplia de sustratos en una vasta región del territorio nacional.

Recientemente se han realizado algunos estudios tendientes a la producción de especies como *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray, *Pycnoporus sanguineus* (L.) Murrill y *Trametes versicolor* (L.) Lloyd (Rendón-Ramírez *et al*. 2012, Acosta-Urdapilleta *et al*. 2010). Estas especies podrían aumentar la oferta de hongos comestibles y/o medicinales ya que tienen propiedades interesantes para satisfacer las demandas de un mercado creciente y en constante búsqueda de nuevos productos de origen natural.

Otro amplio horizonte que se debe explorar desde el punto de vista de la biodiversidad mexicana es la producción de especies de hongos micorrícicos comestibles. Para abordar esta temática se debe realizar un análisis integral que comprenda el conocimiento tradicional de los hongos comestibles en México y las investigaciones científicas y socio-económicas que se han realizado sobre el tema. Los hongos comestibles constituyen un recurso forestal no maderable que se puede obtener de un bosque. En algunos países, sobre todo de Europa y Asia, existen bosques que son conservados y mantenidos para facilitar la obtención de hongos comestibles micorrícicos que tienen altos precios en los mercados locales e internacionales. Tal es el caso de las trufas, principalmente *Tuber melanosporum* Vittad., el matsutake *Tricholoma matsutake* (S. Ito & S. Imai) Singer y varias especies de los géneros *Boletus* y *Lactarius* (Olivier *et al*. 1991). En nuestro país el uso y comercio de los hongos silvestres forma parte de un patrón de subsistencia ancestral que aún se encuentra muy arraigado (Pérez-Moreno *et al*. 2010). Con la finalidad de reforzar las campañas de reforestación en México, se deben promover estudios que permitan evaluar la posibilidad de inducir la micorrización de plántulas con especies de hongos de importancia comercial. De esta manera se podría ofrecer a los silvicultores una gama más amplia de especies para reforestar que permitirían a la vez comercializar los hongos comestibles con los que fueron inoculadas las plántulas.

REFERENCIAS

Acosta-Urdapilleta L, Alonso Paz GA, Rodríguez A, Adame M, Salgado D, Salgado J, Montiel-Peña M, Medrano-Vega F, Villegas Villarreal EC (2010) *Pycnoporus sanguineus*, un hongo con potencial biotecnológico. En**:** Martínez-Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora, VM (eds) *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI.* Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNS-CONACYT-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla, p. 189-220.

Aguilar-Cruz Y, Villegas M (2010) Especies de Gomphales comestibles en el Municipio de Villa del Carbón, Estado de México. *Rev. Mex. Mic.* 31: 1-8.

Ancona L, Salmones D (1996) Uso del bagazo de henequén fermentado en el cultivo de *Volvariella volvacea*. *Rev. Mex. Mic*. 12: 115-117.

Anónimo (2008) Nanacamilpa de Mariano Arista. *Enciclopedia de los Municipios de México.* Estado de Tlaxcala*.* Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, Gobierno del Estado de Tlaxcala. http://www.e-local.gob.mx/work/templates/enciclo/tlaxcala/mpios/29021a.htm.

Barrios-Espinoza BM, Moreno-Ruíz L, Sánchez JE (2009) Composteo en cajones de madera como pretratamiento del sustrato para cultivar *Pleurotus ostreatus*. *Rev. Mex. Mic*. 29:51-59.

Bautista Galvez A, Lizcano Acosta C, González Acosta N (2005) Evaluación de dos cepas de *Pleurotus ostreatus* en rastrojo de maíz pasteurizado y no pasteurizado. Resúmen. El Cultivo de *Pleurotus* en México, 1 y 2 de diciembre de 2005. Ecosur-Sociedad Mexicana de Micología-Instituto de Ecología. San Cristóbal de las Casas, Chiapas. p 5.

Bernabé-González T, Arzeta-Gómez JM (1994) Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre cáscara de cacahuate y hoja seca de maíz. *Rev. Mex. Mic.* 10: 15-20.

Bernabe-González T, Cayetano Catarino M (2009**)** Cultivation of *Pleurotus pulmonarius* on substrates treated by immersion in alkaline water in Guerrero, México. *Mic. Apl. Int*. 21(1)19-23.

Bernabé-González T, Garzón-Mayo R (1995) Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre paja de sorgo y cáscara de cacahuate. *Rev. Mex. Mic.* 11: 165-168.

Bernabé-González T, Domínguez-Rosales MS, Bautista-Baltazar SA (1993) Cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* var. *florida* sobre fibra de coco y pulpa de café. *Rev. Mex. Mic.* 9: 13-18.

Bernabé-González T, Cayetano-Catarino M, Adán-Díaz A, Torres-Pastrana MA (2004) Cultivo de *Pleurotus pulmonarius* sobre diversos productos agrícolas de Guerrero, México. *Rev. Mex. Mic.*18: 77-80.

Buchanan PK (1993) Identification, names and nomenclature of common edible mushrooms. En**:** Chang ST y Chiu SW (eds) *Mushroon Biology and Mushroom Products.* The Chinese University Press, Hong Kong.

Calvo-Bado LA, Sánchez-Vázquez JE, Huerta-Palacios G (1995) Evaluación de diversos substratos para el crecimiento vegetativo de *Auricularia fuscosuccinea* (Mont.) Farlow. *Micol. Neotrop. Apl.* 8: 27-35.

Camacho Sánchez M (2010) Estudio taxonómico del complejo de *Pleurotus, Lentinus* y *Panus* en México. Tesis de Maestría, Instituto de Ecología, AC, Xalapa, México.

Castillejos-Puón V, Sánchez-Vázquez JE, Huerta-Palacios G (1996) Evaluación de cepas del hongo comestible *Auricularia fuscosuccinea* nativas del Soconusco, Chiapas, México. *Rev. Mex. Mic.* 12: 23-30.

Cayetano-Catarino M, Bernabé-González T (2008) Cultivo de *Pleurotus* sobre residuos de las cosechas de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y plátano (*Musa paradisiaca*). *Rev. Mex. Mic*. 26: 57-60.

Chacón S (1988) Conocimiento etnomicológico de los hongos en Plan de Palmar, Municipio de Papantla, Veracruz, México. *Mic. Neotrop. Aplic.* 1: 45-54.

Chang ST, Miles PG (1989). *Edible mushroom and their cultivation*. CRC Press Inc. Boca Raton. 345 p.

Chang ST, Miles PG (2004) *Mushrooms, cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact.* CRC Press Inc. Boca Raton, 451 p..

Chen AW (2004) Growing *Ganoderma* mushrooms. En: *Oyster mushroom cultivation. Mushroom growers' handbook 1*. MushWorld, Seoul. Pp. 236-247.

Chen AW (2005) What is shiitake. En: *Shiitake cultivation. Mushroom growers' handbook 2*. MushWorld, Seoul. Pp. 3-28.

Cetz G, Alcona L, Belmar R (2000) Cultivo de *Pleurotus djamor* en rastrojo de calabaza. *Rev. Mex. Mic.* 16*:* 41-43.

Contreras E.P., M, Sokolov, G. Mejía, J.E. Sánchez. 2004. Soaking of substrate in alkaline water as a pretreatment for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 79(2): 234-240

Coutiño F, Jimenez L, Sánchez JE, Royse DJ (2004) *Digitaria decumbers* Grass Substrate Prepared by Alkaline Immersion for Culture of *Pleurotus* spp. En**:** Romaine CP, Keil CB, Rinker DL, Royse DJ (eds) *Science and Cultivation of Edible and Medicinal Fungi*. Pennsylvania State University. p. 267-271.

Delpech P, Olivier JM (1991) Cultivation of shiitake on straw based pasteurizad substrates. *Mush. Sci.* 13, 523-528.

De León-Monzón JH, Sanchez JE, Nahed-Toral J, (2004). El cultivo de *Pleurotus ostreatus* en los Altos de Chiapas, México. *Rev. Mex. Mic*. 18:31-38.

de Mendoza M, Casuya MC, Cadorin A, Vieira AJ (2005) *Agaricus blazei* cutivation for a living in Brazil. En: *Shiitake cultivation. Mushroom growers' handbook* 2. MushWorld, Seoul. Pp. 246-257.

Gaitán-Hernández, R (2001) Use of brown-rot fungus degraded substrate for the cultivation of *Lentinula* spp. and *Pleurotus* spp. *Mush. Res.* 10, 13-21.

Gaitán-Hernández, R (2005) Evaluación in vitro del hongo comestible *Pleurotus eryngii*: Efecto de diferentes suplementos orgánicos en el crecimiento micelial y producción de cuerpos fructíferos. *Rev. Mex. Mic*. 21:77-84.

Gaitán-Hernández R, Mata G, (2004) Cultivation of edible mushroom *Lentinula edodes* (shiitake) in pasteurized wheat straw. Alternative use of geothermal energy in Mexico. *Eng. Life Sci*. 4: 363-367.

Gaitán-Hernández, Salmones D (1996) Cultivo y selección de cepas de *Pleurotus* spp. con alto rendimiento *Rev. Mex. Mic.* 12: 107-113.

Gaitán Hernández R, Salmones D (1999) Análisis de la producción de cepas de *Pleurotus djamor. Rev. Mex. Mic.* 15: 115-118.

Gaitán –Hernandez R, Esqueda M, Gutiérrez A, Sánchez A, Beltrán-García M, Mata G. (2006) Bioconversion of agrowastes by *Lentinula edodes*: the highipotencial of viticulture residues. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 432-439.

Gaitán-Hernández R, Salmones D, Pérez-Merlo R, Mata G (2009) Evaluación de la eficiencia biológica de cepas de *Pleurotus pulmonarius* en paja de cebada fermentada. *Rev. Mex. Mic.* 30: 63-71.

Garibay-Orijel R (2009) Los nombres zapotecos de los hongos. *Rev. Mex. Mic.* 30: 43-61.

Garibay-Orijel R, Ruán Soto F, Estrada-Martínez E (2010) El conocimiento Micológico tradicional, motor para el desarrollo del aprovechamiento de los hongos comestibles y medicinales. En**:** Martínez-Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora, VM (eds) *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI.* Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNS-CONACYT-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla, p. 243-270.

Guzmán G (1972). Macromicetos mexicanos en el Herbario The National Fungus Collection de E.U.A. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 32: 31-55.

Guzmán G (1977) *Identificación de los hongos.* Ed. Limusa, México D.F.

Guzman G (1997) *Los nombres de los hongos y lo relacionado con ellos en América Latina*. Instituto de Ecología. Xalapa, Veracruz, México. 356 pp.

Guzmán G (2000) Genus *Pleurotus.* Diversity, taxonomic problems, and cultural and traditional medicinal uses. *Int. J. Med. Mush.* 2*:* 95-123.

Guzmán G, Mata G (eds) (2002) *Estudios sobre los hongos Latinoamericanos. Nanacatepec*. Universidad Veracruzana , Xalapa, México. 575 pp.

Guzmán G, Mata G, Salmones D, Soto C, Guzmán Dávalos L (1993) *El cultivo de los hongos comestibles. Con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales*. IPN - CECODES, Mexico, D.F. 245 pp.

Guzmán G, Salmones D, Tapia F (1997) *Lentinula boryana*: morphological variations, taxonomic position, distribution and relationships with *Lentinula edodes* and related species. *Repp. Tottori Mycological Inst.* 35: 1-28.

Guzmán G, Montoya L, Mata G, Salmones D (1994) Studies in the genus *Pleurotus,* III. The varieties of *P. ostreatus* complex based in interbreeding strains and the study of basidiomata obtained in culture. *Mycotaxon* 50*:* 365-378.

Guzmán G, Montoya L, Bandala VM, Mata G, Salmones D, 1995. Studies in the genus *Pleurotus* IV. Observations on the pink forms growing in Mexico based in the interbreeding of two different strains. *Mycotaxon* 53*:* 247-259.

Guzmán-Dávalos L, Martínez-Carrera D, Morales P, Soto C (1987 a) El cultivo de hongos comestibles (*Pleurotus*) sobre el bagazo de maguey de la industria tequilera. *Rev. Mex. Mic.* 3:47-49.

Guzmán-Dávalos L, Soto-Velazco C, Martínez-Carrera D (1987 b) El bagazo de caña de azúcar como substrato para la producción de *Pleurotus* en Jalisco. *Rev. Mex. Mic*. 3: 79-82.

Hernández-Ibarra H, Sánchez-Vázquez JE, Calvo-Baldo LA (1995) Estudio de cepas nativas de *Pleurotus* spp. de la región de Tapachula, Chiapas, México. *Rev. Mex. Mic.* 11: 29-38.

Huerta G, Martínez-Carrera D, Sánchez JE, Leal-Lara H (2009) Grupos de interesterilidad y productividad de cepas de *Pleurotus* en regiones tropicales y subtropicales de México. *Rev. Mex. Mic.* 30: 31-42.

Julián Carlos A, Salmones D (2006) Cultivo de *Volvariella volvacea* en residuos de la cosecha de plátano y paja de cebada. *Rev. Mex. Mic.* 23: 87-92.

Kozak ME, Krawczyk J (1993) Growing shiitake mushroom in a continental climate. Field & Forest Products, Inc., Mari-

nette.

Kües U, Liu Y (2000) Fruiting body production in basidiomycetes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 54: 141-152.

Lahman O, Rinker DL (2004). Mushroom practices and production in Latin America: 1994-2002. *Mush. Sci. 16:* 681-686

Lin FC, Yang XM, Wang ZW (2000) Cultivation of the black oak mushroom *Lentinula edodes* in China. *Mush. Sci.* 15: 955-958.

López Cobá EH, Ancona Méndez L, Medina Peralta S (2005) Cultivo de *Pleurotus djamour* en condiciones de laboratorio y en una casa rural tropical. *Rev. Mex. Mic*. 21: 93-97.

Mapes C, Guzman G, Caballero J (1981) *Etnomicología purépecha. El conocimiento y uso de los hongos en la cuenca de Pátzcuaro, Michoacán*. Serie Etnociencia. Cuadernos de Etnobiología No. 2. Dirección General de Culturas Populares-SEP, Sociedad Mexicana de Micología, Instituto de Biología, UNAM, México.

Martínez-Carrera D (2000) Mushroom biotechnology in tropical America. *Int. J. Mush. Sci.* 3: 9-20.

Martínez-Carrera, D, Larque-Saavedra A, 1990. Biotecnología en la producción de hongos comestibles. *Ciencia y Desarrollo* 95: 53-64.

Martínez-Carrera D, Soto C, Guzmán G (1985). Cultivo de *Pleurotus ostreatus* en pulpa de café con paja como substrato. *Rev. Mex. Mic*. 1:101-108.

Martínez-Carrera D, López-Martínez de Alva, L (2010) Historia del cultivo comercial de hongos comestibles en México II: éxitos y fracasos durante el período 1991-2009. En**:** Martínez-Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora, VM (eds) *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI.* Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNS-CONACYT-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla, p. 513-551.

Martínez-Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora VM (Eds.) (2010) *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNSCONACYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla. 648 pp.

Mata G (1987) Introducción a la etnomicología maya de Yucatán. El conocimiento de los hongos en Pixoy, Valladolid. *Rev Mex. Mic*. 3: 175-187.

Mata G, Gaitán-Hernández R (1992). Utilización de pulpa de café mezclada con viruta de madera para el crecimiento micelial de *Lentinus boryanus* y *Lentinus edodes*. *Rev. Mex. Mic.* 8: 125-129.

Mata G, Gaitán-Hernández R (1994) Avances en el cultivo del shiitake en la pulpa de café. *Rev. Iberoam.Micol.* 11, 90-91.

Mata G, Gaitán-Hernández R (1995) Cultivo de *Pleurotus* en hojas de caña de azúcar. *Rev. Mex. Mic.* 11: 17-22.

Mata G, Guzmán G (1989) Hibridación entre una cepa mexicana de *Lentinus boryanus* y una asiática de *Lentinus edodes*. *Rev. Mex. Mic*. 5:77-80.

Mata G, Guzmán G (1991) Distribución y datos ecológicos del hongo *Lentinus boryanus* (*=L. cubensis*) (Agaricales, Tricholomataceae) en México. *Brenesia* 35: 1-8.

Mata G, Guzmán G (1993) Cultivation of *Lentinus boryanus* in wood shavings in México. *Crypt. Bot.* 4: 47-49.

Mata G, Savoie JM (1998) Extracellular enzyme activities in six *Lentinula edodes* strains during cultivation in wheat straw. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 14: 513-519.

Mata G, Savoie JM (2005 a) Improvement of spawn for cultivation in alternative substrates. En: *Shiitake cultivation. Mushroom growers' handbook* 2. MushWorld, Seoul. 44-50.

Mata G, Savoie JM (2005 b) Wheat straw. En: *Shiitake cultivation. Mushroom growers' handbook 2*. MushWorld, Seoul. Pp. 125-130.

Mata, G., Torres-Hernández FE (2008) Effect of aerobic fermentation substrate in the production of *Pleurotus ostreatus* and its resistance to *Trichoderma viride.* En: Lelley JI, Buswell JA (eds), *Mushroom Biology and mushroom products. Proceed. Sixth Int. Conf. Mush. Biol. Mush. Prod.* WSMBMP-GAMU, Bonn. Pp. 74-82.

Mata G, Delpech P, Savoie JM (2001) Selection of strain of *Lentinula edodes* (shiitake) and *L. boryana* adapted for efficient mycelial growth on wheat straw. *Rev. Iberoam. Mic.* 18: 118-122.

Mata G, Gaitán-Hernández R, Pérez-Merlo R, Ortega C (2002) Improvement of shiitake spawn for culturing on pasteurized wheat Straw. En: Sánchez JE, Huerta G, Montiel E (eds) *Proceed. 4th Int. Conf. Mushroom Biology and Mushroom Products*. Universidad Autónoma de Morelos, Cuernavaca, pp. 3303-309.

Mata G, Murrieta Hernández DM, Iglesias Andreu LG (2005) Changes in lignocellulolytic enzyme activites in six *Pleurotus* spp. strains cultivated on coffee pulp in confrontation with *Trichoderma* spp. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 21, 143-150.

Mata G, Salmones D, Guzmán G (1990) Cultivo del Shiitake japonés, *Lentinus edodes,* en bolsas con viruta de madera. *Rev. Mex. Mic.* 6: 245-251.

Mata G, Salmones D, Gaitán-Hernández R (2004) Spawn viability and mushroom production in *Pleurotus* strains frozen for eight years in liquid nitrogen. *Mush. Sci.* 16, 185-191.

Mata G, Salmones D, Medel R, Gaitán Hernández R (2008) La Revista Mexicana de Micología en cifras: 40 años de trabajo editorial. *Rev. Mex. Mic. 28*: 1-6.

Mata G, Savoie JM, Delpech P, Olivier JM (1998) Reductions of the incidence of *Trichoderma* spp. using substrate supplementation with peat and an alternative spawn during cultivation of *Lentinula edodes* on pasteurised wheat straw. *Agronomie: Agriculture and Environment* 18: 515-520.

Miles PG, Chang ST (s/f) Biología de las setas. Fundamentos básicos y acontecimientos actuales. World Scientific, Santafé de Bogotá. 206 pp.

Mora V, Martínez-Carrera (2007) Investigaciones básicas, aplicadas y socioeconómicas sobre el cultivo de setas *Pleurotus* spp en México, En: Sánchez-Vázquez JE, Martínez-Carrera D, Mata G, Leal-Lara H (eds) *El cultivo de Pleurotus spp. en México*. El Colegio de la frontera Sur, Chiapas. pp. 7-26.

Morales P, Martínez-Carrera D (1991) *Bursera* sawdust as a substrate for shiitake cultivation. *Micol. Neotrop. Apl.* 4: 41-47.

Morales P, Martínez-Carrera D, Martínez-Sánchez W (1991) Cultivo de shiitake sobre diversos substratos en México. *Micol. Neotrop. Apl.* 4: 75-81.

Muez, MA, Pardo J (2001) La preparación del sustrato. En: Sánchez JE, Royse D (eds) *La biología y el cultivo de Pleurotus spp*. Ecosur y UTEHA Noriega Editores. Chiapas, México. pp. 187-204.

Oei P. (2003) *Mushroom cultivation: appropriate technology for mushroom growers*, CTA, Wageningen.

Olivier JM, Laborde J, Guinberteau J, Poitou N, Houdeau G (1991) *La culture des champignons.* Armand Colin, Paris. 160p.

Pardo J, Garcia Mendoza C (2002) Submerged fermentation of lignocellulosic wastes under moderate temperature conditions for Oyster mushroom growing substrates. En: Sánchez JE, Huerta G, Montiel E. (eds) *Proceed. 4th Int. Conf. Mush. Biol. Mush. Prod.* UAEM. p. 271-277.

Peralta Márquez H, Frutis Molina I (2010) Cultivo de *Lentinula edodes* utilizando como sustrato paja de trigo pasteurizada y suplementada. En: Martínez-Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora, VM (eds) *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI.* Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNS-CONACYT-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla, p.169-173.

Pérez-Merlo R, Mata G (2005) Cultivo y selección de cepas de *Pleurotus ostreatus* y *P. pulmonarius* en viruta de pino: obtención de nuevas cepas y evaluación de su producción. *Rev.Mex.Mic*. 20: 53-59.

Pérez-Moreno J, Martínez-Reyez M, Yescas-Pérez A, Delgado-Alvarado A, Xoconostle-Cazares B (2008) Wild mushroom markets in central Mexico and a case study at Ozumba. *Economic Bot.* 62: 425-436.

Perez-Moreno J, Lorenzana-Fernandez A, Carrasco-Hernandez V, Yescas-Perez A (2010) *Los hongos comestibles silvestres del Parque Nacional Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos.* Colegio de Postgraduados, CONACyT, SEMARNAT. 167 p.

Poppe J (2004) Substrate. En: *Oyster mushroom cultivation. Mushroom growers' handbook 1.* MushWorld, Seoul. Pp. 80-90.

Przybylowics P, Donoghue J (1990) *Shiitake growers handbook, the art and science of mushroom cultivation*. Kendall/ Hunt, Dubuque.

Ramírez-Carrillo R, Leal-Lara H (2002) Culture conditions for increasing yields of *Lentinula edodes.* En: Sánchez JE, Huerta G, Montiel E. (eds) *Proceed. 4th Int. Conf. Mush. Biol. Mush. Prod.* UAEM. p. 289-294.

Rendón-Ramírez AL, Acosta-Urdapilleta L, Medrano-Vega FA (2012) Aspectos del cultivo de *Grifola frondosa.* En: Sánchez, JE, Mata G (eds) *Hongos comestibles y medicinales en Iberoamérica: investigación y desarrollo en un entorno multicultural*. ECOSUR, Tapachula. 195.

Reyes RG, Abella EA, Eguchi F, Iijima T, Higaki M, Quimio TH (2004) Growing paddy Straw mushroom. En: *Oyster mushroom cultivation. Mushroom growers' handbook 1*. MushWorld, Seoul. Pp. 262-269.

Ruan-Soto F, Cifuentes J, Mariaca R, Limón F, Pérez-Ramírez L. Sierra S (2009) Uso y manejo de hongos silvestres en dos comunidades de la Selva Lacandona, Chiapas, México. *Rev. Mex. Mic.* 29: 61-72.

Salmones D, Gutiérrez Lecuona T (2008) Cultivation of *Lentinula boryana* in alternative substrates. *Int. J. Med. Mush*. 10: 73-78.

Salmones D, Guzmán G (1994) Cámara para la obtención de fructificaciones del hongo comestible *Volvariella volvacea* en el laboratorio. *Rev. Mex. Mic.* 10: 193-198.

Salmones D, Mata G (2002) Detection of extracellular enzymes produced by *Pleurotus* spp. grown on coffee pulp. En: Sánchez JE, Huerta G, Montiel E (eds) *Proceed. 4th Int. Conf. Mush. Biol. Mush. Prod.,* Universidad Autónoma de

Morelos. Cuernavaca, p. 213-220.
Salmones D, Mata G (2005) Efecto de la presencia de compuestos solubles de lignina y fenoles sobre la producción de lacasa y biomasa en cultivos de *Pleurotus* spp. *Rev. Mex. Mic*. 21, 63-69.
Salmones D, Mata G (2007) Variabilidad en la resistencia de micelios de *Pleurotus* y *Trichoderma* confrontados en medios conteniendo derivados solubles de lignina y pulpa de café. *Rev. Mex. Mic.* 25, 77-81.
Salmones D, Gaitán-Hernández R, Pérez R, Guzmán G (1997) Estudios sobre el género *Pleurotus*. Interacción entre crecimiento micelial y productividad. *Rev. Iberoam. Mic*. 14, 173-176.
Salmones D, Mata G, Guzmán G, Juárez M, Montoya L (1995). Estudios sobre el género *Pleurotus*, V. Producción a nivel de planta piloto de ocho cepas adscritas a cinco taxa. *Rev. Iberoam. Mic.* 12: 108-110.
Salmones D, Mata G, Ramos LM, Waliszeski KN (1999) Cultivation of shiitake mushroom, *Lentinula edodes*, in several lignocellulosic materials originating from the subtropics. *Agronomie: Agriculture and Environment* 19: 13-19.
Salmones D, Mata G, Waliszewski K (2005) Comparative culturing of *Pleurotus* spp. on coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate degradation. *Biores. Technol.* 96, 537-544
Salmones D, Mestizo L, Gaitán-Hernández R (2004) Entrecruzamiento y evaluación de lca producción de las variedades de *Pleurotus djamour* (Fr.) Boedijn. *Rev. Mex. Mic*.18: 21-26.
Salmones D, Waliszeski KN, Guzmán G (1996) Use of some agro-industrial lignocelluloses by products for edible mushroom *Volvariella volvacea* cultivation. *Rev. Int. Cont. Amb*. 12(2): 69-74.
Sánchez A, Esqueda M, Gaitán-Hernández R, Córdova A, Coronado ML (2008) Uso potencial del rastrojo de tomate como sustrato para el cultivo de *Pleurotus* spp. *Rev. Mex. Mic.* 28: 19-24.
Sánchez JE, Royse DJ (2001) *La biología y el cultivo de Pleurotus spp*. ECOSUR - Limusa-Grupo Noriega Editores, México, D.F. 290p.
Sánchez J.E., Huerta G., Calvo-Bado L. 1995. Potential of *Auricularia* sp. in the recycling of agroindustrial waste products in the tropics. En: Elliott JT (ed.) *Science and cultivation of edible fungi*. A.A. Balkema Publishers, Rotterdam. p. 877-883.
Sánchez JE, Royse DJ, Leal Lara H (2007) *Cultivo, mercadotecnia e inocuidad alimentaria de Agaricus bisporus*. ECOSUR, Tapachula. 167 pp.
Sánchez Vázquez JE, Martínez Carrera D, Mata G, Leal Lara H (eds.) (2007) *El cultivo de setas Pleurotus spp. en México*. ECOSUR, Tapachula, 234 pp.
Savoie JM, Delpech P, Billete C, Mata G (2000) Inoculum adaptation changes the outcome of competition between *Lentinula edodes* and *Trichoderma* spp. during shiitake cultivation on pasteurized wheat straw. *Mush. Sci.* 15: 667-674.
Savoie JM, Mata G, Mamoun M (2001) Variability in brown line formation and extracellular laccase production during interaction between white-rot basidiomycetes and *Trichoderma harzianum* biotype Th2. *Mycologia* 93: 243-248.
Sobata C, Nall H (1994) Shiitake Mushroom Production on Logs. Alabama Cooperative Extension Program, Alabama.
Soto-Velazco C, Fausto S, Guzmán-Dávalos L (1995) Cultivation of the mushrooms *Lentinus boryanus* and *L. edodes* on a mixture of maguey tequilero bagasse and sugar cane bagasse. *Af. J. Mycol. Biotechnol.* 3:115-120.
Soto-Velazco C, Guzmán-Dávalos L, Rodríguez O (1989) Cultivo del Hongo comestible *Pleurotus ostreatus* sobre bagazo de maguey tequilero fermentado y mezclado con paja de trigo. *Rev. Mex. Mic* 5:97-101.
Soto-Velazco C, Martínez-Carrera D, Morales P, Sóbal M (1987) La pulpa de café secada al sol como una forma de almacenamiento para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. *Rev. Mex. Mic*.3: 133.136.
Torres Torres MG (2007) Sistemática de *Ganoderma* (Fungi, Basidiomycota, Ganodermatales): aspectos morfológicos, moleculares y químico. Tesis de Doctorado. Universidad de Guadalajara, 205 p.
Valencia del Toro G, Leal-Lara H (2002) Fruit body color in *Pleurotus* spp. Hybrid strains obtained by matings of compatible neohaplonts, En:Sánchez E, Huerta G, Montiel (eds) *Proceed. 4th Int. Conf. Mush. Biol. Mush. Prod*. UAEM. p. 151-159.
Valencia del Toro G, Garín Aguilar ME, Jiménez Hernández J, Leal-Lara H (2003) Producción de cepas coloridas de *Pleurotus* spp. en sustrato estéril y pasteurizado. *Rev. Mex. Mic.* 17, 1-5.
Vela R, Martínez-Carrera D (1989) Cultivation of *Volvariella bakeri* and *V. volvacea* in Mexico: a comparative study. *Mush. J. Tropics* 9: 99-108.
Velazquez-Cedeño MA, Mata G, Savoie JM (2002) Waste-reducing cultivation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius* on coffee pulp. *World J. Microbiol. Biotech.* 18: 201-207.

Velázquez-Cedeño M, Mata G, Farnet AM, Savoie JM (2006 a) Estudio preliminar de la microflora bacteriana termotolerante de la pulpa de café y la paja de trigo con potencial de inhibición contra *Trichoderma viride* en el cultivo de *Pleurotus* spp. *Rev. Mex. Mic.* 17*:*138-141.

Velázquez Cedeño M, Farnet AM, Mata G, Savoie JM (2006 b) Wheat straw management to produce a substrate improving the culture conditions of *Pleurotus*. En: Poggi-Varaldo HM, Ríos-Leal E, García-Mena J, Esparza-García F, Robles-González I, Sastre-Conde I, Macarie H, Sanz JL, Watson-Craik I, Foresti E, Reible D, Garibay-Orijel C (eds), *Environmental Biotechnology and Engineering*. *Proceed. 2nd Int. Meeting on Env. Biotechnol. Eng.* (2IMEBE). CINVESTAV, México City, México.

Velazquez-Cedeño M, Farnet AM, Mata G, Savoie JM (2008) Role of *Bacillus* spp. in antagonism between *Pleurotus ostreatus* and *Trichoderma harzianum* in heat-treated wheat-straw substrates. *Biores. Tech.* 99: 6966-6973.

Villarreal L, Pérez-Moreno J (1989) Los hongos comestibles silvestres de México, un enfoque integral. *Mic. Neotrop. Aplic.* 2: 77-114.

Vogel F, Salmones D (2000) Análisis comparativo de la productividad de las cepas de *Pleurotus* spp. cultivadas en una planta comercial. *Rev. Iberoam. Micol.* 17, 138-141.

CAPITULO 6

OTROS USOS DE LOS MACROMICETOS

6.1 PROPIEDADES MEDICINALES DE LOS HONGOS COMESTIBLES

Gustavo Valencia del Toro*, María Eugenia Garín Aguilar**

*Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, IPN. Av. Acueducto S/N la Laguna Ticomán 07340, México D.F.
**Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. México
gvalencia@ipn.mx, maragarin@yahoo.com

RESUMEN

En las últimas décadas el estudio de los macromicetos comestibles se ha incrementado a nivel mundial debido a que constituyen fuentes potenciales de componentes bioactivos. Los macromicetos producen una amplia gama de productos naturales que abarca desde componentes con actividad antitumoral e inmunológicamente activos hasta agentes antimicrobianos, antifúngicos, antivirales, citostáticos, enzimáticos, reguladores de crecimiento, entre otras características. Mediante estudios clínicos realizados se ha demostrado claramente que los hongos comestibles tienen propiedades medicinales y un valor terapéutico en la prevención y tratamiento de cáncer, enfermedades virales como influenza y poliomielitis, hipercolesterolemia, trombosis e hipertensión. También se ha encontrado que estos macromicetos tienen propiedades antibacteriales y antiprotozoicas; la mayoría de los estudios se han realizado con *Lentinula edodes*, *Grifola frondosa*, *Pleurotus ostreatus* y el hongo no comestible *Ganoderma* spp. Se ha estimado que los ingresos generados por la producción de hongos comestibles y medicinales supera los 14 mil millones de dólares; de este estimativo la mayoría corresponde a la producción de algunas especies de los géneros *Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinula*, *Auricularia*, *Volvariella* y *Flammulina*. Con la finalidad de valorar la importancia de las propiedades medicinales de los hongos comestibles, se presenta una revisión sobre los principales aspectos de dichas propiedades.

Palabras clave: anticancerígenos, basidiomicetos, compuestos bioactivos, antimicrobianos.

INTRODUCCIÓN

Los hongos son organismos muy abundantes en la naturaleza, forman el Reino Fungi y representan un valioso recurso natural. Los macromicetos pueden definirse como: "Un macrohongo con un cuerpo fructífero distintivo que puede ser tanto hipogeo o epígeo, lo suficientemente grandes como para ser detectado a simple vista y para ser colectado manualmente" (Chang y Miles 1992).

Desde tiempos remotos los indígenas han utilizado los hongos para consumo dado sus propiedades culinarias, farmacológicas o psicoterapéuticas, de esto dan cuenta las esculturas de los hongos piedra de Mesoamérica, algunas han sido ubicadas en el período preclásico de la cultura Maya, hacia 500 A.C. Tenían significado espiritual, de protección a sus propietarios contra daños, para mostrar los límites de propiedad o para invocar la lluvia (Figura 1a); también es relevante la estatuilla de Xochipilli, dios o príncipe Azteca de las flores, representante del uso de las plantas sagradas y hongos (Figura 1b).

Varios Hongos son apreciados por sus propiedades medicinales o comestibles en ciertas regiones o países y no en otros; así por ejemplo, el consumo del hongo *Ganoderma lucidum* como medicamento tradicional en el oriente tiene mucho tiempo, mientras que en México recién comienza a utilizarse. En la actualidad existen a nivel mundial varias especies de macromicetos que se utilizan como agentes curativos en gran cantidad de enfermedades. En nuestro país, dada su gran biodiversidad, existen especies relacionadas o diferentes que tienen uso potencial en la medicina tradicional.

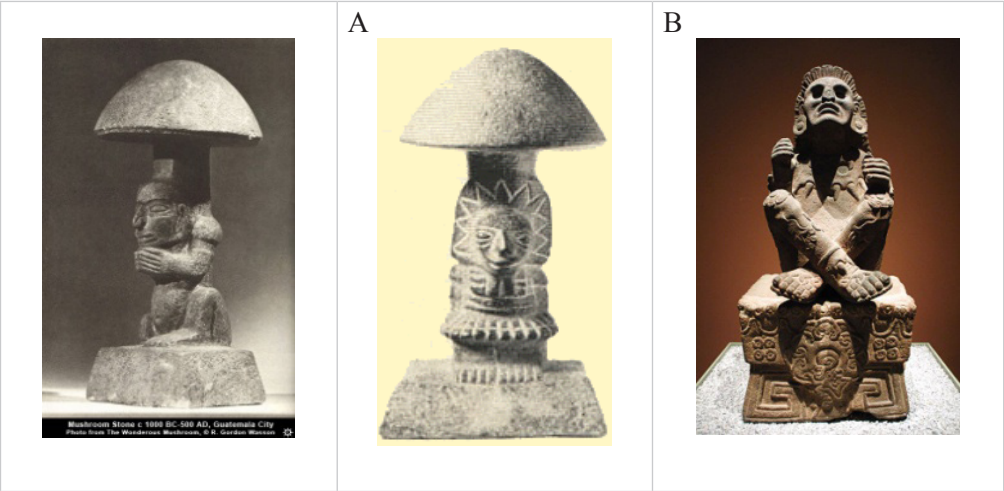


Figura 1. A) Hongos piedra de Mesoamérica, B) Xochipilli, dios Azteca de las flores

El número de diferentes especies de hongos en la tierra se estima en 140 000, de las cuales 10% son conocidas, y de ellas aproximadamente 50% se considera que poseen diversos grados de comestibilidad, más de 2000 son seguras, y unas 700 especies son conocidas por poseer importancia farmacológica (Lull *et al*. 2005). El valor de mercado de sub-productos que provienen de setas, utilizados como suplementos dietéticos, a nivel mundial es de aproximadamente $ 5-6 mil millones de dólares al año (Wasser 2002).

Algunas estructuras químicas de metabolitos secundarios

Se han investigado metabolitos secundarios de hongos de género *Ganoderma* (hidroquinonas sesquiterpenoides) que presentan efecto contra cepas bacterianas multi-resistentes de *Staphylococcus aureus* (ganomicin A y ganomicin B, Figura 2).

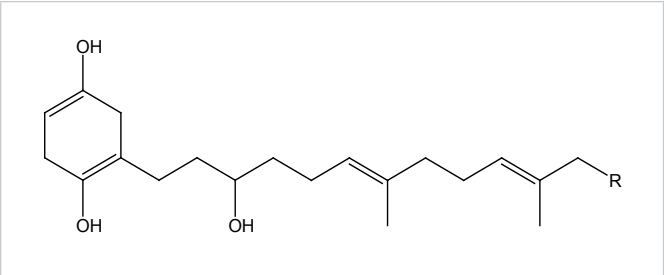


Figura 2. Sesquiterpenos de *G. applanatum*, ganomicin A, R=OH y ganomicin B, R=H, con actividad antibacteriana.

Así como compuestos tipo esteroides (Figura 3) con actividad contra *Trichophyton mentagrophytes* (Lindequist *et al*. 2005).

Se ha demostrado que otros compuestos esteroideos aislados de *G. applanatum* tienen actividad contra microorganismos Gram positivo y Gram-negativos, Figura 4 (Lindequist *et al*. 2005).

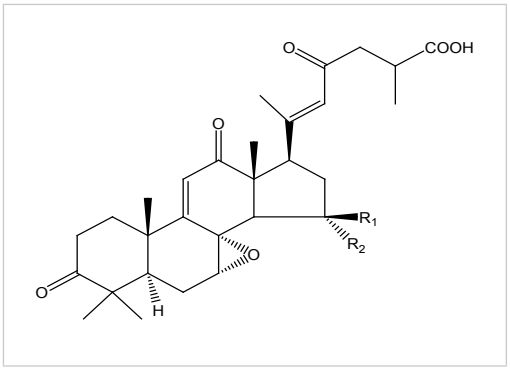


Figura 3. Metabolitos de *G. annulare* con actividad antifúngica, ac. aplanoxídico A (R_1=OH, R_2=H) y ac. aplanoxídico B (R_1=R_2=O).

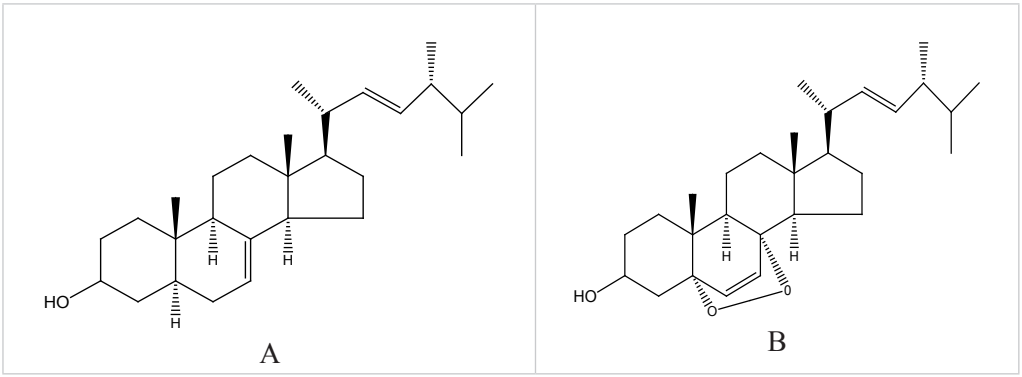


Figura 4. Esteroides aislados de *G. applanatum*, A) 5ergosta-7,22 dien-3β-ol(3), B) 5,8-epidioxi-5α,8α-ergosta-6,22-dien-3β-ol.

Se ha indicado que los efectos antivirales directos de los metabolitos fúngicos son causados por la inhibición de enzimas virales, de síntesis de ácidos nucleicos virales o por afecciones en la adsorción y absorción del virus en las células huésped, estos efectos los exhiben en especial pequeñas moléculas contenidas en los extractos de basidiomicetos (Brand y Piraino 2000). Varios triterpenos antivirales de *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., (Figura 5), tienen efecto contra el virus tipo 1 de inmunodeficiencia adquirida (HIV-1). Una concentración mínima inhibitoria de ganoderiol F y ganodermanontriol de 7.8 µg/ml fue suficiente para la inhibición completa de HIV-1 provocando un efecto citopático en células MT-4. El ácido ganodérico B inhibió la proteasa del HIV-1 con valores de concentración del orden de 0.17 mM. También se ha encontrado efecto de estos compuestos contra el virus tipo 1 de *Herpes simplex* (Lindequist *et al*. 2005).

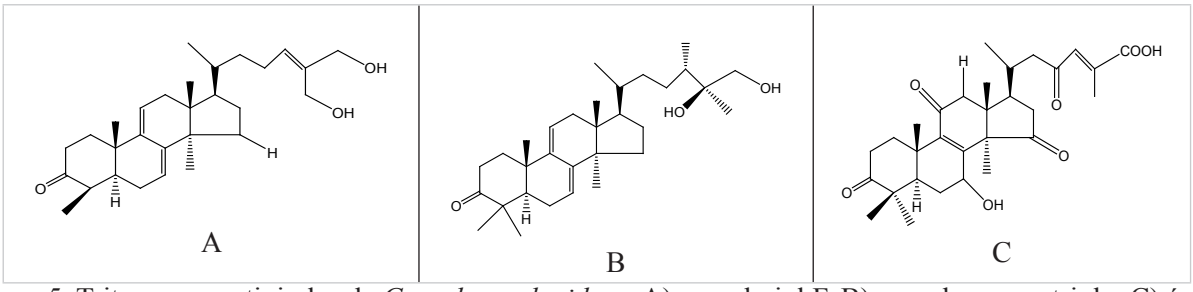


Figura 5. Triterpenos antivirales de *Ganoderma lucidum:* A) ganoderiol F, B) ganodermanontriol y C) ácido ganodérico B.

Propiedades Anti-tumorales

La actividad antitumoral de algunos basidiomicetos superiores fue primero demostrada por Lucas (1957), quienes emplearon extractos de cuerpos fructíferos del hongo comestible *Boletus edulis* Bull. y otros homobasidiomicetos, en pruebas contra líneas celulares de sarcoma 180 en ratón. El compuesto Calvacin fue aislado del hongo *Calvatia gigantea* (Batsch) Lloyd (Lucas *et al.* 1958) y mostró actividad contra tumores incluyendo el sarcoma 180, el adenocarcinoma mamario 775, el leucemia L-1210 y líneas celulares HeLa (Wasser y Weis 1999). Se ha estimado que existen aproximadamente 650 especies de basidiomicetos que tiene actividad antitumoral (Mizuno y Zhuang 1995, Wasser 2002).

Gregory (1966) aisló sustancias activas de los cuerpos fructíferos de más de 200 especies de hongos basidiomicetos y de 7000 medios de cultivo producidos por la fermentación sumergida de varios de ellos. Los ensayos antitumorales de estas sustancias activas en tres modelos animales de roedores demostraron que los polisacáridos aislados de 22 especies de hongos y 50 medios de cultivo, tenían un efecto inhibitorio sobre células tumorosas, incluyendo el sarcoma S-180, el adenocarcinoma 755 y el leucemia L-1210.

Compuestos de Alto peso molecular

Tres preparaciones de hongos comestibles han mostrado clínicamente eficacia significativa contra cánceres humanos y son usados como modificadores de la respuesta biológica (MRB), estos son los compuestos: el lentinan de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, la fracción-D de *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray y el schizophyllan (también llamado SPG, soniflan, etc.) de *Schizophyllum commune* Fr. El lentinan y el schizophyllan han sido aprobados en Japón como drogas que son prescritas para el tratamiento de cáncer (Mizuno 1999).

Diversas investigaciones han reportado que son las fracciones de polisacáridos contenidas en los extractos las que tienen propiedades inmunomoduladoras (Gao *et al*. 2002). Dichas preparaciones de polisacáridos son químicamente β-D-glucanos y β-D-glucanos unidos a proteínas (Tabla 1).

Los polisacáridos poseen una alta capacidad para llevar la información biológica, ya que tienen un gran potencial de variabilidad estructural, porque las unidades de monosacáridos que conforman los polisacáridos, pueden interconectarse en varios puntos para formar una variedad de estructuras ramificadas o lineales (Sharon y Lis 1993). Esta variabilidad en la estructura de los polisacáridos les da la flexibilidad necesaria para los mecanismos de regulación de diversas interacciones célula-célula en los organismos superiores. Las unidades de β-glucanos con actividad inmunomodulatoria que se presentan en la Figura 6 corresponden a los basidiomicetos comestibles *G. frondosa* (fracción-D, PM: 1000 kD) y *L. edodes* (lentinan, PM: 500 kD). Las diferencias en la actividad antitumoral pueden estar relacionadas con solubilidad en agua, el tamaño de las moléculas, la tasa de ramificación y la forma. Así, características estructurales, tales como los enlaces β-(1→3) en la cadena principal del glucano y puntos de ramificación adicionales β-(1→6) son necesarios para la acción antitumoral. Una conformación terciaria de triple hélice de glucanos β-(1→3) en los hongos medicinales es importante por su actividad inmuno-estimulante. La desnaturalización de lentinan y schizophyllan hace que estos compuestos pierdan su bioactividad (Yanaki *et al.* 1980, 1986). Los glucanos con enlaces β-(1→3) presentes en los hongos exhiben una variedad de actividades biológicas e inmuno-farmacológicas, por lo que se ha estudiado que actividades tales como la síntesis de óxido nitroso por macrófagos, son dependientes de la conformación de triple hélice del polisacárido, mientras que la síntesis de interferón-a, es independiente de esta estructura. En otros estudios se ha identificado que la estructura α-(1→3)-manano de la cadena principal de los polisacárido es de mayor importancia que la estructura terciaria de la molécula (Yadomae 2000).

Tabla 1. Tipos de polisacáridos con actividad inmunomoduladora de hongos comestibles

Hongo	Nombre común	Inmunomodulador	Tipo de Polisacárido	Referencia
Agaricus blazei	Royal sun	Flo-a- β	α-(1→4)-;β-(1→6)-glucano, Heteropolisácarido, complejo proteína-glucano	Mizuno *et al.* 1990
		FA-2-Md	RNA-complejo proteína (PM, 6200 D)	Cho *et al.* 1999
			β-(1→6)-;β-(1→3)–glucano β - (1 → 2) - ; β - (1 → 3) - glucomanano	Mizuno *et al.* 1990
Grifola frondosa	Maitake	Fracc. MD	β-(1→6)-;β-(1→3)–glucano	Nanba *et al.* 1987
		Grifolan	β-(1→3)-glucano;β-(1→6)–glucosil (ramificaciones)	Ohno *et al.* 1986
Lentinula edodes	Shiitake	Lentinan	β-(1→3)-;β-(1→6)–glucano	Chiara 1993, Chiara 1969
		LEM	Complejo lignina-polisacáridos	
Pleurotus pulmonarius	Hongo ostra		Xiloglucanos, Manogalcatoglucano, manogalactano	Zhuang *et al.* 1993, Gutierrez *et al.* 1996
Pleurotus cornucopiae			Manogalcatoglucano	Kim *et al.* 1994
Pleurotus citrinopileatus	Hongo dorado		Arabinogalactano	Wang *et al.* 2005
Schizophyllum commune		Schizophyllan	β-(1→3)-glucano;β-(1→6)–glucosil (ramificaciones)	Yamamoto 1981

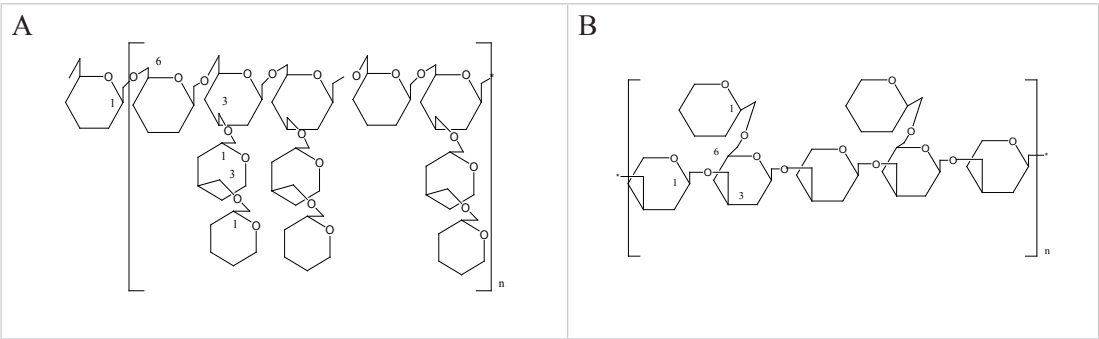


Figura 6. Unidades de β-gluacanos con actividad inmunomodulatoria a) *Grifola frondosa* (fracción-D, PM: 1000 kD) y b) *Lentinula edodes* (lentinan, PM: 500 kD).

Extracción de polisacáridos

La metodología general de obtención de los polisacáridos de los hongos ha sufrido varias modificaciones, en general se puede resumir de la siguiente forma; eliminación de sustancias con bajo peso molecular del material seco del hongo por medio de la extracción con etanol 80%, seguido por tres extracciones sucesivas con agua (100°C, 3h), 2% de oxalato de amonio (100°C, 6h), y finalmente a 80°C por 6h con hidróxido de sodio 5% (Mizuno 1996, 1999). Con la primera extracción se obtienen polisacáridos solubles en agua y con las otras dos los polisacáridos insolubles en agua. Para purificar los polisacáridos extraídos se utilizan combinación

de técnicas, tales como la concentración, precipitación fraccionada, la precipitación ácida con ácido acético, cromatografía de intercambio iónico, filtración en gel, y métodos cromatográficos (afinidad, intercambio iónico, etc.).

Propiedades inmunomoduladoras de metabolitos secundarios de basidiomicetos

El reconocimiento de los microorganismos invasores por los macrófagos y granulocitos neurofílicos del huésped permite la fagocitosis de los microbios y la activación de fagocitos que matan dichos microbios, el reconocimiento es mediado por los receptores toll (TLR) que son específicos para diferentes componentes de microbios. Así, el receptor TLR-2 se une a lipoglicanos, el TLR-4 se une a liposacáridos (LPS) bacterianos, el TLR-5 se une a flagelin y TLR-9 se une a nucleótidos no-metilados presentes en bacterias. Como consecuencia del reconocimiento y fagocitosis varias enzimas son activadas, incluyendo oxidasa y la sintetasa de óxido nítrico (INOs), resultando en la producción de intermediarios de oxigeno reactivo de óxido nítrico bactericida. El efecto de los extractos y metabolitos de hongos sobre los macrófagos ha sido ampliamente estudiado tanto *in vitro* como *in vivo*, algunos de estos metabolitos activan los macrófagos para producir varios mediadores, aún en ratones normales. *Agaricus blazei* Murrill contiene componentes los cuales activan los macrófagos contribuyendo a la respuesta inmune *in vitro*, los polisacáridos de cuerpos fructíferos frescos de *G. lucidum*, incrementaron lo niveles de interleucinas y del factor de necrosis tumoral (TNF-α) con respecto a cultivo de células no tratadas (Wang *et al*. 1997). El β-glucano grifolan aislado de *G. frondosa* indujo la liberación de interleucinas IL-1, IL-6 y de la citocina TNF-α, por parte de los macrófagos (Adachi *et al*. 1994, Okazaki *et al*. 1995). También, extractos metanólicos de cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., *florida* mostraron efecto antiinflamatorio y actividad de agregación antiplaquetaria (Jose *et al*. 2004). Las células asesinas naturales (NK) son una clase de linfocitos que rápidamente responden a infecciones intracelulares con virus y bacterias dando muerte a las células infectadas y produciendo una citocina, interferón γ (IFN-γ) activadora de macrófagos (Lull *et al*. 2005). Algunos metabolitos de los hongos estimulan a las células NK, así por ejemplo, la fracción D de *G. frondosa* incrementó la actividad de las célula NK (INF-γ) indirectamente a través de la interleucina IL-12 producida por macrófagos y células dendríticas (DCs) en ratón sano. Asimismo, la fracción D fue capaz de incrementar y mantener la actividad periférica de las células NK en sangre, en pacientes con cáncer de pulmón y de mama (Kodama *et al.* 2003). Zhang y colaboradores (2004) informaron que un extracto acuoso de hongos medicinales (EAH) elaborado con la misma cantidad de *Coriolus versicolor* (L.) Quél., *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc., *L. edodes*, *A. blazei* y *G. lucidum* mejoró la fagocitosis de macrófagos peritoneales, promoviendo la actividad de las células NK en ratones y suprimió el crecimiento de melanoma B-16. El EAH promovió significativamente la actividad de células NK de ratón en dosis de 400 mg/kg, lo que sugiere que el extracto puede poseer la capacidad para activar las células NK para matar directamente células tumorales, induce a las células NK para que secreten agentes citotóxicos que provocan la apoptosis de las células tumorales, o eliminar las células tumorales por otras vías.

La información aquí presentada ilustra las distintas propiedades inmunomoduladoras asociadas a los constituyentes de los hongos. El descubrimiento e identificación de nuevos medicamentos seguros, sin efectos secundarios graves, se ha convertido en un objetivo importante de la investigación en la ciencia biomédica. Se han demostrado efectos medicinales para muchos hongos tradicionalmente utilizados, con grandes diferencias en sus propiedades inmunomoduladores (Wang *et al*. 1997, Kodama *et al*. 2003, Zhang *et al*. 2004). Las especies estudiadas hasta el momento representan una gran fuente de extractos y metabolitos con propiedades inmunomoduladoras y antitumorales.

Los efectos principales de la inmuno-potenciación de estos principios activos incluyen mitogenicidad, la estimulación de células madre hematopoyéticas, la activación de la ruta alternativa del complemento y la activación de células inmunes, como células Th, las células Tc, las células B, los macrófagos, las células dendrítica (DCs) y las células NK. Así, diferentes perfiles se han observado en relación con las células inmunes

activadas, por ejemplo, los polisacáridos extraídos de hongos del género *Ganoderma* activan células B y macrófagos de ratón, pero no las células T (Shao *et al*. 2004), mientras que el lentinan es un estimulador de las células T y los macrófagos, pero no de las células B (Liu *et al*. 1998). En el caso particular de los glucanos a pesar de las similitudes estructurales y funcionales de algunos de ellos, difieren en su capacidad para provocar diferentes respuestas celulares, en específico la expresión y producción de citocinas y en su eficacia contra los tumores específicos (Borchers *et al*. 1999).

En la medicina preventiva, la defensa contra la invasión de cuerpos extraños depende de la mejora del sistema inmune natural, incluyendo la activación de los macrófagos y células NK. Los macrófagos estimulados por metabolitos de hongos liberan varias citocinas inflamatorias, IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α, y NO, las cuales inducen directamente la actividad tumoricida en los macrófagos. En otros casos los extractos de hongos inhiben la producción de NO, prostaglandina E2 (PGE2), IL-1β y el factor de necrosis tumoral (TNF-α) en los macrófagos estimulados con lipopolisacáridos (LPS) y en ratones a los que se les administraron LPS. Este efecto anti-inflamatorio se produce por regulación a la baja de la INOS, ciclooxigenesa2 (COX-2), IL-1β y TNF-α y la expresión de genes a través de la supresión de la actividad del factor de trascripción nuclear kappa (NF-kB). Por lo tanto, los extractos de estos hongos pueden ser relevantes para su uso clínico en las enfermedades anti-inflamatorias, incluyendo la endotoxemia o sepsis (Lull *et al*. 2005).

Para algunos de los metabolitos de hongos descritos, se requieren investigaciones futuras para determinar si existen beneficios *in vivo* comparados con los efectos *in vitro*. Aunque es poco probable que los polisacáridos de peso molecular elevado se absorban por vía oral, es posible que pudieran ejercer un efecto terapéutico por la interacción directa con el sistema inmunológico de la mucosa del tracto gastrointestinal. Por lo tanto, podrían ser comercializados como suplemento dietético o farmacéutico (Lull *et al*. 2005).

Definición de Nutracéuticos

Dada la importancia que han adquirido los basidiomicetos tanto por su valor nutricional como farmacéutico, en la actualidad se habla del término "nutracéutico" para caracterizarlos. Una definición para este tipo de productos aplicada a los hongos es la siguiente: "Productos de hongos puros y/o parcialmente refinados o sin refinar, procedentes de cuerpos fructíferos, micelio de hongos o del medio de cultivo filtrado después del crecimiento micelial en cultivo sumergido. Que poseen propiedades nutricionales y/o promueven la salud, y se consumen en forma de cápsulas o comprimidos como un suplemento dietético" (Chang y Buswell 1996). El valor de mercado de los hongos medicinales a nivel mundial ha pasado de 1.2 mil millones dólares en 1991 (Chang 1996) a un estimado de 14 mil millones de dólares para el año 2010. También la producción y distribución de los productos de hongos ha ido cambiando a lo largo del tiempo, así, antes de 1995, 99% de todas las ventas de hongos medicinales y sus derivados fueron realizadas en Asia y Europa y menos del 0.1% en América del Norte. En los últimos años la demanda tanto del Norte como del Sur de América ha aumentado 20-40% al año, dependiendo de la especie de hongo medicinal. China es el mayor productor y consumidor de hongos medicinales, en el año 2000, más de 100 Unidades e Institutos de investigación se dedicaban a investigación y desarrollo (I + D) de los hongos medicinales en este país. Se han fabricado entre 30-40 variedades de productos de hongos para su uso como suplementos nutritivos y/o medicinales en más de 200 industrias. Por otra parte, fueron registrados y comercializados cerca de 700 productos a base de hongos comestibles, incluyendo más de 90 marcas de productos de *G. lucidum* (Lin 2000).

Chang y Miles (2004) indicaron que aproximadamente 77% de los productos de hongos medicinales se derivaron de los cuerpos fructíferos cultivados con fines comerciales o recolectados del medio silvestre, y aproximadamente 21% de todos los productos proceden de micelio de hongos y aproximadamente 2% derivaron de filtrados de medios de cultivos. El micelio y el medio de cultivo filtrado son los productos que cada vez tienen más importancia, dado que cumplen con la exigencia de mayor seguridad, control de calidad y

producción durante todo el año. Además, los procesos de cultivo sumergido para la obtención de micelio puede ser fácilmente estandarizados bajo condiciones controladas y la transformación secundaria de los componentes activos liberados en el medio de cultivo por lo general implican procedimientos relativamente simples. El control de calidad en la producción de los hongos comestibles plantea retos importantes dado que pequeñas diferencias en la genética de las cepas de hongos utilizados, el sustrato, la temperatura, la humedad y el tiempo de la cosecha pueden dar lugar a importantes diferencias en la concentración de los compuestos bioactivos de los hongos. Por otro lado, la forma de presentación de los nutracéuticos de hongos también es importante para su adecuada comercialización. Por lo general éstas pueden ser:

a) Entera o en polvo de cuerpos fructíferos, primordios o micelio secos.
b) Extractos de cuerpos fructíferos silvestres o cultivados o micelio en diferentes disolventes como agua caliente, etanol, metanol, etc.
c) Extractos de los cuerpos fructíferos en polvo obtenidos con CO_2 líquido en condiciones supercríticas
d) Varias combinaciones de lo anterior.

Sin embargo, de 40 productos examinados de hongos en tiendas o empresas, sólo dos (ambos productos de *Ganoderma*) tenían indicado en las etiquetas que el producto contenía 12.5% de polisacáridos y 4.5% de triterpenos (Chang y Buswell 2008). Aunque algunos productos de hongos se venden en forma pura, como el caso del lentinan, la abrumadora mayoría de los productos nutracéuticos de hongos disponibles en la actualidad no son compuestos puros, sino una combinación de varios componentes individuales que contribuyen conjuntamente a la bioactividad general del producto. Por lo tanto, es importante que en el futuro el desarrollo de suplementos nutracéuticos de hongos considere que no solo el aislamiento, purificación y la bioactividad de los distintos componentes de los hongos, sino que tome también en cuenta los efectos sinérgicos producidos por los extractos o mezclas de metabolitos de hongos. Esto conlleva a que se debe tener un mayor cuidado en la venta de estos productos, además de que se ha generado una reflexión sobre las normas y procedimientos para su producción y comercialización. Actualmente la normatividad de nutracéuticos de hongos es problemática debido a:

1. La considerable variación en la normativa aplicable a los diferentes países activos en el mercado.
2. La posición intermedia ocupada por los suplementos nutritivos de hongos entre los alimentos y medicinas (Bagchi 2008).

Ante esta disyuntiva es importante considerar la propuesta de protocolo propuesto para la obtención de productos de buena calidad de hongos, identificada como las cinco directrices «G» (de bueno en inglés "Good"), originalmente propuesta para su adopción como base para la fabricación de productos de calidad a partir de cuerpos fructíferos de setas y que establece como base importante que el origen y naturaleza de la cepa del hongo debe estar claramente documentado y que las cepas deben estar bien cuidadas y conservadas sin contaminación o degeneración (Miles y Chang 1997, Chang 2006). Dicha propuesta se presenta a continuación:

1) GAP (Buenas Prácticas Agrícolas)
Las GAP tienen alta prioridad dada la propensión de los hongos para acumular contaminantes potencialmente dañinos presentes en los medios de cultivo. Deben estar estrictamente definidas para el crecimiento y cosecha de cuerpos fructíferos cultivados comercialmente. Los materiales auxiliares del sustrato para el cultivo (por ejemplo, tierra de cobertura en champiñones) deben estar libre de contaminantes nocivos como metales pesados y pesticidas. Se deben de estipular los parámetros físicos del cultivo (temperatura, humedad relativa, periodos e intensidad de iluminación).

Las buenas condiciones sanitarias del cultivo deben prevalecer (por ejemplo, evitar la contaminación del agua y el aire, la contaminación microbiana, las infestaciones).

Las GAP son importantes no sólo por la calidad y seguridad del producto, también pueden afectar el rendimiento de los biofármacos que se quieran obtener. Por ejemplo, en *L. edodes* se ha observado que se obtienen más polisacáridos de alto peso molecular (HMWP) en los cuerpos fructíferos obtenidos en troncos de árboles que entre los obtenidos en aserrín. Influye tanto la cepa de hongo como la especie de árbol utilizado como sustrato en la producción de HMWP.

2) GMP (Buenas Prácticas de Manufactura)
Se refiere al desarrollo, la normalización y la supervisión constante de los procesos de producción estandarizando parámetros (por ejemplo, tratamientos previos antes de la trituración, métodos molienda, las temperaturas de extracción, los tiempos de extracción, calidad de disolventes utilizados) para obtener una producción libre de contaminación.

Aunque la mayoría de suplementos nutritivos de hongos son de naturaleza heterogénea, determinar y conocer los niveles de los componentes activos principales de un producto en particular, en la medida en que la naturaleza del producto lo permita, con el fin de garantizar la calidad, la autenticidad y la formulación de la dosis. Por ejemplo, el contenido de los principales triterpenoides y/o polisacáridos de los productos de los géneros *Ganoderma*, *Grifola*, *Lentinula*, etc. para lo cual es necesario el establecimiento de centros de pruebas de certificación a fin de proporcionar la validación de productos y la información a los fabricantes, minoristas y consumidores.

3) GPP (Buenas Prácticas Post-formulación)
Requiere la realización de análisis químicos y microbiológicos para garantizar que todos los tipos y niveles de químicos (por ejemplo, metales pesados) y la contaminación microbiológica se encuentren dentro de límites seguros. Se refiere a la determinación de las condiciones óptimas de almacenamiento y las tasas de inactivación o deterioro con el tiempo de los principales ingredientes activos de los productos comercializados, con el fin de determinar la vida útil y establecer las fechas de «caducidad», ya que se ha reportado la degradación por exoglucanasas de lentinan durante el almacenamiento de cuerpos fructíferos de *L. edodes*.

4) GCP (Buenas Prácticas Clínicas)
Realizar ensayos de alta calidad clínica, incluidos los estudios de doble ciego, que deberá realizarse a largo plazo para:

a.- Confirmar las especificaciones de la bioactividad del producto
b.- Facilitar la formulación del producto
c.- Determinar un nivel de dosis adecuada para un resultado efectivo que promueva la salud.

Otro aspecto que habría que considerar y que no lo menciona Chang (2006) son las normas de bioseguridad, si se utilizan organismos genéticamente modificados. Finalmente es importante impulsar este tipo de prácticas en los diferentes países con la finalidad de que se realicen las modificaciones pertinentes en la Normatividad para que estén regulados tanto los productos de producción nacional como internacional.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó con el apoyo de los proyectos SIP 20091065 y SIP 20100740 del IPN y CONACYT 90032 y CB-2008-105683.

REFERENCIAS

Adachi Y, Okazaki M, Ohno N, Yadomae T (1994) Enhancement of cytokine production by macrophages stimulated with (1→3)-β-D-glucan, grifolan (GRN), isolated from *Grifola frondosa*. *Biol. Pharm. Bull*. 17(12):1554–1560.

Bagchi D (2008) *Nutraceutical and functional food regulations in the United States and around the world*. Academic Press, New York, 462pp.

Borchers AT, Stern JS, Hackman RM, Keen CL, Gershwin EM (1999) Mushrooms, tumors, and immunity. *Soc. Exp. Biol. Med*. 221:281–293.

Brandt CR, Piraino F (2000) Mushroom antivirals. Recent antimicrobial agents. *Chemother.* 4:11–26.

Chang ST, Miles PG (1992) Mushroom biology a new discipline. *Mycologist* 6:64–65.

Chang ST, Miles PG (2004) *Mushrooms: Cultivation, nutritional value, medicinal effects and Enviromental impact*, CRC Press, USA, 451 pp.

Chang ST, (2006) The need for scientific validation of culinary-medicinal mushroom products. *Int. J. Med. Mush.* 8:187-195.

Chang ST, Buswell G (1996) 1996 Mushroom nutriceuticals. *World J. Microbiol. Biotechnol*. 12:473-476.

Chang ST, Buswell G (2008) Safety, quality control and regulational aspects relating to mushroom nutriceuticals. *Proceed. 6th Int. Conf. Mush. Biol. Mush. Prod*. WSMBMP. Bonn. 188-196.

Chihara G (1969) The antitumor polysaccharide lentinan: an overview. En**:** Aoki T, *et al*. (eds) Manipulation of host defense mechanism. *Nature* 222:687-694.

Chihara G (1993) Medical aspects of lentinan isolated from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. En: Chang ST, Buswell JA, Chiu SW (eds) *Mushroom biology and mushroom products*. Hong Kong: The Chinese University Press. 261–266.

Cho SM, Park JS, Kim KP, Cha DY, Kim HM, Yoo ID (1999) Chemical features and purification of immunostimulating polysaccharides from the fruit bodies of *Agaricus blazei*. *Korean J. Mycol.* 27:170–174.

Gao Y, Zhou S, Chen G, Dai X, Ye J (2002) A phase I/II study of a *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) P.Karst. extract (Ganopoly) in patients with advanced cancer. *Int. J. Med. Mush.* 4:207–14.

Gregory FJ (1966) Studies on antitumor substances produced by basidionmycetes. *Mycologia*. 58:80-91.

Gutiérrez A, Prieto A, Martínez AT (1996) Structural characterization of extracellular polysaccharides produced by fungi from the genus *Pleurotus*. *Carbohydr. Res.* 281:143–154.

Jose N, Ajith TA, Janardhanan KK. (2004) Methanol extract of the oyster mushroom, *Pleurotus florida*, inhibits inflammation and platelet aggregation. *Phytother. Res*. 18(1):43–46.

Kim YS, Park KS, Park HK, Kim SW (1994) Compositional sugar analysis of polysaccharides by high perfomance liquid chromatography and gas chromatography. *Arch. Pharmacol. Res.* (Seoul) 17:337–342.

Kodama N, Komuta K, Nanba H (2003) Effect of maitake (*Grifola frondosa*) D-fraction on the activation of NK cells in cancer patients. *J. Med. Food*. 6(4):371–377.

Lin SC (2000) *Medicinal fungi of China: production and products development*. Chinese Agricultural Press, Beijing, China.

Lindequist U, Niedermeyer HJ, Wolf-Dieter J (2005) The pharmacological potential of mushrooms. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2 (3):285-299.

Liu M, Li J, Kong F, Lin J, Gao Y (1998) Induction of immunomodulating cytokines by a new polysaccharide- peptide complex from culture mycelia of *Lentinus edodes*. *Immunopharmacol.* 40(3):187–198.

Lucas EH (1957) Tumor inhibition in *Boletus edulis* and other Holobasidiomycetes. *Antibiot. Chemother*. 7: 1-15.

Lucas EH, Byerrum M, Clarke DA, Reilly HC, Stevens JA, Stock CC (1958) Production of oncostatic principles in vivo and in vitro by species of the genus *Calvatia*. *Antibiot. Annu*. 6:493-496.

Lull C, Wichers JH, Savelkoul FHJ (2005) Antiinflammatory and immunomodulating properties of fungal metabolites. *Hindawi Publishing Corporation*. 2: 63-80.

Miles PG, Chang ST (1997) *Mushroom biology: Concise basics and current developments*. World Scientific Press 161-175.

Mizuno T (1996) Development of antitumor polysaccharides from mushroom fungi. *Food and food ingredient Japan J.* 167:69-87.

Mizuno T (1999) The extraction and development of antitumor-active polysaccharides from medicinal mushrooms in Japan (review). *Int. J. Med. Mush*. 1:9–30.

Mizuno T, Inagaki R, Kanao T, Hagiwara T, Nakamura T, Ito H (1990) Antitumor activity and some properties of water-soluble polysaccharides from ‘‘Himematsutake’’, the fruiting body of *Agaricus blazei* Murill. *Agric. Biol. Chem*. 54:2889–96.

Mizuno T, Zhuang C (1995) *Grifola frondosa*: pharmacological effects. *Food Res. Int*. 11:135-149.

Nanba H, Hamaguchi A, Kuroda H (1987) The chemical structure of an antitumor polysaccharide in fruit bodies of *Grifola frondosa* (maitake). *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo). 35:1162–8.

Ohno N, Adachi Y, Suzuki I, Sato K, Oikawa S, Yadomae T (1986) Characterization of antitumor glucan obtained from liquid-cultured *Grifola frondosa*. *Chem. Pharm. Bull*. 34:1709–15.

Okazaki M, Adachi Y, Ohno N, Yadomae T (1995) Structure-activity relationship of (1→3)-beta-Dglucans in the induction of cytokine production from macrophages, in vitro. *Biol. Pharm. Bull.* 18(10):1320–1327.

Shao BM, Dai H, Xu W, Lin ZB, Gao XM (2004) Immune receptors for polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 323(1):133–141.

Sharon N, Lis H (1993) Carbohydrates in cell recognition. *Sci. Am. J.* 25:74–81.

Wang SY, Hsu ML, Hsu HC (1997) The anti-tumor effect of *Ganoderma lucidum* is mediated by cytokines released from activated macrophages and T lymphocytes. *Int. J. Cancer*. 70(6):699–705.

Wang, J, Hu, S, Liang, Z, Yeh C (2005) Optimization for the production of water-soluble polysaccharide from *Pleurotus citrinopileatus* in submerged culture and its antitumor effect. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 67: 759-766.

Wasser SP (2002) Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 60(3):258–274.

Wasser SP, Weis AL (1999) Therapeutic effects of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: a modern perspective. *Crit. Rev. Immunol*. 19(1):65–96.

Yamamoto, T (1981). Inhibition of pulmonary metastasis of lewis lung carcinoma by a glucan, schizophyllan. *Invasion Metastasis*. 32: 71-78.

Yadomae T (2000) Structure and biological activities of fungal β-1,3-glucans. *Yakugaku Zasshi* 120:413–431

Yanaki T, Ito W, Tabata K (1986) Correlation between antitumor activity of schizophyllan and its triple helix. *Agric. Biol. Chem*. 509:2415-2416.

Yanaki T, Norisuye T, Fujita H (1980) Triple helix of *Schizophyllum commune* polysaccharide in dilute solution. 3. Hydrodynamic properties in water. *Macromolecules*. 13:1462-1466.

Zhang M, Zhang L, Cheung PCK (2004) Molecular weight and anti-tumor activity of the water-soluble mushroom polysaccharides isolated by hot water and ultrasonic treatment from the sclerotia and mycelia of *Pleurotus tuber-regium*. *Carbohydrate Research* 56: 123-128.

Zhuang C, Mizuno T, Shimada A, Ito H, Suzuki C, Mayuzumi Y (1993) Antitumor protein-containing polysaccharides from a Chinese mushroom Fengweigu or Houbitake, *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. *Bioscience, Biotech. Biochem*. 57:901-906.

6.2 PRODUCTOS INMUNOCÉUTICOS DERIVADOS DEL HONGO COMESTIBLE-MEDICINAL *PLEUROTUS* SP. CULTIVADO SOBRE PULPA DE CAFÉ EN CUBA

Humberto J. Morris Quevedo, Gabriel Llauradó Maury, Yamila Lebeque Pérez,
Roberto Fontaine Álvarez, Rosa C. Bermúdez Savón, Nora García Oduardo,
Adrián Gutiérrez Muñoz

Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (CEBI), Universidad de Oriente
Reparto Jiménez, Santiago de Cuba 5. CP 90 500, Cuba
hmorris@cebi.uo.edu.cu

RESUMEN

El género *Pleurotus* incluye especies comestibles de alto valor nutricional cultivadas en la región iberoamericana que se destacan además, por sus propiedades medicinales. Con el objetivo de desarrollar en Cuba nuevas formulaciones con valor terapéutico a partir de *Pleurotus* sp. cultivado sobre pulpa de café, en el presente trabajo fueron investigados los efectos inmunomoduladores de tres preparaciones de cuerpos fructíferos. Se evaluaron dos extractos acuosos: HW-E y CW-E, obtenidos a altas y bajas temperaturas, respectivamente, así como la biomasa seca formulada como tabletas de 500 mg. La administración intraperitoneal de HW-E a ratones Ofbalb (F_1) durante siete días (100 mg/kg) incrementó la celularidad de la médula ósea y esplénica en comparación con los controles tratados con solución salina ($p<0.05$). El extracto CW-E administrado oralmente a ratones malnutridos estimuló la inmunidad humoral y celular, en función de la respuesta de anticuerpos y la reacción de hipersensibilidad retardada, respectivamente. El tratamiento profiláctico de ratones inmunodeprimidos con ciclofosfamida con las tabletas de *Pleurotus* (1000 mg/kg) evidenció una inmunosupresión menos pronunciada y propició la recuperación hematopoyética. Estos efectos sugieren que los productos inmunocéuticos de *Pleurotus* potenciaron los mecanismos de defensa del huésped y podrían ser utilizados en la formulación de alimentos funcionales y fármacos.

Palabras clave: hongos comestibles, hongos medicinales, efectos inmunomoduladores, alimentos funcionales

INTRODUCCIÓN

El cultivo del hongo ostra, *Pleurotus* spp., se ha incrementado significativamente a nivel internacional durante las últimas décadas (Sánchez y Royse 2002, Martínez-Carrera y López-Martínez de Alva 2010). Su popularidad se ha expandido debido a la facilidad de su cultivo, la posibilidad de emplear una amplia gama de sustratos, el elevado rendimiento potencial y su alto valor nutricional (Shashirekha *et al.* 2005).

El género *Pleurotus* incluye especies que han sido empleadas como alimento por diferentes civilizaciones en el mundo y adicionalmente, por sus propiedades medicinales. Entre las numerosas especies existentes, las más conocidas son: *P. ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., *P. pulmonarius* (Fr.) Quél., *P. cornucopiae* (Paulet) Rolland, *P. levis* (Berk. & M.A. Curtis) Singer*, P. eryngii* (DC.) Quél., *P. tuber-regium* (Rumph. ex Fr.) Singer y *P. djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn (Morales *et al.* 2010*)*. Estas especies representan una fuente valiosa de nutrientes (Bermúdez *et al.* 2002, 2003) y contienen también, diversos compuestos biológicamente activos con efectos terapéuticos (Gunde-Cimerman 1999).

Estudios recientes realizados en diferentes especies de *Pleurotus* han evidenciado su considerable potencial farmacológico que comprende: la modulación del sistema inmune, la inhibición del crecimiento tumoral y la inflamación, la actividad hipoglicemiante y antitrombótica, la disminución de las concentraciones de

lípidos séricos, la prevención de la hipertensión arterial y la aterosclerosis, así como los efectos antioxidantes, antimicrobianos y antivirales, entre otros (Gregori *et al.* 2007).

Un interés especial han recibido las investigaciones relacionadas con las propiedades inmunomoduladoras y antitumorales por la importancia cada vez mayor del cáncer, las inmunodeficiencias y las infecciones como problemas de salud en la actualidad, y en consecuencia la necesidad de desarrollar nuevos agentes inmunoterapéuticos desprovistos de reacciones adversas (Bush y Watkin 2007).

De manera similar al resto de los hongos comestibles-medicinales, las especies del género *Pleurotus* constituyen una fuente de compuestos denominados "potenciadores de la defensa del huésped" (HDPs, del inglés host defense potentiators) por su actividad estimuladora del sistema inmune (Petrova *et al.* 2005). Diversas sustancias con efecto en la respuesta inmune han sido aisladas de especies de *Pleurotus*: un polisacárido soluble en agua del medio de fermentación de *P. citrinopileatus* Singer (Wang *et al.* 2005), glucanos del cuerpo fructífero de *P. florida* Singer (Rout *et al.* 2005), proteoglicanos, polisacáridos y polisacaropéptidos del micelio de *P. ostreatus* (Sarangi *et al.* 2006, Morris *et al.* 2007, Refaie *et al.* 2009) y ADN de cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* (Shlyakhovenko *et al.* 2006). Estos compuestos estimulan diferentes poblaciones celulares del sistema inmune como macrófagos, células NK (Natural Killer), linfocitos e inducen la síntesis de citocinas (Gregori *et al.* 2007).

Si bien la mayoría de los estudios relacionados con las propiedades inmunomoduladoras de *Pleurotus* spp se han enfocado al aislamiento de los compuestos bioactivos, en particular polisacáridos, se debe tomar en consideración el posible efecto sinérgico de las biomoléculas presentes en los extractos y otras preparaciones.

En este contexto, los suplementos dietéticos con un alto valor terapéutico potencial formulados a partir de extractos refinados o parcialmente refinados, o de biomasa seca del micelio o cuerpos fructíferos de setas comestibles, se refieren en la literatura como "nutricéuticos de hongos" (Chang y Buswell 1996, Wasser *et al.* 2004). En particular, aquellos capaces de estimular el sistema inmune son denominados "inmunocéuticos" (Petrova *et al.* 2005).

En Cuba, el Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (CEBI) desarrolla proyectos relacionados con la evaluación de las propiedades inmunofarmacológicas de bioproductos de *Pleurotus* sp., fundamentalmente de extractos acuosos derivados del micelio, obtenido en condiciones de cultivo sumergido (Morris *et al*. 2002, Beltrán *et al*. 2005). Esta tecnología asegura condiciones reproducibles, permite optimizar el medio de cultivo y garantiza un rendimiento superior de biomasa y sustancias específicas. De modo que se perfila como un método promisorio para aplicaciones biotecnológicas novedosas relacionadas con la obtención de compuestos de interés farmacológico (Wasser *et al*. 2002). No obstante, la fermentación en estado sólido (FES) en condiciones de Buenas Prácticas de Producción representa una opción viable desde el punto de vista técnico-económico para la obtención de cuerpos fructíferos de *Pleurotus* sp. (Bermúdez *et al.* 2001), que pueden ser utilizados como materia prima para la elaboración de bioproductos con actividad biológica potencial.

En el presente trabajo, fueron investigados los efectos inmunomoduladores de tres preparaciones de cuerpos fructíferos de *Pleurotus*, cultivado sobre pulpa de café como sustrato. Se evaluaron dos extractos acuosos: HW-E y CW-E, obtenidos a altas y bajas temperaturas, respectivamente, así como la biomasa seca formulada como tabletas de 500 mg. Los resultados aportan nuevas evidencias experimentales al conocimiento de las potencialidades inmunofarmacológicas del género *Pleurotus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus* sp.

Se utilizó la cepa *Pleurotus* sp. CCEBI-3024, depositada en la Colección de Cultivos del CEBI y suministrada por el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA, La Habana). Su propagación fue realizada en placas Petri con agar papa-dextrosa. Las placas fueron incubadas a 37°C hasta lograr un crecimiento micelial total. En la preparación de los inóculos se utilizó como sustrato semillas de trigo. Los cuerpos fructíferos fueron obtenidos por fermentación en estado sólido (FES) en bolsas de 2 kg, bajo las condiciones de cultivo referidas por Bermúdez *et al.* (2001). Se empleó como sustrato pulpa de café previamente pasteurizada.

Productos derivados de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus* sp.

Extracto acuoso obtenido a altas temperaturas (HW-E)
Los cuerpos fructíferos, una vez colectados y lavados exhaustivamente con agua destilada, fueron fragmentados en pequeñas piezas de 1 cm^2. Se pesaron en balanza técnica y se añadió 5 ml de agua destilada por cada gramo de material biológico. El preparado HW-E se obtuvo mediante la decocción durante 10 h a la temperatura de 90-95°C con agitación continua a 150 rpm en zaranda. La suspensión fue filtrada través de una gasa estéril y centrifugada 10 min a 3 000 rpm (Hitachi Kokico modelo SCR 7B). El extracto resultante se conservó a -20ºC hasta su utilización.

Extracto acuoso obtenido a bajas temperaturas (CW-E)
Se procedió de forma similar a HW-E, con la diferencia de que la extracción se realizó durante 3 horas a la temperatura de 20ºC.

Tabletas de cuerpos fructíferos
Los cuerpos fructíferos fueron fragmentados en trozos pequeños, secados 24 h a 45ºC, y a continuación se molieron. El polvo resultante fue conservado en bolsas de nylon, protegido de la luz y la humedad. La formulación del suplemento nutricional (tabletas) se desarrolló en el Laboratorio Farmacéutico Oriente (MINBAS, Santiago de Cuba) en base a 500 mg de biomasa seca y pulverizada de cuerpos fructíferos de *Pleurotus* sp.

Determinaciones analíticas en los productos

En los extractos se determinó la concentración de carbohidratos totales y proteínas por los métodos de Dubois *et al* (1956) y Lowry *et al.* (1951), respectivamente. En las tabletas se evaluó además, el contenido de lípidos (AOAC 1995). Los resultados se expresaron en función de la materia seca.

Animales de experimentación

Se utilizaron animales procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB, La Habana). Se emplearon condiciones sanitarias convencionales, y se mantuvieron a temperatura y humedad ambiental controlada durante toda la investigación. En el cuidado de los animales se cumplieron las normativas internacionales establecidas por la Comunidad Económica Europea. La administración de los productos se efectuó diariamente en las mañanas, entre las 9-10 am.

Efectos de la administración del extracto HW-E a ratones inmunocompetentes

Se emplearon ratones Ofbalb (F_1) machos de 8 semanas, con un peso corporal entre 20 y 25 g, libres de

patógenos. Los animales recibieron agua acidulada y alimento *ad libitum* (ratonina, CENPALAB, La Habana) durante todo el período de evaluación. Los ratones fueron distribuidos de forma aleatorizada en dos grupos experimentales de 5 ratones cada uno. Uno de los grupos fue administrado durante 7 días por vía intraperitoneal (i.p.) con 0.2 ml del extracto HW-E a la dosis de 100 mg/kg de peso. El grupo control comprendió ratones tratados con solución salina fisiológica (Laboratorio Farmacéutico Oriente, Santiago de Cuba) en sustitución del extracto.

Celularidad de la médula ósea

Al culminar el período experimental, los animales fueron sacrificados por dislocación de la cervical. A los ratones se les retiró el fémur de la pata trasera derecha y se extrajo la médula ósea con 1,5 ml de solución de Hanks. Las células fueron contadas en cámara de Neubauer al microscopio óptico (Morris *et al*. 2003).

Celularidad esplénica

La suspensión de células esplénicas se preparó triturando suavemente el bazo con solución de Hanks helada, pasándola luego a través de una gasa antiséptica (Johnson and Johnson Medical, TX, USA). Las células fueron contadas en cámara de Neubauer en un microscopio óptico (Morris *et al*. 2003).

Efectos de la administración del extracto CW-E a ratones malnutridos

Se utilizaron ratones Balb/c hembras de 8 semanas, con un peso corporal entre 18 y 20 g. Los animales fueron distribuidos de forma aleatoria en tres grupos (n= 10). Dos de los grupos se sometieron a un régimen de restricción dietética hasta la pérdida de 25% del peso inicial con el objetivo de inducir un estado de malnutrición. Estos animales fueron asignados a los grupos M-DC y CW-E, que se alimentaron *ad libitum* con pienso comercial durante el período de repleción. A los animales del tratamiento CW-E se les administró adicionalmente por vía oral, 0.2 ml del extracto CW-E, equivalente aproximadamente a una dosis de 100 mg/kg de peso. El período de repleción tuvo una duración de ocho días en el experimento de evaluación de la respuesta celular y de catorce días en el correspondiente a la inmunidad humoral. Un grupo control se alimentó con dieta convencional durante toda la experimentación.

Evaluación de la inmunidad humoral

Se realizó mediante un esquema de inmunización con eritrocitos de carnero como antígeno modelo. Al término de la depleción, se le inoculó a ambos grupos por vía intraperitoneal 0.2 ml de una solución de 25% de eritrocitos de carnero en solución salina fisiológica (LABEX®). El volumen administrado de la suspensión celular equivale aproximadamente a una cantidad de $2x10^6$ células/ratón. A los siete días se tomaron 50 µl de sangre por el plexo retroorbital para la titulación de los anticuerpos anti-eritrocitos de carnero por el método de hemaglutinación directa (Pico *et al*. 1997). Ese mismo día se realizó la segunda inoculación del antígeno. En el día catorce del esquema se extrajo nuevamente sangre para la titulación de los anticuerpos. El título de anticuerpos se definió como el recíproco de la mayor dilución positiva del suero en la reacción de hemaglutinación y fue expresado como el $\log_2$ de los valores obtenidos.

Evaluación de la inmunidad celular

Se desarrolló a través del ensayo de hipersensibilidad retardada (HR) según Kim *et al*. (1998). El día 0 los ratones fueron sensibilizados por la inoculación intradérmica (i.d) de 50 µl de una solución de seroalbúmina bovina 5 mg/ml en Adyuvante Completo de Freund (Sigma, St. Louis, MO) en dos sitios del abdomen. A los ocho días los animales se retaron por vía i.d. en el cojinete de la pata trasera izquierda con 20 µl de la solución de BSA 5 mg/ml. En el cojinete de la pata derecha se inoculó un volumen similar de solución salina tamponada con fosfato (SSTF). La medición de la induración se realizó con un micrómetro (Mitutoyo, Japón) a las 24 h del reto. La respuesta de HR se expresó como la diferencia entre la magnitud del edema en la pata inoculada con el antígeno y su valor en la pata inyectada con SSTF.

Efectos de la administración de biomasa seca y pulverizada a ratones inmunodeprimidos con ciclofosfamida

Se utilizaron ratones Balb/c machos de 8 semanas, con un peso corporal entre 18 y 25 g. Los animales fueron distribuidos de forma aleatoria en cinco grupos (n= 5). La inmunosupresión fue inducida mediante la administración intraperitoneal de ciclofosfamida (CY) USP 23 para inyección (JSLYP, China) a una dosis de 100 mg/kg el día 0 en los grupos CY-*Pleurotus* y CY-Salina, o en el día 5 en los grupos *Pleurotus*-CY y Salina-CY. A los grupos CY-*Pleurotus* y *Pleurotus*-CY se les suministró el suplemento nutricional (1 000 mg/kg) durante ocho días por vía oral en un volumen de suspensión de 0.2 ml, preparada en solución salina fisiológica al momento de ser utilizada. Los animales de los grupos CY-Salina y Salina-CY fueron administrados con solución salina fisiológica (SSF) en sustitución del preparado de *Pleurotus*. Un grupo control fue alimentado con dieta convencional durante toda la experimentación.

Celularidad de la médula ósea y conteo total de leucocitos
La celularidad de la médula ósea se estimó según se describió con anterioridad. Para el conteo total de leucocitos se tomaron 20 µl de sangre, que se añadieron a viales con 0.4 ml de ácido acético 2%. Se homogeneizó y se procedió al conteo en cámara de Neubauer en microscopio óptico (NOVEL, China).

Análisis estadístico

El análisis de los datos fue realizado con el paquete Statistical Package for Social Sciences (SPSS) para Windows versión 12.0/2003 (SPSS Inc. 1989-2003). Se utilizó la prueba de Mann-Whitney para la comparación de las medias de los parámetros estudiados durante la administración de HW-E a ratones inmunocompetentes. Se realizaron análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple acoplados a la prueba de Tukey para las comparaciones múltiples de las medias de los tratamientos en los experimentos relacionados con la administración de CW-E a ratones malnutridos. En las experiencias desarrolladas con los ratones inmunodeprimidos con ciclofosfamida se efectuaron análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple por rangos de Kruskal-Wallis, acoplados a la prueba de Student-Newman-Keuls para la comparación de las medias. En todos los casos se consideró un nivel de significación de $p< 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la última década se han publicado numerosos informes de estudios preclínicos y ensayos clínicos relacionados con la actividad antitumoral e inmunomoduladora de los hongos comestibles-medicinales y sus derivados. El 77% de los productos se ha obtenido de los cuerpos fructíferos, cultivados comercialmente o recolectados del medio silvestre, 21% proceden del micelio y aproximadamente 2% de filtrados de medios de cultivo (Wasser 2010). El análisis de la literatura demuestra la importancia de considerar en las evaluaciones de actividad biológica la naturaleza de los productos, el método de obtención, la vía de administración, la dosis utilizada y el biomodelo, en la interpretación de los resultados de los efectos inmunomoduladores de los hongos comestibles-medicinales.

Efectos de la administración del extracto HW-E a ratones inmunocompetentes

La composición de HW-E se caracterizó por la presencia mayoritaria de carbohidratos y proteínas con valores de 29.6 y 23%, respectivamente. En estudios previos se refirió un contenido superior de carbohidratos (70.4%) e inferior de proteínas (15%) en decocciones del micelio de *Pleurotus* sp. utilizando la cepa CCEBI-3024 obtenido mediante fermentación sumergida (Beltrán *et al*. 2005). Las diferencias en los patrones de biosíntesis de los componentes moleculares indispensables para la célula en las distintas etapas de su ciclo vital podría repercutir en la composición bioquímica de los productos obtenidos de las setas comestibles (He y Seleen 2004).

Se conoce la importancia de la médula ósea en la producción de células madres pluripotenciales, precursoras de los progenitores mieloide y linfoide, a partir de los cuales se originan los variados elementos celulares implicados en las respuestas inmunitarias (Abbas *et al*. 2007). Los animales administrados durante 7 días vía i.p con HW-E (100 mg/kg) mostraron un incremento estadísticamente significativo en la celularidad medular comparado con el grupo control ($p<0.05$) (Figura 1). Este resultado permite suponer un efecto modulador de los componentes presentes en HW-E en la hemopoyesis, posiblemente a través de la estimulación de la síntesis de factores, como las citocinas estimuladoras de la hematopoyesis (denominadas colectivamente, factores estimuladores de colonias).

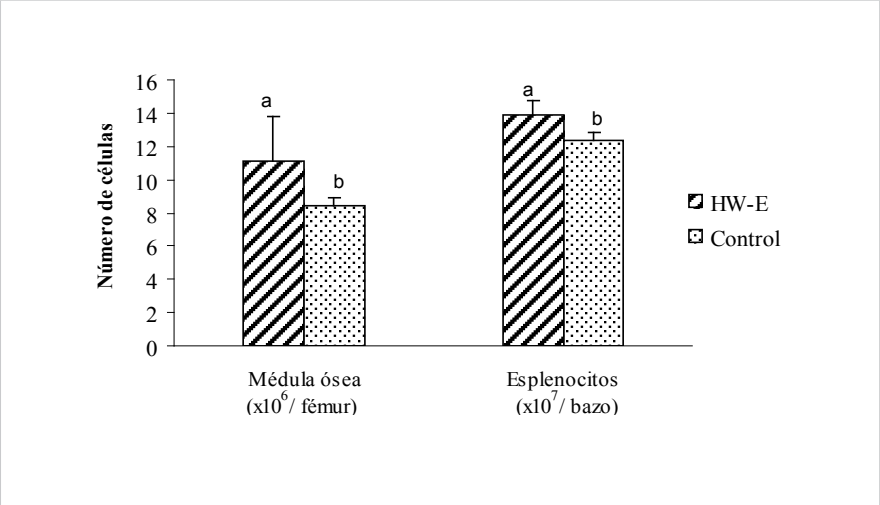


Figura 1. Evaluación del número de células en la médula ósea y el bazo en ratones Ofbalb (F_1) inmunocompetentes tratados con el extracto HW-E de *Pleurotus* sp.

Los resultados se presentan como el valor medio en cada grupo ± DE (n= 5). Letras distintas indican diferencias significativas (Mann-Whitney $p<0.05$).

La celularidad esplénica de los ratones tratados con HW-E mostró valores superiores con relación al grupo administrado con solución salina (Figura 1). Los efectos identificados a nivel de la hematopoyesis medular y la posible inducción de respuestas de fase aguda, proporcionan evidencias que podrían sustentar potenciales aplicaciones en el tratamiento de inmunodeficiencias nutricionales e inducidas con fármacos citostáticos.

Efectos de la administración del extracto CW-E a ratones malnutridos

La composición bioquímica de CW-E reflejó 43% de carbohidratos totales y 35% de proteínas. La extracción acuosa de los cuerpos fructíferos 3 h a 20ºC preservó la integridad de las proteínas y de las moléculas termolábiles presentes en la seta (Llauradó *et al*. 2005).

Aunque se conoce que la respuesta celular y la función de los linfocitos T son las más afectadas en estados de malnutrición proteico-energética (MPE), reviste importancia la evaluación de la inmunidad humoral, pues la deficiencia proteica ocasiona una disminución en la síntesis de proteínas vinculadas con los mecanismos de defensa del huésped. Los títulos de anticuerpos anti-eritrocitos de carnero a los catorce días en los animales suplementados con CW-E fueron significativamente superiores respecto a los del grupo M-DC, aunque inferiores al control ($p< 0.05$) (Figura 2). Las evidencias sugieren un efecto estimulador por parte del extracto, en la cooperación entre linfocitos T y B, así como en la diferenciación de los linfocitos B en células plasmáticas en los animales malnutridos.

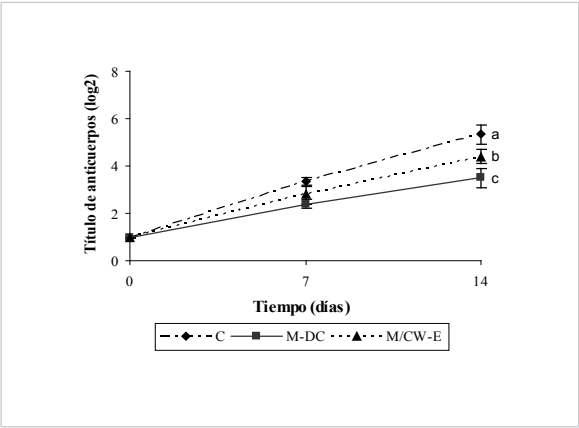


Figura 2. Títulos de anticuerpos anti-eritrocitos de carnero en ratones Balb/c malnutridos y suplementados o no con el extracto CW-E de *Pleurotus* sp. durante el período de repleción.

Los resultados se presentan como el valor medio en cada grupo ± DE (n= 5). Letras distintas indican diferencias significativas (ANOVA de clasificación simple, Tukey, $p< 0.05$).

Al respecto, Tirziu *et al.* (2009) refirieron el efecto estimulante de un extracto alcohólico total de *Pleurotus ostreatus* administrado a concentraciones de 5 y 15%, en la respuesta inmune humoral de gallinas ponedoras vacunadas contra la enfermedad infecciosa de la bursa.

La prueba cutánea de hipersensibilidad retardada (HR) ha sido ampliamente utilizada para evaluar la inmunidad celular *in vivo* (Schaible y Kaufmann 2007). Los ratones que recibieron como suplemento el extracto CW-E mostraron una respuesta de HR superior a la de los grupos M-DC y control a las primeras 24 horas (Figura 3). Este resultado sugiere un efecto estimulador del extracto de *Pleurotus* sp. sobre la respuesta inmune mediada por células T (CD4+ Th1).

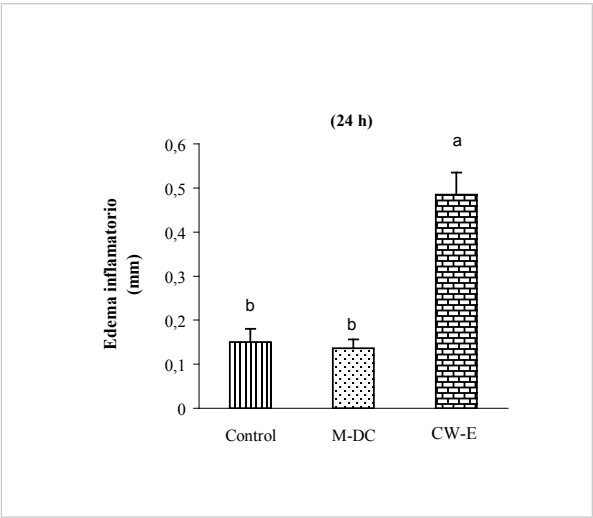


Figura 3. Respuesta de hipersensibilidad retardada (HR) en ratones Balb/c malnutridos y suplementados o no con el extracto CW-E de *Pleurotus* sp. durante el período de repleción.

Los resultados se presentan como el valor medio en cada grupo ± DE (n= 5). Letras distintas indican diferencias significativas (ANOVA de clasificación simple, Tukey, $p< 0.05$).

Diferentes estudios en setas comestibles han manifestado la activación de los linfocitos T. En este sentido, Paulik *et al.* (1996) evaluaron el efecto en ratones de dos glucanos extraídos de *P. ostreatus* y una levadura,

en diferentes funciones del sistema inmune. Ambos glucanos incrementaron la respuesta de HR respecto al control, aunque el aislado de la seta comestible mostró una respuesta superior.

Efectos de la administración de biomasa seca y pulverizada a ratones inmunodeprimidos con ciclofosfamida

La composición de la preparación seca y pulverizada de cuerpos fructíferos se caracterizó por la presencia mayoritaria de carbohidratos y proteína verdadera, con valores de 55% y 20%, respectivamente. Los lípidos constituyeron 7.89% de la biomasa. Estos resultados se corresponden con los referidos en la literatura para diferentes especies y cepas de *Pleurotus* (García 2008).

La ciclofosfamida es un fármaco usado comúnmente en la terapia del cáncer. En las experiencias desarrolladas causó un daño severo en el tejido hemopoyético de los ratones de los grupos control, a los cuales se administró solución salina. Se observó en general, que el suplemento de *Pleurotus* tuvo un efecto protector en los ratones cuando fue administrado con anterioridad al citostático.

Los resultados del conteo de células en la médula ósea mostraron un efecto potenciador de la actividad hematopoyética cuando el suplemento fue administrado de forma profiláctica ($9.89x10^6$/fémur), valor estadísticamente similar al de los animales inmunocompetentes utilizados como control ($p< 0.05$) (Figura 4). En cuanto a su administración en régimen terapéutico, no presentó diferencias significativas respecto a los grupos controles tratados con solución salina.

En estudios anteriores se informó el efecto estimulador sobre la médula ósea de un extracto crudo, obtenido del micelio de *Pleurotus* sp. por fermentación en estado sólido (FES), en ratones con inmunodeficiencia adquirida, como resultado del tratamiento con ciclofosfamida (Morris *et al*. 2003).

Uno de los parámetros más afectados en estados de inmunodeficiencias inducidas con citostáticos es el conteo total de leucocitos. Se apreció una recuperación de esta población celular en los animales tratados profilácticamente con el suplemento de *Pleurotus*, con niveles similares al control ($p< 0.05$) (Figura 4). Los valores estuvieron comprendidos dentro del intervalo considerado como normal para la especie ($6\text{-}17x10^9$/l). Sin embargo, los ratones administrados con el producto una vez inducido el estado de inmunodepresión no mostraron una recuperación en los conteos leucocitarios en sangre periférica.

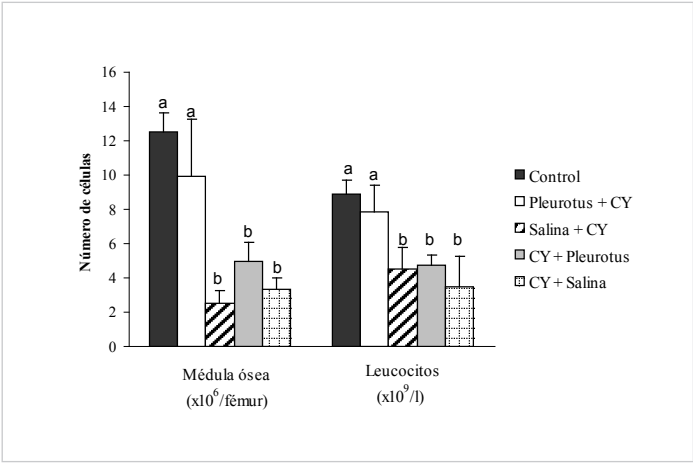


Figura 4. Evaluación del número de células en la médula ósea y conteo de leucocitos en sangre periférica en ratones Balb/c inmunodeprimidos con ciclofosfamida y tratados o no con las tabletas de *Pleurotus* sp.
Letras distintas indican diferencias significativas (Kruskal-Wallis, Student-Neuman-Keuls $p< 0.05$).

Meerovich *et al.* (2005) informaron la inhibición *in vivo* del crecimiento tumoral en ratones por un extracto del micelio de *P. ostreatus*, administrado sólo o en combinación con la ciclofosfamida. El extracto micelial resultó efectivo en la disminución de la severidad de la leucopenia causada por el fármaco citostático.

Los conocimientos actuales sobre el papel de los productos obtenidos de *Pleurotus* en la profilaxis y tratamiento de diversas enfermedades se encuentran aún en gran medida a un nivel empírico. Los resultados obtenidos en la evaluación de los efectos inmunomoduladores de los extractos HW-E, CW-E y de una preparación seca y pulverizada en diferentes biomodelos experimentales apuntan a que su consumo podría ser un factor importante en el mantenimiento y/o recuperación de la integridad funcional del organismo. Consideramos se debe profundizar en los mecanismos moleculares responsables de los efectos inmunofarmacológicos observados.

El progreso en la comprensión de los aspectos metabólicos y funcionales de los suplementos inmunocéuticos derivados de los hongos comestibles-medicinales resolverá controversias sobre su papel en la inmunonutrición y proporcionará las bases para establecer recomendaciones sobre su utilización terapéutica.

REFERENCIAS

Abbas A, Litchtman A, Pober J (2007) *Inmunología Celular y Molecular*. 5ta ed. Madrid: Mc Graw-Hill.

AOAC (1995) *Official Methods of Analysis*. 16 ed. 16 ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists.

Beltrán Y, Morris HJ, Lebeque Y, Llauradó G, Marcos J, García N, Bermúdez RC (2005) Aqueous extracts from mycelium and fruiting bodies of the edible mushroom *Pleurotus* sp. CCEBI-3024. *Rev. Cubana Quím.* 17:166.

Bermúdez RC, García N, Gross P, Serrano M (2001) Cultivation of *Pleurotus* on agricultural subtrates in Cuba. *Micol. Apl. Int.* 13:25-29.

Bermúdez RC, Donoso C, Martínez CE, Ramos EI, Morris HJ (2002) Efecto de la luz en la concentración de micosteroles de *Pleurotus ostreatus* var. *florida*. *Rev. Cubana Aliment. Nutr.* 16:13-18.

Bermúdez RC, Morris HJ, Donoso C, Martínez CE, Ramos EI (2003) Influencia de la luz en la calidad proteica de *Pleurotus ostreatus* var. *florida*. *Rev. Cubana Invest. Bioméd*. 22:226-231.

Bush JA, Watkin JE (2007) The beneficial effects of mushrooms. A preventive and adjuvant therapeutic strategy against cancer. http://www.biomedicalabs.com (August 21, 2007).

Chang S, Buswell J (1996) Mushroom Nutriceuticals. *World J. Microb. Biotech*. 12:473-476.

García N (2008) Producción de setas comestibles y enzimas lacasas por fermentación en estado sólido de la pulpa de café con *Pleurotus* spp. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Técnicas. Centro de Estudios de Biotecnología Industrial. Universidad de Oriente. Santiago de Cuba, Cuba.

Gregori A, Švagel M, Pohleven J (2007) Cultivation techniques and medicinal properties of *Pleurotus*. *App. Food Technol. Biotechnol*. 45:238-249.

Gunde-Cimerman N (1999) Medicinal value of the genus *Pleurotus* (Fr.) P. Karst. (Agaricales s.I., Basidiomycetes). *Int. J. Med. Mush.* 1:69-80.

He X, Seleen J (2004) Chemical analysis as a quality control method for medicinal mushroom and fungi extracts. *Int. J. Med. Mush.* 6:253-261.

Kim YS, Maslinski W, Zheng XX, Stevens AC, Li XC, Tesch GH, Kelley VR, Strom TD (1998) Targeting the IL-15 receptor with an antagonist IL-15 mutant/Fcg 2a protein blocks delayed-type hypersensitivity. *J. Immunol.* 160:5742-5748.

Llauradó G, Morris HJ, Lebeque Y, Fontaine R, Bermúdez RC, Marcos J, Beltrán Y, García N (2005) Acerca de la funcionalidad de setas comestibles *Pleurotus* spp.: propiedades bioestimulantes de un extracto acuoso. *Rev Cubana Quím.* 17:102-107

Martínez-Carrera D, López-Martínez de Alva L (2010) Historia del cultivo comercial de hongos comestibles en México II: éxitos y fracasos durante el período 1991-2009. En**:** Martínez-Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora VM (eds) *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI.* Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNS-UAEM-IMINAP, Puebla.

Meerovich IG, Yang M, Jiang P, Hoffman RM, Gerasimenya VP, Orlov AE (2005) Study of action of cyclophosphamide and extract of mycelium of *Pleurotus ostreatus in vivo* in mice bearing melanoma B16-F0-GFP. En*: Proceedings*

of the SPIE vol. 5704. Genetically Engineered and Optical Probes for Biomedical Applications III, San José, California, USA. pp. 214-221.

Morales P, Sobal M; Bonilla M, Martínez W, Ramírez P, Tello I, Spezzia T, Lira N, De Lima R, Villa S, Montiel E, Martínez-Carrera D (2010) Los hongos comestibles en México: recursos genéticos, biotecnología, innovación y desarrollo del sistema de producción-consumo. En**:** Martínez-Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora VM (eds) *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI.* Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNS-UAEM-IMINAP, Puebla 91-108.

Morris HJ, Lebeque Y, Marcos J, Llauradó G, Fontaine R, Bermúdez RC, Beltrán Y, García N, Tamayo V (2002) Preliminar characterization and radioprotective effects of aqueous extract from the edible mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Comunicaciones de la 17 Conferencia de Química*. Santiago de Cuba, Cuba. Diciembre 4-6.

Morris HJ, Marcos J, Llauradó G, Fontaine R, Tamayo V, Garcia N, Bermudez RC (2003) Immunomodulating effects of the hot water extract from *Pleurotus ostreatus* mycelium on cyclophosphamide treated mice. *Micol. Apl. Int*. 15:7-13.

Morris HJ, Lebeque Y, Fontaine R, Bermúdez RC, Llauradó G, Marcos J (2007) A note on the *in vitro* macrophage-stimulating activity of water-soluble extracts from mycelium of *Pleurotus* sp. *Food Agric. Immunol.* 18:31-37.

Petrova R, Wasser SP, Mahajna JA, Denchev CM, Nevo E (2005) Potential role of medicinal mushrooms in breast cancer treatment: current knowledge and future perspectives. *Int. J. Med. Mush.* 7:141-155.

Pico M, Giraldino I, Otero A (1997) *Innmunología Experimental*. La Habana: Editorial Félix Varela.

Refaie FM, Esmat AY, Daba AS, Taha SM (2009) Characterization of polysaccharopeptides from *Pleurotus ostreatus* mycelium: assessment of toxicity and immunomodulation *in vivo*. *Micol. Apl. Int.* 21:67-75.

Rout D, Mondal S, Chakraborty I, Pramanik M, Islam SS (2005) Chemical analysis of a new (1→3)-, (1→6)-branched glucan from an edible mushroom *Pleurotus florida*. *Carbohydr. Res.* 340:2533-2539.

Sánchez-Vázquez JE, Royse DJ (2002) *La Biología y el Cultivo de Pleurotus* spp. ECOSUR-UTEHA, México, D.F.

Sarangi I, Ghosh D, Bhutia SK, Mallick SK, Maiti TK (2006) Anti-tumor and immunomodulating effects of *Pleurotus ostreatus* mycelia-derived proteoglycans. *Int. Immunopharmacol.* 6:1287-1297.

Schaible UE, Kaufmann HE (2007) Malnutrition and infection: complex mechanisms and global impacts. *PLOS Med* 4(5):115.

Shashirekha MN, Rajarathnam S, Bano Z (2005) Effects of supplementing rice straw growth substrate with cotton seeds on the analytical characteristics of the mushroom *Pleurotus florida* (Block & Tsao). *Food Chem.* 92:253-259.

Shlyakhovenko V, Kosak V, Olishevsky S (2006) Application of DNA from mushroom *Pleurotus ostreatus* for cancer biotherapy. a pilot study. *Experim. Oncol.* 28:132-135.

Tirziu E, Rugea T, Nichita I, Cumpănăşoiu C, Gros RV, Şereş M (2009) Immunostimulant effect of fungal polysaccharides upon humoral immune response in broiler chickens. *Lucrări Stintifece Medicină Veterinară*. 42:340-345.

Wang JC, Hu SH, Liang ZC, Yeh CJ (2005) Optimization for the production of water-soluble polysaccharide from *Pleurotus citrinopileatus* in submerged culture and its antitumor effect. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 67:759-776.

Wasser SP (2002) Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60:258-274.

Wasser SP, Didukh M, Nevo E (2004) Dietary supplements from culinary-medicinal mushrooms: A variety of regulations and safety concerns for the 21th Century. *Int. J. Med. Mush*. 6:231-248.

Wasser SP (2010) Medicinal Mushroom Science: History, Current Status, Future Trends, and Unsolved Problems. *Int. J. Med. Mush.* 12:1-16.

6.3 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE CEPAS HÍBRIDAS Y PARENTALES DE *PLEUROTUS* SPP.

Gustavo Valencia del Toro*, María Eugenia Garín Aguilar**, Adriana Cuadros Moreno*, Leticia Aguilar Doroteo*, Enrique Durán Páramo*

*Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, IPN. Av. Acueducto S/N la Laguna Ticomán,07340, México D.F.
**Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. México
gvalencia@ipn.mx, maragarin@yahoo.com.mx

RESUMEN

En este trabajo se evaluó la actividad antibacteriana de extractos hexánicos y metanólicos. A partir de las cepas parentales POS, SEC, PCM y UAP9 de *Pleurotus* spp. y de las cepas híbridas SAUA PAPO, y SAUB obtenidas previamente a partir del apareamiento de neohaplontes compatibles, todas las cepas parentales e híbridas fueron cultivadas en paja y los cuerpos fructíferos obtenidos se secaron y molieron. Se realizó la extracción con solventes y se determinó el análisis preliminar fitoquímico de los extractos, la actividad antibacteriana y la concentración mínima inhibitoria (CMI) contra bacterias Gram positivas y negativas. Se detectó la presencia de sesquiterpenlactonas, glicósidos cardiacos y azúcares en los extractos de las cepas trabajadas. Asimismo, estos extractos presentaron actividad antibacteriana para ambos tipos de bacterias. El análisis estadístico indicó que la cepa híbrida SAUA provocó mayor halo de inhibición que las parentales. Asimismo, *Yersinia enterocolitica* Bc presentó los mayores halos de inhibición y los menores halos fueron con *Klebsiella pneumonae*. La CMI fue de 0.75 mg/ml para la bacteria *Staphylococcus aureus* 1. Finalmente el híbrido SAUA (SEC_1xUAP91) presentó el mayor efecto antibacteriano. En este trabajo se puso de manifiesto el efecto antibacteriano y su incremento por cepas híbridas.

Palabras clave: basidiomicetos, desdicariotización, neohaplontes, halos de inhibición, concentración inhibitoria.

INTRODUCCIÓN

El uso medicinal de los hongos superiores ha tenido una gran tradición en los países orientales como China, Japón, Corea, etc., mientras que la utilización farmacológica en el hemisferio Occidental se ha incrementado significativamente a partir de las últimas décadas. Dentro de los macromicetos reportados como productores de metabolitos, los basidiomicetos constituyen una categoría taxonómica de hongos que está representada por más de 30 000 especies (Anke 1989). Los basidiomicetos producen una amplia gama de productos naturales que abarca desde componentes estructurales con actividad antitumoral e inmunológicamente activos hasta agentes antimicrobianos, antifúngicos, antivirales, citostáticos, así como, enzimas y reguladores de crecimiento.

El uso de basidiomicetos comestibles para la obtención de extractos con actividad biológica resulta interesante debido a que ya se cuenta con las biotecnologías de producción de algunos de estos hongos comestibles y por lo tanto se tiene una ventaja importante comparado con los macromicetos obtenidos a partir de la recolección en los bosques, los cuales se encuentran sujetos a las condiciones climáticas y estacionales. Mientras que los macromicetos comestibles cultivados pueden ser obtenidos durante todo el año.

En México el cultivo comercial de los hongos comestibles del género *Pleurotus* inició hace más de 30 años y se ha consolidado paulatinamente como una alternativa económica para la producción de un alimento nutritivo.

Así mismo, la importancia de estos macromicetos también radica en la diversidad de sustratos sobre los cuales puede crecer y en los costos de producción relativamente bajos comparados con la producción de champiñón. Para el año 2004, la producción nacional de hongos comestibles cultivados fue de 47,468 toneladas de hongos frescos, correspondiendo a *Pleurotus* spp. 14.3%. Entre 1997 y 2004 los hongos cultivados del género Pleurotus tuvieron un incremento de 120%, con un volumen de producción de 2,190 toneladas anuales (Martínez-Carrera *et al.* 2007).

Existen reportes de que algunas especies del género *Pleurotus* presentan actividad antimicrobiana mencionándose incluso que se debe a compuestos de tipo acetileno (Anke 1989, Brizuela *et al.* 1998). También se han realizado estudios *in vitro*, analizando la actividad biológica de extractos metanólicos y acetilénicos de *P. tuber-regium* (Rumph. ex Fr.) Singer y *P. ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. variedad *florida*, contra diferentes hongos y bacterias patógenas al hombre (Gbolagade *et al.* 2007). Se han reportado estudios micoquímicos y de evaluación antioxidante, antibacteriana y antimicótica de extractos polares (acetona) y no polares (éter de petróleo) de *P. ostreatus* (Iwalokum *et al*. 2007), indicándose un efecto diferencial contra bacterias patógenas tanto Gram positivas como negativas de los extractos utilizados.

En trabajos previos en nuestro laboratorio, se encontró que extractos hexánicos de carpóforos de cepas de *P. djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn también presentaron un efecto antibacteriano diferencial frente a las bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas, las cepas blancas presentaron mayor actividad antibacteriana que los basidiomas de la variedad rosa, desarrollando halos de inhibición con diámetros de 12 a 25.6 mm y de 8.3 a 22.6 mm, para las cepas blancas y rosas respectivamente (Valencia del Toro *et al.* 2008).

La producción de metabolitos secundarios es una alternativa viable en la obtención de nuevos fármacos. El análisis de estos compuestos realizando extracciones de material biológico con solventes de polaridades extremas permite tener extractos crudos que pueden poseer características terapéuticas distintas; así, al elucidarlos se podrá conocer el sinergismo o antagonismo que puedan tener. Los basidiomicetos representan una fuente natural potencial de metabolitos secundarios y en particular, el género *Pleurotus* es una alternativa para la producción de biofármacos (Anke 1989, Brizuela *et al*. 1998).

El efecto antibacteriano ha sido bien estudiado en extractos provenientes de cepas de *Pleurotus* (Gbolagade *et al.* 2007, Iwalokum *et al.* 2007); ahora bien, se consideró necesario utilizar extractos de cepas híbridas buscando encontrar la misma actividad y la posible expresión de compuestos con mejor efecto antibacteriano. Por ello el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto antibacteriano de extractos obtenidos de carpóforos de cepas híbridas y parentales de *Pleurotus* spp.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se utilizaron 8 cepas de Pleurotus spp., cuatro parentales (POS, SEC, UAP9, PCM) y cuatro cepas híbridas: UBPO ($UAP9_1xPOS_1$), SAUA (SEC_1xUAP9_1), PAPO (PCM_1xPOS_1) y SAUB (SEC_1xUAP9_2). La cepa UAP9 fue donada por el Colegio de Posgraduados Campus Puebla y la cepa PCM por el laboratorio de Alimentos de la Facultad de Química, mientras que las cepas comerciales POS y SEC se obtuvieron por aislamientos vegetativos de carpóforos obtenidos por cultivadores de hongos. Con respecto a las cepas híbridas se obtuvieron del Laboratorio de Cultivos Celulares de la UPIBI, por apareamiento de neohaplontes compatibles previamente generados. Para la determinación de la actividad antibacteriana se utilizaron las cepas de bacterias Gram positivas (*Bacillus subtilis* Bc, *Staphylococcus aureus* ATCC 12398, denominada *S. aureus*1 y un aislamiento clínico, denominado *S. aureus*2) y bacterias Gram negativas (Enterobacter agglomerans ATCC 27155, *Shigella dysenteriae* INDRE B2188, *Klebsiella rhinoescleromatis* Bc, *Yersinia enterocolitica* Bc y *K. pneumoniae*

ATCC 13884, las bacterias en la que no se indicó número de colección fueron donadas por el Laboratorio de Microbiología de las FES-Cuautitlán, UNAM. Todas las cepas bacterianas y fúngicas se encuentran depositadas en el Laboratorio de Cultivos Celulares de la UPIBI, IPN.

Producción del inóculo grano

La producción de "semilla" se realizó utilizando como sustrato granos de trigo previamente lavados y remojados a temperatura ambiente durante 24 h; posteriormente, se drenó el exceso de agua y se colocaron 150 g de trigo en bolsas de polipapel para su esterilización a 121ºC y 1.056 kg/cm^2 de presión durante 45 min. Una vez que el grano fue esterilizado y alcanzó la temperatura ambiente, se inoculó con trozos de micelio crecido en medio extracto de malta agar (EMA). Posteriormente, las bolsas inoculadas se incubaron en una cámara oscura con una temperatura de 28ºC hasta que el micelio invadió totalmente el grano.

Se utilizó paja de trigo como sustrato para el cultivo, la cual se cortó en trozos pequeños de 5-10 cm, se remojó durante 24horas. Después de este lapso de tiempo se escurrió y colocó en arpillas para su pasteurización con vapor durante 2 horas, el vapor se generó utilizando un sistema tipo olla de tamales. Transcurrido este tiempo, la paja se enfrió y se colocaron 2 kg de paja aproximadamente en bolsas de poliestireno. Posteriormente, se les agregó el inóculo grano, 5 g inóculo por 100 g de sustrato húmedo, distribuyéndolo de forma homogénea. Cada bolsa fue etiquetada y se incubó en una cámara oscura con una temperatura entre 28–30°C. A los 5 días de incubación las bolsas fueron perforadas para permitir el intercambio de oxígeno entre el medio y el sustrato inoculado. Una vez que el micelio invadió completamente el sustrato, se retiraron las bolsas de plástico y las pacas se colocaron en la cámara de fructificación. La cámara de fructificación se mantuvo a temperatura ambiente con una humedad entre 80-90% con una ventilación contínua. La cosecha se realizó hasta la madurez de los cuerpos fructíferos, indicada por la máxima extensión del píleo. La eficiencia biológica (EB) se determinó dividiendo el peso fresco de hongos obtenidos entre el peso seco del sustrato utilizado multiplicado por 100. La eficiencia biológica se determinó a la primera cosecha C1, debido a que es ésta en la que generalmente se obtiene la mayor cantidad de cuerpos fructíferos y permite tener de forma rápida la evaluación de la EB de las cepas.

Obtención de los extractos crudos de los cuerpos fructíferos

Los carpóforos obtenidos fueron cortados y deshidratados a temperatura ambiente. La obtención de los extractos hexánicos se llevó a cabo por reflujo durante 24 horas en un equipo Soxleth. Posteriormente, el residuo seco del hongo se llevó de nuevo a reflujo con metanol por 24 horas. Los extractos obtenidos se concentraron a sequedad bajo presión reducida en un rotavapor. Finalmente se conservaron a -4°C hasta su uso en la prueba microbiológica.

Análisis químico preliminar

A los extractos hexánicos y metanólicos obtenidos para cada una de las cepas, se les determinó un análisis químico prelimar con la finalidad de detectar cualitativamente la presencia de metabolitos secundarios. Para la realización de éste análisis se siguió la metodología propuesta por Domínguez (1988) y Harborne (1984).

Evaluación de la actividad antibacteriana

Se prepararon dos medios de cultivo: Muller-Hilton (MH), marca Bioxon y Agar Nutritivo (AN), marca Bioxon, los que se esterilizaron a 121ºC y 1.056 kg/cm^2 de presión por 20 minutos, para ser posteriormente colocados en cajas Petri. Las cajas fueron inoculadas con las cepas de las bacterias correspondientes. Se utilizó la escala de Mc Farland para obtener una concentración de 1.5 x 10^8 UFC/ml, que sirvió de inóculo de bacterias para la

prueba microbiológica. También se realizó la preparación de sensidiscos (6 mm de diámetro), con los extractos hexánicos y metanólicos colocando 4 mg de extracto en cada sensidisco, como control negativo se utilizaron hexano y metanol y como control positivo sensidiscos comerciales de cloranfenicol (30 µg). Una vez colocados los sensidiscos sobre la caja Petri recién inoculada con las bacterias respectivas, éstas se incubaron a 35ºC por 24 horas y posteriormente se determinó el diámetro del halo de inhibición generado con los extractos de las diferentes cepas de *Pleurotus*. Cada ensayo se realizó por quintuplicado.

La determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) se realizó por la técnica de microdilución. Se tomó una asada de las diferentes cepas de las bacterias patógena, de forma independiente, y se inoculó en medio de cultivo caldo Mueller Hinton (CMH), marca Bioxon, se incubó durante 24 horas a 35-37°C, para así tener una concentración de la escala de McFarland de 1.5 X 10^8 unidades formadoras de colonias (UFC). Se hizo una dilución 1:10 de este cultivo bacteriano, utilizando solución salina estéril al 9%. De esta dilución se agregan 50 µl a cada uno de los pozos de la placa de Elisa (para cada bacteria se realizó este procedimiento por triplicado). A cada cepa bacteriana utilizada se le agregó, en los pozos correspondientes, 50 µl con las siguientes concentraciones de los extractos de los carpóforos: 12, 10, 8, 7, 5, 3, 1.5, 0.75 mg/ml, las placas fueron incubadas durante 24 h a 35-37°C, después de este tiempo, se les adicionó a cada pozo 50 µl de violeta de tetrazolium 0.08% y se dejó incubar por 30 minutos a la temperatura de 35-37°C, cuando hubo presencia de crecimiento bacteriano se formó un botón morado en el fondo del pozo de la caja de Elisa, en donde no hubo desarrollo bacteriano la solución permaneció transparente (Koneman *et al.* 1999).

Cada ensayo fue realizado por triplicado, aplicando en todos los casos diseños aleatorios, los datos fueron analizados con un ANOVA de uno y dos factores para detectar diferencias entre los halos provocados por los extractos de las cepas de *Pleurotus*, así como, entre el efecto inhibitorio de crecimiento que tuvieron las bacterias utilizadas. Para detectar diferencias entre las eficiencias biológicas de las cepas de *Pleurotus*, se aplicó un ANOVA de un factor, de igual forma, para analizar la relación entre halo de inhibición y CMI, se realizó un ANOVA de una vía. Cuando se presentaron diferencias estadísticamente significativas, se utilizó la prueba a posteriori de Tukey con $p<0.05$ (se utilizó el programa estadístico SPSS, versión 15).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento de los extractos hexánicos y metanólicos

Se realizó la extracción de componentes polares y no polares, con hexano y metanol respectivamente y después de llevarlos a sequedad, se determinó el rendimiento del extracto obtenido para cada cepa en gramos de extracto por 100 gramos de hongo seco, en la Tabla 1 se presentan los rendimientos.

Por lo tanto observamos que los valores obtenidos en este estudio se encuentran en el intervalo reportado bibliográficamente y fueron mayores que los informados por Iwalokun *et al*. (2007). Con respecto al extracto metanólico, se obtuvieron rendimientos entre 9.4 y 26.4%, por lo que fueron mayores a los obtenidos con *P. djamor* los cuales fueron del orden de 3.30% a 11.78% (Téllez 2008).

El rendimiento de los extractos no polares osciló entre 0.5 y 2.0% para todas las cepas trabajadas. En los hongos de género *Pleurotus* el contenido de compuestos no polares se ha reportado entre 1.6 y 7.9% utilizando por lo general como disolventes éter de petróleo (Crisan y Sands 1978, Bano y Rajarathnam 1982, Chang y Miles 2004, Valencia del Toro *et al.* 2006), asimismo, Valencia del Toro *et al.* (2008) obtuvieron valores de extractos hexánicos en el intervalo de 0.98 y 1.65% para *P. djamor*, mientras que Iwalokun *et al.* (2007) reportaron un intervalo de valores entre 0.033 a 0.034%, para los extractos etéreo y acetónico de *P. ostreatus*.

Tabla 1. Rendimiento en porcentaje de extractos hexánicos y metanólicos obtenidos de cepas híbridas y parentales del género *Pleurotus*

CEPA	Extracto Hexánico (%)	Extracto Metanólico (%)
PCM	2.0	18.5
SEC	1.5	10.1
POS	1.4	22.7
UAP9	0.5	14.1
UBPO	1.2	22.9
SAUB	0.9	26.2
SAUA	1.0	21.4
PAPO	1.5	9.4

Análisis químico preliminar

Los resultados del análisis químico preliminar indicaron que en ambos tipos de cepas, híbridas y parentales, se detectó la presencia de azúcares, glicósidos cardiacos (también llamados glicosidos esteroideos) y sequisterpenlactonas y no hubo presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, quinonas, curmarinas y glicósidos cianogénicos. Esto puede ser un indicativo de que la expresión de los compuestos se conserva en las cepas híbridas.

Ha sido señalado que el metabolismo secundario de los basidiomicetos produce cantidades importantes de terpenoides, especialmente en sesquiterpenoides, muchos de los cuales poseen estructuras que hasta ahora sólo han sido detectadas en esta clase de organismos (Brizuela *et al.* 1998). Los sesquiterpenos son metabolitos secundarios que actúan en las plantas como fitoalexinas, las cuales son sustancias químicas de bajo peso molecular con propiedades antibióticas en respuesta al ataque de microorganismos (Parsons *et al.* 2006).

Para los extractos de origen no polar (éter de petróleo y hexánico) de carpóforos de *P. ostreatus* se ha reportado la presencia de azúcares, terpenoides, taninos, glucósidos esteroideos, así como compuestos fenólicos (Iwalocun *et al.* 2007); por otro lado, para *P. djamor* los extractos hexánicos de los cuerpos fructíferos presentaron azúcares y sesquisterpenlactonas (Valencia del Toro *et al.* 2008).

Los componentes de los extractos hexánicos, debido a su carácter no polar, por lo general son lípidos. Se ha reportado la composición de ácidos grasos de los lípidos de las especies de *Pleurotus*, indicando la presencia principalmente de ácido linoléico y oleico en porcentajes de 33-68% y 43-46%, respectivamente (Kavishree *et al.* 2008), asimismo, se ha informado que los ácidos grasos insaturados poseen un amplio espectro de propiedades biológica tanto en animales como en plantas y que los ácidos linoléico y el oléico desarrollaron actividad antibacteriana sobres bacterias Gram positivas. También se ha reportado un efecto sinérgico entre ambos ácidos en la inhibición del crecimiento de *S. aureus* (Dilika *et al.* 2000). Por lo que con respecto a los extractos hexánicos, será importante analizar la presencia de este tipo de metabolitos y determinar su participación en la actividad antibacteriana.

La presencia de azúcares en los extractos obtenidos puede revelar la presencia de aminoglucosidos que tienen en su estructura azúcares reductores, es decir, presentan aldehídos o hidroxicetonas dentro del compuesto. El efecto antibacteriano de los aminoglucósidos ha sido bien estudiado; por ejemplo, los antibacterianos característicos de esta familia, de importancia en clínica, son: estreptomicina, gentamicina y amikacina (Mella *et al.* 2004).

La detección de los metabolitos secundarios en los extractos de las cepas parentales e híbridas es importante porque permitirá posteriormente realizar la extracción, purificación y caracterización de los compuestos químicos responsables del efecto antibacteriano.

Prueba de sensibilidad extractos hexánicos y metanólicos

Los resultados de la prueba de sensibilidad de Kirby-Bauer se interpretan relacionando el diámetro de la zona de inhibición con el grado de resistencia microbiana. Según la cantidad y el tipo de antibiótico utilizado se puede extrapolar la sensibilidad de la bacterias a los fármacos; así por ejemplo: para 30 µg del antibiótico cloranfenicol se establece que una bacteria es resistente cuando el diámetro del halo de inhibición es menor o igual a 12 mm, de actividad intermedia cuando el halo de inhibición esta entre 13-17 mm y sensible al antibiótico cuando el halo de inhibición es mayor o igual a 18 mm (Koneman *et al*. 1999, Prescott y Harley 2002). Cabe mencionar que se utilizaron sensidiscos de cloranfenicol 30 µg como controles positivos, obteniéndose un intervalo de halos de inhibición de 27.3-42.6 mm, situación por la cual se considera que todas las bacterias utilizadas en este estudio fueron sensibles al cloranfenicol.

Para los extractos hexánicos trabajados, el ANOVA de una vía indicó diferencias estadísticas significativas en el tamaño de los halos de inhibición provocados a las diferentes bacterias utilizadas, con la prueba de rango múltiple de Tukey, se formaron diferentes grupos. Con la finalidad de identificar qué cepa bacteriana fue la más afectada y cual fue el extracto hexánico que tuvo mayor efecto en la inhibición del crecimiento se presentan en la Tabla 2 los grupos formado tanto para el factor bacteria (renglones) como el factor hongo (columnas).

Tabla 2. Valores promedio de diámetros de los halos de inhibición en mm (n=5) presentados por las bacterias en contacto con los extractos hexánicos de cepas híbridas y parentales de *Pleurotus* spp.

Bacteria	Halo de inhibición en mm para los extractos hexánicos de hongos						Antibiótico
	POS	SEC	UAP9	SAUA SEC_1x $UAP9_1$	SAUB SEC_1x $UAP9_2$	UBPO $UAP9_1$x POS_1	Cloranfenicol
B. subtilis	$12.6\pm1.0^{b,1}$	$18.1\pm1.5^{c,2}$	$14.0\pm1.5^{a,1}$	$23.3\pm0.8^{c,3}$	-	$18.6\pm0.6^{b,3}$	33.0 ± 0.5^{d}
E. agglomerans	$15.3\pm0.8^{b,2}$	$10.7\pm0.8^{a,1}$	$17.6\pm0.8^{b,2}$	$21.3\pm0.6^{c,3}$	$14.1\pm0.7^{c,1}$	$19.6\pm0.8^{b,3}$	42.6 ± 0.3^{e}
K. pneumoniae	13.6 ± 2.4^{a}	-	10.0 ± 0.5^{a}	-	-	10.6 ± 0.8^{a}	28.0 ± 0.5^{b}
K. rhinoscleromatis	-	21.0 ± 0.5^{d}	-	22.5 ± 0.8^{b}	-	9.0 ± 0.5^{a}	27.6 ± 0.3^{b}
S. dysenteriae	$16.6\pm0.8^{b,2}$	$15.3\pm0.3^{b,2}$	$18.6\pm0.8^{b,3}$	$16.6\pm0.3^{a,2}$	$10.0\pm0.0^{a,1}$	$20.6\pm0.3^{b,3}$	30.0 ± 0.0^{c}
S. aureus(1)	$24.9\pm2.1^{c,3}$	$11.3\pm0.3^{b,1}$	$19.0\pm1.5^{b,3}$	$14.6\pm0.8^{a,2}$	$9.0\pm0.5^{a,1}$	$25.3\pm0.3^{c,5}$	27.3 ± 0.3^{b}
S. aureus(2)	$9.6\pm0.3^{a,1}$	$18.3\pm0.6^{c,2}$	$11.0\pm1.5^{a,1}$	$28.0\pm2.3^{d,3}$	$13.0\pm1.5^{b,1}$	$9.3\pm0.8^{a,1}$	25.3 ± 1.4^{a}
Y. enterocolitica	$18.3\pm1.6^{c,1}$	$18.3\pm1.2^{c,1}$	$19.0\pm1.0^{b,2}$	$26.3\pm2.0^{c,3}$	$13.0\pm0.0^{b,1}$	$24.6\pm0.8^{c,2}$	37.0 ± 1.5^{d}

Nota: Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas para cada extracto de hongo (columnas) y los números indican diferencias significativas para cada bacteria (renglones) con prueba a posteriori de Tukey ($p<0.05$), el signo – indica que no se presentó inhibición.

Se observa que la bacteria *Y. enterocolitica* Bc fue la que presentó la mayor susceptibilidad a los extractos hexánico de las cepas de hongos trabajadas, mientras que el extracto que provocó los mayores halos de inhibición fue la cepa híbrida SAUA (SEC_1x$UAP9_1$).

Es conveniente indicar que tanto la cepa parental PCM como la cepa híbrida PAPO (PCM_1xPOS_1) presentaron

halos de inhibición únicamente para la bacteria *S. dysenteriae*, no teniendo efecto en las demás bacterias trabajadas.

Los extractos hexánicos provocaron inhibición del crecimiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas, por lo que infiere que los principios activos que están presentes en dichos extractos no actúan sobre la síntesis de la pared celular, por lo que deberán existir otros mecanismos de acción hacia las bacterias los cual será importante dilucidar en trabajos posteriores.

Es conveniente destacar que se han obtenido halos de inhibición desde 9.6 mm hasta 28 mm de diámetro para los extractos hexánicos, los valores de halos de inhibición que se obtuvieron en este trabajo son mayores a los informados por Iwalocum y colaboradores en 2007, quienes mostraron resultados de inhibición en el intervalo de 3.0 a 8.2 mm, para extractos obtenidos con éter de petróleo (proveniente de *P. ostreatus*), el cual es de polaridad semejante al hexano.

Con respecto al extracto metanólico, el ANOVA de una vía indicó diferencias significativas para el efecto de los extractos de las cepas de hongos utilizados sobre el crecimiento bacteriano, en la Tabla 3 se presentan las cepas de hongos que provocaron efecto inhibitorio y las bacterias que presentaron inhibición.

Tabla 3. Valores promedio de diámetros de los halos de inhibición en mm (n=5) presentados por las bacterias en contacto con los extractos metanólicos de cepas híbridas y parentales de *Pleurotus* spp.

Bacteria	Halo de inhibición en mm para los extractos metanólicos de hongos					Antibiótico
	SEC	UAP9	SAUA SEC_1x $UAP9_1$	SAUB SEC_1x $UAP9_2$	UBPO $UAP9_1$x POS_1	Cloran-fenicol
B. subtilis	-	-	-	-	-	34.0 ± 0.9^{c}
E. agglomerans	-	10.1 ± 0.9^{1}	$11.0\pm0.5^{a,1}$	$13.4\pm0.1^{a,2}$	-	35.8 ± 0.2^{d}
K. pneumoniae	-	-	-	-	-	32.1 ± 0.2^{b}
K. rhinoscleromatis	-	-	-	-	-	32.1 ± 0.2^{b}
S. dysenteriae	$10.0\pm0.0^{a,2}$	7.6 ± 0.3^{1}	-	-	$12.6\pm0.6^{a,3}$	23.0 ± 0.1^{a}
S. aureus(1)	$37.3\pm3.9^{c,2}$	11.9 ± 1.7^{1}	$40.0\pm2.8^{b,2}$	$35.0\pm0.5^{b,2}$	$40.6\pm3.9^{b,2}$	48.7 ± 0.2^{d}
S. aureus(2)	$21.6\pm1.4^{b,2}$	11.7 ± 2.7^{1}	$10.0\pm0.0^{a,1}$	9.2 ± 0.7^{a}	$9.3\pm0.6^{a,1}$	33.1 ± 0.1^{c}
Y. enterocolitica	-	-	-	-	-	31.8 ± 0.4^{b}

Nota: Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas para cada extracto de hongo (columnas) y los números indican diferencias significativas para cada bacteria (renglones) con prueba a posteriori de Tukey ($p<0.05$), el signo – indica que no se presentó inhibición.

Como se puede observar en la Tabla 3 la bacteria que resultó mayormente afectada por los extractos de hongos utilizados fue *S. aureus*1, ya que presentó los mayores halos de inhibición con los diferentes extractos probados. Con respecto a los extracto de hongos que obtuvieron los mayores halos de inhibición, se observa que la cepa parental SEC presentó valores substanciales en las cepas bacterianas de *S. aureus* y las cepas híbridas SAUA (SEC_1x$UAP9_1$), SAUB (SEC_1x$UAP9_2$) y UBPO ($UAP9_1$xPOS_1), también presentaron halos de inhibición altos (entre 35 y 40.6 mm) para la bacteria *S. aureus*1. La cepa parental UAP9 fue la que provocó los menores halos de inhibición.

De igual forma que en el extracto hexánico, la inhibición del crecimiento bacteriano fue tanto para bacterias Gram positivas como Gram negativas. Es importante indicar que aunque fue un menor número de los extractos

metanólicos de las cepas fúngicas, que provocaron inhibición del crecimiento bacteriano, se considera que los valores de halos de inhibición fueron significativos, por lo que habrá que realizarse trabajos posteriores para aislar los principios activos de dichos extractos bioactivos.

Iwalocun y colaboradores (2007) informaron halos de inhibición entre 3 y 8.2 mm para el extracto acetónico, que fue su extracto polar, comparando con los valores obtenidos en el presente trabajo, se intuye que los extractos metanólicos representan un material importante por su efecto antibacteriano.

Evaluación de la concentración mínima inhibitoria

En la Tabla 4 se presentan los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos hexánicos y metanólicos de los carpóforos de las cepas híbridas y parentales de *Pleurotus* spp. se observan valores entre 1.5 y 12 mg/ml de CMI para los extractos de las cepas híbridas y parentales.

Tabla 4. Valores de concentración mínima inhibitoria (mg/ml) presentados por las bacterias en contacto con los extractos hexánicos y metanólicos de cepas híbridas y parentales de *Pleurotus* spp.

Bacteria	Concentración mínima inhibitoria (CMI) en mg/mL, de los extractos hexánicos y metanólicos de cepas híbridas y parentales de Pleurotus spp									
	UAP9	SEC		POS		SAUA SEC_1xUAP9_1		SAUB SEC_1xUAP9_2		UBPO $UAP9_1XPOS_1$
	HEX	HEX	MEOH	HEX	MEOH	HEX	MEOH	HEX	MEOH	HEX
B. subtilis	> 12	> 12	> 12	10	>12	> 12	> 12	> 12	> 12	> 12
E. agglomerans	> 12	3	3	3	>12	> 12	3	> 12	> 12	> 12
K. rhinoscleromatis	> 12	> 12	> 12	> 12	>12	> 12	> 12	> 12	> 12	> 12
K. pneumonae	> 12	> 12	> 12	> 12	>12	> 12	> 12	> 12	> 12	> 12
S. dysenteria	10	4	> 12	8	>12	8	> 12	1.5	10	10
S. aureus1	12	3	8	> 12	>12	0.75	> 12	7	10	12
S. aureus2	> 12	7	> 12	8	>12	> 12	> 12	1.5	> 12	> 12
Y. enterocolitica	> 12	> 12	> 12	> 12	>12	> 12	> 12	> 12	10	12

En la literatura se encuentran reportes de la CMI obtenidas con extractos de cuerpos fructíferos de varios basidiomicetos. Barros y colaboradores en 2007 determinaron la CMI de los extractos metanólicos de tres basidiomicetos portugueses (*Lactarius deliciosus* (L.) Gray, *Sarcodon imbricatus* (L.) P. Karst., *Tricholoma portentosum* (Fr.) Quél.), reportando para la cepa bacteriana de *Bacillus cereus* una CMI de 10 mg/ml y de 300 mg/ml para *B. subtilis*.

Para *P. ostreatus*, se ha reportado que un intervalo de concentración mínima inhibitoria (CMI) entre 5 y 50 mg/ml, con el extracto de éter de petróleo la CMI fue de 33.75 mg/ml contra *Saccharomyces cerevisiae*, seguida de una CMI de 35.65 mg/ml para *E. coli;* finalmente, para las bacterias Gram (+) se tuvieron una CMI hasta de 50 mg/ml (Iwalokum *et al.* 2007).

Gbolagde y colaboradores (2007) informaron una CMI entre 2.75-15.75 mg/ml de los extractos metanólicos de algunos basidiomicetos nigerianos entre los que se encuentran *Pleurotus ostreatus* variedad *florida* y *Pleurotus tuber-regium*. Cabe destacar que con lo que respecta a *P. ostreatus* variedad florida inhibió el crecimiento de *E. coli, K. pneumonae* y *S. aureus* con una CMI de 7.25, 7.75 y 6 mg/ml respectivamente; ahora bien P. tuber-regium inhibió el crecimiento bacteriano de *Bacillus cereus, K. pneumonae* y *Proteus vulgaris*, con una CMI de 5, 5.25 y 3.5 mg/ml respectivamente. Comparando estos resultados con los valores de CMI que se determinaron con los extractos de cepas híbridas y parentales de *Pleurotus* spp., trabajados en este estudio, para las bacterias *E. agglomerans, S. disentería, S. aureus*1, y *S. aureus*2, se observa que fueron menores a los ya reportado por los investigadores antes mencionados, así, con el extracto hexánico de las cepas parentales SEC y POS se obtuvo un valor de MIC de 3 mg/ml y el extracto hexánico de la cepa híbrida SAUA (SEC_1x$UAP9_1$) se obtuvo una CMI de 0.75 mg/ml en la bacteria *S. aureus*1, asimismo, el extracto hexánico de la cepa híbrida SAUB (SEC_1x$UAP9_2$) presentó una CMI de 1.5 mg/ml para inhibir el crecimiento de *S. dysenteria* y dentro del intervalo de CMI reportado en los mismos estudios se obtuvo lo siguiente: las CMI de 3, 4 y 7 mg/ml por los extractos de la cepa parental SEC frente a *E. agglomerans, S. dysenteria,* y *S. aureus*2, respectivamente.

Conviene destacar que los valores de la CMI de las cepas parentales SEC (3 mg/ml) y UAP9 (>12 mg/ml) fueron mayores que los obtenidos por la cepa híbrida SAUA (SEC_1x$UAP9_1$) que presentó una CMI de 0.75 mg/ml, cuando se probaron contra *S. aureus*1. Lo anterior, permite sugerir que el efecto antibacteriano, no sólo se ha conservado en las cepas híbridas de *Pleurotus* sino que también se ha incrementado en algunas de ellas, por lo que se tiene un gran potencial con los extractos obtenidos hasta el momento que será necesario aprovechar en trabajos futuros. Por otro lado, los resultados obtenidos del preliminar micoquímico, permiten deducir que los metabolitos secundarios probables presentes en los extractos utilizados y que provocaron la inhibición del crecimiento bacteriano son de la familia de los sesquiterpenos. Aunque no es conveniente descartar la fracciones no polares que contienen ácidos grasos y que se ha reportado que tiene también actividad antibacteriana. Así mismo, los azúcares tienen un papel importante para la conformación de compuestos bioactivos que han demostrado tener efectos antibacterianos.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó con el apoyo de los proyectos SIP 20091065 y SIP 20100740 del IPN y CONACYT 90032 y CB-2008-105683.

REFERENCIAS

Anke T (1989) Basidiomycetes: A source for new bioactive secondary metabolites. *Prog. In Ind. Microbiol*. 27: 51–66

Bano Z, Rajarathnam S (1982) *Pleurotus* mushrooms as a nutritious food. En: Chang ST, Quimo TH (eds) *Tropical mushrooms, biological nature and cultivation methods*. Chinese University Press, Hong Kong. 363.

Barros RL, Calhelha Vaz R, Ferrereira CJA, Baptista P (2006) Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms methanolic extracts. *Eur. Food Technol*. 225:151-156.

Barros LR, Calhelha C,. Vaz JA, Ferreira IC.R, Baptista P, Estevinho LM (2007) Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms methanolic extracts. *Eur. Food Res. Technol*. 225(2): 151–156

Brizuela MA, García L, Pérez L, Mansur M (1998) Basidiomicetos: nueva fuente de metabolitos secundarios. *Rev. Iber. Mic*. 15: 69-74.

Chang ST, Miles PG (2004) *Mushrooms: Cultivation, nutritional value, medicinal effects and environmental impact*. 2a edition, CRC Press, USA, 451 pp.

Crisan EB, Sands A (1978) Nutritional value. En: Chang ST, Hayes WA (eds) *The biology and cultivation of mushrooms*. Academic Press, New York. p. 137.

Dilika F, Bremner PD, Meyer JJ (2000) Antibacterial activity of linoleic and oleic acids isolated from *Helichrysum pedunculatum*: a plant used during circumcision rites. *Fitoter*. 71: 450-452.

Domínguez AX (1988) *Métodos de investigación fitoquímica*. Editorial Limusa, México, D.F.

Dominguez-Ortíz MA (2002) Elucidación estructural y actividad antimicrobiana de los metabolitos presentes en *Rhoeo*

discolor L. Hér Hance. Tesis Doctoral. Universidad de Colima.

Gboladage J, Kigigha L (2007) Antagonistic effect of extracts of some nigeriam higher fungi against selected pathogenic microorganisms. *Am. Eur.J. Agri. Env*. 4:364-368.

Guzman G (2000) Genus *Pleurotus* (Jacq.:Fr.) P. Kumm. (Agaricomycetideae): Diversity, taxonomic problems, and cultural and traditional medicinal uses. *Int. J. Med. Mush*. 2(2) :95-123

Harborne JB (1989) Recent advances in chemical ecology. *Nat. Prod. Rep*. 6: 85-108.

Iwalokum BA, Usen UA. Otunba AA, Olukoya DK (2007) Comparative phytochemical evaluation, antimicrobial and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus. Afr. J. Biotech*. 6:1732-1739.

Kavishree S, Hemavathy J, Lokesh BR, Shashirekha MN, Rajarathnam S (2008) Fat and fatty acids of Indian edible mushrooms. *Food Chem*. 106:597–602.

Koneman WM, Allen SD,. Janda WM, Schreckenberg PC, Winn WC (2004) *Diagnóstico Microbiológico*. Editorial Panamericana, Buenos Aires, pp. 565-620.

Martínez-Carrera D, Morales P, Sobal M, Bonilla M, Martínez W (2007) México ante la globalización en el siglo XXI: el sistema de producción consumo de los hongos comestibles. En: Sánchez JE, Martínez-Carrera D, Mata G, Leal H (eds) *El Cultivo de setas Pleurotus spp. en México*. ECOSUR-CONACYT, México, D.F. ISBN 978-970-9712-40-7, 209-224

Mellan S, Sepúlveda M, González G, Bello H, Domínguez M, Zemelman R, Ramirez C (2004) Aminoglucósidos-aminociclitoles: Características estructurales y nuevos aspectos sobre su resistencia. *Rev. Chil. Infectol*. 21 (4): 330-338.

Prescott LM, Harley JP (2002) *Microbiología*. McGraw-Hill Interamericana, 5a ed. España.

Téllez JMA (2008). Obtención de metabolitos secundarios con interés farmacológico a partir de carpóforos de hongos del género *Pleurotus*. Informe técnico de la opción curricular de titulación en la modalidad de: Proyecto de investigación. UPIBI, IPN.

Valencia del Toro G, Castelan-Vega R, Garin-Aguilar ME, Leal-Lara H (2006) Biological quality of proteins from three strains of *Pleurotus* spp. *Food Chem*. 94: 494–497.

Valencia del Toro G, Garin-Aguilar ME, Téllez-Jaimes MA, Durán-Páramo E (2008) Actividad antibacteriana de extractos hexánicos de *Pleurotus djamor. Rev. Mex. Mic*. 28: 119-123.

6. 4 CULTIVO DE *PYCNOPORUS SANGUINEUS* EN ASERRIN DE PINO, ENCINO Y CEDRO

Lourdes Acosta-Urdapilleta*, Francisco Abel Medrano Vega* y Elba C. Villegas Villarreal**

*Centro de Investigaciones Biológicas CIB-UAEM, Cuerpo Académico de Unidades Productivas Tradicionales,
**Centro de Investigación en Biotecnología CeIB-UAEM, Cuerpo Académico de Entomología y Fitopatología
Av. Universidad 1001. Col. Chamilpa C.P. 62209, Cuernavaca Morelos, México
urdapilletal@yahoo.com

RESUMEN

Pycnoporus sanguineus es un hongo común de zonas subtropicales, presenta una coloración típica anaranjado rojizo. En este estudio, se evaluó el cultivo de cepas de *P. sanguineus* de Morelos a nivel micelial en caja Petri sobre PDA, HIT y EMA, y en sustrato sólido para la producción de basidiocarpos, utilizando aserrín de pino, encino y cedro como sustratos. Las cepas de *Pycnoporus sanguineus* fueron registradas con las claves HEMIM-52, HEMIM-53 y HEMIM-54 en el cepario de Hongos del Centro de Investigaciones Biológicas de la UAEM. Este trabajo constituye el primer reporte sobre el cultivo en sustrato sólido (deshechos de la industria forestal) empleando técnicas de cultivo de hongos comestibles para la obtención de basidiocarpos de cepas nativas de *P. sanguineus* recolectadas en el estado de Morelos. De las tres cepas, HEMIM-54 presentó mejor desarrollo micelial, alcanzado valores altos de velocidad de crecimiento (9.8 mm/día) y biomasa (0.2006 g/caja Petri) en comparación con las cepas HEMIM-52 y HEMIM-53. Se seleccionaron las cepas HEMIM-53 (Tlaquiltenango, Morelos) y HEMIM-54 (Cuernavaca, Morelos) de *P. sanguineus*, por ser las de mayor producción de basidiocarpos con 129 y 93% de eficiencia biológica respectivamente. El aserrín de encino fue considerado el mejor sustrato para su crecimiento, entre los tres evaluados.

Palabras clave: hongo no comestible, basidiocarpos, metabolitos con potencial biotecnológico

INTRODUCCIÓN

Hoy día existen cerca de 2,000 variedades de hongos comestibles en el mercado mundial, que representan 10% de las especies existentes. La industria mundial de cultivo de hongos genera 30 mil millones de dólares por año (Chang 2006). Las técnicas de cultivo de hongos comestibles más conocidas son las empleadas en la producción de *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach (champiñones), *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler (shiitake) y *Pleurotus* spp. (setas) que alcanzan 38, 20 y 16%, respectivamente, de la producción mundial (Chang 2006). El mayor productor de hongos comestibles es China, seguido de Estados Unidos, Holanda, España, Francia y Polonia (Chang 2005). *Agaricus bisporus* es producido por la técnica de composteo con la adición de nutrientes y estiércol que incluye varias fases como la preparación de la mezcla, el composteo, la pasteurización de la composta, la siembra o inoculación, la aplicación de la cobertura y la cosecha. Para ello se usan sistemas de cultivo que incluyen cordones de composteo, estantes o camas, bandejas, sacos, en condiciones de temperatura, humedad y ventilación específica para cada etapa. Cada productor modifica y mantiene en secreto sus formulaciones de cultivo.

En el cultivo comercial de *Pleurotus* spp. se utilizan como sustratos diferentes rastrojos de cereales tan variados como las pajas de trigo, cebada, centeno y arroz con altos rendimientos. Se usan tratamientos que involucran fermentación seguida de pasteurización o esterilización, siembra, incubación y cosecha (Martínez-Carrera 2006). Lo interesante de esta técnica en contraste con la de champiñón es que se puede omitir el proceso de

fermentación lo cual tiene ventajas y desventajas. Cuando se opta por el proceso de fermentación, el sustrato se hace más selectivo y se reduce la contaminación, pero los costos y tiempos del proceso se incrementan. Cuando se cultiva de manera artesanal se omite el proceso de fermentación, empleando técnicas simples y de bajo costo en comparación con el cultivo de *A. bisporus*. El shiitake o *L. edodes*, tradicionalmente se cultiva sobre troncos de madera de árboles de diversos géneros (*Quercus*, *Carpinus*, *Castanea*), principalmente sobre encino. Posteriormente se desarrolló un método alternativo en Asia, Norte América y Europa, utilizando aserrines, es decir, residuos de la industria forestal, suplementados con diversos nutrientes. Estos aserrines son esterilizados en bolsas de propileno y se siembran en condiciones asépticas, se incuban alrededor de 60-90 días y se someten a estimulación térmica para inducir la fructificación; la cosecha es obtenida después de 15 días. Requiere de una elevada inversión; sin embargo, los cuerpos fructíferos obtenidos tienen una demanda en mercados muy selectos y remunerados (Martínez-Carrera *et al*. 2004).

Pycnoporus sanguineus (L.) Murrill, es un hongo silvestre que crece en bosques sobre troncos caídos, asoleados o quemados, en restos vegetales de sitios asoleados principalmente de climas tropicales y subtropicales en el mundo. En México se encuentra ampliamente distribuido en todo el país de manera silvestre, desde el norte de Sonora, Chihuahua, Nuevo León y Tamaulipas, pasando por el centro del país: Tlaxcala, Morelos, Hidalgo, Querétaro y el Estado de México, las costas de Veracruz, Oaxaca y Guerrero hasta Chiapas, Tabasco, Quintana Roo y Yucatán (Pérez-Silva, *et al.* 1988, Chanona-Gómez *et al*. 2007, Díaz-Moreno *et al*. 2009). Las especies silvestres de *P. sanguineus* producen diversos metabolitos de interés biotecnológico, tales como, enzimas y pigmentos. Entre las enzimas destacan: exo-poligaracturonasas, lacasas, invertasas, alfa amilasas, celulasas, xylanasas, tirosinasas, beta-glucosidasas y pectinasas con aplicaciones industriales interesantes (Quiroga *et al*. 2009, Quiroga *et al.* 1995, de Almeida *et al.* 1997, Teoh y Mashitah 2010, Selinheimo *et al.* 2007, Esposito *et al.* 1993, Xavier-Santos *et al.* 2004) y entre los pigmentos: cinabarina, tramesanguina, ácido cinabarinico, picnosanguina, y varios derivados de 2-amino-fenoxazina-3-uno que están siendo identificados con actividad antimicrobiana y son de uso farmacológico en humanos y animales (Smania *et al*. 1998, Achenbach y Blümm 1991, Acosta-Urdapilleta *et al*. 2010). Los metabolitos de *P. sanguineus* podrían aprovecharse mejor, si se cultivaran industrialmente para vender tanto los cuerpos fructíferos como el micelio dentro y fuera del país para su uso biotecnológico. En este trabajo se presenta la domesticación de un hongo no comestible *P. sanguineus* adaptando la técnica de cultivo de shiitake y sentando las bases para la obtención de cuerpos fructíferos sobre aserrines de pino, encino y cedro, que son la materia prima para la extracción de metabolitos secundarios de importancia medicinal como lo son diferentes enzimas y pigmentos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

En este trabajo se utilizaron tres cepas de *Pycnoporus sanguineus* que se encuentran depositadas en el cepario de hongos del Laboratorio de Micología del CIB-UAEM con las claves HEMIM-52, HEMIM-53 y HEMIM-54. Las cepas HEMIM 52 y 53 provienen de Quilamula municipio de Tlaquiltenango y la cepa HEMIM-54 de Cuernavaca, Morelos.

Evaluación de las cepas en el laboratorio sobre medios sintéticos

La evaluación de las cepas en el laboratorio, consistió en determinar las características morfológicas del micelio, velocidad de crecimiento lineal (mm/día) y la producción de biomasa (g/caja Petri). Evaluando su crecimiento en los siguientes medios: Agar Papa Dextrosa (PDA), Harina Integral de Trigo (HIT) y Agar Extracto de Malta (EMA).

Características morfológicas del micelio

Para la caracterización morfológica del micelio de las cepas se tomó en cuenta el color, la textura, el tipo de micelio (aéreo o rastrero) y la densidad durante su desarrollo vegetativo en los diferentes medios sintéticos, EMA, HIT y PDA (Sobal *et al*. 2007).

Velocidad de crecimiento lineal
Para determinar la velocidad de crecimiento lineal, las cepas se resembraron en cajas Petri de 90 mm de diámetro con 20 ml de medios de cultivo sintético (EMA, HIT y PDA) y se mantuvieron en ausencia de luz a 25ºC. La velocidad de crecimiento lineal se determinó midiendo con una regla graduada en milímetros, el crecimiento diario (cada 24 h) por la colonia a partir del inóculo (5 mm de diámetro) colocado en la parte central de la caja Petri (Martínez-Carrera 1984).

Producción de biomasa micelial
Para la determinación de esta variable se hicieron crecer todas las cepas en los medios EMA, HIT y PDA (20 ml por caja) por triplicado, a una temperatura de 25ºC. La incubación duró 10 días y posteriormente se fundió el medio de cultivo por calentamiento en un horno de microondas, durante 1.5 min/caja Petri, la biomasa fue separada por filtración en caliente, usando papel filtro previamente pesado. El papel y el micelio se secaron a una temperatura de 65°C por 24 h. El peso del micelio se obtuvo por diferencia de peso (Sánchez y Viniegra-González 1996).

Producción de semilla o inóculo

La preparación de la semilla se realizó en granos de trigo, previamente lavado y hervido durante 20 minutos aproximadamente. Posteriormente se drenó el exceso de humedad y se adicionó 0.5% de $CaCO_{3\,y}$ 2.0 de $CaSO_4$. La semilla de trigo fue colocada en frascos de vidrio con 400 g, el material fue esterilizado a 121°C por 2 h. Una vez alcanzada la temperatura ambiente los frascos fueron inoculados con 1 cm^2 de micelio de las distintas cepas a evaluar. Todo el material sembrado fue incubado a 25°C hasta su completa colonización (Guzmán *et al.* 1993).

Preparación de los sustratos a evaluar

Los sustratos evaluados fueron residuos de la industria forestal: aserrines de pino (*Pinus* sp.), encino (*Quercus* sp.) y cedro (*Cedrela* sp.) obtenidos en madereras locales.

La preparación de los sustratos se realizó siguiendo a Acosta-Urdapilleta *et al*. (2010) y consistió en:

1. Fragmentación: La reducción del tamaño de partícula de los sustratos se llevó a cabo en las madereras de donde se obtuvo el aserrín. Para determinar el tamaño de partícula se utilizó 1 kg de sustrato seco, se emplearon tamices metálicos marca Gibson No. 10 (2 mm), No.14 (1.19 mm) y No. 20 Marca Duvesa (0.84 mm). En viruta y aserrín de cedro se obtuvieron tamaños de partículas: mayores de 5.6 x 0.7 cm = 385 g, de 2 mm = 165 g, de 1.19 mm = 150 g, de 0.84 mm y menores = 300 g. En viruta y aserrín de encino se obtuvieron tamaños de partículas: mayores de 4.5 x 0.5 cm = 500 g, de 2 mm = 135 g, de 1.19 mm = 90 g, de 0.84 mm y menores = 275 g. En viruta y aserrín de pino (quebradizo al tacto, incluso se puede moler en un tamiz) partículas de mayor tamaño 6.7 x 3 cm = 780 g, 2 mm = 105 g, de 1.19 mm = 55 g, de 0.84 mm y menores = 60 g
2. Hidratación: la hidratación consistió en sumergir en tinas plásticas los sustratos por separado, en agua caliente por aproximadamente 30 minutos.
3. Drenado: los aserrines de pino, encino y cedro fueron drenados por separado en coladeras de plástico por 30 min. aproximadamente, o hasta que el sustrato dejó de escurrir agua.
4. Pesado y empacado: los sustratos fueron pesados en una balanza granataria en bolsas de polipropileno/etilo

de 46.5 x 13.5 cm provista de un filtro de micro poro de 4 x 4 cm ubicado a 11.5 cm de la parte superior de la bolsa, cada bolsa contenía 1 kg (peso húmedo) de cada sustrato evaluado y fue cerrada con una liga. El porcentaje de humedad de los sustratos fue: cedro 75%, encino 54% y pino 71%.

5. Esterilización y enfriado: los sustratos fueron esterilizados a 121°C durante 2 h, las bolsas con los sustratos fueron enfriados hasta alcanzar la temperatura ambiente, después se colocaron de manera invertida para continuar el drenado de los sustratos por aproximadamente 6 h más.

Siembra de los sustratos sólidos

Después de ser esterilizadas, las bolsas fueron llevadas a una campana de flujo laminar para ser inoculadas con 160 g de trigo colonizado con cada una de las cepas evaluadas, mezclando el sustrato con el trigo (inóculo) de manera homogénea.

Patrón de producción

Una vez que las cepas evaluadas colonizaron los aserrines de pino, encino y cedro, las bolsas de polipropileno fueron retiradas y los sustratos fueron colocados en el módulo experimental de producción para inducir la fructificación.

Durante este proceso se evaluaron las siguientes variables:

1. Aparición de la primera, segunda, tercera y cuarta cosecha (según su caso).
2. Inducción a la fructificación mediante choque térmico (inmersión en agua durante 24 h) después de cada cosecha
3. Tiempo de cosecha (días). La cosecha se realizó cuando el tamaño del basidiocarpo se mantuvo constante
4. Ciclo de cultivo (período de colonización del sustrato mas el período de fructificación en días).
5. Características fenotípicas de los hongos cosechados: forma, textura, consistencia, diámetro [máximo y mínimo del píleo (cm) durante las cosechas], coloración del carpóforo (tanto del margen, periferia inmediata al margen, parte central del píleo, himenóforo y estípite) utilizando las cartas de Munsell (1992), textura y consistencia del estípite y olor.
6. Eficiencia biológica (Tschierpe y Hartmann 1977)
7. Tasa de producción: se calcula de acuerdo con Royse (1989)

Análisis estadísticos

El estudio incluyó un arreglo bifactorial con tres sustratos y tres cepas de *P. sanguineus*. De cada experimento se llevaron a cabo 7 repeticiones, generando un total de 63 bloques de cultivo. Se efectuó un análisis de varianza (ANOVA), con una prueba de separación de medias por el método de Tukey (μ=0.05). Para el análisis estadístico se utilizó el programa PRISMA versión 4.0b.

RESULTADOS

Aislamiento de cepas vegetativas

Para la realización de este trabajo se llevaron a cabo recorridos dentro del estado de Morelos, durante el período de lluvias, las localidades visitadas fueron: norte de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM) y Col. Ciudad Chapultepec, Municipio de Cuernavaca, Tepoztlán, Municipio de Tepoztlán y Quilamula, Mu-

nicipio de Tlaquiltenango.

Una vez recolectado el material fúngico, se trasladó al Laboratorio de Micología y se realizaron los aislamientos vegetativos. Se pudieron obtener 3 cepas de *Pycnoporus sanguineus* de las cuales una es del Municipio de Cuernavaca y 2 cepas del Municipio de Tlaquiltenango. Las cepas quedaron registradas con la clave HEMIM-52, HEMIM-53 y HEMIM-54 dentro del Cepario de Hongos del Laboratorio de Micología de la UAEM.

Evaluación de las cepas en el laboratorio

Características morfológicas de las cepas de *P. sanguineus*
El color de las cepas varió de blanco, naranja y naranja intenso dependiendo de la cepa y el medio utilizado. La textura fue algodonosa, aterciopelada y zonada (aterciopelada/algodonosa). La densidad de las cepas varió de abundante, regular y escasa y en cuanto el tipo de micelio se presentó en mayor proporción el aéreo y en menor proporción el rastrero. La cepa HEMIM-52 presentó un mejor crecimiento micelial en HIT con densidad regular, micelio aéreo y textura zonada (aterciopelada y algodonosa) y una coloración naranja (debido a la producción de pigmentos) con zonas blancas. La cepa HEMIM-52 presentó características morfológicas similares en PDA y EMA. La cepa HEMIM-53 tiene un mejor crecimiento micelial en el medio EMA con textura algodonosa, densidad abundante y micelio aéreo y una coloración anaranjada intensa.

La cepa HEMIM-54 presentó buen desarrollo en dos tipos de medio (HIT y EMA). En EMA mostró una coloración entre naranja y blanco, textura algodonosa, densidad abundante y tipo de micelio aéreo. En el medio HIT presentó una coloración naranja, textura algodonosa, densidad abundante y micelio aéreo. Cabe señalar que al inicio del crecimiento micelial la cepa pudo fraccionarse fácilmente pero a medida que envejecía se tornaba correosa y difícil de cortar. En la Figura 1 se muestran las características morfológicas de la cepa de *P. sanguineus* (HEMIM-54) creciendo sobre medio sintético HIT.

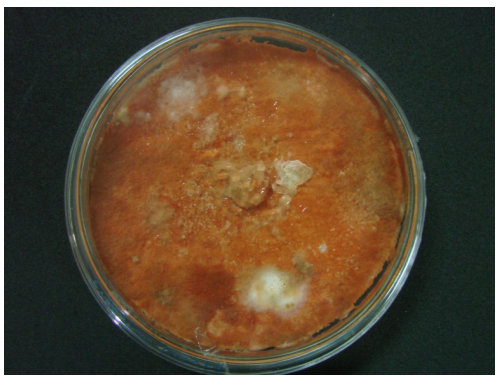


Figura 1. Micelio característico de *P. sanguineus* HEMIM-54 sobre medio de cultivo HIT, a pH 6.0, a los10 días de incubación a 25ºC.

Velocidad de crecimiento micelial
La velocidad de crecimiento micelial varió de 6.5 mm/día (cepa HEMIM-52 en PDA) a 10.2 mm/día para la cepa HEMIM-54 sobre EMA. La cepa HEMIM-54 presentó la mayor velocidad de crecimiento media con 9.8 mm/día, seguida de las cepas HEMIM-53 y HEMIM-52 con 9.2 mm/día y 7.7 mm/día respectivamente. En cuanto a los días requeridos por las cepas de *Pycnoporus sanguineus* para cubrir la caja Petri varió de 9 a 13 días según la cepa y del medio utilizado. Las cepas de *P. sanguineus* presentaron mayor velocidad de crecimiento medio sobre Extracto de Malta Agar con 9.9 mm/día, seguidos de HIT y PDA con 8.7 mm/día y 8.2 mm/día respectivamente (Figura 2).

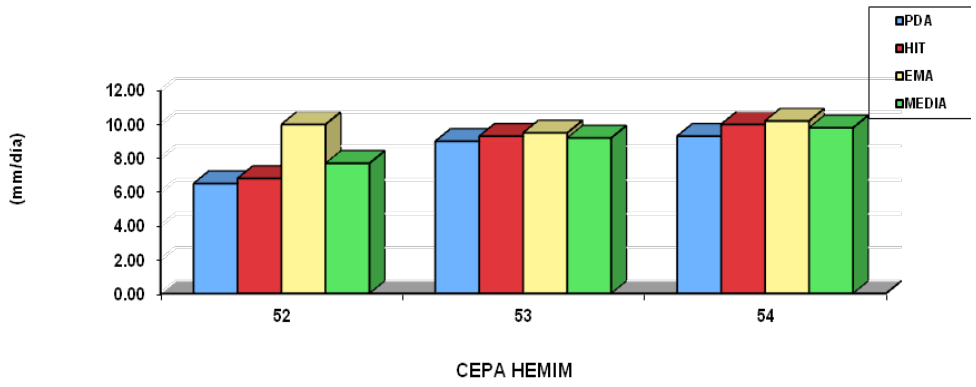


Figura 2**.** Velocidad de crecimiento de tres cepas de *P. sanguineus* evaluadas sobre PDA, HIT y EMA a 25ºC.

Biomasa micelial

La biomasa micelial obtenida de cada cepa varió de 0.1217 g/caja Petri para la cepa HEMIM-54 sobre EMA, a 0.3608 g/caja Petri para la cepa HEMIM-52 en HIT. La cepa HEMIM-52 obtuvo mayor biomasa micelial media con 0.2238 g/caja Petri seguido por la cepa HEMIM-54 con 0.2006 g/caja Petri y por último la cepa HEMIM-53 con 0.1862 g/caja Petri.

Las cepas de *P. sanguineus* presentaron una biomasa media mayor sobre HIT con 0.2857 g/caja Petri, seguida por PDA y EMA con 0.1643 g/caja Petri y 0.1607 g/caja Petri, respectivamente (Figura 3).

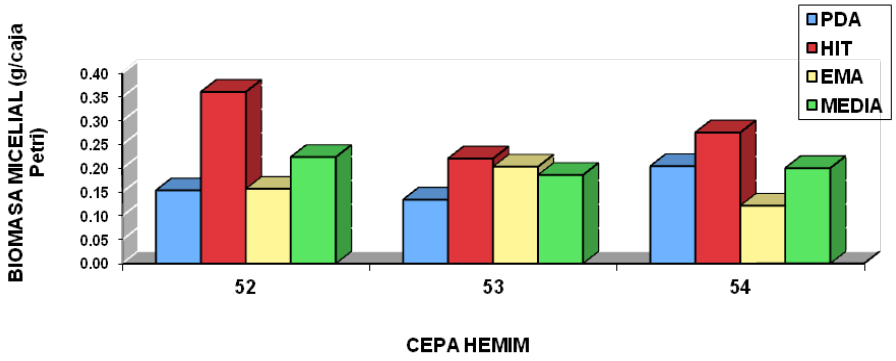


Figura 3. Biomasa micelial de tres cepas de *P. sanguineus* cultivadas en PDA, HIT y EMA durante 10 días a 25ºC.

Producción de semilla o inóculo

La utilización de granos de trigo como sustrato para la elaboración de los inóculos primarios resultó ser adecuado ya que se obtuvo crecimiento micelial vigoroso en las tres cepas de *P. sanguineus*. El tiempo de colonización de las cepas HEMIM-52, HEMIM-53 y HEMIM-54 varió entre 15 y 20 días, se observó que el crecimiento del micelio al principio fue blanco y posteriormente varió a naranja, una vez que las cepas colonizaron totalmente los granos de trigo.

Incubación de las bolsas sembradas

La temperatura media varió de 12.6°C media mínima a 27.4°C media máxima. El período de incubación fue relativamente largo en comparación con otros hongos, se ha registrado que este hongo tiene un periodo de 4-6 meses (Acosta-Urdapilleta *et al*. 2007). En este caso fue de 149 días (Figura 4).



Figura 4. Incubación de *P. sanguineus* sobre pino, encino y cedro, después de 4 meses de incubación a una temperatura variable entre 12.6 y 27.4ºC.

Producción de cuerpos fructíferos de *P. sanguineus*

La producción de hongos sobre los aserrines de pino, encino y cedro utilizados para cultivar las cepas HEMIM-52, 53 y 54 de *P. sanguineus* presentaron un ciclo de cultivo entre 242 días para HEMIM-52 y 302 días para la HEMIM-53. Las eficiencias biológicas obtenidas variaron según la cepa y el sustrato empleado. La menor eficiencia biológica fue obtenida por la cepa HEMIM-52 sobre pino con 5.2% y la mayor por la cepa HEMIM-53 sobre encino con 128.5%. Al estimar la EB media por cepa, HEMIM-53 presentó la mayor (EB $\overline{X}$ = 63.37%) seguida de la cepa HEMIM-54 con 49.21%, la cepa HEMIM-52 presentó solo 13.7% de eficiencia biológica media (Tabla 1). Al realizar la prueba de Tukey (α= 0.01) a la eficiencia biológica de las cepas evaluadas en los tres substratos se observó que la EB obtenida sobre aserrín de encino resultó ser estadísticamente diferente en comparación con la EB que se obtuvo en aserrín de pino y cedro, y a su vez al comparar las EB obtenidas en aserrines de pino y cedro, estos sustratos no mostraron diferencias significativas entre ellos (P = C) con un valor de probabilidad de 0.01, esta tendencia (E ≠ P = C) se presentó con las tres cepas evaluadas (Tabla 1). Se seleccionaron las cepas HEMIM-53 y 54 (procedentes de Tlaquiltenango y Cuernavaca Morelos, respectivamente), con mayores EBs (128% y 93% y TPs de 0.4 y 0.3 respectivamente) sobre aserrín de encino. Destaca el aserrín de encino como el mejor sustrato para la producción de basidiocarpos de *P. sanguineus.* El encino es uno de los sustratos naturales de crecimiento del hongo *P. sanguineus* de manera silvestre (Pérez–Silva *et al*. 1988), en la preparación del aserrín de encino para su cultivo, se observó que retiene el menor porcentaje de humedad (54%) en comparación con pino y cedro (con 71 y 75%, respectivamente), por lo que este sustrato contiene mayor cantidad de materia seca por bolsa de cultivo. En cuanto a tamaño de partículas obtenidas, 1 kg el aserrín de encino contiene una proporción más homogénea de partículas grandes y pequeñas en relación (50:50) al resto de los sustratos. Por lo que estos factores podrían influir en la eficiencia biológica obtenida por *P. sanguineus* sobre este sustrato. Cabe destacar que los carpóforos obtenidos sobre los diferentes substratos y cepas presentaron las características morfológicas típicas de la especie (Figura 5).

De lo anterior resulta que utilizando la técnica para el cultivo del hongo comestible *Lentinula edodes* es posible domesticar cepas del hongo *P. sanguineus,* sobre sustratos de la industria forestal con buena eficiencia biológica.

Tabla 1. Eficiencia biológica y tasa de producción de las cepas de *P. sanguineus* estudiadas

HEMIM	Substrato	Peso seco substrato	EB %	TP	EB % $\overline{X}$	TP $\overline{X}$	CC $\overline{X}$ (días)
52	Pino	297.7	5.20	0.024	13.71	0.06	242
	Encino	405.8	27.18	0.128			
	Cedro	263.0	8.77	0.029			
53	Pino	297.7	27.81	0.092	63.37	0.209	302
	Encino	405.8	128.56	0.425			
	Cedro	263.0	33.74	0.111			
54	Pino	297.7	24.48	0.114	49.21	0.173	272
	Encino	405.8	93.22	0.308			
	Cedro	263.0	29.94	0.099			

HEMIM= Herbario Micológico de Morelos
EB= Eficiencia biológica
TP= Tasa de producción
CC = Ciclo de Cultivo



Figura 5. Producción de cuerpos fructíferos de *P. sanguineus* sobre aserrín de encino A y B. Vista del himenio C.

Es importante destacar que este trabajo constituye el primer reporte sobre el cultivo en sustrato sólido del hongo *P. sanguineus* y de cepas nativas del estado de Morelos, trabajo mediante el cual se obtuvieron altas eficiencias biológicas. De acuerdo con Guzmán *et al*. (1993), en el cultivo de especies de *Pleurotus* valores de eficiencia biológica mayores a 70% son consideradas altas. Por otra parte, estos resultados sirven de base para futuros estudios de interés biotecnológico ya que se obtuvieron cuerpos fructíferos cuyas características morfológicas fueron típicas de la especie (Guzmán 1979) y podrían servir de materia prima para la extracción de metabolitos secundarios de importancia medicinal, como la cinabarina.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se desarrolló bajo el proyecto de colaboración especifico (PC-CIB-CEIB-UAEM-0002). Al Biol. Elizur Montiel Arcos por la identificación del material fúngico silvestre.

REFERENCIAS

Achenbach H, Blümm E (1991) Investigation of the Pigments of *Pycnoporus sanguineus* - Pycnosanguin and New Phenoxazin-3-ones. *Arch. Pharm.* 324:3-6.

Acosta-Urdapilleta L, Medrano F, Alonso A y Villegas E (2007) *Pycnoporus sanguineus* cultivation on industrial residues pine sawdust, oak and cedar. *Asian Mycology Congress and International Marine & Fushwater Mycology Symposium*, 2-6 December.

Acosta-Urdapilleta L, Alonso GA, Rodríguez A, Adame M, Salgado D, Salgado J, Montiel-Peña M, Medrano-Vega F, Villegas EC (2010) *Pycnoporus sanguineus*, un hongo con potencial biotecnológico. En: Martínez-Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Mora VM (eds) *Hacia un Desarrollo Sostenible de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamerica: Avances y Perspectivas en el siglo XXI*. Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales: Producción, Desarrollo y Consumo. 14:189-220.

Chang ST (2005) Witnessing the development of the mushroom industry in China. En: Tan Q, Zhang J, Chen M, Cao H. Buswell JA (eds*) Proceed. 5th Int. Conf. Mushr. Biol. Mushr. Products 8-12 April 2005, Shanghai, China*, *Acta Edulis Fungi* 12 (supplement). 3-19.

Chang ST (2006) The world mushroom industry: trends and technological development. *Int. J. Med. Mush*. 8:297-314.

Chanona-Gómez F, Andrade-Gallegos RH, Castellanos-Albores J, Sánchez JE (2007) Macromicetos del Parque Educativo Laguna Bélgica, municipio de Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas, México, *Rev. Mex. Biod.* 78:369-381.

De Almeida SEM, Mizuta K, Giglio JR (1997) *Pycnoporus sanguineus:* A novel source of α-amylase. *Mycol. Res*. 101:188-190.

Díaz-Moreno R, Valenzuela R, Marmolejo JG, Aguirre-Acosta E (2009) Hongos degradadores de la madera en el estado de Chihuahua, México. *Rev. Mex. Biod.* 80:13-22.

Esposito E, Innocentini-Mei LH, Ferraz A, Canhos VP, Durán N (1993) Phenoloxidases and hydrolases from *Pycnoporus sanguineus* (UEC-2050 strain): applications. *J. Biotech.* 29:219-228.

Guzmán G (1979) *Identificación de los Hongos. Comestibles Venenosos Alucinantes y Destructores de la Madera*. LIMUSA, México. 57.

Guzmán G, Mata G, Salmones D, Soto-Velazco C, Guzmán-Dávalos L (1993) *El cultivo de los hongos comestibles, con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos agrícolas y residuos agroindustriales*. IPN/CECODES. México 63-74.

Martínez-Carrera D (1984) Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre desechos agrícolas. 1. Obtención y caracterización de cepas nativas en diferentes medios de cultivo sólido en el laboratorio. *Biótica* 9:243-248.

Martínez-Carrera D, Sobal M, Morales P, Martínez W, Martínez M, Mayett Y (2004) *Los hongos comestibles: propiedades nutricionales, medicinales, y su contribución a la alimentación mexicana*. COLPOS-BUAP-UPAEP-IMINAP, Puebla. 3-44.

Martínez-Carrera D, Morales P, Sobal M, Bonilla M, Martinez W (2006) México ante la globalización en el siglo XXI: el sistema de producción-consumo de los hongos comestibles. En*:* Sánchez-Vázquez JE, Martínez-Carrera D, Mata G, Leal-Lara H (eds) *El cultivo de Pleurotus en México.* ECOSUR-IE-UNAM-COLPOS, México D.F. 209-224.

Munsell (1992) *Soil color charts*. Macbeth Division of Kallmorgen Instruments Corp. Newburgh, Nueva York.

Pérez-Silva E, Aguirre Acosta E, Pérez Amador C (1988) Aspectos sobre el uso y la distribución de *Pycnoporus sanguineus* (Polyporaceae) en México. *Rev. Mex. Mic.* 4:137-144.

Quiroga EN, Sgariglia MA, Molina CF, Sampietro DA, Soberón JR, Vattuone MA (2009) Purification and characterization of an exo-polygalacturonase from *Pycnoporus sanguineus*. *Mycol. Res*. 113(Pt 12):1404-10.

Quiroga EN, Vattuone MA, Sampietro AR (1995) Purification and characterization of the invertase from *Pycnoporus sanguineus*. 1251:75-80.

Royse D (1989) Factors influencing the production rate of shiitake. *Mush. J. Tropics* 9:27-138.

Sánchez C, Viniegra-González G (1996) Detection of highly productive strains of *Pleurotus ostreatus* by their tolerance to 2-deoxy-D-glucose in starch-based media. *Mycol. Res*. 100:455-461.

Selinheimo E, Nieidhin D, Steffensen C, Nielsen J, Lomascolo A, Halaouli S, Record E, O´Beirne D, Buchert J, Kruus K (2007) Comparison of the characteristics of fungal and plant tyrosinases. *J. Biotechnol.* 130:471-8.

Smânia EFA, Smânia JA, Loguercio-Leite C (1998) Síntese de cinabarina por *Pycnoporus sanguineus* e sua atividade antimicrobiana sobre bactérias isoladas de alimentos. *Rev. Microbiol.* 29:317-320.

Sobal M, Martínez-Carrera D, Morales P, Roussos S (2007) Classical characterization of mushroom genetic resources from temperate and tropical regions of México. *Mic. Appl. Int.* 19 (1):15-23.

Teo YP, Mashitah MD (2010) Cellulase Production by *Pycnoporus sanguineus* on Oil Palm Residues through Pretreatment

and Optimization Study *J. Appl. Sci*.10: 1036-1043.

Tschierpe J, Hartmann K (1977) A comparison of different growing methods *Mush. J.* 60:404-416.

Xavier-Santos S, Carvalho CC, Bonfá M, Silva R, Capelari M, Gomes. E (2004) Screening for pectinolytic activity of wood-rotting basidiomycetes and characterization of the enzymes. *Folia Microbiol*. 49:42-46.

6.5 PIGMENTOS ANTIMICROBIANOS DE *PYCNOPORUS SANGUINEUS*

Lourdes Acosta-Urdapilleta*, Francisco Abel Medrano Vega*, y Elba Cristina Villegas Villarreal**

*Centro de Investigaciones Biológicas, CIB-UAEM, Cuerpo Académico Unidades Productivas Tradicionales,
**Centro de Investigación en Biotecnología, CeIB-UAEM. Cuerpo Académico de Entomología y Fitopatología.
Av. Universidad 1001. Col. Chamilpa C.P. 62209, Cuernavaca Morelos
elbav@uaem.mx

RESUMEN

Pycnoporus sanguineus, es un hongo silvestre, saprófito, crece en bosques tropicales y subtropicales. Es reconocido en culturas de América Latina y África en la medicina tradicional porque contiene cinabarina un pigmento antimicrobiano. El objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de cinabarina en caja Petri y en cultivo sólido. En caja Petri se utilizaron sustratos lignocelulósicos con dos tratamientos hervidos y sin hervir, como controles positivos PDA y HIT. En sustrato sólido se cultivó sobre aserrines de pino, encino y cedro. Se realizó una extracción de cinabarina en cuerpos fructíferos y micelio empleando acetato de etilo y acetona. Por cromatografía en capa fina en el extracto de cuerpos fructíferos se determinaron bandas de pigmentos con valores de frente de retención (Rfs) de 0.41 y 0.45 que corresponden a la cinabarina. En los extractos provenientes del cultivo de caja de Petri se obtuvo un Rfs de 0.43 y 0.48 que corresponde a los valores de Rfs de la cinabarina (0.43 y 0.47). La cinabarina y sus modificaciones en estos extractos se cuantificaron con una curva estándar de Absorbancia λ_{265} vs concentración. Finalmente se evaluó su actividad antimicrobiana con bacterias Gram positivas y negativas, usando como controles gentamicina y penicilina, por el método de difusión en agar de la CLSI 2005/NCCLS2007 M100-S18 (Clinical and Laboratory Standards Institute 2005/National Committee for Clinical Laboratory Standards 2002). La cinabarina proveniente de caja Petri fue activa con todas las cepas bacterianas a Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 6 hasta 12 µM, sin embargo la obtenida de cuerpos fructíferos fue más activa siendo inhibitoria hacia *Staphylococcus aureus* a una concentración de 2 - 4 µM.

Palabras clave: metabolitos secundarios, cinabarina, antimicrobianos, antibióticos.

INTRODUCCIÓN

Los hongos pertenecientes a la clase Basidiomicetos, usados en medicina popular desde tiempos ancestrales, tienen importancia en la búsqueda de compuestos antivirales, antibacterianos, antifúngicos y citotóxicos, substancias producidas como metabolitos secundarios en su crecimiento (Hwang *et al.* 2004). *Pycnoporus sanguineus* (L.) Murrill, es un hongo común en países tropicales y subtropicales (Guzmán 1979). Se encuentra ampliamente distribuido de forma silvestre en México (Guzmán 1979, Pérez-Silva *et al.* 1988, Chanona *et al*. 2007, Díaz-Moreno *et al*. 2009, Bandala *et al.* 1993). Este hongo ha sido usado en la medicina tradicional por algunas tribus indígenas de América Latina quienes pulverizaban los cuerpos fructíferos y lo aplicaban sobre las heridas ya que detiene el sangrado coagulando la sangre (efecto hemostático), previene infecciones y elimina verrugas en la piel. Además, se ha reportado que activa la circulación sanguínea y que tiene actividad antitumoral (Pérez-Silva *et al.* 1988). En África lo usan en forma de infusiones (como té) para eliminar parásitos intestinales, problemas de la menopausia y otras enfermedades del vientre. En Asia se usa para bajar la fiebre, contrarrestar problemas de reumatismo, artritis, gota, etc. *Pycnoporus sanguineus* ha sido estudiado por los metabolitos que produce tales como reguladores de crecimiento, compuestos aromáticos, pigmentos y enzimas (Acosta-Urdapilleta *et al*. 2010). Entre las enzimas se encuentran las fenoloxidasas importantes por ser responsables de los procesos de degradación de compuestos lignocelulósicos y contaminantes poliaromáticos

como pesticidas, colorantes, derivados del petróleo, etc. Su actividad antimicrobiana se atribuye a otro tipo de metabolitos secundarios como los pigmentos, específicamente la cinabarina. La cinabarina (Figura 1) es un pigmento anaranjado rojizo, cuya estructura básica es una Fenoxazina-3-uno, con un grupo carbonilo en la posición C-1, un grupo amina en C-2 y un grupo hidroxilo en C-9, (Achenbach y Blümm 1991). La producción de este antimicrobiano en cultivo líquido ocurre entre los 18 y 22 días de crecimiento del hongo y la síntesis de este compuesto se ve incrementada, si el medio de cultivo se ajusta a un pH de 6.0 y se incuba a 28ºC (Smânia *et al.* 1995a, Smânia *et al*. 1995b, Smânia *et al*. 1997).

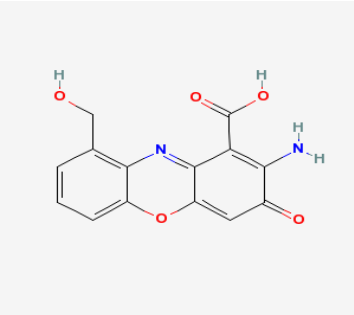


Figura 1. Estructura Química de la Cinabarina o Fenoxazina-3-uno.

Estudios realizados por Smânia (1995a, 1995b, 1997) muestran que la cinabarina de *P. sanguineus* tiene actividad contra cepas como *Bacillus cereus*, *Enterococcus fecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus mesenteroides*, *L. plantarum*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella* sp., *S. typhi*, *Staphylococcus aureus* y varias especies de *Streptoccocus*. Se ha reportado que su actividad antimicrobiana es más efectiva contra bacterias aisladas de humanos que las provenientes de alimentos, siendo más susceptibles bacterias Gram positivas que las negativas (Smânia *et al*. 1998). Oliveira *et al.* (2007) mostraron que la cinabarina, es el componente principal en los extractos obtenidos con acetato de etilo y metanol. Rosa *et al.* (2003), reportaron que la actividad antimicrobiana de la cinabarina de una cepa de *P. sanguineus* fue efectiva contra bacterias Gram positivas como *S. aureus y Listeria monocytogenes,* y la levadura *Candida krusei* solo presentó inhibición en uno de seis aislamientos realizados de esta especie. Baumer (2009) reportó el cultivo de este hongo en los sustratos lignocelulósicos cáscara de arroz, aserrínes de eucalipto y pino. Indicó mayor producción de cinabarina en el sustrato de aserrín de pino, donde alcanzó mayor producción en el día 50 de incubación El objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de cinabarina durante el crecimiento en caja de Petri y en cuerpos fructíferos de *P. sanguineus* HEMIM-51*,* aisladas de la Cangrejera Veracruz, México así como evaluar su capacidad antimicrobiana con cepas bacterianas Gram positivas y negativas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microorganismos

Los microorganismos usados en este estudio fueron: *Pycnoporus sanguineus* HEMIM 51, aislada de la Cangrejera, Veracruz. Esta cepa se mantiene en el cepario de hongos del Laboratorio de Micología del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos CIB-UAEM México; las bacterias Gram negativas: *Burkholderia unamae* Caballero-Mellado *et al*. (aislada de plantas), *Escherichia coli* (Migula) Castellani y Chalmers ATCC 25922, *Shigella flexneri* Castellani y Chalmers (aislado clínico), *Salmonella typhi* (Schroeter) Warren y Scott ATCC 6539 y las bacterias Gram positivas: *Staphylococcus aureus* Rosenbach ATCC 25923, S*treptococcus agalactiae* Lehmann y Neumann (aislado clínico), *Listeria monocytogenes* (Murra *et al.*) Pirie ATCC 244, *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn ATCC 6633. Las cepas bacterianas se mantuvieron en el cepario del Laboratorio de Estructura Función e Ingeniería de proteínas del Centro de Investigación en Biotecnología de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos CeIB-UAEM.

Comparación de la producción de cinabarina en caja Petri y cuerpos fructíferos de la cepa de *P. sanguineus*

El sustrato lignocelulósico utilizado en este trabajo para el cultivo de *P. sanguineus* HEMIM-51 en caja Petri fue agar de harina integral de trigo (HIT) para cultivar el hongo y usarlo como inóculo (1 cm^2 colocado en el centro de la caja). Los medios de cultivo se prepararon al 3% del sustrato de aserrínes de pino *Pinus montezumae*, encino *Quercus* sp., cedro *Cedrela* sp., paja de avena *Avena sativa,* grano de trigo *Triticum aestibum*, lirio acuático *Eichhornia crassipes*, sumergidos en agua (a 100ºC por 30 min sin mantener la temperatura) y sin sumergir. Se usaron como controles positivos agar PDA y HIT, utilizando un amortiguador de fosfatos ajustando a pH 6 (60 mM). La producción de cinabarina fue comparada inicialmente a través de un análisis visual, en caja Petri por la producción del micelio del hongo densidad y abundancia o escasez del pigmento, composición de los extractos obtenidos por cromatografía en capa fina y espectro de barrido. Se determinó la concentración mínima inhibitoria mediante pruebas de inhibición por difusión en agar frente a diferentes cepas de bacterias mencionadas anteriormente, y también por la composición de los extractos obtenidos, determinando la concentración mínima inhibitoria frente a las mismas cepas de bacterias. Los cultivos en caja de Petri fueron examinados diariamente durante 10 días, período en el que se obtuvo el máximo de producción de cinabarina. Los cuerpos fructíferos se obtuvieron por cultivo en sustrato sólido, en bolsas de polipropileno, sobre aserrín de encino, pino y cedro siguiendo la técnica reportada por Acosta-Urdapilleta *et al.* (2010).

Extracción de cinabarina

Extracción en caja de Petri

Una vez que el micelio cubrió la caja Petri y se produjo el pigmento, se separó del agar raspándolo con una espátula y una aguja. La biomasa con el pigmento obtenida del micelio fue pesada en húmedo y en seco, posteriormente el material fue pulverizado en un mortero o cortándolo con unas tijeras para reducirlo de tamaño (es un material muy correoso). El micelio fue secado a 28ºC y molido y el producto obtenido fue mantenido al vacío. A este polvo se le añadió acetona o acetato de etilo (4 ml/g de micelio obtenido), se separó el micelio del sobrenadante y después se realizaron extracciones secuenciales con agitación sobre el micelio hasta agotar la extracción del pigmento. Los solventes (acetona y acetato de etilo) de las extracciones consecutivas se acumularon y se evaporaron usando una campana de extracción hasta concentrar el pigmento (Sullivan y Henry 1971, Achenbach y Blümm 1991, de Oliveira *et al*. 2007).

Extracción carpóforos

Los cuerpos fructíferos obtenidos por cultivo en cada uno de los sustratos (pino, encino y cedro) fueron cortados finamente, secados (a 28ºC) y molidos, el producto obtenido se mantuvo al vacío (Acosta-Urdapilleta *et al*. 2010), se realizaron cinco extracciones consecutivas. El volumen total de solvente se eliminó por evaporación y el pigmento fue pesado, cuantificado por cromatografía en placa fina y almacenado a temperatura ambiente (Sullivan y Henry 1971, Achenbach y Blümm 1991, de Oliveira *et al*. 2007).

Cromatografía en placa fina

Posteriormente, para la detección de los pigmentos presentes en el micelio se realizó una cromatografía de capa fina siguiendo la técnica de Sullivan y Henry (1971), la cual consiste en pulverizar 1g de micelio seco, extraer los pigmentos en 3 ml de acetato de etilo y una vez secos disolverlos en 1 ml de metanol-piridina (3:1), colocar 20 µl de los pigmentos extraídos en placas de gel de sílice de 20 x 20 cm, desarrollar la placa en un sistema de disolventes de benceno:acetato de etilo:ácido acético glacial:ácido fórmico (12:6:1:1), correr las muestras hasta 15 cm y obtener los factores de retención (Rfs) de las manchas observadas en la placa e identificar los pigmentos.

Cuantificación de la cinabarina

Se realizó mediante diluciones de una cantidad conocida en gramos de cinabarina y determinando un espectro de barrido de 200 a 600 nm. La cinabarina tiene mayor absorbancia a una longitud de onda 265 nm. Se trazó una curva estándar absorbancia λ_{265} vs concentración, para obtener la ecuación de una recta y poder extrapolar las absorbancias obtenidas en los extractos (Acosta-Urdapilleta *et al*. 2010). Se determinó sólo a qué longitud de onda se detecta la cinabarina.

Productividad de cinabarina

Con base a la formula de tasa de producción (TP = EB/CC) propuesta por Royse 1989, se evaluó la productividad de la cinabarina (TP = CO/CC, donde CO es cinabarina obtenida y CC es ciclo de cultivo) tanto del micelio producido en caja de Petri como en cuerpos fructíferos cultivados en sustrato sólido.

Preservación y mantenimiento de las cepas bacterianas

Las cepas fueron conservadas en placas de agar Mueller-Hinton a 4ºC por 15 días y en glicerol a -80ºC. Las ocho cepas bacterianas fueron donadas por el Dr. Alexandre T. Cardoso y preservadas en el Laboratorio de Estructura-Función e Ingeniería de Proteínas del CEIB, UAEM.

Cinética de crecimiento bacteriano

En medio líquido Mueller-Hinton se inoculó una colonia de la bacteria de interés, se midió la absorbancia a 625 nm cada 2 h durante 12 h para determinar la curva de crecimiento. Se realizaron diluciones seriales de 10^{-1} a 10^{-9}, en solución salina (NaCl 0.9%), se sembraron en cajas de Petri con agar Mueller-Hinton, se incubaron por 24 h. Se obtuvieron las unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) y se determinó el tiempo necesario de incubación para obtener 1 x 10^8 UFC/ml, a la mitad de la fase logarítmica de crecimiento y se realizaron pruebas de inhibición en agar.

Pruebas de inhibición por difusión en agar

Se utilizó la técnica de difusión en placa siguiendo el protocolo para compuestos antimicrobianos de la NCCLS (2007). Se inoculó 1 ml de cada cepa bacteriana en medio Mueller-Hinton a una absorbancia de 625 nm de 0.1 a 0.2. Se vació el inóculo sobre una placa del mismo agar. Posteriormente, se colocaron 3 µl de cada solución de cinabarina a concentraciones crecientes de 2 a 40 µM, como control positivo se usó penicilina y gentamicina (10 mg/ml), como control negativo agua destilada. Las muestras fueron incubadas a 35ºC de 18 a 24 dias y se determinaron los diámetros de los halos de inhibición obtenidos (Smânia *et al*. 1995 a y 1995b).

Análisis estadísticos

Se utilizó un diseño completamente al azar. El análisis estadístico se realizó con el programa Graph Pad PRISM (versión 3), mediante la comparación de varianza y análisis de t-student.

RESULTADOS

Producción de cinabarina en caja de Petri

En la Figura 2, se muestra la producción de cinabarina en caja de Petri, cabe resaltar que no hubo diferencia

significativa en su obtención entre los sustratos hervidos y sin hervir a los 10 días de crecimiento. Sin embargo, la mayor cantidad de pigmento se obtuvo en agar HIT 15 mg, en trigo hervido 12 mg y 10 mg tanto en PDA como trigo sin hervir y encino hervido, en el resto de los sustratos se obtuvieron valores menores desde 7 hasta 1.1 mg (Tabla 1). Se recomienda usar agar HIT (harina integral de trigo) o trigo hervido para su obtención en el laboratorio usando cultivo en caja de Petri. Los cuerpos fructíferos obtenidos por cultivo en sustrato sólido se presentan en la Figura 3, dichas fructificaciones presentaron las características típicas de *P. sanguineus* (Guzmán 1979). La mayor producción de cinabarina en sustrato sólido alcanzó alrededor de 51 mg en encino o pino y 40% menos en cedro, es decir 31 mg. Entre aserrín de encino y pino, este último resulta ser más económico como sustrato. Mediante un barrido en el espectro de absorción entre 200 – 600 nm se determinó que el pico más alto de absorción de la cinabarina se encuentra a 265 nm. Se trazó una curva estándar absorbancia (a ésta longitud de onda) vs concentración, para cuantificar la cinabarina, se obtuvo la siguiente ecuación $y = 0.2349X + 0.3978$ ($R_2 = 0.9779$).

Extracción y cuantificación de cinabarina

Los rendimientos de extracción no mostraron diferencia significativa en cuanto al solvente empleado (acetona o acetato de etilo). Todos los extractos obtenidos de caja de Petri y en cuerpos fructíferos presentaron un pico característico de la cinabarina a una λ de 265 nm. A simple vista en el extracto del micelio se observaron 6 bandas con valores de frente de retención (Rfs) de 0.94, 0.86, 0.68, 0.48, 0.43 y 0.37 (Figura 4 A), cuya presencia se corroboró bajo UV. En los cuerpos fructíferos se observaron cinco bandas, dos con Rfs correspondientes a cinabarina con valores de 0.41 y 0.45 y otras tres bandas con valores Rfs de 0.75, 0.57 y 0.28 (Figura 4 B), cinco bandas fueron visualizadas en UV, con valores de 0.98, 0.93, 0.87, 0.49, 0.32, cuya identidad se está investigando. La productividad de cinabarina estimada mediante la modificación a la ecuación de Royse (1989) arrojaron como resultado una tasa de producción (mg/día) en cuerpos fructíferos sobre encino de 0.15, pino 0.08, cedro de 0.12 mg/día con respecto a la productividad media obtenida en caja de Petri de 0.7 mg/día. No obstante para su producción a gran escala o comercial deberán considerarse los costos de producción tanto en caja de Petri como en sustrato sólido (Medrano-Vega *et al*. 2007).

Tabla 1. Rendimiento (mg cinabarina/g de micelio) de *P. sanguineus* en diferentes sustratos (pH 6.0 en encino, lirio, trigo y avena, hervidos y sin hervir) y medios de cultivo (PDA y HIT a pH 5.5), a 28ºC, y 10 días de incubación

SUSTRATO	BIOMASA (g)	CINABARINA (mg)	RENDIMIENTO (mg/g de sustrato)
Encino H	1.1 a	10.0 c	9.09 d
Encino s/H	1.0 a	7.0 b	7.0 b
Lirio H	1.0 a	7.0 b	7.0 b
Lirio s/H	1.0 a	7.0 b	7.0 b
Trigo H	1.5 a	12.0 d	8.0 c
Trigo s/H	1.2 a	10.0 c	8.3 c
Avena H	1.0 a	1.1 a	1.1 a
Avena s/H	1.1 a	1.5 a	1.3 a
PDA	1.4 a	10.0 c	7.0 b
HIT	1.7 b	15.0 e	9.0 d

n = 3 Experimentos realizados por triplicado se presentan las medias.
H = sustrato hervido, s/H = sustrato sin hervir.
Letras iguales en una misma columna indican que no hay diferencia significativa entre tratamientos al nivel p=0.5.

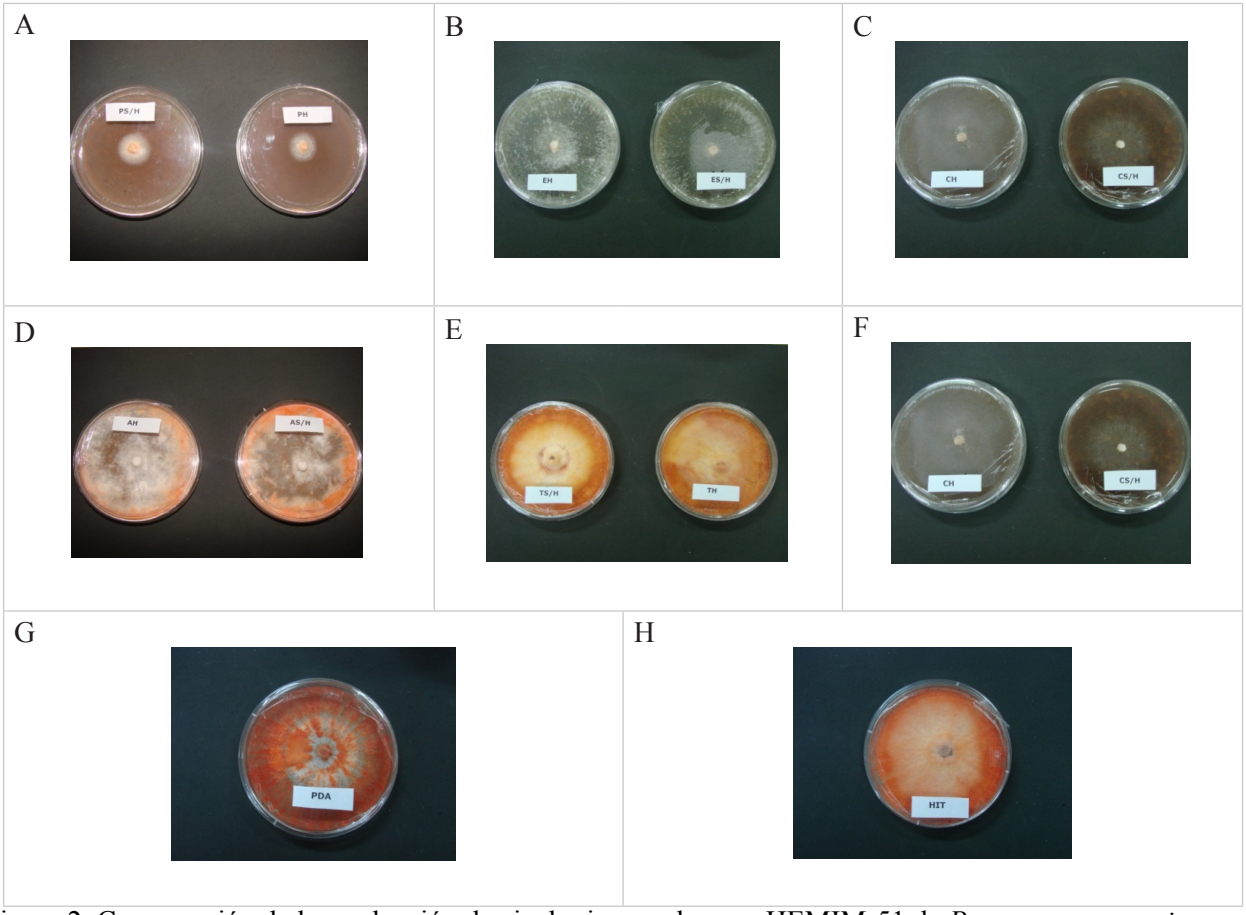


Figura 2. Comparación de la producción de cinabarina por la cepa HEMIM-51 de *Pycnoporus sanguineus* en caja de Petri, a 10 días de incubación a 28ºC A) aserrín de pino, B) aserrín de encino, C) aserrín de cedro, D) paja de avena, E) trigo, F) lirio acuático, G) agar PDA H) agar HIT, y sustrato sólido.

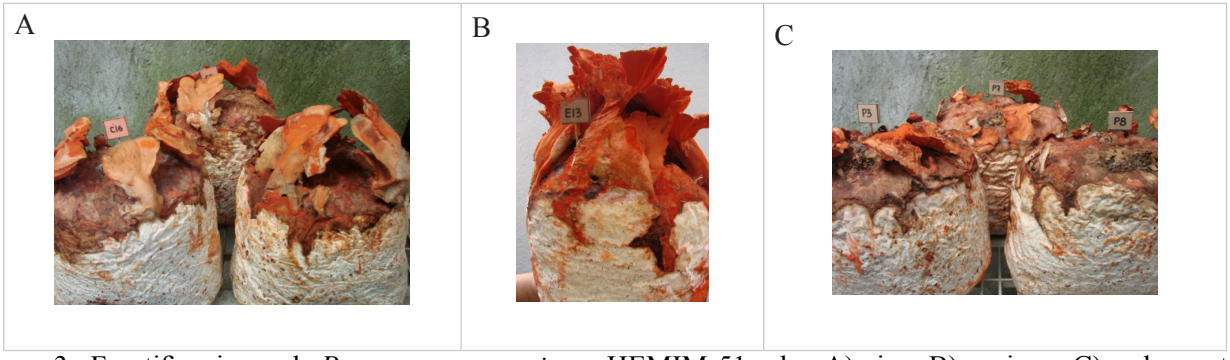


Figura 3. Fructificaciones de *Pycnoporus sanguineus* HEMIM-51 sobre A) pino, B) encino y C) cedro sustratos en bolsas de polipropileno.

Actividad antimicrobiana

La cinabarina producida por la cepa HEMIM-51 en encino fue la más activa que las de pino y cedro. Comparando la cinabarina producida en encino con los controles estos fueron 10 veces más potentes. Las muestras obtenidas de caja Petri, tuvieron actividad con todas las cepas bacterianas evaluadas (*Streptococcus agalactiae, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Lysteria monocytogenes, Bacillus subtilis, Shigella flexneri, Salmo-*

nella tiphy y *Burkholderia unamae*) a una CMI entre 6 y 12 μM, sin embargo, la cinabarina proveniente de cuerpos fructíferos solo presentó CMI a una concentración 2 y 4 μM sólo con la cepa *S. aureus* (Tabla 2). Aparentemente la cinabarina proveniente de los cuerpos fructíferos fue más potente que la obtenida de micelio producido en caja Petri, sin embargo deberán evaluarse concentraciones más altas para determinar la concentración mínima inhibitoria con el resto de las cepas bacterianas.

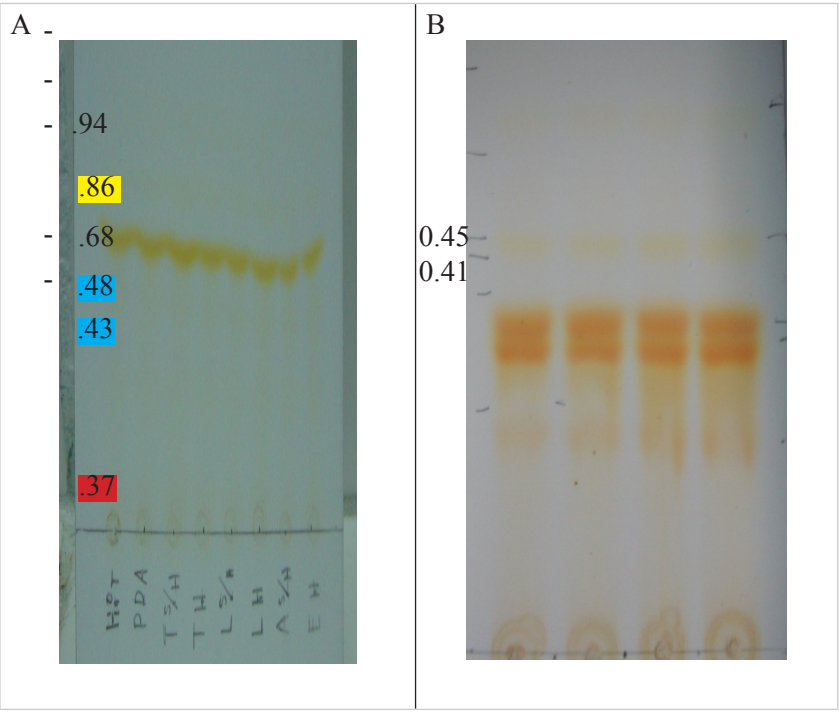


Figura 4. Cromatografía en capa fina de los extractos provenientes de A) micelio y B) cuerpo fructífero de *P. sanguineus*.

Tabla 2. Determinación de la concentración mínima inhibitoria de cinabarina de *P. sanguineus* proveniente de diferentes medios de cultivo (PDA y HIT a pH 5.5) y sustratos (encino, lirio, trigo y avena, hervidos y sin hervir a pH 6.0) a 28ºC, y 10 días de incubación sobre bacterias Gram positivas y negativas

Cepa	Caja Petri								Cuerpo fructífero			Controles	
	HIT	PDA	TSH	TH	LSH	LH	AS	EH	Pino	Encino	Cedro	Gent	Peni
	µM de Cinabarina												
S. agalactiae	6a	12b	12b	12b	6a	6a	12b	12b	nd	nd	nd	4.0c	0.2f
S. aureus	6a	12b	6a	12b	12b	6a	6a	6a	4c	2d	4c	0.2e	0.2f
E. coli	6a	12b	6a	6a	12b	12b	6a	6a	nd	nd	nd	0.2e	nd
L. monocytogenes	6a	6a	6a	12b	12b	6a	6a	6a	nd	nd	nd	0.5f	0.2f
B. subtillis	6a	12b	6a	12b	12b	6a	nd	6a	nd	nd	nd	4.0c	0.2f
S. flexneri	6a	12b	6a	12b	12b	12b	6a	nd	nd	nd	nd	4.0c	nd
S. typhi	6a	12b	6a	6a	12b	6a	6a	nd	nd	nd	nd	Nd	nd
Burkholderia	6a	12b	6a	12b	nd	6a	6a	6a	nd	nd	nd	0.2f	nd

n= Experimentos realizados por triplicado se presentan las medias. nd = no detectado.
H = sustrato hervido, s/H = sustrato sin hervir.
Gent. = Gentamicina, Peni. = Penicilina.
Letras iguales en una misma columna indican que no hay diferencia significativa entre tratamientos al nivel p=1.0.

DISCUSIÓN

El cultivo de la cepa de *P. sanguineus* HEMIM-51 en caja de Petri sobre los sustratos y medios estudiados (granos de trigo, lirio acuático y paja de avena; HIT y PDA) mostró que después de 10 días de cultivo, la velocidad de crecimiento más alta se presentó en los sustratos hervidos encino, lirio, trigo y avena sin diferencias significativas entre ellos. En cuanto a producción de biomasa los sustratos mencionados no presentaron diferencias significativas con respecto a los medios con agar HIT y PD. Por lo que los sustratos encino, lirio, trigo y avena pueden utilizarse para la producción de biomasa en caja de Petri. En cuanto a producción de cinabarina no se observaron diferencias significativas entre los sustratos y medios utilizados, el valor medio en todas las muestras fue de 7 mg/g de micelio. Tanto la harina como el grano de trigo hervido y sin hervir, adicionados al medio de cultivo como suplementos para la obtención de cinabarina obtuvieron un valor promedio arriba de 8 mg/g de micelio. Por otro lado, los sustratos encino (H), lirio (H y s/H) y avena (H) se comparan con el medio PDA debido a que se obtuvieron 7 mg de cinabarina por gramo de micelio. Destaca el lirio acuático ya que a pesar de considerarse una plaga, podría tener un valor comercial. Cabe resaltar que estos subproductos estudiados tienen potencial para ser usados para preservar las cepas e inocular los cultivos primarios (master), sin embargo habrá que evaluar su eficiencia. Como alternativa al cultivo de *P. sanguineus* en caja de Petri, está la producción de basidiocarpos que tiene un ciclo medio de cultivo en sustrato sólido de 371 días sobre aserrín de encino, pino o cedro (Acosta-Urdapilleta *et al*. 2010). El mayor rendimiento de extracción de cinabarina para la cepa HEMIM-51 fue obtenida del cultivo en encino con una producción de 56 mg/g de cuerpos fructífero comparado con cedro y pino con 42 y 32 mg/g de cuerpo fructífero respectivamente. En cuanto a la evaluación rápida de sustratos para la producción de cinabarina u otros metabolitos (enzimas) por *Pycnoporus sanguineus*, los cultivos en caja de Petri son una buena alternativa a pesar de sus costos debido a que se obtienen resultados en tiempos cortos (10 días). Es importante destacar que la inversión inicial para el cultivo en sustrato sólido (bolsas) es mínima en comparación con el cultivo en caja Petri, a pesar de que tiene ciclos de cultivo largos. Además, la productividad evaluada de cinabarina con la ecuación propuesta resultó ser menor en cuerpos fructíferos (0.12 mg/día) que en micelio (0.7 mg/día). La cinabarina es un pigmento antimicrobiano que puede aplicarse en el tratamiento de infecciones producidas por diferentes bacterias y hongos, con un valor de Rfs entre 0.43 y 0.47, reportado por Pérez-Silva *et al*. (1988). En el extracto del micelio y cuerpos fructíferos también se registró la presencia de ácido cinabarínico y tramesanguina cuyos Rfs están en el rango de 0.35-0.39 y 0.85 respectivamente y fueron reportados anteriormente (Pérez-Silva *et al*. 1988). De acuerdo con Sullivan y Henry (1971) podemos resaltar la presencia de una fenoxazina modificada a un Rfs de 90 y dos pigmentos tipo phenoxazinona con Rfs en el rango de 0.53 y 0.90 solo en los carpóforos. Otros pigmentos que no han sido reportados están siendo elucidados. En este trabajo se resalta la productividad de cinabarina utilizando dos técnicas de cultivo en caja de Petri y cultivo sólido. Con la primera se obtiene cinabarina del micelio en tiempos cortos (10 días) y en mayor cantidad (0.7 mg/día) que la que se obtuvo de cuerpos fructíferos en cultivo sobre sustrato sólido (0.12 mg/día), su ciclo de cultivo requiere de 371 días. Puede mejorarse la productividad en sustrato sólido para la obtención de basidiocarpos, reduciendo el período de incubación y suplementando los sustratos con nutrientes para mejorar la relación C/N. La cinabarina es uno de los pigmentos presentes en los extractos obtenidos del micelio y de los basidiocarpos, la que proviene de cuerpos fructíferos fue más potente que la del micelio, sin embargo la CMI frente a *S. aureus* tiene un rango de actividad menor que la gentamicina y la penicilina (0.2 mM). Por otro lado la cinabarina proveniente del micelio fue activa contra todas las bacterias evaluadas a concentraciones más altas, por lo que deberán realizarse estudios complementarios a concentraciones mayores con la cinabarina proveniente de cuerpos fructíferos, ya que las concentraciones evaluadas fueron bajas.

La cinabarina tiene aplicación potencial contra infecciones causadas por *S. aureus, S. agalactiae, E. coli y S. flexneri,* por ejemplo, la mastitis de ganado bovino u otros mamíferos. Existen reportes que muestran el potencial de la cinabarina contra bacterias provenientes de alimentos (Smânia *et al*. 1998), bacterias y hongos oportunistas de algunas patologías clínicas (Rosa *et al.* 2003), así como su aplicación como agente citotóxico en líneas células cancerígenas (Smânia *et al*. 1998, Ren *et al*. 2006) y virus (Smânia *et al*. 2003).

Este trabajo constituye uno de los primeros estudios sobre el cultivo en bolsa de *Pycnoporus sanguineus* empleando aserrines de la industria forestal para la obtención de basidiocarpos, extracción y evaluación antimicrobiana de la cinabarina, sin duda su productividad podrá mejorarse una vez conociendo los tiempos de crecimiento y condiciones de cultivo.

REFERENCIAS

Achenbach H, Blümm E (1991) Investigation of the pigments of *Pycnoporus sanguineus* - picnosanguin and new phenoxazin-3-ones. *Arch. Pharm*. 324: 3-6.

Acosta-Urdapilleta L, Alonso GA, Rodríguez A, Adame M, Salgado D, Salgado J, Montiel-Peña M, Medrano-Vega F, Villegas EC (2010) *Pycnoporus sanguineus*, un hongo con potencial biotecnológico En: Martínez-Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Mora VM (eds) *Hacia un Desarrollo Sostenible de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamerica: Avances y Perspectivas en el siglo XXI*. Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales: Producción, Desarrollo y Consumo. 14:189-220.

Bandala VM, Guzmán G, Montoya L (1993) Los hongos del grupo de los poliporáceos conocidos en México. *Reporte Científico No. Esp. 13*: 1-55. Facultad de Ciencias Forestales UANL, Linares N.L.

Chanona GF, Andrade GRH, Castellanos AJ, Sánchez JE (2007) Macromicetos del parque educativo laguna Bélgica, municipio de Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas, México *Rev. Mex. de Biod.* 78, 368-381.

CLSI (2005) Normas de Garantía de Calidad del Instituto de Estándares de Laboratorios Clínicos (Clinical Laboratory Standards Institute). M100 S17.

de Oliveira, LFC, Le Hyaric M, Berg MM, de Almeida MV, Edwards HGM (2007) Raman spectroscopic characterization of cinnabarine produced by the fungus *Pycnoporus sanguineus* (Fr) Murr. *Journal of Raman SPetroscopy* 38:1628-1632.

Díaz-Moreno R, Valenzuela R, Marmolejo JG, Aguirre-Acosta E (2009) Hongos degradadores de la madera en el estado de Chihuahua, México. *Rev. Mex. Biod.* 80:13-22.

Guzmán G (1979) *Identificación de los Hongos. Comestibles Venenosos Alucinantes y Destructores de la Madera*. LIMUSA, México. 57.

Hwang HJ (2004) Morphological and rheological properties of the three different species of basidiomycetes *Phellinus* in submerged cultures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 96: 1296-1305.

Medrano-Vega F, Acosta-Urdapilleta ML, Bautista NI, Bautista N (2007) 4.1 Rentabilidad en la producción de *Pleurotus ostreatus* en un modulo rústico En: Sánchez J, Martínez D, Mata G, Leal H (eds). *El cultivo de setas Pleurotus spp en México*. ECOSUR, México. 161-172.

NCCLS (2007) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twelfth informational supplement. NCCLS document M100-S12. NCCLS, Wayne, Pa.

Pérez-Silva E, Aguirre Acosta E, Pérez Amador C (1988) Aspectos sobre el uso y la distribución de *Pycnoporus sanguineus* (polyporaceae) en México. *Rev. Mex. Mic.*, 4:137-144.

Ren G, Liu XY, Zhu HK, Yang SZ, Fu CX (2006) Evaluation of cytotoxic activities of some medicinal polypore fungi from China. *Fitoterapia* 77:408-410.

Rosa LH, Machado KMG, Jacob CC, Capelari M, Rosa CA, Zani CL (2003) Screening of Brazilian Basidiomycetes for Antimicrobial Activity. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 98:967-974.

Royse DJ (1989) Factors influencing the production rate of shiitake, *Mush. J. Tropics* 9:27-138.

Smânia A, Dellemonache F, Smânia EFA, Gil ML, Benchetrit LC, Cruz FS (1995a) Antibacterial activity of a substance produced by the fungus *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Murr. *J. Ethnopharmacol. 45*: 177-181.

Smânia, AJ Smânia, EFA, Monache, FD Cruz, FS, Benchetrit, LC (1995b) Growth and production phases of *Pycnoporus sanguineus*. *Rev. Microbiol.* 26: 302-306.

Smânia EFA, Smânia AJ, Loguercio-Leite C, Gil ML (1997) Optimal parameters for cinnabarin synthesis by *Pycnoporus sanguineus*. *J. Chem. Techn. Biotechnol.*, 70: 57-59.

Smânia AJ, Smânia EFA, Loguercio-Leite C (1998) Cinnabarin synthesis by *Pycnoporus sanguineus* strains and antimicrobial activity against bactéria from food products. *Rev. Microbiol*. 29(4): 317-320.

Smânia AJr, Marques CJ, Smânia EF, Zanetti CR, Carobrez SG, Tramonte R, Loguercio-Leite C (2003) Toxicity and antiviral activity of cinnabarine obtained from *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Murrill *Phytother. Res.* 9:1069-72.

Sullivan G, Henry ED (1971) Occurrence and distribution of phenoxazinone pigments in the genus *Pycnoporus. J. Pharmaceutical Sci.* 60:1097-1098.

6.6 ELABORACIÓN DE PRODUCTOS CON HONGOS

J. Néstor Naranjo*, C. Jesús Herrera, Norma Almaraz A. y J. Natividad Uribe S.

*Lab. de Biotecnología, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional unidad Durango del Instituto Politécnico Nacional, Sigma s/n, Frac. 20 de noviembre II, Durango, Dgo. CP 24220, becarios COFAA-IPN
nnaranjo@ipn.mx

RESUMEN

Desde tiempos remotos, el hombre ha utilizado los hongos como alimentos; algunos han sido considerados delicadezas gastronómicas cuando se consumen entre los ingredientes principales del material nutritivo, o simplemente como elementos complementarios y condimento. Los hongos son un alimento con pocas calorías en términos relativos, que sacian enseguida y por ello su preferencia en la alimentación moderna. Tienen además, la gran reputación de poseer propiedades medicinales, son considerados prebióticos, que ayudan a fortalecer el cuerpo contra diversas enfermedades. Los hongos comestibles cultivados son vendidos en fresco así como transformados en diversos productos tales como, enlatados, secados, extractos de hongos en bebidas reconstituyentes o medicinales, refrescos o licores. Es importante buscar otros productos que pudieran elaborarse con hongos comestibles silvestres o cultivados, acordes con la idiosincrasia y gusto gastronómico de los habitantes del lugar y de los posibles compradores. Por ello este capítulo propone la elaboración de productos sencillos a base de hongos como mermelada para consumo directo, relleno para empanadas o pan de dulce; así también, se sugiere la elaboración de chorizo y licor de hongos como productos regionales. Por otra parte, se presenta la posibilidad de preparar productos cosméticos como cremas y shampoo (champú) de hongos.

Palabras clave: hongos comestibles, *Pleurotus, Agaricus*, licor, chorizo, shampoo.

INTRODUCCIÓN

Hablar de los hongos, es remontarse a los orígenes de la civilización o hasta del hombre mismo. Su presencia ha intrigado a los seres humanos, a tal grado que los ha elevado hasta la divinidad y de igual forma los ha enviado a los infiernos mismos. Se tienen registros antiguos del consumo de hongos, como los muestran pinturas rupestres encontradas en Tin-Tazarif, Tasili, Argelia, 7000-5000 a.C. Los primeros estudios europeos sobre hongos comestibles corresponden a Eurípides (485-406 a.C.), Teofrasto (372-283 a.C.) y Plinio (27-79 d.C.), en Roma, hacia el año 185 a.C. Estos autores se refirieron a los macromicetos como el maligno fermento de la tierra; también han sido llamadas excrecencias de la tierra y plantas bastardas (Rambotton 1949). Los hongos han sido consumidos por los humanos desde la antigüedad, como parte de su dieta normal y como un manjar debido al sabor y aroma agradable (Seo *et al.* 2003). En la literatura etnográfica mundial se encuentran evidencias sobre el consumo de hongos comestibles en América prehispánica, plasmadas en códices indígenas y en las descripciones de misioneros y soldados españoles del siglo XVI (Villareal y Pérez 1989) En México a los hongos alucinógenos se le denominaba teonanácatl o carne divina (Allen 1997) .

En México los hongos comestibles despiertan interés etnomicológico y económico debido a sus propiedades alimenticias y cualidades medicinales, que los hacen superiores a muchos productos de origen vegetal (Guzmán 1984, 1994, Montoya *et al.* 2000, 2004). El consumo de hongos forma parte del acervo cultural de la población rural, su conocimiento y uso fue muy importante en las culturas prehispánicas. Este conocimiento tradicional micológico se ha desarrollado particularmente en el área central del país, vinculado a la rica herencia cultural prehispánica (Pérez-Moreno *et al.* 2008), sobre todo en las mesoamericanas; de tal manera que constituyeron

parte de una estrategia de subsistencia basada en el uso múltiple de los recursos naturales. En ciertas regiones aún persisten las recolectas realizadas por toda la familia con fines de autoconsumo o comercialización (Villarreal 1995). En la actualidad el consumo de hongos comestibles en México se concentra mayoritariamente en el centro del país, pero disminuye conforme se avanza al norte, tanto en cantidad como en especies y se circunscribe a los habitantes de las zonas forestales y principalmente indígenas. Esta cultura micófaga cada día se pierde, por los procesos de transculturización alimentaría, además del desapego a sus costumbres por el proceso de emigración a los centros urbanos nacionales e internacionales, lo que provoca con ello la pérdida de valores culturales que definen su identidad (Naranjo *et al.* 2007).

La recolección de hongos es una actividad profundamente arraigada en la cultura de las comunidades indígenas y campesinas, las cuales han generado, reelaborado y transmitido su conocimiento de una generación a otra, dando origen a sistemas de producción muy estables que han demostrado ser compatibles con la conservación a largo plazo (Toledo 1992), principalmente en los bosques húmedos de las regiones templadas.

Los hongos producidos o recolectados en algunas comunidades de México son comercializados por un lado de manera informal; es decir, quienes los venden, por lo regular ofrecen su producto de casa en casa o lo venden por encargo; por otro lado hay quienes forman parte de una oferta semiformal que se establece afuera de los mercados, en plazas o tianguis y venden sus hongos, en ocasiones ofreciendo también otros productos no maderables como carbón, ocote, quelites, entre otros (Zamora- Martínez 1999).

Los factores que han inducido al hombre para apreciar los hongos como alimento son: su consistencia carnosa, su fácil digestión, su valor nutritivo y su exquisito sabor (Guzmán y Villarreal 1984). Los hongos son un alimento con pocas calorías en términos relativos, que sacia enseguida y por ello su preferencia en la alimentación moderna. Su alto contenido proteico, dentro de las hortalizas, sólo se ve igualado por el de las leguminosas. Los hongos poseen un contenido de proteínas que va desde 20% a 40% de su peso seco (López 1985). La proteína contenida en los hongos es digestible hasta 70–80% y posee un elevado valor nutritivo. La tasa proteica varía de acuerdo con la edad y la especie. Los hongos frescos están constituidos de: agua 86–88%, proteína 2–5%, hidratos de carbono 3–5%, grasas 0.2–0.3% y minerales 0.8–1% (García 1982).

En Asia los hongos comestibles tienen la gran reputación de poseer propiedades medicinales. El uso de los hongos con propiedades terapéuticas está creciendo día a día debido a los efectos secundarios causados por los medicamentos convencionales, entre los productos naturales, los hongos son reconocidos como buenos candidatos para estudios clínicos, porque son obtenidos fácilmente y en cantidades grandes y baratos (Seo *et al.* 2003).

Es así que durante los últimos 20 años, el interés en los aspectos medicinales de los hongos aumentó notablemente como lo demuestra la gran cantidad de estudios científicos realizados por un gran número de grupos de investigación, principalmente de hospitales e instituciones de investigación en Europa, Japón, China y los Estados Unidos, con trabajos en un amplio espectro de diferentes publicaciones (Curvetto 2009).

Por lo anterior, se planteó este trabajo que tuvo como fin elaborar productos con hongo comestibles con tecnologías simples y evaluar su aceptación en los posibles consumidores, así como su impacto económico en un grupo de mujeres de la sierra de Durango.

PRODUCTOS ELABORADOS CON HONGOS

Los hongos comestibles cultivados son vendidos en fresco o transformados en diversos productos como: enlatados, secos, extractos en bebidas reconstituyentes o medicinales, así como refrescos o licores. Por lo anterior es importante buscar otros productos susceptibles de elaborar con hongos silvestres o cultivados comestibles. Esto debe hacerse después de una selección cuidadosa que tome en cuenta la idiosincrasia y el gusto gastronó-

mico de los habitantes del lugar y de los posibles compradores. Algunas de las opciones que se proponen son: la elaboración de mermelada de hongo para consumo directo, para empanadas o para rellenar pan de dulce, así como chorizo y licor de hongo, como productos regionales. Una alternativa más son los productos cosméticos como crema y shampoo (champú) de hongo.

A continuación se detalla el procedimiento para elaborar algunos de estos productos y los resultados de las encuestas elaboradas para conocer la respuesta del público. Con ello se pretende promover la ampliación de la oferta en el mercado de productos no tradicionales a base de hongos, y sugerir alternativas para los cultivadores que buscan agregar valor a su producción.

Mermelada de hongo

Un kilogramo de hongos será lavado y troceado o molido, según el gusto. En un cazo de cobre o una cazuela de barro se colocarán los hongos y se les adicionarán de 300 a 400 gramos de azúcar morena, media cucharada de canela molida, de uno a dos clavos. Todo se mezclará a fuego lento y al final se le adicionarán diez gotas de limón. Cuando la mezcla tenga una consistencia pegajosa se apaga el fuego y se deja enfriar. La mermelada a base de hongo puede ser usada para elaborar empanadas (Figura 1) o rellenar pan de dulce como se muestra en la imagen. Es un buen alimento para los niños puesto que contiene proteína y energía.



Figura 1. Empanadas con mermelada de hongo.

Chorizo de hongo

Los hongos, son lavados y troceados a un tamaño de 0.5 cm, y puestos a cocción de dos maneras alternativas: hervidos y a vapor, durante 35 minutos. Se le puede adicionar grasa de cerdo (cuyo producto denominaremos *real* porque presenta mayor parecido con el chorizo normal) o se le adicionará grasa vegetal (o margarina), y será llamado *light* por no contener grasa animal. Por ende, este último producto está dirigido para consumidores vegetarianos, con niveles de colesterol alto o de alimentación especial. Se procede a mezclar los hongos con chiles, especies, condimentos, sal y vinagre al 4% como conservador. Se deja reposar 24 horas. Este producto al cocinarse no deberá exceder cinco minutos a fuego medio, el producto se muestra en la Figura 2.



Figura 2. Chorizo de hongo.

En el caso del chorizo de hongo, se realizaron pruebas sensoriales u organolépticas con 85 personas al azar, quienes fungieron como jueces (ingenuos) y probaron el producto. Los resultados indicaron que en cuanto a sabor, 65 personas consideraron aceptable el chorizo tipo *light* y 75 el *real*, con relación al olor 80 y 81 personas para ambos productos respectivamente, consideraron que era agradable. En cuanto a apariencia o aspecto, fue igual el número de personas que manifestaron que ambos productos eran buenos. De existir el producto lo comprarían, algunos degustadores hicieron énfasis en las bondades de contener menos grasa que el chorizo normal, lo cual ayudaría a su salud.

Licor de hongo

Se puede elaborar un licor con carpóforos de *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach o *Pleurotus* spp. (Figura 3), como una opción más para agregar valor de tipo industrial. Esto representa una posibilidad económica y una alternativa al consumidor. Así mismo, permite ampliar las posibilidades de transformación y comercialización de estos hongos comestibles cultivados.
Para la elaboración del licor de hongo, se siguieron tres métodos, (ninguno de ellos están reportado para la elaboración de licores de hongo), que a continuación se describen:

1. Método por concentración de alcohol.
   I. Trozar 300 g de champiñón
   II. Agregar a un volumen de 1 litro de alcohol etílico, dejar reposar por una semana.
   III. En un matraz o un recipiente de 1 litro, agregar 730 ml de agua potable.
   IV. Adicionar 80 g de azúcar morena y disolver.
   V. Al término de la semana tomar 270 ml del concentrado y adicionar a 730 ml de agua potable con presencia de azúcar morena, de manera que no escape nada de alcohol.
   VI. Dejar reposar una semana.
   VII. Posteriormente filtrar para eliminar impurezas con ayuda de papel filtro número 10 o con un lienzo de manta.
   VIII. El monitoreo del grado de alcohol (28º), fue efectuado mediante un rotovapor (BUCHI R-114). La temperatura en condiciones de vacío en la cual comienza a desprenderse el alcohol etílico es de 35–38ºC. Durante este rango de temperatura fue colectado el destilado para posteriormente cuantificarlo volumétricamente y comprobar con ayuda de un alcoholímetro (ROBSAN 2040), la concentración de alcohol.
2. Método por ebullición.
   I. Machacar 300 g de champiñón.
   II. Adicionar a 1 litro de agua contenida en un matraz de 2000 ml.
   III. Someter el preparado a ebullición por 20 minutos.
   IV. Dejar enfriar, tomar 30 ml de la ebullición y agregar a 700 ml de agua potable contenida en una matraz

de 1 litro.

V. Agregar 80 g de azúcar morena y disolver.
VI. Adicionar 270 ml de alcohol etílico, tapar y dejar reposar durante una semana.
VII. Posteriormente filtrar para eliminar impurezas con ayuda de papel filtro número 10 con un lienzo de manta.
VIII. Monitorear el grado de alcohol (28ºGL).

3. Método por extracción.

I. Se utilizo una olla de extracción, constituida por dos partes: en la primera (cámara de vapor) se colocan 300 g de champiñón machacados, en la segunda (cámara o contenedor de agua) se colocan 150 ml de agua destilada.
II. Cerrar el sistema y someter a calor durante 30 minutos.
III. Tomar 30 ml del líquido del fondo y adicionar a 700 ml de agua potable.
IV. Posteriormente agregar 80 g de azúcar morena y disolver.
V. Adicionar 270 ml de alcohol etílico 96%.
VI. Dejar reposar por una semana.
VII. Comprobar la concentración de alcohol (28ºGL).



Figura 3. Licor de hongo.

Pruebas organolépticas y encuesta

Se realizaron pruebas organolépticas con panelistas o jueces ingenuos o sin entrenamiento en el producto, quienes deberían ser mayores de 18 años independientemente del género, para evaluar las siguientes características organolépticas, aspecto o color, dulzura, olor y sabor, además de dejar abierto un espacio para alguna consideración que los panelista quisieran agregar (Cartwright *et al.* 1952).

Se formuló la encuesta relacionada con las características del producto y dejando opción a las personas encuestadas para dar sugerencias sobre el licor de champiñón (*A. bisporus*) o setas (*Pleurotus* spp.). La encuesta fue diseñada en dos rubros, el primero fue información general del encuestado y el segundo lo relativo a hábitos de consumo de hongos y las pruebas de degustación del producto. La encuesta contenía nueve preguntas, de estas ocho fueron cerradas o de opción múltiple y solo una fue abierta para apoyar a la pregunta 5, dejando en algunas preguntas la opción "otros" para incluir aquellas consideraciones que los encuestados manifestaron de manera libre. Se aplicaron 100 encuestas a voluntarios o jueces, al azar, entre la población mayor de 18 años de la Ciudad de Durango, Dgo. A continuación se muestra la encuesta utilizada.

ENCUESTA					
Nombre:					
Edad:		Sexo:		Estado civil:	
Nivel de Estudios:			Profesión:		
1.- ¿Come hongos?					
SI	NO a) No me gustan b) No sé cómo prepararlos c) Son tóxicos d) No los he probado				
2.- ¿Cómo?					
a) Crudos	b) de Lata	c) Guisados	d) Otros:		
3.- ¿Le gustaría comerlos de otra manera?					
SI	NO				
4.- ¿Ha probado vino o licor de hongos?					
SI	NO				
5.- ¿Estaría dispuesto a probarlos?					
SI	NO				
6.- ¿Por qué?					
7.- ¿Qué le parece?					
a) malo	b) regular	c) bueno	d) excelente		
8.- Características organolépticas del licor de champiñón:					
a) Aspecto	desagradable ( )	agradable ( )			
b) Dulzura	desagradable ( )	agradable ( )			
c) Olor			sin olor ( )	otro:	
d) Sabor	desagradable ( )	agradable ( )	otros:		
e) Otros					
9.-Si hubiera en el mercado, ¿lo compraría?					
SI	NO				

Los comentarios y sugerencias obtenidos en la encuesta para los tres métodos de elaboración de licor de champiñón fueron similares, de ahí que cualquiera de ellos es adecuado para la elaboración del licor de hongo. A continuación se detallan los resultados obtenidos después de analizar las encuestas.

El rango de edad de los encuestados osciló de 18 a 50 años. Para la pregunta "¿consume de hongos?", 64% contestaron afirmativamente y 36% negativamente, por algunas de las siguientes causas: no les gustan, no los han probado, no saben cómo prepararlos y pueden ser tóxicos.

Quienes manifestaron comer hongos, los consumen principalmente enlatados, por su facilidad para conseguirlos, 33% de éstos los guisa acompañándolos con arroz u otros condimentos, 3% los comen crudos (champiñones al natural) y 2% como condimento de otros alimentos.

Al preguntarles si les gustaría probar los hongos de otra forma, 82% mostraron interés por saber de qué otra forma podían consumirse, en tanto que 18% del total, no mostró interés. Al informarles que se trataba de un licor elaborado con hongos, 85% de las personas encuestadas manifestaron interés en probarlo y las razones expuestas fueron: por novedad, curiosidad, experimentar otra manera de comer hongos y por gusto. El 15% restante no quiso probarlo, porque no toman alcohol o no se les antojó.

De las personas que probaron el licor, 98% manifestó agrado por el producto; de estos, 35% lo percibió como regular, 56% bueno y 7% excelente. A 2% de quienes lo probaron les pareció malo.

El olor o aroma fue agradable para 69% de los encuestados que probaron el licor de hongo y 31% manifestó desagrado. De éstos, 13% señalaron olor desagradable, 11% manifestó que no tenía olor y 7% dijo que tenía olor a alcohol, aceite o poco olor a hongo o champiñón.

Para el aspecto o apariencia del licor de hongo, 93% de las personas que probaron el licor dijeron que era agradable, en tanto que 7% los consideró de aspecto desagradable. En relación al contenido de azúcar, fue agradable para 85% de quienes probaron el licor y a 15% no les agradó. Solamente 8% de las personas que probaron el licor sugirieron cambios a éste, 4% consideró conveniente concentrar más el sabor a champiñón, 2% reducir el olor a alcohol y otro 2% rebajar la concentración de alcohol, pues lo sintieron "fuerte" para su gusto.

El 81% de las personas que probaron el licor dijeron que lo comprarían de existir en el mercado; previas modificaciones a las características indeseables en el olor, sabor, aspecto, contenido de azúcar y alcohol. Estas sugerencias contribuyen a mejorar el producto para su comercialización.

Champú y cremas (productos cosméticos)

Los componentes principales de la pared celular de los hongos son los polisacáridos (80-90% de la materia seca). La quitina es uno de ellos y es responsable de la rigidez y forma de la pared celular de los grupos taxonómicos Zygo-, Asco-, Basidio- y Deuteromicetos (Vetter 2007). Las cantidades varían de trazas a 45% de la fracción orgánica, el resto son en su mayoría proteínas, glucanos y mananos (Roberts 1992). Además de la quitina contienen quitosano, el cual aparentemente, está restringido a los hongos (Peter 2005). El micelio, el píleo y el estípite de los cuerpos fructíferos de cuatro hongos comestibles, *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, *Lyophyllum shimeji* (Kawam.) Hongo, *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer y *Volvariella volvacea* (Bull.) Singer contienen menor cantidad de quitina que otros hongos (Cheung 1996).

En tres variedades de *P. ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., el contenido de quitina, osciló entre 2.16% y 3.31% en base seca (Vetter 2007). Las especies cultivadas de *Agaricus* tienen más quitina que las especies de pudrición de la madera como *L. edodes*, y *P. ostreatus* este ultimo con menor cantidad (Vetter 2007).

Los derivados de la quitina y el quitosano, como la carboximetil-quitina y el hidroxipropil-quitasano, por sus propiedades humectantes, estimulan la renovación celular de la piel y el fortalecimiento del cuero cabelludo (Hirano 1995). Estos compuestos son usados en la industria cosmética en la elaboración de cremas humectantes, limpiadoras, pasta de dientes y lociones de baño. Debido a las particularidades antes mencionadas, se procedió a diseñar dos productos cosméticos: un champú para fortalecer el cuero cabelludo y una crema, como humectante y vitalizadora de las células de la piel.

La crema fue elaborada con crema base comercial existente en el mercado de materias primas y se le agrego extracto acuoso del hongo *Pleurotus* sp. o *A. bisporus*, en una proporción de 100 ml de extracto de hongo /1000 g de crema base comercial. Se diseñó la encuesta y se aplicó a 50 usuarias al azar, se les proporcionó un recipiente con 75 gramos del producto y se les pidió que aplicaran lo que pudieran tomar con la yema de dos dedos de la mano y la aplicara en las mismas durante un periodo de diez días. Los datos obtenidos al ser analizados, mostraron que 90% de los encuestados manifestaron aceptación al producto, de estas 40% manifestaron que les suavizó la piel, 30% se las aclaró, 10% eliminó manchas, 4% manifestó un efecto sobre las arrugas y 6% dijo que el producto no presentó ninguna mejora para ellas. El 80% indicó que de existir el producto en el mercado lo compraría y lo recomendaría. Solo 5% de los encuestados mencionaron algún efecto negativo sobre la piel (ligero escozor). En términos prácticos la crema representa una alternativa más para diversificar los usos de los hongos.

Los productos aquí mencionados, como la mermelada, el licor, el chorizo, el champú y la crema cosmética, pueden ser una posibilidad para darle valor agregado a los cuerpos fructíferos del champiñón *Agaricus* sp. o las setas *Pleurotus* spp. o algún otro hongo comestible. La elaboración de productos con hongos, pueden ser una posibilidad económica para los cultivadores en comunidades vulnerables o económicamente deprimidas, tal es el caso del grupo denominado "Las hongueras de San Antonio", del ejido San Antonio y Anexos del municipio de Pueblo Nuevo, Durango, México, quienes producen setas en condiciones de baja tecnología y con sus propios recursos financieros; es decir, mediante la autogestión, como una estrategia para crear las condiciones para la apropiación del proceso del cultivo de setas, e iniciar acciones innovadoras para buscar su mejora económica.

A continuación se hace referencia al estudio etno-económico realizado a este grupo:

A partir de un grupo de 20 personas, a quienes se impartió un curso sobre cultivo de setas, tres personas se organizaron al grado de reconocerse a sí mismas como "Las hongueras de San Antonio". Desde el principio se fijaron el objetivo de, no sólo producir setas, sino además, elaborar productos envasados como licor, mermeladas y chorizo de hongos *Pleurotus* spp. Su organización se cimentó en un esquema de solidaridad y de distribución del trabajo de acuerdo a las habilidades de cada una de ellas. El papel de líder recayó en la persona de mayor edad y valor moral en el grupo. Ella fue la responsable del control de cuánto y cuándo sembrar y cosechar, así como de definir las inversiones a realizar y la distribución de las ganancias generadas cada mes. La distribución del trabajo se hizo de manera equitativa, al igual que las ganancias. Cada miembro invirtió 1277.40 pesos (1 dólar=11.65 pesos mexicanos). El precio de los hongos frescos osciló entre 40 y 50 pesos y el del licor de hongo fue de 80 pesos el litro. Cada integrante obtuvo ingresos totales por 4747.40 pesos, menos lo invertido arrojó una ganancia neta de 3470.00 pesos durante 9 meses que significó 385.55 pesos/mes con una inversión de trabajo por 30 horas mensuales. Además de la recuperación de la inversión, se calculó un salario de 12.85 pesos/hora, que comparativamente fue superior al ingreso calculado por hora del salario mínimo vigente durante la realización del estudio (5.93 y 6.18 pesos/hora, que corresponden a 47.60 pesos/día y de 49.50 pesos/día para 2007 y 2008 respectivamente). En efecto, al ser divididos este valor entre ocho horas de una jornada de trabajo corresponden a menos de la mitad de lo obtenido por hora de cada una de las hongueras. Esto es importante en la comunidad donde el empleo es escaso y las alternativas de tiempo parcial o temporal son aceptadas.

CONCLUSIÓN

El cultivo de hongos comestibles es una posibilidad para paliar la pobreza en comunidades deprimidas o marginadas. Primeramente al producir un alimento para autoconsumo, aunque la comercialización posterior permite obtener ingresos adicionales, que pueden ser mejorados con la elaboración de productos con mayor valor agregado y más vida de anaquel. Los datos obtenidos en el estudio etno-económico de las hongueras muestran una mejora en ingresos al elaborar productos a base de hongo, en relación con la sola actividad de comercializar los hongos en fresco, cuyo precio oscilaba entre 40 a 50 pesos/kg.

REFERENCIAS

Allen JW (1997) Teonanacatl: Ancient and Contemporary Shamanic Mushroom Names of Mesoamerica and other Regions of the World. *Ethnomycological Journals Sacred Mushroom Studies* vol. III:1-47.

Cartwright LC, Snell CT, Kelley PH (1952) Organoleptic Panel Testing as Research Tool. *Anal. Chem.*: 24 (3): 503–506.

Cheung PCK (1996) Dietary fiber content and composition of some cultivated edible mushroom fruiting bodies and mycelia. *J. Agric. Food Chem.* 44: 468–471

Curvetto N (2009) *Grifola frondosa* (Maitake): Su valor nutracéutico, nutricéutico, farmacéutico y cosmecéutico. Tecnología de producción. 2-50www.hongoscomestibles-latinoamerica.com/P/griola2.PDF 20 de marzo 2011.

García RM (1982) *Manual para buscar setas*. Madrid España. 440 p.

Guzmán G (1984) El uso de los hongos en Mesoamérica. *Ciencia y Desarrollo* 59*:* 17-27.

Guzmán G (1994) Los hongos en la medicina tradicional de Mesoamérica y de México. *Rev. Iberoam. Mic.* 11*:* 81-85.

Guzmán G, Villarreal L (1984) Estudio Sobre los Hongos, Líquenes y Mixomicetos del Cofre de Perote, Veracruz, 1: Introducción a la Micoflora de la Región. *Bol. Soc. Méx. Mi*c. 19; 107, 124.

Hirano S (1995) Chitin biotechnology application. *Biotechnol. Ann. Rev.* 2: 237-258

López R A (1985) *Hongos Alimento del Futuro. Cultive sus Setas en Casa*. Universidad Veracruzana. Xalapa, Ver. 15 p.

Montoya A, Hernández-Totomoch O, Estrada-Torres A, Kong A (2000) *Recetas tradicionales para cocinar hongos silvestres*. Folleto Técnico No. 20. Fundación Produce Ixtacuixtla de Mariano Matamoros, Tlaxcala A.C. México. 18 pp.

Montoya A, Kong A, Estrada-Torres A, Cifuentes J, Caballero J (2004) Useful wild fungi of La Malinche National Park, México. *Fungal Div.* 17: 115-143.

Naranjo JN, Herrera CJ, Almaraz AN, Rivera QN (2007) Estudio etnomicologico en la región de Santiago Papasquiaro, Durango, México. Memorias en extenso, VI Congreso Internacional y XII Nacional de Ciencias Ambientales, Chihuahua, Chih. 178-182

Peter GM (2005) Chitin and Chitosan in Fungi. Biopolymers Online. Wiley-VCH Verlag GmbH & http://www.wiley-vch.de/publish/en/books/ISBN3-527-30290-5.

Rambottom J (1949) *A Hand book of the larger British Fungi*. London. (s.e.) 222p.

Rasmy GE, Botros WA, Kabeil SS, Daba A S (2010) Preparation of Glucan from *Lentinula edodes* Edible Mushroom and Elucidation of its Medicinal Value. *Australian J. Basic and Appl. Sci.* 4(11): 5717-5726

Roberts F (1992) *Chitin Chemistry*. The Macmillan Press Lid. London. 123-137.

Seo SY, Sharma VK, Sharma N (2003) Mushroom tyrosinase: recent prospects *J. Agric. Food Chem*. :51:2837-53.

Tzianabos A (2000) Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: structural aspects and biologic function. *Clinical Microbiology Reviews* 13: 523-533.

Villarreal L (1995) El hongo de pino: un recurso genético para el desarrollo sustentable en México. En: XI exposición de hongos. Tlaxcala. Hongos biodiversidad y desarrollo sustentable. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Departamento de Agrobiología. Laboratorio de Micología CICB-UAT. pp:46-48.

Villarreal L. Pérez J. (1989). Los hongos comestibles silvestres de México. *Micol. Neotrop. Apl.* 2:77-144.

Vetter J (2007) Chitin content of cultivated mushrooms *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes*. *Food Chemistry* 102(1): 6-9.

Zamora-Martínez MC (1999) *Hongos comestibles de México*. En Memorias del Ciclo de Conferencias "La investigación y la educación forestal en México. SEMARNAP. 87-104.

CAPITULO 7

PERSPECTIVAS

7.1 EL PAPEL DE LAS INSTITUCIONES DE INVESTIGACIÓN EN EL SECTOR CHAMPIÑONERO: VINCULACIÓN COMO UN REQUISITO PARA EL DESARROLLO

Juan Carlos Sucarrats

Riojal S.A. de C.V.
Carretera Federal Xalapa-Perote s/n, Las Vigas de Ramírez, C.P. 91330, Veracruz, México
jc.sucarrats@ayecue.com

RESUMEN

En un mercado competitivo y globalizado, las empresas no pueden darse el lujo de improvisar ni de investigar sobre la marcha, so pena de grandes costos en competitividad y en eficiencia. En cuanto se refiere al sector champiñonero, es necesario que los actores involucrados se sensibilicen para poder embonar las instituciones académicas con las empresas, es decir, vincularse para hacer el conocimiento disponible de manera oportuna. Esto les permitirá trascender y obtener beneficios económicos y sociales.

Palabas clave: Agaricus bisporus, hongos comestibles, investigación, México.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de champiñón en particular -como de los hongos en general- posee un gran fundamento técnico y científico que, incorporado a su cadena productiva, aporta e incrementa de manera atractiva su valor agregado. Con ello beneficia directamente a quienes desean desarrollarse en esta actividad como sustento económico.

La investigación, en la búsqueda de estos fundamentos, juega un papel determinante en los resultados y por ende en la competitividad y futuro desarrollo de esta agroindustria. Es por ello que deben existir siempre los mecanismos de vinculación adecuados que permitan establecer de manera permanente los canales de comunicación entre las empresas productoras y los órganos e instituciones encargadas de generar conocimiento a través de la investigación. La vinculación debe sensibilizar sobre las necesidades existentes, así como orientar y encaminar de manera coordinada los diferentes actores a fin de lograr que el conocimiento, como palanca de valor agregado, potencie e impacte positivamente en el entorno tecnológico, social y económico.

Además de esto, deben existir políticas públicas que logren que la orientación de los esfuerzos necesariamente converja de manera tal que tanto los recursos materiales como el trabajo y el talento de quienes desarrollan tan importante actividad, no quede como patrimonio bibliográfico aislado. De manera obligada debe permear y trascender su contexto social para lograr un beneficio comunitario.

LA IMPORTANCIA DE LA VINCULACIÓN

Detectar necesidades, establecer políticas, priorizar demandas, así como organizar y lograr contactos empáticos entre los actores involucrados (empresa, sociedad, institutos científicos y docentes, entidades de gobierno, etc.) así como factores que articulan, engranan y pueden hacer que la maquinaria de desarrollo camine en un sentido virtuoso para todas las partes, caen en el área denominada Vinculación. Esta área debe existir activamente como una fuerza que detecte y logre hacer embonar, entre los diferentes actores sociales, la demanda con la oferta de conocimiento.

Como empresa, el experimentar sobre la marcha conlleva tiempos y gastos tan elevados que difícilmente son costeables. No se logra una estabilidad operativa y menos rentable con lo cual se llega al desánimo empresarial y por tanto al fracaso. Cuando esto sucede, se culpa de ese fatal destino a la actividad y no a la manera como se llevó a cabo la actividad; es decir, por falta de apoyo en conocimiento apropiado, se desperdicia la posibilidad de incorporar a la economía rural -que tan ávida está de contar con alternativas de trabajo social, ecológica y económicamente viables- este tipo de modelo de desarrollo productivo.

IMPACTO DE LA VINCULACIÓN EN LA AGROINDUSTRIA DEL CHAMPIÑÓN

En una explotación champiñonera, el primer paso corresponde a la elaboración de sustrato, o "compost", donde se requiere contar con una infraestructura específica y costosa para lograr conseguir la calidad que dé soporte a la explotación. En este caso, no hay términos medios, es determinante contar con el tipo de instalación que garantice tanto los procesos como su control ya que será la base y el origen que sustente la cadena de valor. Aquí entendemos por calidad, la garantía de que este sustrato inoculado llevará una evolución biológica esperada y de ello dependerán potencialmente los resultados del cultivador.

En la experiencia particular, esta etapa es desarrollada en la figura de una empresa privada con objeto de contar rigurosamente con la seguridad en el cumplimiento de los protocolos y procedimientos de los procesos establecidos pudiendo lograr gestionar esta unidad, de una manera autónoma, ligera y ágil en su gestión, aunque ligada y orientada estrechamente a los intereses y resultados colectivos.

Con esta figura se adquiere la responsabilidad de la garantía ofrecida con el sustrato inoculado al dar potencial productivo competitivo al cultivador y la posibilidad de estandarizar los campamentos o casas de cultivo. Con ello se facilita la capacitación, la asesoría y la difusión de los resultados de procesos de investigación en instituciones vinculadas.

En muchos países, se cuenta con institutos de investigación al servicio específico de esta agroindustria. Su función está en encontrar las mejores soluciones a problemas puntuales que se presentan y/o investigan para optimizar la manera como se lleva a cabo esta actividad de forma regional. Se trata de hacerla competitiva para encontrar polos de explotación intensiva muy importantes donde prácticamente la economía del lugar gravita en torno a la derrama que generan este tipo de cultivos. Lograr estos objetivos requiere construir por lo menos algunos pilares que figuren y hormen estos desarrollos:

a) conseguir aglutinar de manera organizada a los miembros del sector productivo de manera que fluya una comunicación interna y sea posible transmitir de forma convergente, consensuada y puntual las necesidades existentes que requieran investigación.

b) políticas públicas claras bien reglamentadas que apoyen y realmente posibiliten el establecimiento de estos centros cuya misión y visión estén fuertemente ligados al desarrollo e impacto económico y social que logren tener en la población objetivo.

c) asegurar sustentabilidad económica del centro anclando una cuota o porcentaje como retorno financiero hacia los órganos de investigación, ligado a los resultados financieros de los miembros beneficiados.

La segunda etapa en una explotación champiñonera, lo representan los cuartos o casas de cultivo o crecimiento. En esta área, el éxito depende de la minucia, del cuidado, de la puntual y correcta actuación hacia el ser que se desarrolla (champiñón), que solicita y requiere condiciones específicas según el momento y grado de desarrollo que lleve.

Adquirir este conocimiento como experiencia a través del tiempo, puede ser desmotivante para el cultivador

porque desfasa la competitividad de la explotación e incrementa los costos de aprendizaje, que seguramente excederán las posibilidades de competencia y conducirán al fracaso. Por ello, en pro de jugar un papel competitivo en los actuales mercados (con cada vez mayor competencia de oferta y mas exigencia en el consumo), es requisito sumar con las instituciones que cuentan con los elementos humanos y de infraestructura capaces de ahondar en el conocimiento y orienten al sector hacia manejos más adecuados y producciones más eficientes.

Aquí encontramos un importantísimo elemento que requiere de una reflexión especial en nuestros países en vías de desarrollo, porque encontramos fuertes diferencias y contrastes sociales, culturales y económicos entre las urbes y las zonas rurales.

Ya que este tipo de quehacer, enmarcado dentro del sector agropecuario, con características tan intensivas de explotación, puede lograr impactos económicos muy positivos en las regiones rurales, ya que el perfil humano requerido para entender y comprender como llevar a cabo de manera adecuada y satisfactoria las labores de cultivo, lo cumplen perfectamente nuestros compatriotas habitantes de las zonas rurales que, en un círculo vicioso se han rezagado por falta de preparación.

Nuestro modelo de producción propuesto contempla que esta segunda etapa (de cultivo o crecimiento), se lleva a cabo con y a través de cultivadores asociados autónomos. Estos cultivadores están engranados en nuestro esquema productivo, lo que incluye acceso a asesoría permanente y la seguridad de colocación del total de sus cosechas. Ellos realizan esta actividad como sustento económico principal con muy buenos resultados, lo que permite derrama y empleo; además de que permite enfocar sus esfuerzos en producir y despreocuparse del resto de factores que componen una cadena productiva, como los suministros y el mercado.

En estos casos, las instituciones académicas y de investigación cumplirían un papel primordial aportando conocimiento fundamentado en la ciencia y la experimentación atendiendo problemáticas y propiciando desarrollo.

En contextos sociales como el nuestro en particular, y Latinoamérica en lo general, considero que las instituciones educativas y de investigación juegan un papel decisivo en el sector y debemos tener en cuenta la trascendencia que puede provocar ya que con una infraestructura apropiada, hasta cierto punto sencilla, es posible incorporar en esta actividad una importante cantidad de zonas rurales serranas, como una propuesta alternativa sustentable, logrando un importante y positivo impacto social.

Al tratar de acoplar en países en vías de desarrollo, modelos económicos de países desarrollados, se logran acoples un tanto parciales. Estos modelos se limitan a ciertas aéreas compatibles u homologables con sus contextos desarrollados, donde la oferta de satisfactores y servicios cumple las demandas requeridas por ellos. Sin embargo, nosotros debemos trabajar en modelos desarrollados a partir de nuestra realidad; es decir, con modelos ajustados a nuestro contexto socio económico y que además aporten alguna ventaja competitiva para asegurar no solo su implantación, sino su desarrollo futuro. Esto es, potenciar las fortalezas y trabajar minimizando las debilidades, muchas de las cuales se encuentran en la falta de conocimiento y por tanto recaen en la imperiosa y urgente necesidad de lograr una apropiada vinculación.
Es fundamental lograr los mecanismos vinculatorios adecuados entre los actores motores en una sociedad como son las empresas en general y las agropecuarias o champiñoneras en este caso particular, con los institutos o instituciones académicas generadoras de conocimiento a fin de compartir objetivos y converger esfuerzos que logren resultados en pro de un mejor vivir.

El gobierno debe asumir su papel de legislar al respecto con el fin de normar y así orientar las iniciativas de investigación con las necesidades productivas y facilitar, incentivar e impulsar programas que engranen la participación hacia objetivos compartidos. La responsabilidad social corporativa mas estratégica ocurre cuando una empresa (institución-organización) añade una dimensión social a su propuesta de valor, convirtiendo el impacto

social en una parte integral de su estrategia. La mejor manera de predecir el futuro está en hacernos cargo de él.

7. 2 CULTIVO Y APROVECHAMIENTO DE MACROMICETOS. UNA TENDENCIA GLOBAL EN CRECIMIENTO

J.E Sánchez* y G. Mata**

*El Colegio de la Frontera Sur. Apdo. Postal 36, Tapachula, Chiapas, México
** Instituto de Ecología. Antigua Carretera a Coatepec, Xalapa, Ver. México

RESUMEN

Los hongos superiores o macromicetos son mal conocidos por la población, sobre todo la urbana, al igual que los hongos en general; sin embargo son organismos que adquieren cada día mayor importancia. Se observa un futuro muy prometedor para estos organismos, con amplios avances en investigación, desarrollo tecnológico, aprovechamiento industrial y comercial, con impacto contundente en la alimentación, la medicina, la agricultura, la silvicultura, la biotecnología, etc. El conocimiento y aprovechamiento de la micodiversidad traerá nuevos beneficios y hasta vocablos nuevos que enriquecerán el lenguaje. La miceticultura o cultivo de los macromicetos ha logrado domesticar actualmente al menos 130 especies, entre las que se observan hongos saprófitos, parásitos de plantas o animales, micorrízicos, hipógeos… y la lista apenas empieza. La humanidad ha descubierto la importancia y los beneficios que ofrecen estos organismos y ahora todo depende de una buena vinculación entre investigación, políticas públicas, educación, capacitación, desarrollo y participación de la sociedad. En todos ellos, tanto el sector gubernamental, como el privado y el social, así como el mercado, tienen una función estratégica y fundamental.

Palabras clave: hongos comestibles, desarrollo sostenible, quinto Reino, fungicultura, micocultura, miceticultura, micotecnología.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de hongos comestibles es una actividad que ha venido tomando impulso a nivel global desde mediados del siglo pasado y es predecible que siga con esta tendencia por varias razones, dentro de las cuales se pueden citar: el incremento de la población, el incremento en la demanda, el incremento en el ingreso promedio de las personas, la diversificación de los hongos producidos, las nuevas aplicaciones de los hongos en el campo de la alimentación y la medicina, el atractivo como actividad económica, etc. Salvo en el continente asiático –específicamente en China, Japón y Corea- donde la cultura y la aceptación de estos organismos por la población en general son incuestionables, este incremento previsible en la producción y en la diversificación de los hongos producidos no parece fácil. En Europa, y otros países como Australia y Estados Unidos, donde los hongos son mal conocidos y no tan ampliamente aceptados (por su comestibilidad), el crecimiento probablemente presentará mayor resistencia, al menos en el mediano plazo. Después de analizar las tendencias mostradas en el capítulo introductorio de este libro, probablemente este último escenario es el que corresponde a Iberoamérica también.

Minter (2011) comenta cuán sorprendente resulta el desconocimiento que se tiene, de manera general, por el Reino de los Hongos; a pesar de lo importante que estos organismos son para la vida en el planeta y para el desarrollo sostenible. Este autor menciona además que los movimientos conservacionistas, a nivel mundial, no han tomado en cuenta a los hongos y pone como ejemplo el caso de la Convención sobre Diversidad Biológica de Río (CBD, por sus siglas en inglés), la cual tiene por objetivos, la conservación de la biodiversidad, el uso sostenible de sus componentes y la honesta y equitativa distribución de los beneficios del uso de los recursos

genéticos (http://www.cbd.int/rio/). El acuerdo plausiblemente incluye todos los ecosistemas, especies y recursos genéticos. Lo lamentable del caso es que al entrar en detalles, el texto clasifica la biodiversidad en plantas, animales y microorganismos…; es decir dos reinos y un grupo especificado en base a tamaño, a ninguno de los cuales, ciertamente, pertenecen los hongos. Si se supone que los grupos conservacionistas están bien informados y hacen este tipo de omisiones colosales, ¿qué se puede esperar entonces de otras agrupaciones oficiales y no oficiales, así como del ciudadano común? Esta situación no hace más que enfatizar la necesidad de realizar grandes esfuerzos por difundir, para hacer notar, luego proteger, conservar, cultivar, aprovechar a los hongos de una manera benéfica para la humanidad. Este es el esfuerzo que seguramente se requiere para difundir el conocimiento y aprovechamiento de los macromicetos, que son, finalmente, una parte también mal conocida de los hongos. Esto pone en evidencia la importancia de resguardar y difundir el conocimiento etnomicológico que existe en algunos países de Iberoamérica y que representa el conocimiento ancestral del manejo sustentable de recursos.

Para que el crecimiento se dé también en Iberoamérica, debe impulsarse el avance científico y tecnológico que incida –mediante educación, difusión y capacitación- en el desarrollo económico y el bienestar social de la población. La tendencia ascendente no tiene vuelta: la humanidad ha descubierto que los hongos son un recurso importante, con un potencial inmenso y su estudio y aprovechamiento es sólo cuestión de tiempo… O se estudian los hongos desde ahora y se desarrolla tecnología para su domesticación -ahora, cuando el conocimiento es incipiente y comparable (en términos evolutivos) entre los países del mundo- o se corre el riesgo de depender más delante de la tecnología desarrollada en otras partes. Esto es particularmente cierto cuando en la actualidad, si se deja a un lado el champiñón, 99% de la producción mundial de hongos se da en países del este y sudeste asiático y esta producción es 3 veces mayor que la producción mundial de champiñón (Yamanaka 2005).

La necesidad de acuñar nuevos términos

En ese acontecer de cómo conocer, cómo aprender a domesticar un "nuevo" Reino, seguramente que la terminología específica actual resulta escasa y deberá evolucionar. Nuevas palabras y términos deberán aparecer. El término agricultura se refiere al cultivo de las plantas, viene del latín "agri" que hace referencia al lugar donde se cultivan las plantas –el suelo, el campo- y cultura = cultivo. Indica, por lo tanto, la labranza, el cultivo de la tierra. El adjetivo "agrícola" hace referencia a todo aspecto relativo a la agricultura y para el cultivo de las macroplantas –los árboles, el bosque- se utiliza el término silvicultura. Es de hacer notar que términos parecidos a éstos no existen para el caso del cultivo de los hongos. Dado que los hongos pueden ser cultivados en agua, en medio sintético y en sustratos sólidos, podría pensarse que el término biotecnología de hongos comestibles podría ser el correcto, pero la verdad es que, actualmente, estas formas de cultivo también son aplicables a las plantas y al denominar al cultivo de los hongos comestibles como biotecnología de hongos comestibles se utiliza un concepto tan vasto –como lo es la biotecnología misma- que no aplica específicamente el cultivo de los macro hongos. Esta insuficiencia de términos, hace por ejemplo que, al hablar de aspectos relacionados al cultivo de un hongo en particular, se le refiera como "aspectos *agronómicos*" de dicho hongo, o bien, que al hablar de los análisis químicos también de un hongo en particular se refieran a ellos como "análisis *fitoquímicos*"…

Si bien podrían utilizarse los términos fungicultura o micocultura, -términos que actualmente son poco utilizados, pero que seguramente crecerán en uso hasta volverse más familiares- se refieren al cultivo de la generalidad de los hongos y no al grupo denominado de los hongos superiores. El termino fungícola se refiere a todo lo relativo a los hongos. Si para referirse al cultivo de cualquier hongo se puede hacer uso de las palabras micocultura o fungicultura, para el caso de los hongos superiores –los macromicetos- no existe una palabra en español que les haga referencia. Esto lleva al mismo problema ya mencionado por Chang (2011), quien al tratar de definir la ciencia de los macromicetos –la "mushroomology"- concluye que no existe una palabra en inglés para ese concepto y finalmente define tal ciencia como "mushrooom biology"; es decir, más o menos, la biología de los macromicetos.

En referencia al aprovechamiento del sustrato, y en semejanza con el concepto "cultivo de la tierra" que alude el término "agricultura", no se visualiza un término conocido para los hongos. "sustraticultura" parece de antemano descartado porque no sugiere nada. ¿Podría entonces hablarse de "Miceticultura" para referirse al cultivo de los macromicetos? Aunque la raíz griega "micete" se refiere a la totalidad de los hongos, por convención, ¿podría utilizarse como acrónimo de "macromiceticultura"? ¿Es posible esto? Nótese que el uso del término "miceticultura", tendría un antecedente en el término "micetismo", que por su raíz "micete", debiera referirse a todos los hongos; sin embargo, se usa exclusivamente para referirse a las intoxicaciones con hongos macroscópicos y no incluye, por ejemplo, las intoxicaciones con aflatoxinas, a las cuales se hace referencia con la palabra micotoxicosis. Hecha esta reflexión, queda claro que nuevos términos y vocablos deberán aparecer simultáneamente con la evolución y el "boom" del cultivo e introducción al mercado de macromicetos que espera a la humanidad. Por ejemplo, en la actualidad, no hay un término especializado y breve que identifique a la "Secretaría (o Ministerio) para el Cultivo de los Hongos Comestibles, Medicinales y Otros", en similitud a la "Secretaría de Agricultura" que existe en casi todos los países del mundo. No se debe olvidar que en muchos lugares los macromicetos comestibles, ya sean cultivados o silvestres, son considerados erróneamente dentro del grupo de las "hortalizas" y que anteriormente, los hongos eran estudiados por la botánica.

Los usos de los macromicetos

Los primeros hongos silvestres colectados y los primeros macromicetos cultivados artificialmente en el mundo (*Auricularia auricula* (L.) Underw*., Flammulina velutipes* (Curtis) Singer*, Lentinula edodes* (Berk.) Pegler*, Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach, etc.) causaron interés en la población por su valor alimenticio; sin embargo, en la actualidad, aunque la importancia alimenticia persiste en la mayoría de los casos, cada vez se descubren más características medicinales que les dan a estos hongos un mayor valor económico y social. En la actualidad, aunque no todos los estudios están plenamente confirmados, se habla de hongos con interés anticancerígeno (contra el sarcoma 180, el adenocarcinoma, la leucemia), antimutagénico, antidiabético, inmunoprotector, antioxidante, anticolesterolémico, antihipertensivo, antiinflamatorio, antimicrobiano, antibacterial, antiprotozóico, antiviral, antifúngico, y otros eficaces contra la trombosis o como nútracéuticos (Colauto y Linde 2012, Valencia del Toro y Garín Aguilar 2012). También se habla de hongos eficaces contra la tos, el asma, el enfisema, la bronquitis (Bioken s/a); contra la senescencia y como restauradores de funciones endocrinas, hipolipidémicas, antiescleróticas y sexuales (Zhu *et al.* 1998). La literatura es tan copiosa, que se requiere de un análisis riguroso que confirme muchas de estas aseveraciones; pero también se espera que nuevas acciones biológicas sean descubiertas en el sentido de un mejor control de enfermedades. Por ejemplo, un hongo endofítico ha sido identificado como productor de huperzina, fármaco recomendado en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (Zhang *et al.* 2010b), es probable que algunos macrohongos, sobre todo los micorrícicos –que han sido poco estudiados- presenten cualidades interesantes en el mantenimiento de la homeostasis del cuerpo y en la cura de esta y otras enfermedades; o bien, que tengan propiedades anti-envejecimiento, como lo reportan Yang *et al.* (2008).

Además de las cualidades alimenticias, medicinales y psicoterapéuticas encontradas en organismos del vasto Reino de los hongos, estos organismos han demostrado características que los hace útiles para la biodegradación de lignocelulosa (Ward *et al.* 2004), la bioconversión de subproductos agroindustriales (Falanghe 1962, Yürekli *et al.* 1999), la recuperación de suelos (Snyder y Allen 2004), la decoloración de efluentes textiles (Schliephake *et al.* 2004), la degradación de colorantes (Bumpus 2004), la degradación de pesticidas (Hernández *et al*. 2006, Córdova-Juárez *et al.* 2010), así como para el tratamiento de aguas residuales y la producción de diversos metabolitos, entre otros.

Si el ser humano tiene menos de dos mil años de cultivar macromicetos, es bueno recordar que las termitas descubrieron los beneficios que puede aportar el cultivo de micelio de diversas especies de hongos ligno celu-

lolíticos, entre ellos macromicetos hace 30 millones de años y que desde entonces, en una relación mutualista muy interesante y producto de la interacción evolutiva (Zhang *et al.* 2010a), las termitas han cultivado hongos del género *Termitomyces*, y se han beneficiado con sustancias químicas complejas y productos de la degradación ocasionada por éstos, así como de un rico nutrimento en forma de agregado micelial. En esta relación de mutuo beneficio, *Termitomyces* spp. obtienen material vegetal de fácil degradación y asimilación para su crecimiento y un microclima óptimo para evitar la proliferación de otros hongos capaces de inhibir su desarrollo. Los vuelos copulares de las termitas para establecer nuevos nidos facilitan también la distribución geográfica del hongo: una relación pues, de mutuo beneficio…. Los seres humanos deberían actuar de manera similar: para aprovechar los beneficios que ofrecen los macromicetos, hay que estudiarlos, conocerlos mejor y contribuir a su conservación.

Recursos genéticos y macromicetos cultivados

Con una diversidad estimada en 1.5 millones de especies de hongos, de las cuales, probablemente la cuarta parte sean macromicetos, es evidente que la humanidad tiene un gran tesoro por estudiar y aprovechar. En este sentido, aunque hay algunos avances serios en cuanto a conocimiento y conservación de macromicetos en varios países de Europa (García-Rollan 2000), poco se ha hecho en el mundo y notoriamente en Iberoamérica. Smith y Ryan (2004) listan 10 de las principales colecciones de cultivos a nivel mundial que conservan recursos fúngicos. En total ellos estiman que estas colecciones conservan casi 200,000 cepas. Estos autores también mencionan que de las 466 colecciones de cultivos registradas de 61 países, la mitad (unas 250) conservan alrededor de 350 mil cepas de hongos, sin hacer la diferencia entre micro y macromicetos. Brasil y México son los países con más avances en cuanto a conservación de recursos genéticos en Iberoamérica, pues en ambos países en el pasado reciente, se han establecido lineamientos e iniciado acciones para la conservación y estudio de la biodiversidad en general, y de los macromicetos en particular. Este interés es motivado por el deseo de potenciar el desarrollo agrícola y biotecnológico en ambos países. En Brasil se ha formado el Sistema de Información para Colecciones de Interés Biotecnológico y en México el Centro Nacional de Recursos Genéticos, dentro del cual, en el subsistema microbiano (Subnargem) se pretende contribuir a la conservación de los hongos de interés para el país (agrícola, alimenticio, médico o biotecnológico). En los demás países del área, los esfuerzos son aislados, cuando no precarios, y desafortunadamente en algunos países ni siquiera se tiene información de la existencia de colecciones de hongos. Esto es un reto que debiera afrontarse, pues cotidianamente se habla de pérdida de biodiversidad y, lamentablemente, la domesticación de macromicetos, aunque sostenida y en desarrollo, pareciera insuficiente, dada la cantidad potencial de especies por conocer.

Así, al tratar el tema de macromicetos cultivados, Boa (2004) señala una lista de 92 especies de macromicetos saprófitos posibles de cultivar en el mundo (Tabla 1). En la actualidad, la cantidad de especies cultivadas se ha incrementado; por ejemplo: en 2005, después de una visita al área productora de la provincia de Fujian, China, los autores pudieron apreciar que, además de las especies ya conocidas, se cultivaban comercialmente: *Clitocybe maxima* (P. Gaertn., G. Mey. & Scherb.) P. Kumm. (Figura 1)*, Dictyophora indusiata* (Vent.) Desv., y *Pleurotus nebrodensis* (Inzenga) Quél.; Por otra parte, se sabe de otras especies que son también cultivadas a nivel comercial, como: *Ustilago maydis* (DC.)Corda (Castañeda y Leal Lara 2011) y *Tuber melanosporum* Vittad. (De Román y Boa 2004). Al hacer una revisión de la literatura publicada en los últimos 15 años en revistas de interés micológico, como: *Mushroom Science*, *Acta Edulis Fungi*, *Proceedings of the World Soc. for Mushroom Biology and Mushroom Products*, la *Revista Mexicana de Micología* y *Micología Aplicada International*, se observa que hay otras especies que han sido cultivadas con éxito a nivel experimental (Tabla 2), como: *Pleurotus tuber-regium* (Rumph. ex Fr.) Singer (Okhuoya y Okogbo 1991)*, Lepista sordida* (Schumach.) Singer (Xiao y Zhao 1995), *Pycnoporus cinnabarinus* (Jacq.) P. Karst. (Xie y Hu 2008), *Lyophyllum decastes* (Fr.) Singer (Cheng *et al.* 2008), *Tricholoma lobayense* R. Heim (Zheng *et al.* 2008), *Hexagonia apiaria* (Pers.) Fr. (Li *et al.* 2008a), *Panus giganteus* (Berk.) Corner (Qiang *et al*. 2008), *Lactarius hatsudake* Nobuj. Tanaka (Tan *et al.* 2008), *Wolfiporia cocos* (F.A. Wolf) Ryvarden & Gilb. (*Li et al.* 2008b), *Lyophyllum connatum*

Tabla 1. Macromicetos saprófitos posibles de cultivar

Nombre científico	Nombre científico	Nombre científico
Agaricus arvensis	*Hericium coralloides*	*Phellinus* spp.
A. augustus	*H. erinaceus*	*Pholiota nameko*
A. bisporus	*Hypholoma capnoides*	*Piptoporus betulinus*
A. bitorquis	*H. sublateritium*	*P. indigenus*
A. blazei	*Hypsizygus marmoreus*	*Pleurocybella porrigens*
A. brunnescens	*H. tessulatus*	*Pleurotus citrinopileatus*
A. campestres	*Inonotus obliquus*	*P. cornucopiae*
A. subrufescens	*Kuehneromyces mutabilis*	*P. cystidiosus*
Agrocybe aegerita	*Laetiporus sulphureus*	*P. djamor*
A. cylindracea	*Laricifomes officinalis (=Fomitopsis officinalis)*	*P. eryngii*
A. molesta	*Lentinula edodes*	*P. euosmus*
A. praecox	*Lentinus strigosus (Panus rudis)*	*P. ostreatus*
Albatrellus spp.	*Lentinus tigrinus*	*P. pulmonarius*
Armillaria mellea	*Lentinus tuber-regium*	*P. rhodophillus*
Auricularia auricula-judae	*Lepista nuda*	*Pluteus cervinus*
A. fuscosuccinea	*L. sordida*	*Polyporus indigenus*
A. polytricha	*Lyophyllum fumosum*	*P. saporema*
Calvatia gigantea	*L. ulmarium (=Hypsizygus ulmarium)*	*P. umbellatus (=Dendropolyporus umbellatus)*
Coprinus comatus	*Macrocybe gigantea (=Tricholoma giganteum)*	*Psilocybe cyanescens*
Daedalea quercina	*Macrolepiota procera*	*Schyzophyllum commune*
Dictyophora duplicata	*Marasmius oreades*	*Sparassis crispa*
Flammulina velutipes	*Morchella angusticeps*	*Stropharia rugosoannulata*
Fomes fomentarius	*M. esculenta*	*Trametes cinnabarinum*
Ganoderma applanatum	*Neolentinus lepideus (=Lentinus lepideus)*	*T. versicolor*
G. curtisii	*Oligosporus* spp	*Tremella fuciformis*
G. lucidum	*Oudemansiella radicata*	*Volvariella bombycina*
G. oregonense	*Oxysporus nobilissimus*	*V. volvacea*
G. sinense	*Panellus serotinus (=Hohenbuehelia serotina)*	*V. volvacea var. gloiocephala*
G. tenus	*Paneolus subbalteatus*	
G. tsugae	*P. tropicalis*	
Grifola frondosa	*Phallus impudicus*	

Fuente: Boa 2004.

(Schumach.) Singer (Li *et al.* 2009), *Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát (Han *et al.* 2010), *Sparassis crispa* (Wulfen) Fr. (Jia *et al*. 2010), *Phlebopus portentosus* (Berk. & Broome) Boedijn (Cao *et al.* 2010). Además, de

que en este libro se reporta el cultivo de las especies *Pycnoporus sanguineus* (L.) Murrill, *Polyporus tenuiculus* (P. Beauv.) Fr., *Lentinula boryana* (Berk. & Mont.) Pegler, *Neolentinus ponderosus* (O.K. Mill.) Redhead & Ginns, y *N. suffrutescens* (Brot.) T.W. May & A.E. Wood. Es interesante ver que se ha logrado cultivar hongos entomopatógenos con propiedades de interés medicinal como *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.y *C. militaris* (L.) Link (Bioken s/a) e *Isaria japonica* Yasuda (Yamanaka *et al.* 1998, Ban 1998).



Figura 1. Cultivo comercial de *Clitocybe maxima* en China (a y b). Presentación de *Dictyophora indusiata* (c).

También, se tienen avances importantes en el cultivo de otros hongos de interés como: *Morchella conica* Pers. (Zhao *et al.* 2010), aunque sus ascocarpos no tuvieron el desarrollo diferenciado y completo esperado. El hongo ectomicorrizico *Lyophyllum shimeji* (Kawam.) Hongo, ha sido cultivado puro sin haber colonizado las raíces de su hospedero y también se han producido cuerpos fructíferos diminutos de *Boletus reticulatus* Schaeff., en cultivo puro (Yamanaka 2005). Este mismo autor comenta que probablemente, en un futuro próximo, podrían obtenerse cuerpos fructíferos de *Tricholoma matsutake* (S. Ito & S. Imai) Singer, también en cultivo puro; aunque los avances logrados hasta ahora dan cuenta sólo de la optimización de su desarrollo micelial (Cao *et al.* 2007). También se ha avanzado en el conocimiento del grupo de hongos que afectan los cultivos de macromicetos de interés, tanto desde el punto de vista de la fisiología, la biología y la taxonomía, como de sus antagonistas, con miras a desarrollar estrategias de control biológico.

Las tablas 1 y 2 muestran los logros alcanzados hasta ahora en cuanto al cultivo de macromicetos en el mundo. Dicha relación suma alrededor de 130 especies cultivadas, aunque no es precisa; por una parte porque no ha sido realizada de manera exhaustiva y por otra, porque la taxonomía de varias de las especies mencionadas es incierta; por ejemplo, *P. abalonus* Y.H. Han, K.M. Chen & S. Cheng, hongo comestible al que se le atribuyen

propiedades antioxidantes y antienvejecimiento, es sinónimo de *P. cystidiosus* O.K. Mill (Index Fungorum http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp); así mismo, *Pleurotus nebrodensis* está emparentado con *P. eryngii* (DC.) Quél. (Rodríguez Estrada y Royse 2008). A pesar de ello, las dos tablas dan una idea aproximada del crecimiento y del avance logrado en el cultivo de macromicetos en los últimos años. Crecimiento muy esperanzador, sobre todo respecto de los beneficios que estos organismos pueden aportar en todos los ámbitos de la vida económica, la salud y la alimentación de la humanidad. La relación incluye macromicetos saprófitos, parásitos de plantas y de animales, micorrízicos, hipógeos… y la lista apenas empieza. Probablemente se dará un gran paso cuando se tengan mayores avances en las técnicas de cultivo de especies micorrízicas, especies entre las que se encuentran muchas de las más apreciadas por sus cualidades culinarias y sus virtudes medicinales. De lograrse, esto impactará seguramente, además de la alimentación y la medicina, la agricultura, la silvicultura, la biotecnología, etc.

Tabla 2. Adiciones recientes a la lista de macromicetos cultivados de manera comercial/experimental

Género y especie	Avance reportado (sustrato utilizado; producción o eficiencia biológica)	Función/modo de vida; uso	Referencia
A. brasiliensis/A. subrufescens	Se cultiva en el mismo sustrato que *A. bisporus*	Saprófito; medicinal y comestible	Iwade y Mizuno 1997, Colauto y Linde 2012
Boletus edulis	Formación de primordios de 1 cm rudimentarios en Hagen Agar	Micorrizico; comestible	Karpinski 1967
Boletus reticulatus	Medio líquido y sólido obtención de primordios.	Micorrizico; comestible	Yamanaka *et al.* 2000
Clitocybe maxima	Aserrín, salvado y semilla de algodón. Cultivado comercialmente	Saprófito; comestible	Unicorn s/a
Cordyceps sinensis, C. militaris	Arroz sin pulir, + pupas de gusano de seda en botes de polipropileno estériles.	Parásito de insectos y artrópodos; medicinal	Bioken s/a, Shrestha *et al.* 2005.
Coriolus versicolor	Aserrín y salvado estéril; 4.5%	Saprófito/parásito oportunista; medicinal	Poppe y Hofte 1995
Dictyophora indusiata	Aserrín enriquecido con semilla de algodón, salvado de trigo y otros;	Saprófito; comestible y medicinal	Unicorn s/a, Chen 2000.
Hexagonia apiaria	Diversos tipos de aserrín	Saprófito, parásito oportunista; medicinal	Li *et al.* 2008a
Inonotus obliquus	Aserrín de *Betula platyphylla*, olote, salvado harina de soya,etc; 16.8 g/ bolsa con 300g sustrato seco.	Parásito de árboles (*Betula* spp.); medicinal	Han *et al.* 2010
Isaria japonica	Aserrín/salvado de arroz y pupas de gusano de seda;	Parásito de insectos; medicinal	Ban 1998, Yamanaka *et al.* 1998, Yamanaka e Inatomi 1997
Lactarius hatsudake	Plantaciones de pino; 675kg/ha	Ectomicorrízico; comestible	Tan *et al.* 2008
Lentinula boryana	Viruta de madera de *carpinus carolinenana*, EB 26.2 %	Saprófito; comestible	Mata y Guzmán 1993

Continúa Tabla 2

Lyophyllum connatum	Mezcla de cáscara de semilla de algodón, harina de olote, rastrojo de arroz. Fructificación entre 10-15ºC	Saprófito; comestible, medicinal	Li *et al.* 2009
Lyophyllum decastes	Sin datos sobre el sustrato usado; 104 g/bote de polipropileno	Saprófito; comestible	Cheng *et al.* 2008
Lyophyllum shimeji	Mezcla de aserrín duro y suave + harina de maíz y grano de cebada; 110-160g/400 ml	micorrízico; comestible	Yamanaka 2008
Morchella conica	Producción de ascocarpos no diferenciados	Micorrízico; comestible	Zhao *et al.* 2010
Neolentinus ponderosus, N. suffrutescens	Cultivo en aserrín de pino; EB 29.9 y 11.3%, respectivamente	Saprófito; comestible	Bran *et al.* 2007, Deng *et al.* 2006.
Panus giganteus	Composta suplementado con selenita de sodio.	Saprófito; comestible	Qiang *et al*. 2008
Phellinus linteus	Cultivado artificialmente puede ser pobre en eficiencia.	Parásito; medicinal	Kwon HJ 2001
Phlebopus portentosus	Cultivo en botes, en granos de sorgo estéril, requiere cobertura	Saprofito; comestible	Cao *et al.* 2010, Sanmee *et al.* 2010, Ji *et al.* 2010
Pholiota adiposa, P. squarrosa	Residuos de algodón; producción hasta 2800 y 2200 g/caja, respectivamente	Saprófito y parásito oportunista; medicinal no comestible	Kong *et al.* 2005
Pholiota mutabilis	Aserrín y salvado estéril; 16.4%,	Saprófito; comestible	Poppe y Hofte 1995
P. spectabilis	Aserrín y salvado estéril; 15.2%	No comestible, Tóxico, psicodélico	Poppe y Hofte 1995, Buck 1967
Pleurotus abalonus, P. geesteranus	A base de aserrín de *Cryptomeria japonica* más salvado de trigo; 200g/500 g sustrato en 1ª cosecha.	Saprófito; comestible	Yamanaka 2005, Ohga 2000.
Pleurotus nebrodensis	Cáscara de semilla de algodón, salvado, harina de maíz	Saprófito; comestible	Zhang *et al*. 2005.
Pleurotus tuber-regium	Fibra del fruto de la palma de aceite; 123.4g/200g sustrato	Saprófito hipógeo facultativo; comestible medicinal	Okhuoya y Okogbo 1991
Polyporus tenuiculus	Sobre paja de trigo y aserrín de salís suplementado con soya y salvado; EB82.7%	Saprófito; comestible	Albertó y Omarini 2012
Psilocybe barrerae	Mezcla de arena y composta; EB:28.9%	Saprófito; probable neurotrópico y medicinal	Montiel *et al.* 2008
Pycnoporus cinnabarinus	Aserrín/salvado, sacarosa y $CaCO_3$.	Patógeno de plantas; biorremediación de suelos	Xie y Hu 2008, Sigoillot 1997

Continúa Tabla 2

Pycnoporus sanguineus	Técnica p/ cultivar shiitake, sobre aserrín de encino; EB 128%.	saprobio; biorremediación, medicinal	Acosta Urdapilleta *et al*. 2011
Tricholoma lobayense	*Chamaecrista nictitans*/salvado;14.5%	ectomicorrizico; medicinal	Zheng *et al.* 2008, Zhu *et al.* 2010.
Tuber melanosporum	Inoculación en Plántulas de *Quercus* spp. o *Coryllus avellana*. Fructificaciones 8-10 años después plantar en campo.	micorrízico, hipógeo; comestible	De Román y Boa 2004.
Tuber melanosporum, T. uncinatum	Micorrización de árboles de *Quercus ilex, Q. pubescens* y *Corylus avellan*a; 0-100 kg/ha.	micorrízico, hipógeo; comestible	Olivier (2000)
Ustilago maydis	Variedades susceptibles de maíz.	Parásito de maíz; comestible	Castañeda y Leal Lara 2012
Wolfiporia cocos	aserrín y viruta de pino y cáscara de semilla de algodón;Troncos de *Pinus densiflora*; 18.2 y 22.2% EB.	Paramedicinal, comestible	*Li et al.* 2008b; Kubo *et al.* 2006

Fuente: Revisión efectuada en los últimos 15 años de las publicaciones *Mushroom Science*, *Acta Edulis Fungi*, *Proceedings of the World Society for Mushroom Biology and Mushroom Products*, *Revista Mexicana de Micología* y *Micología Aplicada International*.

Algunas de las especies comestibles cultivadas a escala industrial han ingresado ya a la tendencia mundial de la producción de alimentos "orgánicos" o "biológicos" que cada vez representa mayores volúmenes de producción. El mercado de los productos "biológicos" demanda cada vez mayor cantidad, calidad y diversidad de los mismos, de tal manera que se forza a la agricultura comercial a desarrollar toda una línea estratégica para la producción de alimentos saludables. En todo este escenario, los hongos comestibles y la miceticultura están destinados a jugar un papel protagónico.

REFERENCIAS

Acosta-Urdapilleta L, Medrano Vega FA, Villegas Villarreal EC (2012) Cultivo de *Pycnoporus sanguineus* en aserrín de pino, encino y cedro.En: Sánchez JE, Mata G (eds). *Hongos comestibles y medicinales en Iberoamérica: investigación y desarrollo en un entorno multicultural.* Ecosur. INECOL.

Albertó E, Omarini A (2012)Adaptación al cultivo intensivo del hongo silvestre *Polyporus tenuiculus* (Basidiomycetes, Polyporales) en sustratos formulados y en troncos. En: Sánchez JE, Mata G (eds). *Hongos comestibles y medicinales en Iberoamérica: investigación y desarrollo en un entorno multicultural.* Ecosur. INECOL.

Ban KWW (1998) Cultural characteristics for inducing fruiting body of *Isaria japonica*. *The Korean J. Mycol*. 26(3):380-386

Bioken (s/a) *Cordyceps militaris*. Bioken Labs. Inc. http://biokenlab.com/cordyceps.html, 8 de marzo 2011.

Boa E (2004) *Wild edible fungi: A global overview of their use and importance to people*. Non-wood forest products 17. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. 161 p.

Bran M, Morales O, Cáceres R, Blanco R, Flores R (2007) Caracterización *in vitro* y producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas de *Neolentinus ponderosus* y *N. lepideus.* Informe técnico final. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Guatemala. 53 pp.

Buck RW (1967) Psychedelic Effect of *Pholiota spectabilis. New England J. Med.* 276 (7):391-392 http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM196702162760707

Bumpus JA (2004) Biodegradation of azo dyes by fungi. En: Arora DK (ed) *Fungal biotechnology in agricultural, food, and environmental applications*. Marcel Dekker 457-469.

Cao Y, Ji K, Liu J, Zhang C, He M, Wang W (2010) Effect of casing on fruiting of *Phlebopus portentosus* in bottle culture. *Acta Edulis Fungi* 17(3):29-32. En chino con resumen en inglés.

Cao Z, Zhang X, Lu X, Lin X (2007) An enriched culture medium for the growth of *Tricholoma matsutake* mycelium. *Acta Edulis Fungi* 14(3):41-43. En chino con resumen en inglés.

Castañeda de León VT, Leal Lara H (2012)Avances y perspectivas de la producción masiva de cuitlacoche *Ustilago maydis* en México. En: Sánchez JE, Mata G (eds). *Hongos comestibles y medicinales en Iberoamérica: investigación y desarrollo en un entorno multicultural.* Ecosur. INECOL.

Chang ST (2011) Spreading the Word of "Mushroom Biology" across five continents. *WSMBMP Bulletin* (3) http://wsmbmp.org/Bulletin_3_Content.html. 2 de marzo 2011.

Chen MM (2000) Cultivation techniques for *Dictyophora indusiata, Polyporus umbellata* and *Coprinus comatus*. *Mush Sci*. 15:543-548.

Cheng J, Zheng H, Ben W, Ma S (2008) Indsutrial cultivation of *Lyophyllum decastes*. *Acta Edulis Fungi* 15(2):20-22. En chino con resumen en inglés.

Colauto NB, Linde GA (2012) Avances sobre el cultivo del "Cogumelo-do-sol" en Brasil.En: Sánchez JE, Mata G (eds). *Hongos comestibles y medicinales en Iberoamérica: investigación y desarrollo en un entorno multicultural.* Ecosur. INECOL.

Córdova-Juárez RA, Gordillo-Dorry LL, Bello-Mendoza R, Sánchez JE (2012) Use of spent substrate after *Pleurotus pulmonarius* cultivation for treatment of chlorothalonil containing wastewater. *J. Env. Mngmt.*92:948-952.

De Román M, Boa E (2004) Collection, marketing and cultivation of edible fungi in Spain. *Micol. Apl. Internat*. 16(2):25-33

Deng WQ, Li TH, Chen ZN, Wu LM, Yang WD, Zhang GM (2006) A critical note on the scientific name of the cultivated edible fungus, zhudugu. *Acta Edulis Fungi* 13(3):75-79.

Falanghe H (1962) Production of mushroom mycelium as a proteín and fat source in submerged culture in medium of vinasse. *Appl. Microbiol.* 10:572-576

García-Rolán M (2000) Conservación de la biodiversidad de hongos superiores. http://www.docstoc.com/docs/22268525/CONSERVACI%C3%93N-DE-LA-BIODIVERSIDAD-DE-HONGOS-SUPERIORES, 9 de marzo 2010.

Han Z, Zhang J, Liu J, Dai X, Kong X, Ma Q, Zhang P (2010) Artificial cultivation of *Inonotus obliquus*. *Acta Edulis Fungi*. 17(2):35-38.

Hernández D, Sánchez JE, Nieto MG, Márquez FJ (2006) Degradation of endosulfan during substrate preparation and cultivation of *Pleurotus pulmonarius*. *W. J. Microbiol. Biotechnol.* 22:753-760. ISSN: 0959-3993

Iwade I, Mizuno T (1997) Cultivation of kawariharatake *(Agaricus blazei* Murill). *Food Rev. Int.*13(3) 383-390

Jia P, Lu W, Guo L, Jiang H, Wang S (2010) Artificial cultivation of *Sparassis crispa*. *Acta Edulis Fungi* 17(3):33-36.

Ji K, Cao Y, Zhang C, He M, Liu J, Wang W, Wang Y. (2010) Cultivation of *Phlebopus portentosus* in southern China. *Mycol Progress* DOI: 10.1007/s11557-010-0700-7. Online first http://www.springerlink.com/content/r262135284p28g54/, 8 de marzo 2011.

Karpinski J J (1967) Erste Ergebnisse der Zucht von *Boletus edulis* aut kunstlichem Nahrboden. *Mush. Sci.* VI:533-541.

Kong WS, Cho YH, Jhune CS, You YB, Chung IM, Kim KH (2005) Cultivation and antioxidative activities of a new funcional mushroom *Pholiota* spp. *Acta Edulis Fungi.Proceed. V Int. Conf. Mush. Biol. Much. Prod.* Shanghai 12:140-149

Kubo T, Terabayashi S, Takeda S, Sasaki H, Aburada M, Miyamoto KI (2006) Indoor cultivation and cultural characteristics of *Wolfiporia cocos* sclerotia using mushroom culture bottles. *Biol. Pharmaceutical Bul.*, 29(6): 1191-1196.

Kwon HJ (2001). Rare, Unknown but Marvelous Medicinal Mushroom: Sang-Hwang, *Phellinus linteus*; Mulberry Yellow). http://www.phellinus-research.com/mushworld/Rare,%20Unknown%20but%20Marvelous%20Medicinal.htm, 11 marzo 2011.

Li H, Zhang W, Pan Q, Wang L, Tao M (2008a) Cultivation of the medicinal fungus *Hexagonia apiaria*. *Acta Edulis Fungi* 15(3):31-34.

Li J, Wang K, Su W, Fu J, Xiong H, Bian Y (2008b) Artificial cultivation of *Wolfiporia cocos* sclerotia. *Acta Edulis Fungi* 15(4) 40-43.

Li X, Zhang S, Li Y (2009) Artificial cultivation of *Lyophyllum connatum*. *Acta Edulis Fungi* 16(4):27-30.

Mata G, Guzmán G (1993) Cultivation of *Lentinus boryanus* in wood shavings in México. *Crypt. Bot.* 4: 47-49.

Minter D (2011) Fungi, the orphans of Rio. *WSMBMP Bulletin* (4) http://wsmbmp.org/Bulletin_4_Content.html, 2 de marzo 2011.

Montiel E, Barragán JC, Tello I, Mora VM, León I, Martínez Carrera D (2008) Characterization and cultivation of *Psilocybe barrerae*. *Micol. Neotrop. Int.* 20(2) 69-74.

Ohga S (2000) Influence of wood species on the sawdust-based cultivation of *Pleurotus abalonus* and *Pleurotus eryngii J. Wood Sci.* (2000) 46:175-179

Okhuoya JA, Okogbo FO (1991) Cultivation of *Pleurotus tuber-regium* (Fr) Sing on various farm wastes. *Proc. Okla. Acad. Sci.* 71:1- 3.

Olivier JM (2000) Progress in the cultivation of truffles. *Mush. Sci.* 15:937-942.

Poppe JA, Hofte M (1995) Twenty wastes for twenty cultivated mushrooms. *Mush. Sci*. 14:171-179.

Qiang A, Weng B, Lei J, Wang y, Tang X, Jiang Z (2008) Nutritional value of protein from *Panus giganteus* fruit bodies cultivated using composts supplemented with different concentrations of sodium selenite. *Acta Edulis Fungi* 15(3):72-74.

Rodriguez Estrada AE, Royse DJ (2008) *Pleurotus eryngii* and *P. nebrodensis*: from the wild to commercial production. *Mush. News* 56(2):4-11.

Sanmee R, Lumyong P, Dell B, Lumyong S (2010) In vitro cultivation and fruit body formation of the Black bolete, *Phlebopus portentosus*, a popular edible ectomycorrhizal fungus in Thailand. *Mycoscience* 51:15-22.

Schliephake K, Baker WL, Lonergan GT (2004) Decoloration of industrial wastes and degradation of dye water. En: Arora DK (ed) *Fungal biotechnology in agricultural, food and environmental applications*. Marcel Dekker 692-711.

Shrestha B, Han SK, Lee WH, Choi SK, Lee JO, Sung JM (2005) Distribution and in vitro Fruiting of *Cordyceps militaris* in Korea. *Mycobiology* 33(4): 178-181.

Sigoillot JC (1997) Des champignons pour rehabiliter les sols pollués [*Pycnoporus cinabarinus, Phanerochaete chrysosporium, Trametes versicolor*...]. *Biofutur* (170):34-36

Smith D, Ryan MJ (2004) Current status of fungal collections and their role in biotechnology. En: Arora DK (ed) *Handbook of fungal biotechnology*. 2nd Edition revised and expanded. Marcel Dekker 904-924.

Snyder SR, Allen MF (2004) Restoration of mycorrhizae in disturbed arid ecosystems. En: Arora DK (ed) *Fungal biotechnology in agricultural, food, and environmental applications*. Marcel Dekker 787-805.

Tan Z, Danell E, Shen A, Fu S (2008) Successful cultivation of *Lactarius hatsutake*- an evaluation with molecular methods. *Acta Edulis Fungi* 15(3):85-88. En chino con resumen en ingles.

Techniques for artificial culture of mushrooms (*Lepista sordida*). *J. Northeast Agric. Univ*. http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotal-DBDN501.001.htm, 8 de marzo 2011.

Unicorn (s/a) A brief introduction to long net stinkhorn *Dictyophora indusiata*. http://www.unicornbags.com/cultivation/diin.shtml, 10 de marzo 2011.

Unicorn (s/b) Cultivation of giant *Clitocybe.* http://www.unicornbags.com/cultivation/clma.shtml, 10 de marzo 2011

Valencia del Toro G, Garín Aguilar ME (2012) Propiedades Medicinales de los hongos comestibles En: Sánchez JE, Mata G (eds) *El cultivo de hongos comestibles en Iberoamérica*. Ecosur. INECOL.

Ward G, Hadar Y, Dosoretz CG (2004) The biodegration of lignocellulose by white rot fungi. En: Arora DK (ed) *Fungal biotechnology in agricultural, food, and environmental applications*. Marcel Dekker 648-673.

Xie F, Hu Q (2008) Artificial cultivation of a *Pycnoporus cinnabarinus* strain isolated from the wild in Fujian province. *Acta Edulis Fungi* 15(1):69-72.

Yamanaka K (2008) Commercial cultivation of *Lyophyllum shimeji*. *Proceed. VI Int. Conf. Mush. Biol. Mush. Prod.* 197-202.

Yamanaka K (2005) Cultivation of new mushroom species in East Asia. *Acta edulis fungi.* 12 (supplement). *Proceed. 5th Int. Conf. Mush. Biol. Much. Prod*. Shanghai. 343-349

Yamanaka K, Inatomi S (1997) Cultivation of *Isaria japonica* fruit bodies on mixed plant/insect media. *Food Reviews International* 13(3):455-460

Yamanaka K, Inatomi S, Hanaoka M (1998). Cultivation characteristics of *Isaria Japonica*. *Mycoscience* 39:43-48.

Yamanaka K, Namba K, Tajiri A (2000) Fruit body formation of *Boletus reticulatus* in pure culture. *Mycoscience* 41:189-191.

Yang X, Xia F, Zhang S, Liu J (2008) Anti-ageing effects of mushroom extracts obtained using the natural form extraction (NFE) method. *Acta Edulis Fungi* 15(1)47-50.

Yürekli F, Yesilada O, Yürekli M, Topcuoglu SF (1999) Plant growth hormone production from olive oil mill and alcohol factory wastewaters by white rot fungi. *World J. Microbiol. Biotechnol*. 15:503-505.

Zhang J, Huang CH, Li C (2005) The cultivars of *Pleurotus nebrodensis* in China. *Acta Edulis Fungi*, *Proceed. VI Int. Conf. Mush. Biol. Mush. Prod*. 12 suppl. 350-353.

Zhang Y, Guo H, Chen Y, Fu Z, Wang C, Li M, Li R (2010a) Mutualistic association between termites (macrotermitiniae) and Termitomyces. *Acta Edulis Fungi* 17(3):67-72.

Zhang ZB, Zeng QG, Yan RM, Wang Y, Zou ZR, Zhu D (2010b) Endophytic fungus *Cladosporium cladosporioides* LF70 from *Huperzia serrata* produces Huperzine *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27(3):479-486.

Zhao D, Li L, Zhao Y, Qian J, Tian G (2010) Artificial cultivation of *Morchella conica*. *Acta Edulis Fungi*. 17(1):36-39.

Zheng H, Weng B, Jiang Z, Wang Y, Li Y (2008) Growth substrate containing *Chamaecrasta nictitans* for the cultivation of *Tricholoma lobayense*. *Acta Edulis Fungi* 15(3):18-22.

Zhu JS, Halpern GM, Jones K (1998) The Scientific Rediscovery of an Ancient Chinese Herbal Medicine: *Cordyceps sinensis* Part I. *The Journal of alternative and complementary medicine*. 4(3): 289-303. doi:10.1089/acm.1998.4.3-289.

Zhu Z, Jiang J, Jiang X, Jiang Y, Ma Y (2010) Method for cultivating *Tricholoma lobayense* by utilizing fungus dregs. Pat. International No. 101663960. http://ip.com/sipoen/101663960, 30 de marzo 2011.

LISTADO DE GÉNEROS Y ESPECIES DE HONGOS MENCIONADAS EN ESTE LIBRO

A

Agaricus arvensis Schaeff. 43, 369
A. augustus Fr. 43, 369
A. bisporus (J.E. Lange) Imbach 3, 9, 12, 13, 14, 15, 43, 72, 76, 99, 100, 104, 105, 107, 108, 109, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 121, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 134, 138, 139, 141, 142, 193, 215, 229, 266, 281, 283, 294, 329, 330, 352, 353, 356, 357, 361, 367, 369, 371
A. blazei Murrill 12, 117, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 137, 138, 139, 141, 142, 288, 291, 301, 302, 306, 369, 374
A. brasiliensis Wasser, Diduckh, de Amazonas et Stamets 59, 121, 123, 124, 131, 132, 133, 134, 135, 137, 139, 141, 256, 371
A. campestris L. 43, 269
A. placomyces Peck 43
A. sylvaticus Schaeff. 31, 34, 35, 43, 124
A. sylvicola (Vittad.) Peck 43
A. subrufescens Peck 3, 9, 12, 14, 72, 121, 123, 124, 131, 133, 134, 137, 138, 139, 140, 141, 288, 369, 371
A. subrutilescens (Kauffman) Hotson & D.E. Stuntz 43
A. tlaxcalensis Callac & G. Mata 72, 139
A. tollocanensis Callac & G. Mata 72, 76, 139, 141
Agrocybe aegerita (V. Brig.) Singer 4, 74, 145, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 256, 268, 369
A. cylindracea (DC.) Maire 161, 260, 262, 268, 269, 270, 271, 280, 369
Aleuria aurantia (Pers.) Fuckel 43
Amanita caesarea (Scop.) Pers. 23, 24, 30, 31, 34, 35, 36, 43, 46, 47, 256
A. crocea (Quél.) Singer 43
A. franchetti (Boud.) Fayod 43
A. fulva Fr. 31, 43, 46
A. gemmata (Fr.) Gillet 43
A. rubescens Pers. 43
A. tecomate Guzmán & Ram.-Guill. 43
A. tuza Guzmán 43
A. vaginata (Bull.) Lam. 31, 34, 35, 36, 43
A. vaginata var. *punctata* (Cleland & Cheel) E.-J.Gilbert 43
Ampulloclitocybe clavipes (Pers.) Redhead, Lutzoni, Moncalvo & Vilgalys 43
Armillaria luteovirens (Alb & Schwein.) Pouzar 34
A. mellea (Vahl) P. Kumm. 43, 369
A. obscura (Schaeff.) Herink 269
A. ostoyae (Romagn.) Herink 43
Auricularia auricula (L.) Underw. 43, 282, 367, 369
A. cornea Ehrenb. 43
A. delicata (Mont.) Henn. 255
A. fuscosuccinea (Mont.) Henn. 43, 290, 291, 369
A. polytricha (Mont.) Sacc. 43, 255, 369

B

Boletellus ananas (M.A. Curtis) Murrill 43

B. betula (Schwein.) E.-J. Gilbert 43
B. russellii (Frost) E.J. Gilbert 43
Boletus aestivalis (Paulet) Fr. 43
B. aff. *aereus* Bull. 43
B. appendiculatus Peck 43
B. barrowsii Thiers & A.H. Sm. 43
B. chrysenteron Bull. 43
B. clavipes (Peck) Pilát & Dermek 43
B. edulis Bull. 23, 24, 43, 46, 300, 306, 371, 374, 375
B. erythropus Krombh. 43
B. frostii J.L. Russell 43
B. luridus Shaeff. 43
B. pinicola Rea 43
B. pinophilus Pilát & Dermek 43
B. reticulatus Schaeff. 370, 371, 375
Bovista aff. *aestivalis* (Bonord.) Demoulin 43
B. aff. *plumbea* Pers. 43
B. leucoderma Kreisel 89
B. pusilla (Batsch) Pers. 89
Bovistella Morgan 88

C

Calocera viscosa (Pers.) Fr. 43
Calvatia bicolor (Lév.) Kreisel 89
C. craniiformis (Schwein.) Fr. 89
C. cyathiformis (Bosc) Morgan 43
C. fenzlii (Reichardt) Kawam. 92, 95
C. fragilis (Vittad.) Morgan 45, 91, 95, 96
C. gigantea (Batsch) Lloyd 92, 95, 300, 369
C. pachyderma (Peck) Morgan 3, 87, 92, 93, 94, 95, 96
C. pygmaea (R.E. Fr.) Kreisel, G. Moreno, C. Ochoa & Altés 89
Cantharellus cibarius Fr. 21, 23, 24, 42, 43, 46, 256
C. odoratus (Schwein.) Fr. 256
C. tubaeformis Fr. 43
Chaetomium olivaceum Cooke & Ellis 129, 131, 141
Chalciporus piperatus (Bull.) Bataille 43
Chroogomphus rutilus (Schaeff.) O.K. Mill. 43
Clavariadelphus pistillaris (L.) Donk 43
C. truncatus (Quél.) Donk 43
Clavaria zollingeri Lév. 43
Clavicorona pyxidata (Pers.) Doty 43
Clavulina cinerea f. *cinerea* (Bull.) J. Schröt. 43
C. cinerea f. *sublilascens* (Bourdot & Galzin) Bon & Courtec. 43
C. coralloides (L.) J. Schröt. 43, 369
C. cristata (Holmsk.) J. Schröt. 43
C. rugosa (Bull.) J. Schröt. 43
Clitocybe aff. *geotropa* (Bull.) Quél. 43
C. clavipes (Pers.) P. Kumm. 43
C. deceptiva H.G. Bigelow 35, 36

C. gibba (Pers.) P. Kumm. 31, 33, 35, 43, 46
C. maxima (P. Gaertn., G. Mey. & Scherb.) P. Kumm. 368, 370, 371
C. squamulosa (Pers.) Fr. 43, 46
Collybia butyracea (Bull.) P. Kumm. 35, 43
C. cookei (Bres.) J.D. Arnold 43
C. dryophilla (Bull.) P. Kumm. 35, 36
C. polyphylla (Peck) Singer ex Halling 43
Cookeina sulcipes (Berk.) Kuntze 255
Coprinus Pers. 253, 369, 374
Cordyceps militaris (L.) Link 373, 375
C. sinensis (Berk.) Sacc. 302, 369, 371, 376
Coriolus versicolor (L.) Quél. 302, 371
Cortinarius violaceus (L.) Gray 43
Craterellus cornucopioides (L.) Pers. 43
Cronartium quercuum (Berk.) Miyabe ex Shirai 44

D

Daldinia concentrica (Bolton) Ces. & De Not. 44
Dictyophora indusiata (Vent.) Desv. 368, 370, 371, 374, 375
Diehliomyces microsporus (Diehl & E.B. Lamb.) Gilkey 127, 129, 134
Disciseda hyalothrix (Cooke & Massee) Hollós 89
D. stuckertii (Speg.) G. Moreno, Esqueda & Altés 89
D. verrucosa G. Cunn. 89

E

Enteridium lycoperdon (Bull.) M.L. Farr 44
Entoloma clypeatum (L.) P. Kumm.
E. giganteum (Schwein.) Singer 44, 369

F

Favolus brasiliensis (Fr.) Fr. 256
F. tenuiculus P. Beauv. 4, 160, 255, 256, 257, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 369, 372, 373
Fistulina guzmanii Brusis 44
Flammulina velutipes (Curtis) Singer 44, 74, 193, 282, 367, 369
Floccularia luteovirens (Alb. & Schwein.) Pouzar 44
Fusarium Link 202

G

Ganoderma lucidum (Curtis) P. Karst. 73, 288, 297, 299, 306, 307
Gautieria chilensis Zeller & C.W. Dodge 44
Gomphus floccosus (Schwein.) Singer 44, 46
G. kauffmanii (A.H. Sm.) Corner 44
Grifola frondosa (Dicks.) Gray 4, 74, 96, 193, 207, 208, 210, 211, 212, 216, 289, 294, 297, 300, 301, 306, 307, 357, 370
Guepinia helvelloides (DC.) Fr. 44
Gymnopilus spectabilis var *pampeanus* (Speg.) Singer 264
Gymnopus dryophilus (Bull.) Murrill 43, 44
Gyromitra infula (Schaeff.) Quél. 44

H

Hebeloma aff. *birrus* (Fr.) Gillet 44
H. alpinum (J. Favre) Bruchet 44
H. fastibile (Pers.) Quél. 44
H. leucosarx P.D. Orton 44
H. mesophaeum (Pers.) Quél. 26, 44
Helvella acetabulum (L.) Quél. 44
H. atra J. Koening 44
H. compressa (Snyder) N.S. Weber 44
H. crispa (Scop.) Fr. 31, 35, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 255, 256, 369, 374
H. elastica Bull. 31, 44
H. lacunosa Fr. 31, 35, 44, 46, 47
H. macropus (Pers.) P. Karst. 44
H. pityophila Boud. 43, 44
H. sulcata Afzel. 46
Hexagonia apiaria (Pers.) Fr. 368, 371, 374
Hohenbuehelia petaloides (Bull.) Schulzer 255
Hydnangium carneum Wallr. 44
Hydnum imbricatum L. 44
H. repandum L. 44
Hygrophoropsis aurantiaca (Wulfren) Maire 35, 36, 44, 46
Hygrophorus aff. *eburneus* (Bull.) Fr. 44
H. aff. *lindtneri* M.M. Moser 44
H. chrysodon (Batsch) Fr. 44
H. erubescens var. *persicolor* (Rick) Bon 44
H. hypothejus (Fr.) Fr. 44
H. purpurascens Gonn. & Rabenh. 44
H. russula (Schaeff.) Kauffman 44
Hypomyces lactifluorum (Schwein.) Tul. & C. Tul. 30, 31, 44, 256
H. macrosporus Seaver 44
Hypsizygus marmoreus (Peck) H.E. Bigelow 74, 369
Hysterangium separabile Zeller 44

I

Inonotus obliquus (Ach. ex Pers.) Pilát 369, 371, 374
Isaria japonica Yasuda 369, 371, 373, 375

L

Laccaria amethystina (Huds.) Cooke 44
L. bicolor (Maire) P.D. Orton 30, 31, 35, 44
L. laccata (Scop.) Cooke) 26, 30, 31, 35, 44, 46, 255
L. ochropurpurea (Berk.) Peck 44
L. proxima (Boud.) Pat. 44
L. proximella Singer 44
Lactarius aurantiacus (Pers.) Gray 44
L. corrugis Peck 44
L. deliciosus (L.) Gray 35, 44, 46, 256, 326

L. hatsudake Nobuj. Tanaka 368, 371
L. indigo (Schwein.) Fr. 44
L. piperatus (L.) Pers. 43, 44
L. salmonicolor R. Heim & Leclair 44
L. scrobiculatus (Scop.) Fr. 44
L. subdulcis (Pers.) Gray 44
L. volemus (Fr.) Fr. 25, 27, 44
Laetiporus sulphureus (Bull.) Murrill 44, 74, 264, 369
Lasiosphaera Reichardt 88
Leccinum chromapes (Frost) Singer 44
Lentinula aciculospora J.L. Mata & R.H. Petersen 73
L. boryana (Berk. & Mont.) Pegler 44, 72, 73, 76, 227, 289, 292, 293, 294, 369, 372
L. edodes (Berk.) Pegler 4, 9, 12, 14, 72, 76, 107, 126, 134, 145, 158, 160, 193, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 224, 225, 226, 227, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 237, 238, 239, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 280, 281, 282, 283, 286, 287, 291, 292, 293, 294, 295, 297, 300, 301, 302, 305, 306, 329, 330, 335, 355, 357, 367, 369
Lentinus crinitus (L.) Fr. 44
L. guarapiensis (Speg.) Pegler 73
Leotia lubrica (Scop.) Pers. 44
Lepista nuda (Bull.) Cooke 35, 36, 44, 74, 369
L. sordida (Schumach.) Singer 368, 369, 375
Leucoagaricus aff. *rubrotinctus* (Peck) Singer 44
Lycoperdon candidum Pers. 44
L. fuscum Bonord. 89
L. perlatum Pers. 42, 44, 89
L. pyriforme Schaeff. 44
L. umbrinum Hornem. 44
Lyophyllum connatum (Schumach.) Singer 44, 368, 372, 374
L. aff. *loricatum* (Fr.) Kühner ex Kalamees 44
L. decastes (Fr.) Singer 35, 44, 46, 368, 372, 374
L. shimeji (Kawam.) Hongo 355, 370, 372, 375

M

Macrolepiota procera (Scop.) Singer 44, 369
Marasmius oreades (Bolton) Fr. 44, 369
Melanoleuca melaleuca (Pers.) Murrill 22
M. polioleuca (Fr.) G. Moreno 44
Morchella angusticeps Peck 44, 369
M. conica Pers. 44, 370, 372, 376
M. costata J.C. Schmidt & Kunze 44
M. crassipes (Vent.) Pers. 45, 341
M. elata Fr. 45
M. esculenta (L.) Pers. 45, 193, 369
M. intermedia Boud. 149, 197, 256, 304, 324
Mycena leaiana var. *leaiana* (Berk.) Sacc. 45
M. pura (Pers.) P. Kumm. 45
Mycenastrum Desv. 88

N

Neolentinus lepideus (Fr.) Redhead & Ginns 43, 270, 279, 369, 373
N. ponderosus (O.K. Mill.) Redhead & Ginns 269, 270, 271, 272, 279, 369, 372, 373
N. suffrutescens (Brot.) T.W. May & A.E. Wood 43, 45, 269, 270, 271, 272, 369, 372

P

Panus giganteus (Berk.) Corner 368, 372, 375
Penicillium Link 112, 151, 202
Phlebopus bruchii (Speg.) Heinem. & Rammeloo 256
P. portentosus (Berk. & Broome) Boedijn 369, 372, 374, 375
Pisolithus Alb. & Schwein. 22, 25
Pleurocybella porrigens (Pers.) Singer 270, 369
Pleurotus abalonus Y.H. Han, K.M. Chen & S. Cheng 163, 371, 372, 375
P. albidus (Berk.) Pegler 269, 270, 273, 274
P. australis Sacc. 24
P. citrinopileatus Singer 159, 301, 307, 310, 318, 369
P. cornucopiae (Paulet) Rolland 45, 301, 309, 369
P. cystidiosus O.K. Mill 96, 369, 371
P. djamor (Rumph. ex Fr.) Boedijn 71, 72, 269, 270, 271, 273, 274, 285, 286, 291, 309, 320, 322, 323, 328, 369
P. dryinus (Pers.) P. Kumm. 45, 71
P. eryngii (DC.) Quél. 163
P. levis (Berk. & M.A. Curtis) Singer 71, 309
P. nebrodensis (Inzenga) Quél. 368, 371, 372, 375, 376
P. opuntiae (Durieu & Lév.) Sacc. 45, 71
P. ostreatus (Jacq.) P. Kumm. 3, 14, 71, 108, 117, 118, 126, 145, 147, 152, 153, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 174, 176, 178, 179, 193, 216, 261, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 280, 285, 287, 290, 291, 292, 293, 295, 297, 302, 309, 310, 315, 317, 318, 320, 322, 323, 325, 326, 327, 328, 337, 348, 355, 357, 369
P. platypus Sacc. 159
P. porrigens (Pers.) P. Kumm. 270, 369
P. pulmonarius (Fr.) Quél. 4, 71, 145, 147, 183, 188, 261, 264, 285, 287, 290, 291, 293, 295, 301, 309, 369, 374
P. sajor-caju (Fr.) Singer 159, 264, 265, 267, 268, 307, 355
P. smithii Guzmán. 45, 71
P. tuber-regium (Rumph. ex Fr.) Singer 307, 309, 320, 327, 368, 369, 372, 375
Pluteus cervinus var. *cervinus* P. Kumm. 45, 369
Polyporus tenuiculus (P. Beauv.) Fr. 4, 160, 255, 256, 257, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 369, 372, 373
P. umbellatus (Pers.) Fr. 256, 267, 268, 369
Psathyrella aff. *candolleana* (Fr.) Maire 45
P. spadicea (Schaeff.) Singer 45
Pseudofistulina radicata (Schwein.) Burds. 45, 46, 255, 369
Pseudohydnum gelatinosum (Scop.) P. Karst. 45
Psilocybe (Fr.) P. Kumm. 92, 96, 369, 373, 375
Pycnoporus cinnabarinus (Jacq.) P. Karst. 368, 373, 375
P. sanguineus (L.) Murrill 4, 238, 289, 290, 329, 330, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 339, 340, 341, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 369, 373

R

Ramaria aff. *myceliosa* (Peck) Corner 45
R. aff. *apiculata* (Fr.) Donk 45
R. aff. *cacao* (Coker) Corner 45
R. aff. *gelatinosa* Holmsk. 45
R. aurea (Schaeff.) Quél. 45
R. botrytis (Pers.) Ricken 45
R. cystidiophora (Kauffman) Corner 45
R. fennica var. *fennica* (P. Karst.) Ricken 45
R. flava (Schaeff.) Quél. 45
R. flavescens (Schaeff.) R.H. Petersen 45
R. flavobrunnescens sensu Reid & Austwick 45
R. formosa (Pers.) Quél. 45
R. holorubella (G.F. Atk.) Corner 45
R. maculospora R.H. Petersen 45
R. pallida (Schaeff.) Ricken 45
R. rasilispora Marr & D.E. Stuntz 45
R. rubiginosa Marr & D.E. Stuntz 45
R. rubrievanescens Marr & D.E. Stuntz 45
R. sanguinea (Coker) Corner 45
R. stricta (Pers.) Quél. 45
R. stricta var. *concolor* Corner 45, 236
R. subbotrytis (Coker) Corner 45
R. vinosimaculans Marr & D.E. Stuntz 45
Retiboletus griseus (Frost) Manfr. Binder & Bresinsky 45
Rhizopogon ochraceorubens A.H. Smith 45
Russula aff. *fragilis* Fr. 45, 91, 95, 96
R. alutacea (Fr.) Fr. 45
R. brevipes Peck 35, 45, 46
R. cyanoxantha (Schaeff.) Fr. 45
R. delica Fr. 45
R. densifolia Secr. ex Gillet 45
R. mariae Peck 45
R. mexicana Burl. 45
R. nigricans (Bull.) Fr. 45
R. olivacea (Schaeff.) Fr. 35, 45
R. persicina Krombh. 45
R. queletii Fr. 45
R. rosea Pers. 45
R. sanguinaria (Schumach.) Rauschert 45
R. xerampelina (Schaeff.) Fr. 45

S

Sarcodon imbricatus (L.) P. Karst. 45, 326
S. scabrosus (Fr.) P. Karst. 45
Sarcosphaera coronaria (Jacq.) J. Schröt. 45
Schizophyllum commune Fr. 45, 255, 256, 269, 270, 271, 272, 273, 280, 300, 301, 307, 369
Scleroderma Pers. 22, 25
Scytalidium thermophilum (Cooney & R. Emers.) Austwick 107, 108, 109, 112, 113, 115, 116, 117, 118, 134
Sparassis crispa (Wulfen) Fr. 45, 46, 255, 369, 374

Strobilomyces confusus Singer 45
S. floccopus (Vahl) P. Karst. 45
Suillus aff. *guzmanii* G. Moreno, Band.-Muñoz & Montoya 45
S. brevipes (Peck) Kuntze 35, 45, 46
S. flavogranulatus A.H. Sm., Thiers & O.K. Mill. 45
S. granulatus (L.) Roussel 45, 256
S. luteus (L.) Roussel 45, 256
S. pseudobrevipes A.H. Sm. & Thiers 45
S. tomentosus (Kauffman) Singer 31, 35, 45
S. tomentosus var. *discolor* A.H. Sm., Thiers & O.K. Mill. 31, 35

T

Termitomyces R. Heim 368, 376
Trametes versicolor (L.) Lloyd 289, 375
Tremella lutescens Fr. 45
T. reticulata (Berk.) Farl. 256
Tremellodendron schweinitzii (Peck) G.F. Atk. 45
Tremellodendropsis tuberosa (Grev.) D.A. Crawford 45
Trichoderma atroviride P. Karst. 45
Tricholoma aff. *bufonium* (Pers.) Gillet 45
T. equestre (L.) P. Kumm. 45
T. lobayense R. Heim 368, 373, 376
T. magnivelare (Peck) Redhead 23, 24, 46
T. matsutake (S. Ito & S. Imai) Singer 21, 23, 24, 290, 370, 374
T. populinum J.E. Lange 46
T. saponaceum var. *saponaceum* (Fr.) P. Kumm. 46
T. sejunctum (Sowerby) Quél. 46
T. ustale (Fr.) P. Kumm. 46
T. vaccinum (Schaeff.) P. Kumm. 46
Tuber indicum Cooke & Massee 23
T. melanosporum Vittad. 9, 12, 23, 290, 368, 373
T. murinum R. Hesse 46
T. uncinatum Chatin 23, 373
Tylopilus aff. *porphyrosporus* (Fr. & Hök) A.H. 46
Tylopilus aff. *porphyrosporus* (Fr. & Hök) A.H. Sm. & Thiers 46
T. felleus (Bull.) P. Karst. 46

U

Ustilago maydis (DC.)Corda 4, 9, 13, 14, 46, 74, 76, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 202, 203, 204, 205, 368, 373, 374

V

Vascellum pratense (Pers.) Kreisel 46
Volvariella volvacea (Bull.) Singer 76, 193, 252, 253, 254, 268, 289, 290, 292, 294, 295, 355, 369, 370

W

Wolfiporia cocos (F.A. Wolf) Ryvarden & Gilb. 368, 373, 374

X

Xerula radicata (Relhan) Dörfelt 46

INDICE ANALÍTICO

A

Abono orgánico 181, 182, 188
ADN 54, 61, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 194, 310
Agricultura 7, 14, 15, 29, 55, 137, 155, 189, 276, 365, 366, 367, 371, 373
Aireación 109, 128
Alimentos funcionales 126, 309
Almacenamiento 53, 55, 71, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 160, 200, 201, 295, 305
Alzheimer 207, 367
Antibacteriano 207, 319, 320, 323, 324, 326, 327
Anticolesterol 207
Antidiabético 121, 367
Antifúngico 207, 367
Antihipertensión 207
Antiinflamatorio 302, 367
Antimetastático 121
Antimicrobiano 339, 340, 347, 367
Antioxidante 121, 125, 130, 207, 320, 367
Antitumoral 87, 121, 122, 124, 129, 207, 297, 300, 313, 319, 339
Antiviral 121, 348, 367
Ápice 195
Argentina 7, 9, 10, 12, 13, 57, 65, 156, 160, 204, 256, 257, 262, 266, 268, 286
Asepsia 286
Aserrín 4, 150, 160, 163, 164, 165, 166, 167, 169, 170, 171, 208, 209, 210, 212, 213, 215, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 224, 225, 226, 229, 230, 234, 235, 236, 238, 255, 258, 259, 260, 261, 263, 265, 266, 270, 272, 287, 305, 329, 331, 335, 336, 340, 341, 343, 344, 346, 371, 372, 373

B

Bacterias 151, 186, 200, 202, 215, 284, 302, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 339, 340, 341, 346, 347
Bagazo 140, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 163, 182, 225, 284, 288, 289, 290, 292, 295
Basidiomicetos 53, 54, 64, 65, 66, 297, 299, 300, 302, 303, 319, 320, 323, 326, 327
Biodegradación 367
Biomasa micelial 207, 209, 211, 212, 215, 230, 233, 235, 331, 334
Biorremediación 15, 61, 373
Bocashi 4, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189
Bolivia 12, 257, 286
Bolsa 109, 114, 115, 155, 157, 158, 164, 165, 176, 178, 210, 214, 215, 219, 230, 231, 276, 284, 321, 331, 335, 347, 371
Bosque 29, 30, 33, 40, 41, 46, 182, 190, 251, 262, 290, 366
Brasil 3, 7, 9, 10, 12, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 64, 65, 66, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 137, 138, 139, 140, 141, 156, 257, 286, 288, 368, 374

C

Caña de azúcar 3, 127, 155, 156, 159, 160, 182, 225, 285, 287, 288, 292
Caracterización de cepas 216, 337
Cascarilla 4, 99, 158, 163, 164, 165, 166, 167, 169, 170, 171, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 224, 225, 230

Cataluña 9
Cebadores 87, 88, 90, 91, 92, 95
Celulosa 186, 251, 252, 258
Ceparios 3
Cepas 3, 4, 15, 25, 27, 53, 54, 60, 63, 65, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 79, 80, 81, 83, 84, 85, 86, 87, 89, 91, 92, 95, 108, 122, 123, 124, 125, 127, 129, 137, 138, 139, 140, 142, 155, 163, 164, 176, 194, 195, 196, 197, 198, 203, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 237, 241, 242, 244, 245, 251, 252, 253, 255, 257, 259, 260, 262, 263, 265, 267, 269, 270, 271, 272, 273, 279, 280, 285, 287, 288, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 298, 304, 316, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 339, 340, 341, 342, 345, 346, 368, 373
Champiñón 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 72, 76, 99, 107, 110, 138, 139, 141, 142, 145, 146, 147, 150, 151, 152, 154, 215, 229, 281, 283, 284, 320, 329, 352, 353, 354, 355, 356, 361, 362, 366
Chile 9, 10, 12, 13, 21, 57, 256
China 9, 10, 11, 13, 21, 23, 24, 25, 27, 73, 122, 134, 138, 163, 171, 193, 207, 208, 216, 229, 285, 286, 288, 292, 303, 306, 313, 319, 329, 337, 348, 350, 365, 368, 370, 374, 376
Chorizo de hongos 356
Cinabarina 330, 336, 337, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347
Cobertura 33, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 108, 109, 121, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 153, 196, 197, 284, 304, 329, 372
Cocina 193, 282
Colombia 10, 12, 156, 257, 286
Colonización 25, 104, 108, 110, 114, 115, 127, 149, 157, 209, 211, 258, 262, 331, 332, 334
Comercialización 24, 25, 31, 32, 39, 40, 49, 96, 126, 127, 146, 150, 153, 154, 173, 174, 175, 176, 178, 277, 278, 279, 288, 304, 350, 352, 355, 357
Composta 99
Composteo 3, 100, 107, 108, 109, 110, 111, 114, 127, 183, 184, 186, 187, 189, 329
Comunidades rurales 36, 39, 48, 108, 174, 178, 269, 270, 279
Condiciones ambientales 31, 33, 74, 75, 116, 139, 197, 198, 200
Conocimiento tradicional 9, 30, 32, 39, 40, 47, 48, 269, 281, 282, 290, 349
Conservación *ex situ* 69
Consumo 9, 10, 13, 15, 16, 21, 30, 31, 40, 74, 77, 87, 125, 126, 137, 138, 145, 153, 155, 163, 171, 174, 182, 193, 203, 216, 217, 226, 227, 255, 266, 269, 272, 278, 280, 281, 284, 297, 317, 318, 328, 337, 349, 350, 351, 353, 363
Contaminación 115, 167, 169, 222, 276
Control biológico 370
Control de enfermedades 367
Cosecha 3, 76, 99, 100, 102, 104, 108, 109, 126, 130, 148, 150, 154, 159, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 193, 194, 200, 201, 202, 203, 214, 219, 222, 224, 232, 234, 258, 262, 283, 284, 285, 292, 304, 321, 329, 330, 332, 372
Costa Rica 12, 182, 186, 286
Costo de producción 173
Crioprotectores 129
Cuerpo fructífero 31, 140, 164, 208, 214, 297, 310, 345, 346
Cuitlacoche 193
Cultivo 3, 4, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 25, 27, 29, 34, 55, 61, 65, 69, 71, 72, 74, 75, 76, 77, 79, 85, 86, 99, 100, 101, 103, 104, 107, 108, 109, 110, 114, 118, 121, 122, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 134, 137, 138, 139, 140, 142, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 163, 173, 174, 177, 178, 181, 182, 184, 187, 188, 189, 190, 193, 194, 195, 197, 202, 203, 204, 205, 207, 208, 209, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 220, 221, 225, 226, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235,

237, 238, 241, 242, 243, 244, 245, 251, 253, 255, 256, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 300, 302, 303, 304, 309, 310, 311, 313, 317, 319, 321, 322, 329, 330, 331, 332, 333, 335, 336, 337, 339, 340, 341, 342, 343, 346, 347, 348, 356, 357, 361, 362, 363, 365, 366, 367, 369, 370, 371, 373, 374, 375
Cultivo comercial 15, 16, 69, 74, 75, 138, 140, 145, 163, 178, 238, 242, 282, 283, 292, 317, 319, 329

D

Deforestación 19, 29, 54
Desarrollo rural 9, 173, 174
Desarrollo sostenible 16, 171, 226, 227, 274, 280, 365
Deuteromicetos 355
Dicarión 271
Difusión 7, 32, 59, 158, 283, 284, 339, 341, 342, 362, 366

E

Ectomicorriza 19, 20
Ecuador 12, 156, 257
Eficiencia biológica 101, 104, 107, 108, 110, 111, 113, 115, 116, 128, 149, 155, 156, 163, 165, 170, 207, 214, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 232, 234, 235, 258, 262, 270, 271, 272, 276, 291, 321, 329, 335, 336, 371
Empaque 201
Enfermedades 15, 104, 126, 128, 129, 137, 138, 139, 151, 154, 202, 285, 297, 303, 317, 339, 349, 367
Enlatado 13, 193, 201
Enzimas 139, 148, 155, 163, 182, 251, 252, 258, 285, 287, 299, 302, 317, 319, 330, 339, 346
España 3, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 20, 21, 24, 38, 95, 139, 145, 146, 147, 148, 151, 154, 284, 328, 329, 357
Esporas 25, 26, 27, 87, 91, 99, 110, 112, 114, 115, 130, 139
Esquilmos agrícolas 173, 174, 238, 337
Esterilización 231, 276, 332
Estípite 109, 130, 150, 236, 256, 257, 332, 355

F

Factores ambientales 151, 176, 193, 203, 251
Fases de crecimiento 232
Fermentación 284
Fíbulas 257
Fragmentación 231, 331
Fructificación 31, 71, 104, 107, 109, 110, 114, 115, 116, 128, 139, 140, 149, 155, 159, 164, 165, 166, 170, 175, 178, 183, 214, 216, 217, 218, 219, 220, 222, 223, 224, 226, 231, 232, 235, 237, 257, 258, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 271, 272, 273, 275, 284, 321, 330, 332
Fuentes de carbono 216, 246, 251, 252
Fuentes de nitrógeno 241, 242, 245, 246, 247, 250, 251, 252
Fungicidas 100, 151
Fungicultura 365, 366

G

Genes 55
Genotipos 196, 197, 198

Glucosa 108, 129, 251, 258
Gourmet 122, 124, 125, 134, 137, 138, 141, 193, 227, 254, 288
Guatemala 4, 7, 9, 12, 118, 156, 182, 241, 253, 254, 255, 256, 267, 269, 270, 272, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 286, 374

H

Hemicelulosa 258
Híbridos 139, 195, 196, 197
Himenio 236, 238, 336
Hongo ostra 173, 276, 309
Hongos comestibles 3, 4, 7, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 19, 21, 24, 25, 26, 28, 39, 40, 41, 47, 48, 49, 53, 69, 70, 71, 74, 75, 76, 77, 79, 87, 89, 96, 107, 137, 145, 151, 152, 153, 156, 160, 163, 171, 173, 174, 178, 189, 193, 202, 203, 216, 226, 227, 238, 252, 255, 264, 266, 269, 270, 283, 273, 274, 276, 279, 280, 282, 283, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 297, 300, 301, 303, 304, 309, 310, 313, 317, 318, 319, 320, 328, 329, 337, 349, 350, 352, 355, 357, 361, 365, 366, 373, 375
Hongos contaminantes 108, 109, 111, 114
Hongos cultivados 9, 12, 16, 74, 75, 145, 146, 154, 283, 285, 320
Hongos exóticos 193
Hongos medicinales 15, 138, 141, 300, 302, 303, 309
Hongos silvestres 3, 7, 9, 10, 14, 15, 21, 23, 24, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 38, 39, 48, 49, 74, 204, 255, 256, 266, 281, 289, 290, 293, 294, 350, 367
Humedad ambiental 109, 147, 311
Humedad del sustrato 111

I

Iberoamérica 1, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 294, 76, 77, 293, 365, 366, 368, 373, 374, 375
Iluminación 149, 219, 304
Incubación 7, 80, 90, 100, 104, 107, 110, 112, 113, 114, 115, 126, 148, 149, 158, 164, 166, 175, 176, 178, 207, 210, 213, 214, 215, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 225, 226, 231, 232, 235, 237, 242, 244, 255, 259, 262, 263, 271, 272, 273, 284, 286, 289, 321, 329, 331, 333, 334, 335, 340, 342, 343, 344, 346, 347
Inmunomoduladores 302, 309, 310, 313, 317
Inoculación 19, 25, 26, 27, 80, 109, 148, 166, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 202, 203, 210, 230, 262, 276, 312, 329
Inóculos 84, 196, 207, 311, 334
Insectos 69, 112, 153, 202, 371
Investigación 30, 37, 39, 40, 56, 58, 59, 62, 96, 100, 145, 204, 207, 218, 269, 279, 280, 329, 339, 340, 349, 374
Italia 12, 20, 21, 24, 27, 139, 163, 204, 286

J

Japón 20, 73, 121, 122, 123, 124, 138, 139, 182, 193, 207, 208, 229, 280, 285, 288, 300, 312, 319, 350, 365

L

Laboratorio 53, 59, 62, 70, 79, 87, 121, 164, 173, 174, 176, 207, 208, 215, 229, 230, 238, 253, 280, 311, 312, 320, 321, 330, 333, 340, 342, 357
Latinoamérica 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 76, 77, 155, 156, 171, 173, 178, 226, 227, 229, 238, 256, 267, 280, 290, 291, 292, 293, 317, 318, 363
Licor de hongos 349, 354
Lignina 167, 186, 220, 252, 258, 294, 301

Liofilización 79, 84, 201
Lípidos 310, 311, 316, 323
Lirio acuático 341, 344, 346

M

Macromicetos 95, 291, 337, 347, 369
Madera 175, 257, 337, 347
Maduración 109, 140, 165, 196, 197, 198, 199
Madurez 91, 195, 200, 229, 321
Maguey 285, 287, 292, 295
Maitake 96, 301, 357
Maíz 74, 147, 148, 163, 164, 170, 176, 182, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 202, 203, 204, 205, 207, 208, 209, 210, 212, 213, 214, 215, 225, 230, 271, 272, 273, 276, 285, 286, 287, 290, 372, 373
Manejo postcosecha 7,284
Manejo sustentable 39, 48, 75, 366
Mantenimiento de cepas 86
Marcadores moleculares 87, 88
Materias primas 99, 126, 127, 147, 163, 182, 284, 356
Mazorca 196, 197, 198, 200
Medicinal 3, 4, 7, 32, 76, 121, 122, 125, 132, 133, 134, 137, 138, 141, 142, 189, 207, 227, 229, 253, 254, 267, 268, 280, 288, 291, 303, 306, 317, 318, 319, 327, 328, 330, 336, 348, 369, 371, 372, 373, 374
Medios de cultivo 69, 71, 75, 108, 207, 208, 211, 215, 216, 230, 232, 233, 235, 241, 242, 243, 244, 251, 272, 300, 304, 313, 321, 331, 337, 341, 343, 346
Meiosis 139
Mejoramiento genético 124, 140, 270, 271
Mesoamérica 9, 297, 298, 357
Metabolitos secundarios 79, 298, 302, 320, 321, 323, 324, 327, 328, 330, 336, 339, 340
México 2, 3, 4, 7, 9, 12, 13, 16, 19, 20, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 33, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 46, 47, 48, 49, 66, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 79, 87, 89, 90, 95, 96, 99, 107, 108, 109, 118, 131, 137, 138, 139, 140, 141, 154, 156, 163, 164, 171, 173, 174, 176, 178, 179, 181, 182, 189, 190, 193, 194, 197, 199, 201, 202, 203, 204, 205, 216, 217, 218, 226, 227, 229, 230, 238, 239, 255, 256, 257, 268, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 297, 317, 318, 319, 327, 328, 329, 330, 337, 339, 340, 347, 348, 349, 350, 356, 357, 361, 365, 368, 374, 375
Micelio 3, 20, 25, 26, 30, 79, 80, 81, 83, 85, 89, 99, 104, 107, 110, 127, 131, 146, 147, 149, 153, 155, 157, 158, 176, 199, 207, 208, 209, 211, 213, 214, 215, 218, 230, 231, 232, 233, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 248, 249, 250, 251, 253, 258, 259, 262, 271, 272, 273, 284, 286, 303, 304, 310, 313, 316, 317, 321, 330, 331, 333, 334, 339, 341, 342, 343, 345, 346, 347, 355, 367
Miceticultura 365, 367, 373
Micetismo 367
Micocultura 9, 365, 366
Micotecnología 7, 9, 365
Micoturismo 24, 29, 32, 33, 36
Mijo 107, 146, 164, 166, 217, 218, 219, 220, 225, 230, 258, 260, 261, 284
Módulos de producción 173, 174, 175, 269
Musca domestica 110, 114
Mutación 196

N

Neohaplontes 319, 320

Nicaragua 10
Nutracéuticos 303

O

Olote de maíz 207, 208, 209, 210, 212, 213, 215, 271, 272, 273, 276
Organización 27, 29, 32, 37, 39, 53, 54, 55, 56, 57, 356, 363
Organización comunitaria 29

P

País Vasco 9
Paja 4, 73, 76, 107, 147, 148, 150, 152, 157, 158, 159, 160, 163, 164, 174, 176, 178, 181, 183, 184, 186, 187, 188, 190, 225, 226, 241, 242, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 252, 253, 255, 258, 259, 265, 266, 270, 271, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 295, 319, 321, 341, 344, 346, 372
Parásitos 153, 193, 339, 365, 371
Pared celular 325, 355
Pasteurización 108, 109, 112, 113, 114, 115, 126, 127, 147, 148, 160, 273, 284, 321, 329
Pasto 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116
Península ibérica 9
Perú 9, 12, 13, 156, 257
Píleo 109, 150, 153, 229, 236, 256, 258, 261, 321, 332, 355
Plagas 15, 99, 100, 104, 126, 128, 129, 139, 151, 202, 203, 273
Plantaciones forestales 29, 30, 33, 34, 36
Portobello 14, 122, 133
Portugal 4, 9, 13, 139, 173, 174, 178, 179
Preparación del sustrato 157
Preservación 85, 342
Primordios 149, 164, 214, 231, 260, 262, 264, 284, 304, 371
Producción comercial 12, 280
Pudrición blanca 155, 257, 258
Pulpa de café 4, 118, 159, 181, 182, 190, 270, 271, 273, 285, 287, 288, 289, 290, 292, 294, 295, 309, 310, 311, 317

Q

Quinto Reino 365
Quitina 355, 356

R

RAPD 126, 131, 134, 142
Recetas 357
Recombinación 139, 194
Recursos genéticos 3, 55, 62, 230, 368
Reino de los Hongos 7, 15, 365
Relación C:N 127, 183, 186, 189, 241, 247, 248, 252
Requerimientos nutricionales 222, 241
Residuos 372
Re-suplementación 99, 100

S

Semilla 75, 99, 100, 104, 108, 109, 118, 126, 127, 128, 146, 157, 159, 163, 175, 176, 207, 209, 210, 213, 216, 219, 230, 231, 258, 269, 270, 276, 277, 279, 280, 321, 331, 334, 371, 372, 373
Shiitake 4, 9, 12, 14, 72, 73, 85, 118, 160, 218, 220, 226, 227, 229, 230, 234, 238, 259, 262, 263, 264, 267, 268, 281, 283, 286, 287, 288, 289, 291, 292, 293, 294, 329, 330, 337, 348, 373
Siembra 108, 110, 115, 116, 139, 145, 175, 176, 178, 193, 194, 195, 198, 202, 203, 210, 213, 215, 231, 276, 283, 284, 286, 329
Sistemática 72, 282
Sorgo 108, 159, 164, 166, 176, 208, 217, 218, 219, 221, 222, 262, 270, 277, 287, 290, 372
Subproductos agrícolas 126, 131, 173, 174, 182, 218, 226
Subproductos agroindustriales 367
Sudamérica 10
Sudeste asiático 14, 366
Suplementación 99
Sustrato 3, 4, 20, 73, 99, 103, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 126, 127, 128, 130, 139, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 152, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 176, 178, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 207, 208, 209, 210, 212, 213, 214, 215, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 224, 225, 226, 229, 230, 231, 234, 236, 237, 238, 241, 242, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 255, 258, 259, 260, 261, 263, 264, 265, 266, 270, 271, 272, 273, 276, 277, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 290, 293, 294, 295, 304, 305, 310, 311, 321, 329, 331, 332, 334, 335, 336, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 346, 347, 362, 367, 371, 372
Sustrato degradado 249

T

Tasa de inoculación 109, 210
Tasa de producción 229, 234, 237, 336, 342
Taxonomía 370, 371
Tecnología de producción 357
Temperatura 13, 42, 80, 82, 83, 85, 87, 90, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 127, 128, 139, 140, 147, 149, 150, 151, 157, 158, 164, 178, 181, 183, 185, 186, 189, 199, 201, 202, 203, 208, 209, 210, 213, 214, 217, 218, 230, 231, 235, 237, 241, 242, 243, 251, 258, 262, 264, 265, 271, 272, 284, 289, 304, 311, 321, 322, 329, 331, 332, 334, 335, 341, 352

U

Unión Europea 14, 151

V

Velocidad de crecimiento 79, 80, 81, 83, 85, 107, 117, 207, 208, 211, 215, 229, 230, 232, 233, 244, 329, 330, 331, 333, 346
Venezuela 12, 156, 257
Ventilación 150, 151, 164, 219, 255, 284, 321, 329
Vida de anaquel 198, 200, 201, 203, 357
Vinculación 361
Virus 54, 61, 199, 207, 299, 302, 347
Viruta 160, 209, 210, 238, 287, 292, 293, 331, 373

Z

Zacate 159

Los macromicetos -hongos que por su tamaño pueden ser observados a simple vista por el ser humano- conforman un grupo de organismos que apenas empieza a ser estudiado y conocido, a pesar de la gran importancia y potencial de aprovechamiento que tiene. Actualmente se conocen diversas especies de macromicetos que son utilizadas principalmente como comestibles, pero que de más en más se descubren importantes propiedades medicinales y de uso en biotecnología, entre otras.

El libro Hongos Comestibles y Medicinales en Iberoamérica. Investigación y desarrollo en un entorno multicultural describe la situación actual en la extensa región iberoamericana en cuanto a conocimiento y aprovechamiento de los macromicetos, tanto silvestres como cultivados. Existen macromicetos de diferente tipo: destructores de madera, micorrizicos, parásitos, etc. el libro pone de manifiesto la extensa variedad de hongos silvestres y el amplio conocimiento que las culturas nativas tienen sobre estos organismos. Esta situación puede permitir el desarrollo de proyectos micoturísticos basados en su conocimiento y conservación y con bases económicas sustentables en ciertas áreas. En cuanto a hongos cultivados, los más conocidos son el champiñón Agaricus bisporus y las conocidas como setas, gírgolas u orellanas Pleurotus spp.; sin embargo, hay particularidades interesantes en varios países, como por ejemplo, en España se cultiva la trufa negra Tuber melanosporum, en Brasil el cogumelo do sol Agaricus blazei y en México el cuitlacoche Ustilago maydis. Además de otras aportaciones novedosas que se reportan de Argentina, Guatemala, etc.

El libro describe las nuevas investigaciones que aportan alternativas de uso de los macromicetos dentro del área médica, como productores de antibióticos, inmunomoduladores, anticancerígenos, etc. También aporta ideas y experiencias sobre cómo agregar valor a los hongos frescos para hacer presentaciones más elaboradas y productos derivados que tienen una oportunidad en diferentes mercados y que aparentemente son de aceptación general.

Finalmente, se hace un análisis sobre los avances en el conocimiento mundial de los macromicetos. Se realiza un recuento de los especímenes que han sido cultivados hasta ahora, y se enfatiza la importancia de seguirlos estudiando para conocerlos y aprovecharlos mejor. Su cultivo va en crecimiento a nivel mundial. En Iberoamérica también se observa la misma tendencia, aunque se deben hacer grandes esfuerzos para conocer el vasto recurso biológico que contiene esta amplia región del globo. El libro reúne contribuciones de países de Iberoamérica (Argentina, Brasil, Cuba, España, Guatemala, y México) además de Francia y Estados Unidos de América,

ISBN: 978-607-7637-73-8