



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA**



**TESIS PROFESIONAL
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

“BIÓLOGO”

**“ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA PARA LA OBTENCIÓN DE MICELIO DEL
HONGO *Lentinula edodes* (BERK.)PEGLER]. (SHIITAKE) EN 3 MEDIOS DE
CULTIVO LIQUIDO SUPLEMENTADOS.”**

PRESENTA:

Rendón Ochoa Chrystian

DIRECTOR DE TESIS:

Biol. Víctor Manuel Esparza Martínez

(2012)



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Un científico tiene la libertad, y debe tomársela, de plantear cualquier cuestión, de dudar de cualquier afirmación, de buscar cualquier evidencia, de corregir errores.

J. Robert Oppenheimer (1904-1967)

Duda siempre de ti mismo, hasta que los datos no dejen lugar a dudas.

Louis Pasteur (1822-1895)

El hombre aún lleva impresa en su estructura corpórea la huella indeleble de su humilde origen...

Charles Darwin (1809-1882)



Agradecimientos

Quisiera agradecer a mi director de tesis “Víctor Manuel” por que a pesar de que hemos tenido diferencias en el pasado siempre fue una inspiración en la realización de mi trabajo y por tener mucha paciencia conmigo y aun cuando el laboratorio no es de ultima generación uno siempre puede encontrar un comentario de aliento muy al estilo de Víctor acompañado de un pan o un taco por ello y muchas cosas mas gracias Víctor “gordo”

También me gustaría agrádeseles a mis sinodales que han leído el siguiente trabajo con dedicación.

Y han tenido el esmero con cada uno de sus alumnos para que antes que biólogos seamos mejores personas por lo anterior muchas gracias a todos ustedes.

Al “profe” Luis por ser el primer maestro que tuve en mi carrera y a partir de método I jamás volví a pensar en abandonar mis estudios en esta maravillosa carrera gracias “Prof.”

Le agradezco al profesor José por sus atinadas correcciones y tomarse el tiempo de enderezar un poco este trabajo muchas gracias

Muchas gracias profesor Marcial por su aportación al siguiente trabajo pero sobre todo su aportación en mi formación como biólogo.

Y no me podía faltar la visión de una excelente profesora como lo es la Maestra Ma. Elena quien con sus palabras en diversidad vegetal I me inicio en el fantástico mundo de los hongos y al final de este trayecto con sus muy certeras correcciones y consejos enriqueció este trabajo muchísimas gracias Maestra.

Por otro lado le agradezco a mis padres, mi madre que es la mujer mas paciente y amable que he conocido en toda mi vida a mi padre que allano el camino para que yo escogiera esta carrera y ha sido el mejor maestro de la vida que he tenido.

A mi hermano que gracias a sus consejos pude terminar mi carrera y me sigue inspirando con su disciplina y su inteligencia gracias Neto (Winny)



*Lentius
adules*

Le agradezco a por ser la persona mas cariñosa, linda y tierna, que me ha acompañado y me ha apoyado en los malos y buenos momentos y me ha enseñado que el pasado es muy importante para comprender nuestro presente.

A mis amigos Iván (Taliván) y Ramiro (Hetfield) que siempre han estado conmigo en los buenos y malos momentos y me enseñaron el valor de tener un amigo gracias hermanos.

Y por ultimo me gustaría darles las gracias a mis gatos que siempre tuvieron una caricia en las noches que tenia que trabajar gracias por desvelarse conmigo.



Índice

INTRODUCCIÓN.....	7
EL HONGO <i>L. edodes</i>	11
EL CRECIMIENTO Y LA FRUCTIFICACIÓN.	14
Carbono.....	14
Nitrógeno.....	15
Relación Carbono/Nitrógeno.....	15
Minerales.....	15
La aireación.....	16
EL <i>L. edodes</i> EN LA INDUSTRIA.....	16
PROPIEDADES NUTRICIONALES DE <i>L. edodes</i>	17
Proteínas.....	17
Carbohidratos.....	17
Lípidos.....	17
Vitaminas.....	17
Minerales.....	17
PROPIEDADES MEDICINALES de <i>L. edodes</i>	18
Anti-cáncer	18
Anti-infecciones víricas	18
Reducción del colesterol.....	18
Prevención de trombosis	18
ANTECEDENTES.....	19
JUSTIFICACIÓN.....	22
OBJETIVO GENERAL.....	23
OBJETIVOS PARTICULARES.....	23
MATERIAL Y MÉTODOS	24
DISEÑO EXPERIMENTAL.....	24



Lentinas
adules

PREPARACIÓN DE MEDIOS	24
TÉCNICA DE INOCULACIÓN	25
INCUBACIÓN.....	25
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	28
RESULTADOS	29
DISCUSIÓN.....	33
CONCLUSIONES	36
Referencias	37



INTRODUCCIÓN

El consumo de alimentos naturales no sólo sabrosos, sino también nutritivos y con propiedades benéficas para la salud, representa la gran tendencia mundial de la alimentación humana en el siglo XXI. Tan sólo en los E.U.A., la demanda de suplementos alimenticios y medicinales se ha incrementado de 3.3 a 14 billones de dólares durante el período de 1990 al 2000. Lo anterior nace de la confirmación de un principio fundamental y universal: la dieta humana debe ser completa, suficiente, equilibrada y que garantice una completa satisfacción biológica, psicológica y social. La mayoría de nosotros consume hongos por su excelente sabor, aroma y textura. Sin embargo, es poco conocido su gran potencial como alimento funcional con propiedades nutricionales y medicinales que promueven la salud. Estas propiedades son únicas, diferentes a las aportadas por otros alimentos ampliamente consumidos. Una de las opciones que se ha presentado para la producción de alimentos baratos y de manera sustentable son los hongos, los cuales tienen una producción mundial que supera los 7 millones de toneladas de hongos comestibles cultivados frescos por año, cuyo valor económico aproximado supera los 30 billones de dólares (Martínez-Carrera *et al* 2007).

En México se estima que los volúmenes de producción ascienden a más o menos 47,468 toneladas anuales de hongos frescos. Siendo nuestro país el mayor productor de Latinoamérica, ya que genera alrededor del 58.9% de la producción total de esa región y lo ubica en el lugar dieciséis a nivel mundial, la derrama económica que esto representa supera los 200 millones de dólares, generando alrededor de 25 mil empleos directos e indirectos. Los hongos mas cultivados en nuestro país son (*Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinula*), donde el 95.35% corresponde a los champiñones (champiñón blanco: 44,931.5 ton/año; champiñón café: 328.5 ton/año), seguido por las setas con 4.62% (blanca, gris, café: 2,190 ton/año), y el shiitake [*Lentinula edodes* (Berk.)Pegler] con 0.038% (18.2 ton/año) (Martínez-Carrera *et al* 2007).

La producción de hongos comestibles inició como una actividad tradicional, basada en técnicas sencillas de propagación, hace aproximadamente 1,000-1,400 años en China, con el cultivo empírico de las “orejas de ratón” (*Auricularia spp.*) y del “*L. edodes*”. De la misma forma, aunque como proceso independiente, también comenzó en Francia aproximadamente hace 350 años con el cultivo del champiñón (*Agaricus spp.*). A través



del tiempo, ha sido posible la incorporación y desarrollo de tecnologías que han mejorado substancialmente la producción comercial a gran escala no tan sólo de los hongos comestibles mencionados, sino también de otras especies potencialmente cultivables (Shu-ting *et al.*, 1999 y Martínez-Carrera *et al.*, 2007). Ahora ya pueden distinguirse dos grandes tendencias en la biotecnología (aplicada y moderna) de hongos comestibles a nivel mundial.

Dentro de las especies comestibles con mayor producción en México se encuentran los géneros *Pleurotus* y *Lentinula* que son pudridores de la madera y abundan en los troncos húmedos tirados en el bosque o en los aserraderos y madererías y así también han demostrado propiedades medicinales (Guzmán 1994).

La biotecnología aplicada en hongos comestibles se ha derivado de las técnicas tradicionales, enriquecidas con innovaciones biológicas, mecánicas, y experiencias locales derivadas de un contexto social, económico y ecológico. En cambio, la biotecnología moderna se ha desarrollado y visto fortalecida con poderosas tecnologías que permiten el estudio y manipulación directa del material genético de los hongos comestibles, concretamente del ácido desoxirribonucleico (ADN) (Martínez-Carrera *et al.*, 2007).

Actualmente, aunque con mucho menor grado de desarrollo, pueden identificarse en México las tendencias predominantes a nivel mundial. La biotecnología aplicada cuenta con mayor desarrollo y ha dado lugar a la producción comercial de hongos comestibles, a pequeña o gran escala, por parte de los sectores privado y social. El sector privado lo ha hecho en mayor medida durante los últimos 70 años, mientras que el sector social inició más recientemente apoyándose en el sector público, tanto académico como de programas de desarrollo gubernamentales. Se tienen experiencias exitosas en los Estados de Puebla, México, Hidalgo, Tlaxcala, Morelos, Veracruz, Jalisco, Yucatán, Guerrero, Oaxaca, Querétaro, y Chiapas (Sánchez *et al.*, 2001).

La biotecnología moderna ha iniciado recientemente en el sector académico, aunque su impacto potencial en el largo plazo es también bastante prometedor ya que se dispone de sistemas de transformación genética para el champiñón (*Agaricus ssp.*) (Mikosch *et al.*, 2000), las setas (*Pleurotus*) (Honda *et al.*, 2000), y el *L. edodes* (Sato *et al.*, 1998). Debe



resaltarse que México es el único país latinoamericano que cuenta con una importante red de grupos de investigación, los cuales trabajan en diversos aspectos básicos, aplicados, y socioeconómicos relacionados con el cultivo de hongos comestibles. Sin embargo, se trata de grupos relativamente jóvenes formados a principios de los años 80's, siendo todavía heterogéneos en formación académica, masa crítica de investigadores e infraestructura (Martínez-Soto *et al.*, 1997). El impacto de sus estudios en el desarrollo del sector privado ha sido limitado, aunque a futuro su relevancia estratégica será mayor. La manipulación de los hongos en el laboratorio nos permite acortar los periodos de cultivo mediante el desarrollo y selección de cepas para que a su vez sean resistentes a rangos extremos de temperatura que permitan el cultivo durante todo el año bajando los costos de producción Pueden mencionarse importantes investigaciones desarrolladas sobre el aislamiento de cepas mexicanas, caracterización del germoplasma, producción de enzimas, adaptación fisiológica, relaciones antagónicas entre hongos y mohos (Salmones 1997); la obtención de cepas acelulolíticas (Ramírez-Carrillo *et al.*,1991), cepas comerciales desarrolladas por mejoramiento genético y desarrollos tecnológicos (Sánchez *et al.*, 2001 y Martínez-Soto *et al.*, 1997).

REINO	PHILUM	SUBPHYLA	CLASE
FUNGI	Ascomycota	Plasmodiogimnomycotina	Mixomicetes
	Pezizomycotina		Protosteliomycetes
	Saccharomycotina	Acrasiogimnomycotina	Acrasiomycetes
	Taphrinomycota		
	Basidiomycota	Ascomycotina	Ascomicetos
	Agaricomycotina	Basidiomycotina	Basidiomycetes
	Pucciniomycotina	Deuteromycotina	Deuteromycetes
	Ustilagomycotina	Zygomycotina	Tricomycetes
			Zygomycetes

Figura. 1 muestra la clasificación del reino Fungí hasta clase (Alexopoulos 2001).

Estos organismos incluyen desde formas microscópicas, como los mohos y las levaduras, hasta formas bastante voluminosas, como los llamados hongos de repisa que crecen en los troncos de los árboles. Están ampliamente distribuidos por todo el planeta y prosperan en casi todos los climas: tropicales, subtropicales, templados y fríos, es decir en todos aquellos ámbitos de temperaturas comprendidas entre 4° C y 60° C, donde existan los elementos indispensables para su existencia: material orgánico y agua. (Ramírez 1995) En México 205 especies de hongos son comestibles, en su mayoría crecen en los bosques de coníferas, en los tropicales y en el mesófilo de montaña, solo hablando de



especies comestibles, pero existen muchas otras que no han sido estudiadas a fondo para distinguir sus propiedades nutricionales y medicinales (Guzmán 1994). Los hongos son un grupo muy amplio como nos permite ver la clasificación taxonómica, de acuerdo a diversos criterios que convergen en ella, ordenan a estos según sus interrelaciones fisiológicas, morfológicas o moleculares (Figura. 1) (Alexopoulos 2001).

Los hongos constituyen un grupo muy variable y polimórfico difícil de caracterizar, sin embargo, generalmente son organismos que nacen de esporas, carecen de clorofila, se reproducen sexual o asexualmente y tienen un cuerpo generalmente formado por filamentos muy ramificados llamados hifas, los cuales en conjunto forman el micelio. El crecimiento del micelio sólo se da en las puntas, por lo que forman masas algodonosas o afelpadas de forma radial, que es común observar en la hojarasca, troncos caídos y en el suelo de bosques y praderas húmedas. Se distinguen de las plantas porque no almacenan su energía en forma de almidón, polisacárido insoluble que forma las reservas alimenticias de las plantas. En su lugar, almacenan otros polisacáridos como la trehalosa y el glucógeno, polímero de la glucosa que los animales utilizan para almacenar energía por corto tiempo. (Carrillo L. 2003)

La estructura de su cuerpo es diferente al de las plantas; si bien los hay unicelulares como las levaduras, la mayoría de ellos están formados por conjuntos de hifas o micelio. Esta estructura, contrariamente a los tejidos animales y vegetales, no posee células. En las hifas de los hongos inferiores el citoplasma es generalmente continuo, no está separado por septos, posee numerosos núcleos minúsculos, que se desplazan libremente por una corriente citoplasmática que también permite el transporte de elementos nutritivos al interior del micelio. Por el contrario, los hongos superiores tienen septos con perforaciones centrales que permiten el paso del citoplasma (Herrera y Ulloa, 2004).

El crecimiento de un hongo puede iniciarse a partir de una espora o de una fracción viable de hifa. Dicho crecimiento se da en forma polarizada o apical porque la elongación de la superficie se da en un punto y no en toda la célula. (Herrera y Ulloa 2004).

Este crecimiento varía según si se da en un medio líquido o en un medio sólido en medio líquido crece solo sobre la superficie cuando el líquido está en reposo; pero si el medio es permanentemente agitado, pueden crecer en todo el volumen. Según las condiciones, el



hongo puede o no formar pequeñas esferas de micelio. El crecimiento consta de las siguientes fases: latencia, exponencial, declinación, estacionaria y muerte (Herrera y Ulloa 2004).

Enzimas responsables en la degradación de azúcares (lignina y celulosa).

Muchos de los hongos pertenecientes al grupo de los basidiomicetes (hongos de pudrición blanca) son organismos efectivamente degradadores de lignina. Las enzimas que participan en este proceso son variadas sin embargo existen tres enzimas extracelulares que participan en la degradación de manera global, las cuales son: Lignina peroxidasa (LiP), Manganese peroxidasa (MnP) y laccase. Cabe mencionar que estas enzimas no son específicas y toman parte en varias reacciones oxidativas. Por otra parte los hongos también forman combinaciones de enzimas lignolíticas para formar isoenzimas, la mayor parte formadas a partir de MnP y Laccase. La producción de dichas isoenzimas depende de las diferentes adaptaciones al medio de cultivo (Lankinen 2004).

Por otra parte tenemos una pequeña parte de Basidiomicetos que degradan celulosa (hongos de pudrición café) estos no degradan en sí la lignina solo la modifican desmetilandola, para poder acceder al interior de la célula y poder degradar la celulosa en hemicelulosa aun que este proceso no ha sido finamente caracterizado, podemos decir que las enzimas (celulasa y hemicelulasa) responsables toman mucho tiempo en penetrar a la matriz de la madera y es evidente que participan mas enzimas. Por lo anterior podemos decir que los hongos juegan un papel importante en la degradación de madera caída principalmente de los bosques de coníferas (Dix y Webster 1995).

EL HONGO *L. edodes*

Este hongo es conocido con el nombre de *L. edodes* (Shiitake) (figura 3 y 4), nombre común japonés. Es una especie asiática comestible que crece sobre residuos lignocelulósicos. El sombrero de 5-12 cm, posee en ocasiones, un pequeño umbón central; de coloración castaño claro u oscuro con tonos rojizos, levemente convexo a plano-convexo en la madurez. La superficie del sombrero se encuentra cubierta por escamas blanquecinas especialmente a lo largo del margen. Las laminillas son adnatas a libres, blanquecinas, apretadas y de bordes aserrados (figura 4). La esporada es blanca. El pie es central, corto y usualmente se encuentra cubierto por pequeñas escamas fibrillosas;



posee un anillo efímero blanquecino a castaño claro. La "carne" es firme y presenta la particularidad de poder secarse y rehidratarse fácilmente. Pertenece a la clase basidiomicetes, al orden agarical (figura 2) Se cultiva en muchos lugares, de Asia Suramérica y México (Carrillo L. 2003). Su ciclo de vida el cual presenta una fase monocariotica donde tiene crecimiento vegetativo y una fase dicariotica en la cual tiene el crecimiento de un carpoforo (figura 4).

Clasificación del *L. edodes*

Phyllum: Amastigomicota

Clase: Basidiomicetes

Orden: Agaricales

Familia: Pleurotaceae

Género: Lentinula

Especie: *Lentinula edodes*.(Berk.)Pegler]

(Kirk *et al.*, 2001)

Figura 2 Clasificación taxonómica de *L. edodes*



Figura 3. *L. edodes* en su etapa de fructificación en substrato de aserrín cultivado



Figura 4. Imagen del himenio de *L. edodes* es laminar y muestra un estípote largo de unos 2 cm. De diámetro y unos 5 cm. de longitud.



Ciclo de vida

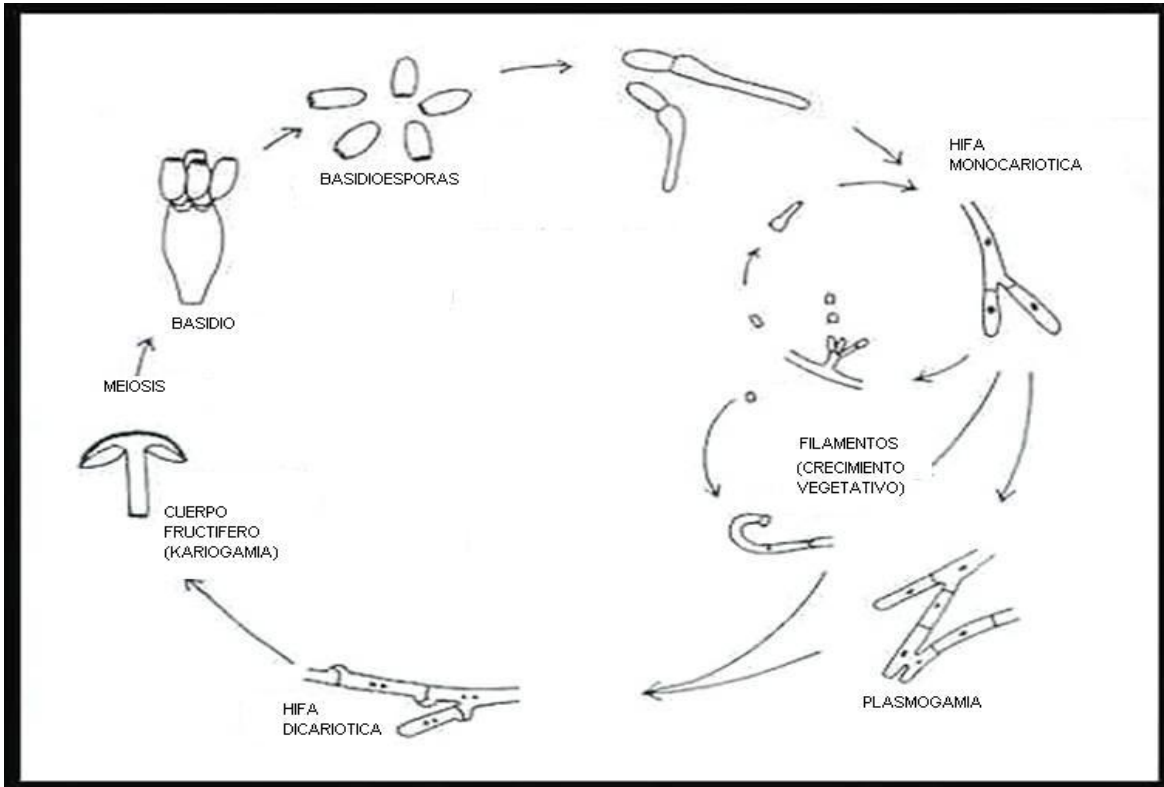


Figura 5 ciclo de vida del *L. edodes* (Tomado de Valencia del Toro 2002)

Actualmente se estudian algunas propiedades de *L. edodes* para acelerar el metabolismo y excreción de colesterol. Sus efectos se revalidan en la disminución del colesterol, tiene efectos positivos sobre el sistema inmunológico, alivia afecciones del hígado, reduce tumores, gripas y resfriados, dolores de cabeza y debilidad, arteriosclerosis, sarampión infantil, se le considera afrodisíaco y actúa en el control de la hepatitis, etc. Además de ser bajo en calorías, contiene un alto porcentaje de proteínas, hierro, fibra, minerales y vitaminas B1, B2, B6, B12 y D2, con altas cantidades en riboflavina y niacina. La propia conformación de las hifas, al ser ingeridas, aportan los beneficios de las fibras vegetales, con la gran ventaja de digerirse con mayor facilidad (Wasser *et al.*, 2002). Este hongo contiene los 9 aminoácidos esenciales los cuales son: Ácido aspártico, Alanina, Arginina, Aspartato, Cisteína, Fenilalanina, Glicina, Glutamato e Histidina (Shu-Ting *et al.*, 1999).



EL CRECIMIENTO Y LA FRUCTIFICACIÓN.

El desarrollo de los hongos se ve afectado por varios factores. A continuación se comentan los más importantes:

La temperatura

La temperatura afecta el metabolismo de las células. Influye tanto en la capacidad enzimática del organismo, como en la fluidez de los lípidos de la membrana celular. La sensibilidad a la temperatura no solo varía entre cepas sino también para una misma cepa según su etapa de desarrollo. Así, es posible y aún frecuente que un hongo tenga una temperatura óptima de germinación y que ésta sea diferente de su temperatura óptima de crecimiento micelial o de su temperatura óptima de fructificación (Labarère *et al.*, 1997).

Las temperaturas óptimas para la fructificación del *L. edodes* son ligeramente inferiores que las temperaturas óptimas para crecimiento micelial. Y muestra un rango entre 18 °C y 25°C y su rango de humedad relativa oscila entre 60-75 % (Carrillo 2003).

Los rangos de temperatura mencionados deben ser considerados solo como indicativos, ya que dentro de una misma especie puede haber grandes variaciones entre cepas. De hecho, actualmente es posible hacer mejoramiento genético para desarrollar cepas que crezcan a temperatura diferentes de la óptima de sus progenitores (Labarère *et al.*, 1997).

Carbono

El carbono es necesario para los hongos porque es la fuente directa de energía para su metabolismo; así mismo, es necesario para la formación de las diferentes partes y estructuras celulares. Dada la importancia que tiene para la vida de la célula, este elemento se requiere en mayores cantidades. Los carbohidratos se encuentran entre las fuentes de carbono preferidas por las especies de *Lentinula*, la glucosa, la manosa y la galactosa son buenos substratos para esta especie, mientras que la xilosa y la arabinosa producen un crecimiento deficiente. El carbono puede ser sintetizado por el hongo como, carbohidratos, lípidos, etc (Srivastava, y Bano, 1992).



Nitrógeno

Los substratos sobre los que suelen fructificar el *L. edodes* pueden contener valores bajos de nitrógeno por lo que se ha llegado a pensar que este género es capaz de fijar nitrógeno atmosférico. Sin que esto haya sido demostrado, sí es notorio que la concentración en nitrógeno en el cuerpo fructífero en algunos casos es mayor que la del substrato sobre el cual crece (Khanna Garcha 1985), sin embargo en el caso de medios artificiales si se ha demostrado mayor crecimiento del micelio en medios ricos en fuentes de nitrógeno como el glutamato y la caseína (Boyle 1997).

Relación Carbono/Nitrógeno.

Se ha determinado que la relación óptima para el crecimiento en medio líquido de *L. edodes* es muy parecida a la de *P. ostreatus* que es 40:1. (Kues et al., 2000). Estudios posteriores encontraron para la misma especie, una relación de 15:23 permitía una rápida formación de cuerpos fructíferos con bajos rendimientos, que una relación de 11.42 incrementaba los rendimientos pero que disminuía la formación de cuerpos fructíferos y que tomando en cuenta los dos aspectos (rendimiento y velocidad de formación), la relación óptima debía ser 30:46 (Hong 1978). Por otra parte en 1986 encontraron que una alta relación C/N es necesaria para el crecimiento micelial de *P. djamor* mientras que una baja favorece el desarrollo de carpóforos (Rajarathnam et al. 1986).

Minerales

Al trabajar con *Agaricus bisporus* se llegó a la conclusión de que tanto este como otros hongos y levadura no son capaces de crecer en ausencia de calcio y que este mineral es requerido en mayores cantidades por sus efectos protectores y antagonistas con respecto de otros minerales como potasio o magnesio (Tchierpe et al., 1977). Estudios posteriores han confirmado esta aseveración. Por ejemplo, en 1990 obtuvieron los rendimientos más altos para el cultivo líquido de *Pleurotus djamor* cuando usaron concentraciones de 0.22, 0.28, 0.98 y 0.049 mg/l de fósforo, potasio, calcio y magnesio respectivamente (Srivastava y Bano 1992).



La aireación

El oxígeno es un elemento de gran importancia para el crecimiento de los basidiomicetos porque son organismos aerobios. Estos organismos presentan requerimientos de oxígeno diferentes según el estado fisiológico en que se encuentren, se ha notado que la concentración alta en CO₂ estimula la germinación de las esporas y el crecimiento micelial pero inhibe la fructificación (Labarère *et al.*, 1997).

EL *L. edodes* EN LA INDUSTRIA

En México el interés en el *L. edodes* ha tomado importancia ha nivel industrial teniendo una producción anual de 18.2 toneladas sin embargo su producción solo representa 0.04% de la producción anual de hongos comestibles en México, esto puede deberse a la dificultad que representa la obtención de micelio del *L. edodes* en comparación con el *P. ostreatus* ya que este último se produce mayoritariamente en nuestro país debido a que se cuentan con mayor numero de técnicas para la obtención de su micelio, en nuestro país, en lo que respecta a la producción industrial del *L. edodes* en los países suramericanos como Chile y Argentina han tenido programas gubernamentales para el desarrollo de micro-industrias para la producción de *L. edodes* así como la impartición de cursos de capacitación al campesino, sin embargo la siguen tomando como una actividad meramente alternativa y no como una actividad económica principal (Guzmán 1994).

El interés mostrado por gobiernos sudamericanos en gran parte se debe a que *L. edodes* cuenta con diversas propiedades localizadas en ciertos compuestos así como varias propiedades nutricionales tomándolo como una alternativa alimentaria (Mycology News.2001).

En la industria de la salud, la utilización del hongo *L. edodes*, en diversas enfermedades que van desde inflamaciones hasta cáncer (S. Kurashige *et al.*, 1997).

En los países asiáticos han usado ciertos tipos de Hongos como base de su medicina general (Regés R. 2000.) a su vez el *L. edodes* se utiliza en investigación desde hace mucho tiempo siendo las más relevantes las investigaciones asiáticas y actualmente son punta de laza en el tema. Los más conocidos en Occidente son *L. edodes*, *Ganoderma lucidum* y Maitake (Regés R. 2000).



PROPIEDADES NUTRICIONALES DE *L. edodes*

Nutricionalmente, el hongo *L. edodes* tienen gran valor, debido a que son un buen recurso de vitaminas, también contiene 9 de los aminoácidos esenciales, fibra dietaria, alto valor calórico y la cantidad de proteína es comparable con la del pollo y el cerdo pero con más fibra que dichas carnes. Contiene altos niveles de minerales como hierro, potasio y fósforo (Stamets, 2000). A continuación se enlistan algunas propiedades nutricionales:

Proteínas

Los cuerpos fructíferos del hongo, presentan 9 de los aminoácidos esenciales donde predominan alanina, ácido glutámico y glutamina (Breene, 1990).

Carbohidratos

Los carbohidratos que contienen dichos hongos, son pentosas, hexosas, sacarosa, alcoholazúcares, azúcares-ácidos, metil- pentosas y aminoazúcares como la quitina y el Lentinano un β -glucano (Breene, 1990).

Lípidos

El hongo contiene del 3 al 5% de lípidos en peso seco. Los lípidos de tipo neutro, constituyen de 20 a 30% del total, los glicolípidos un 10% y los fosfolípidos del 60 al 70% (Breene, 1990).

Vitaminas

La tiamina se encuentra entre 4.8 y 7.8mg/ 100g. riboflavina 4.7 a 4.9mg/100g y niacina 55 a 109mg/100g ácido ascórbico (vitamina C) son de 36 a 58mg/100g, y calciferol (vitamina D) (Martínez-Carrera 2004).

Minerales

Contiene fósforo, potasio, calcio, zinc, cobre, magnesio fósforo, hierro, manganeso y potasio (Breene, 1990).



PROPIEDADES MEDICINALES de *L. edodes*

Este hongo se ha producido desde la antigüedad (Dinastía Ming en China) se lo consumía por preservar la salud, mejorar la circulación, curar resfríos y disminuir el cansancio (Chang *et al.*, 2004). A continuación se enlistan algunas propiedades medicinales:

Anti-cáncer

El hongo posee el Lentinano un β -glucano un agente anticancerígeno (S. Kurashige *et al.*, 1997).

Anti-infecciones víricas

Estimula la producción en el organismo de interferón, el cual tiene efectos antivirales. Aumenta la actividad de los macrófagos. También aumenta la actividad citotóxica de las células “Lymphokine-activated killers” (LAK) y las células “natural killers” (NK). (S. Kurashige *et al.*, 1997).

Reducción del colesterol

Contiene la eritadina que es responsable de disminuir los niveles de colesterol en sangre (Kabir & Kimura 1989).

Prevención de trombosis

El efecto que ha mostrado la eritadina sobre la disminución de la presión sanguínea en pacientes con hipertensión ha llevado a la prevención de futuras trombosis en estos pacientes (Hirasawa *et al.*, 1999).



ANTECEDENTES

Las primeras formas de cultivo del *L. edodes* se reportaron por primera vez en China durante los siglos X-XIII D.C. Sin embargo, las primeras técnicas rústicas de cultivo se desarrollaron ampliamente a partir de la década de los 50. Estas técnicas, todavía utilizadas en China y Japón, consisten en emplear troncos de madera de diversos árboles (*Quercus*, *Carpinus*, *Castanea*), principalmente el encino, como sustrato de cultivo (Guzmán 1994).

El cultivo moderno se desarrolló de manera sólida a finales de los 80 y se lleva a cabo con aserrín suplementado de maderas duras (Guzmán 1994).

En México se lleva a cabo la producción de *L. edodes* en el estado de Michoacán y en el estado de Tamaulipas, se cultiva en subproductos forestales se presenta como una alternativa de desarrollo rural sustentable para las partes altas y montañosas del estado de Tamaulipas sin alterar los ecosistemas (Guevara, Zúñiga 1999).

Se han realizado varios estudios sobre la producción de *L. edodes* tanto en forma experimental como con alcances a nivel de producción agroindustrial, como el estudio “Estudio fisiológico del Hongo *L. edodes* y su comportamiento en diferentes medios de cultivo y sobre diferentes sustratos agroindustriales para encontrar las condiciones óptimas para su producción” donde se encontraron los mejores resultados en sustratos con una relación C/N más alta ya que obtuvieron mayor biomasa en los tratamientos con la relación C/N 25:1 que con tratamientos con una relación C/N 15:1 (Martínez-Carrera *et al.*, 2007).

Existen varios trabajos sobre el tema entre ellos “técnicas para el cultivo de la diversidad fúngica” donde explica las diferentes maneras de cultivo de hongos lignícolas entre las cuales cabe resaltar las técnicas para el cultivo de *L. edodes* en medio líquido suplementados con cereales donde se demostró tener un buen crecimiento del hongo *Pleurotus tber-regium* (Stamets 2000).

En los últimos años se existen diversos estudios de laboratorio para la obtención y selección de cepas del hongo *Pleurotus* y *Lentinula spp.* Con características deseables



para su explotación comercial, se han cultivado un centenar de cepas en el ámbito experimental, seleccionándose germoplasma de rápido crecimiento vegetativo, ciclos de cultivo cortos y alta producción de fructificaciones (Jones K. 1998).

En lo que respecta a la obtención de inóculo las técnicas se enfocan a obtener inóculo en semilla de sorgo a base del micelio que crece en medios de cultivo sólidos como PDA y EMA sin embargo el costo que representa estos, puede llegar a ser elevado por lo que se han explorado nuevas maneras de inoculación como en el caso del estudio donde se inóculo *L. edodes* a partir de una disolución de esporas directamente en granos de sorgo (García 2004).

También se han estudiado las propiedades de los componentes del *L. edodes* llevando a cabo la producción del micelio en medio líquido para fines de la propia investigación este es el caso del estudio sobre los componentes bioactivos del shiita. Cabe mencionar que en este estudio se cultivó el micelio en medio sumergido el cual según los autores resultó más económico que el medio sólido (Wu *et al.*, 2006).

Las propiedades de los suplementos fueron estudiadas en el artículo factores limitantes del crecimiento de *L. edodes* y otros hongos de pudrición blanca. Donde utilizó glutamato y caseína para comprobar el crecimiento del hongo con suplementos ricos en Nitrógeno, obteniendo mejores resultados con la caseína ya que esta no inhibe el crecimiento a diferencia del glutamato. También se observó que el método experimental que se utilizó para la propagación de los organismos fue en medios líquidos por su fácil manejo (Boyle 1997).

Existen estudios en medio líquido de hongos lignícolas como los trabajos de Hadar y Cohen (1986) donde se llevó a cabo el cultivo de micelio en medio líquido de una cepa de *Pleurotus ostreatus*, utilizando como sustrato, glucosa (15g/L) adicionada con melaza de caña (25 g/L), obteniendo que a un pH óptimo de 5 se generó la mayor cantidad de crecimiento micelial, de tal forma que se generó una biomasa de 11.7 g/L a las 72 horas del cultivo mientras que al agregar azúcar de remolacha 25 g/L como sustrato único se obtuvieron 7.5 g/L de biomasa.



Estudios sobre el crecimiento de micelio en medio líquido utilizando *L. edodes*, se han realizado pruebas sobre el efecto de la relación C/N de los sustratos utilizados, obteniendo una relación óptima de 24:1 a partir de la mezcla de sustratos en la siguiente proporción: 30 g de glucosa y 4 g de extracto de levadura por litro de medio de cultivo, obteniendo una biomasa de 9.4 g/L. Lo anterior sugiere que la relación C/N es uno de los factores importantes que se necesita optimizar para el crecimiento micelial de los hongos, así mismo los autores indican que la proporción de las fuentes de carbono nitrógeno en un medio líquido pueden afectar la síntesis de la célula (Wu *et al.*, 2004)

En México el uso de los hongos macroscópicos como productos medicinales es muy amplio, el doctor Guzmán ha registrado alrededor de 50 especies mexicanas importantes a las que los grupos indígenas atribuyen un total de 36 propiedades curativas (Ramírez 1995).

Existen estudios no enfocados a la producción agroindustrial pero si interesados en las propiedades medicinales del *L. edodes* por su acción inmunomoduladora (Wasser *et al.*, 2002, Patrick H. *et al.*, 2003).



JUSTIFICACIÓN

En muchos casos, una o dos grandes compañías productoras de semilla satisfacen las necesidades de los pequeños productores de un solo país. Esto es recomendable, en economías europeas porque los proveedores, en la medida de que se han especializado en producir semilla certificada, suministran a los cultivadores semilla de calidad y dividen el trabajo a realizar. Pero en economías en desarrollo como la de nuestro país resulta complicado debido a la inversión que representa la producción de inóculo (Guzmán 1994).

En México no se reporta la utilización del inóculo líquido con fines de producción a gran escala, ya que estas técnicas de cultivo en medio líquido para *L. edodes* han sido reducidas únicamente a una producción de laboratorio y no a una explotación en serie con fines comerciales, sin mencionar que los medios de cultivo para dicho hongo no son de tan fácil acceso y son relativamente costosos como el agar de extracto de malta (EMA) y Papa Dextrosa Agar (PDA).

En este trabajo se sugiere la utilización de suplementos ricos en azúcares e integrar una fuente de nitrógeno y de calcio basados en los requerimientos de crecimiento reportados para los Basidiomicetes y en particular para la especie *L. edodes*. Esto podría aumentar la biomasa del micelio debido a que cuenta con una fuente de nitrógeno y proteínas.

Los hongos han demostrado tener importancia etnológica e industrial ya que se cultivan en muchos casos a gran escala para ser utilizados directamente como alimento del hombre y tienen múltiples usos para el procesamiento de diversos sustratos para la obtención de alimentos, bebidas, condimentos, complementos alimenticios, alcohol industrial, ácidos orgánicos, antibióticos, esteroides, vitaminas, enzimas, alcaloides y pigmentos (Herrera y Ulloa 2004).



OBJETIVO GENERAL

- Estandarizar la técnica para la obtención de micelio del hongo *Lentinula edodes* en tres medios de cultivo suplementados.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Propagar el micelio de *L. edodes* en medio de cultivo líquido con una fuente rica en carbohidratos (harinas de trigo, maíz y sorgo)
- Propagar el micelio de *L. edodes* en medio de cultivo líquido con una fuente rica en carbohidratos (harinas de trigo, maíz y sorgo) suplementados con una fuente rica en aminoácidos (caseína, suero de leche industrial y leche en polvo comercial).
- Cuantificación de la biomasa (fresca) del micelio de cada sustrato para evaluar el crecimiento micelial.



MATERIAL Y MÉTODOS DISEÑO EXPERIMENTAL

Para este proyecto se realizaron 3 ensayos con 3 diferentes tratamientos: (harinas) maíz, trigo, sorgo y 3 suplementos caseína comercial, suero de leche industrial, leche en polvo comercial y sin suplementos, haciendo 3 repeticiones por tratamiento figura (6 y 8). Para evaluar la efectividad de las harinas, se cotejaron los grupos con los diferentes sustratos sin suplementos y el grupo control. Así mismo, para evaluar la efectividad de los suplementos, se compararon los grupos con sustrato sin suplemento, contra los grupos con sustrato suplementados. Para los testigos se realizó un frasco por cada tratamiento teniendo en cada caso 4 frascos de control, se utilizó Maltaza para los controles.

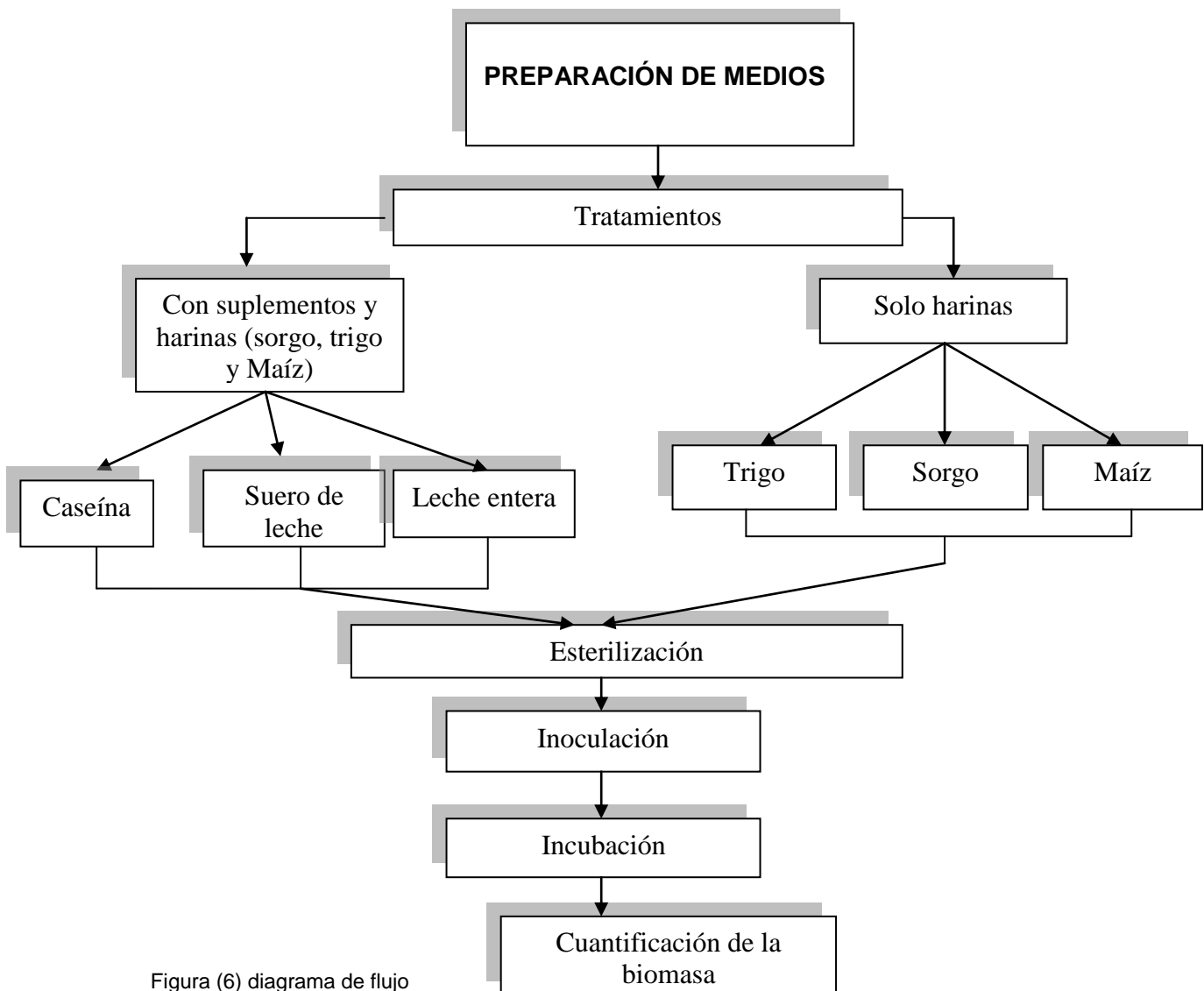


Figura (6) diagrama de flujo
Muestra el diseño experimental



TÉCNICA DE INOCULACIÓN

Se extrajeron fragmentos de la cepa con un saca-bocados, previamente esterilizado, colocándolos inmediatamente en los frascos con los medios de cultivo esterilizados, todo esto se realizo en una campana de siembra con mecheros encendidos para evitar en la medida de lo posible la contaminación de los tratamientos.

La cepa se obtuvo del stock del laboratorio de hongos comestibles y medicinales de la FEZ Iztacala.

INCUBACIÓN

Los tratamientos se incubaron durante 2 meses en oscuridad y se mantuvieron sin movimiento a una temperatura ambiente (las temperaturas oscilaron entre 18 y 22 C°).

OBTENCIÓN DE LA BIOMASA

Para la obtención de la biomasa, se extrajo el micelio sobre nadante del medio, se dejo escurrir por 5 minutos en papel filtro del #5 y posteriormente se peso en una balanza granataria para obtener su peso fresco.



Figura (7) Frascos marcados, tapados con substrato preparados para su esterilización



Los tratamientos están divididos de la siguiente manera Figura. (8)

Tratamiento	Frascos#	Harinas 10 g	Azucares 5 g	Suplemento 2 g
Control	9	Maltasa	Piloncillo	-----
1	3	Maíz	Piloncillo	-----
1	3	Trigo	Piloncillo	-----
1	3	Sorgo	Piloncillo	-----
2	3	Maíz	Piloncillo	Caseína
2	3	Trigo	Piloncillo	Caseína
2	3	Sorgo	Piloncillo	Caseína
3	3	Maíz	Piloncillo	Suero de leche
3	3	Trigo	Piloncillo	Suero de leche
3	3	Sorgo	Piloncillo	Suero de leche
4	3	Maíz	Piloncillo	Leche en polvo
4	3	Trigo	Piloncillo	Leche en polvo
4	3	Sorgo	Piloncillo	Leche en polvo

Figura. (8): se muestran los grupos con todos los tratamientos así también los testigos y el número de frascos a utilizados por ensayo.

El contenido nutricional de las harinas se muestra en la siguiente Figura (9)

Contenido	Maíz	Trigo	Sorgo
	(Por 100g.)		
Humedad %	12,00	12,00	12.00
Calorías	362	359	
Proteínas gr	9,00	12,00	10.4
Grasas gr	3,40	1,30	3.1
Carbohidratos gr	74,50	74,10	70.7
Almidón, fibra gr	1,00	0,50	2.0
Cenizas gr	1,10	0,65	1.6
Calcio mg	6,00	24,00	25
Hierro mg	1,80	1,30	5.4
Fósforo mg	178	191	150
Tiamina mg	0,30	0,26	0.38
Riboflavina mg	0,08	0,07	0.15
Niacina mg	1,90	2,00	4.3

Figura. (9) Composición nutricional de los granos de maíz, trigo y sorgo (FAO 1995)



El contenido de los suplementos se muestran en la siguiente figura (10)

Contenido g.%	Caseína	Suero de leche	Leche entera
	(Por 100g.)		
Proteína	81	15	36
Minerales	3.8	5	8.2
Grasas	1.0	22	2.47
Azucres	12.5	52	51
Vitaminas y otros	1.7	6	1.31 (calcio)

Figura (10) composición nutricional de los suplementos (Beate B. USDEC 1989)



ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó una ANOVA de 1 vía de medidas repetidas para encontrar diferencias entre el testigo y las harinas. Se realizó una prueba de LSD.

Para comparar las harinas más los suplementos, se realizó una ANOVA de 2 vías para cada una de las harinas. Se realizó una prueba de LSD.

El análisis estadístico se realizó con el programa STATISTICA 98 edición (Copyright 1984-1998 by StatSoft, Inc.)



RESULTADOS

Para el efecto de las harinas, el análisis estadístico encontró diferencias significativas del grupo control contra los demás sustratos Figura 11 ($F(3,18)=7,29$; $p<0,01$).

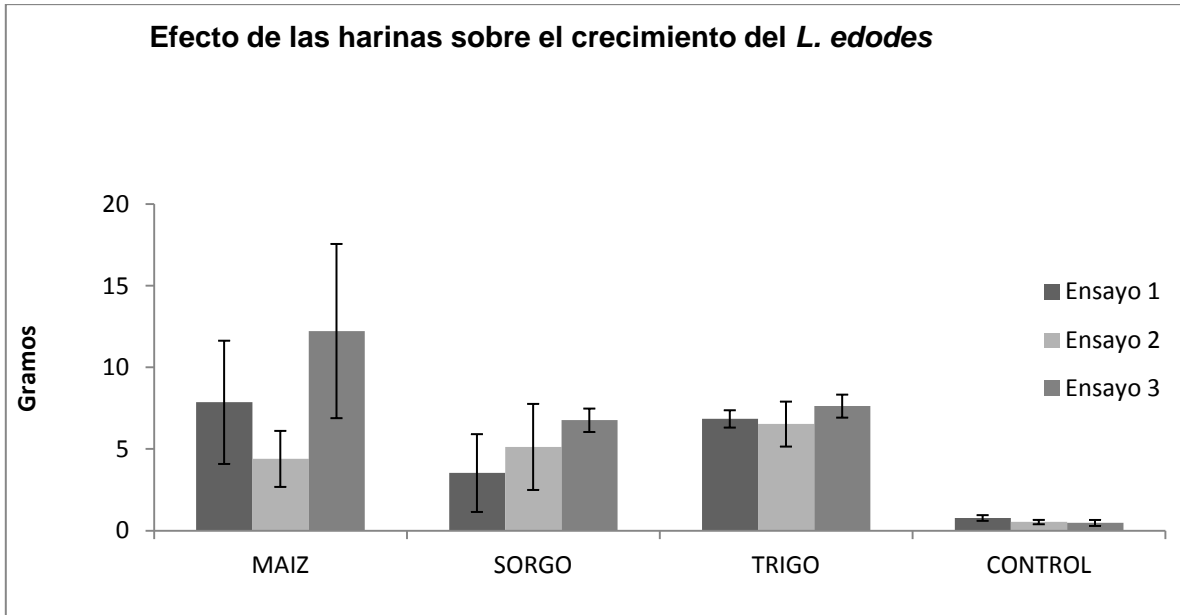


Figura. (11) Medias (\pm EEM) de los tratamientos harinas. Se observa que el testigo difiere de los demás tratamientos $p<0.05$

La prueba de LSD encontró que el grupo control difiere significativamente contra los demás sustratos ($p<0.05$) los valores se muestran en la figura 12. Como nos muestra la grafica el crecimiento más alto fue del ensayo 3 para maíz con un valor de 12.23 y el menor crecimiento lo mostraron los controles con valores menores a 1g.

	MAÍZ	Desv. Est.	SORGO	Desv. Est.	TRIGO	Desv. Est.	TESTIGO	Desv. Est.
Ensayo 1	7,87	3,77	3,53	2,38	6,85	1,05	0,78	0,17
Ensayo 2	4,40	1,71	5,13	2,63	6,53	1,37	0,53	0,13
Ensayo 3	12,23	5,33	6,77	0,71	7,63	0,70	0,48	0,18

Figura 12. Muestra las medias obtenidas por ensayo y por tratamientos sin suplementos con su desviación estándar.



En cuanto a los suplementos en el sustrato de maíz no se encontraron diferencias significativas por ensayo ($F(2,24)=,64$; $p<,5363$), ni por suplementos ($F(3,24)=,26$; $p<,8558$) ni por interacción ($F(6,24)=,80$; $p<,5775$) como se muestra en la Figura 13 también podemos observar los datos en la figura 14.

Se observa que el mayor crecimiento se obtuvo en el ensayo 3 para el grupo que no tiene suplemento con un valor de 12.23g. y el crecimiento más bajo lo presentó el tratamiento con leche con un valor de .40 g.

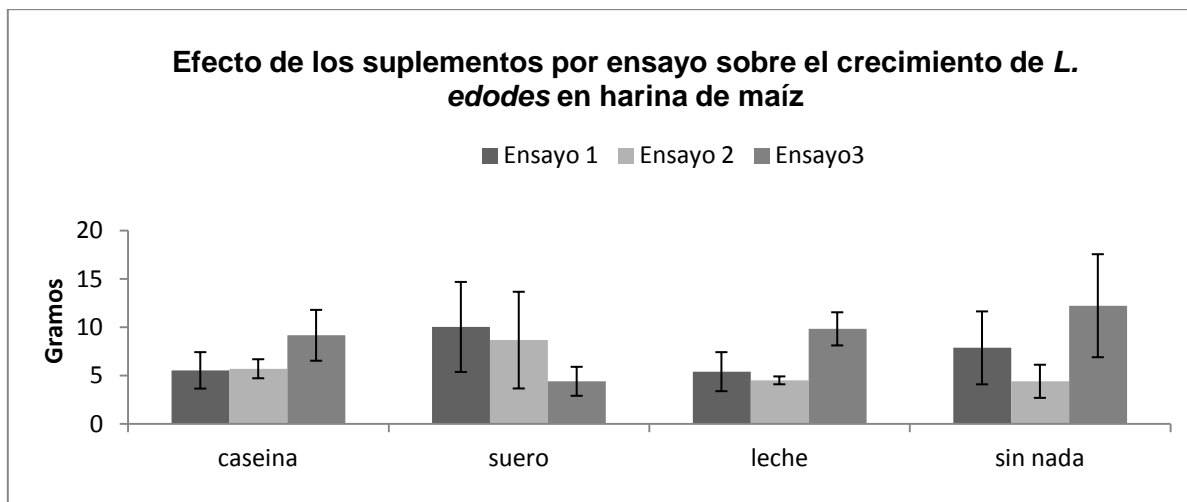


Figura. 13 Medias (\pm EEM) de los tratamientos harina maíz No se encontraron diferencias significativas $p<0.05$

MAÍZ	Ensayo 1	Desv. est.	Ensayo 2	Desv. est.	Ensayo3	Desv. est.
Caseína	5,53	1,88	5,70	0,98	9,17	2,63
Suero	10,03	4,66	8,67	5,00	4,40	1,50
Leche	5,40	2,02	4,50	0,40	9,83	1,71
sin nada	7,87	3,77	4,40	1,71	12,23	5,33

Figura 14. Muestra las medias obtenidas por ensayo y por tratamientos con suplementos para la harina de maíz con su desviación estándar.



En el caso del sustrato de sorgo, no se encontraron diferencias significativas por ensayo ($F(2,24)=,20$; $p<,8173$), ni por suplemento ($F(3,24)=,99$; $p<,4162$) y tampoco por interacción Figura 15 ($F(6,24)=1,10$; $p<,3916$) también podemos observar los valores en la figura 16. De los cuales el que presento un mayor crecimiento fue el tratamiento con suero en el ensayo 1 con un valor 12.87g. y el de menor crecimiento fue el tratamiento con leche en el ensayo 2 con un valor de 3.7g.

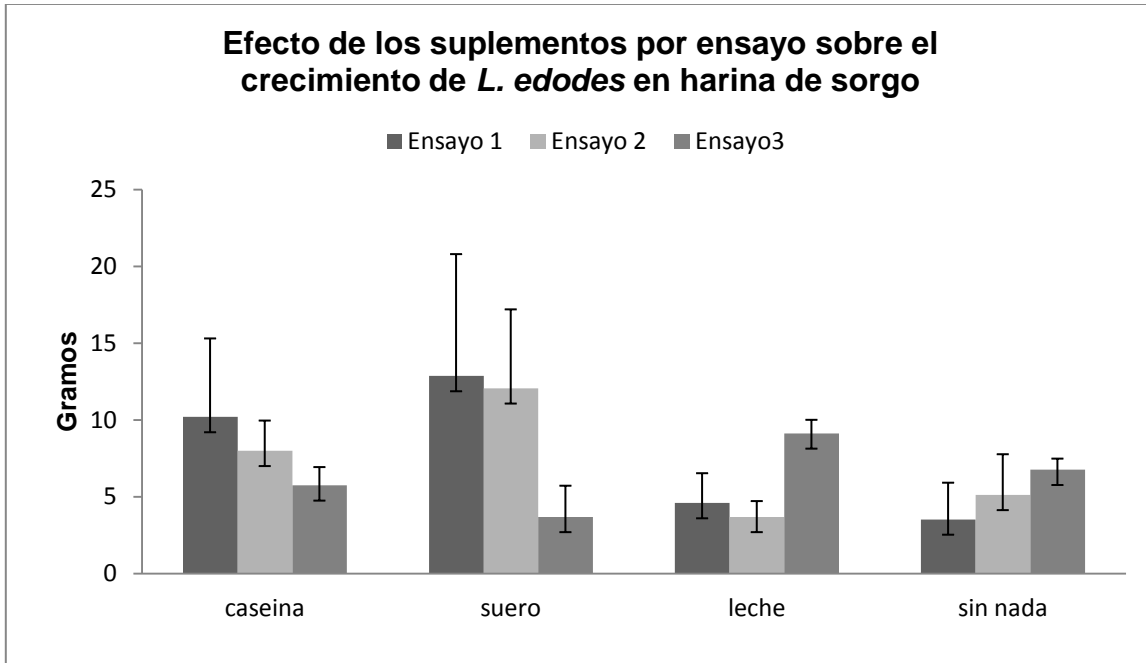


Figura. 15 Medias (\pm EEM) de los tratamientos harina de sorgo. No se encontraron diferencias significativas $p<0.05$

SORGO	Ensayo 1	Desv. est.	Ensayo 2	Desv. est.	Ensayo3	Desv. est.
Caseína	10,20	5,10	8,00	1,95	5,75	1,18
Suero	12,87	7,92	12,07	5,12	3,70	2,02
Leche	4,60	1,93	3,70	1,02	9,13	0,87
sin nada	3,53	2,38	5,13	2,63	6,77	0,71

Figura 16. Muestra las medias obtenidas por ensayo y por tratamientos con suplementos para la harina de sorgo con su desviación estándar.



Para el sustrato de trigo se encontraron diferencias significativas por suplemento ($F(3,24)=6,94$; $p<,01$), sin encontrarse por ensayo ($F(2,24)=,51$; $p<,6091$) ni interacción ($F(6,24)=,43$; $p<,8523$). Figura 17. También podemos observar los valores en al figura 18. El crecimiento más alto lo obtuvo la caseína para el ensayo 3 con un valor de 15.4g. cabe mencionar que es el más alto de todo el estudio. Y el crecimiento menor lo obtuvo el suero en el ensayo 2 con un valor de 3g.

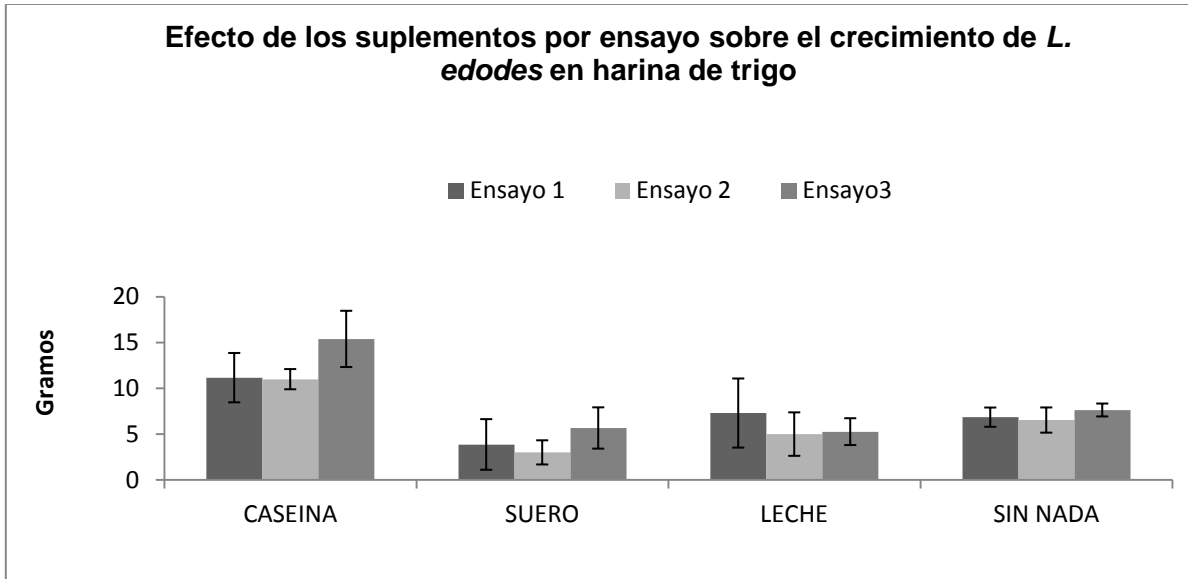


Figura. 17 Medias (\pm EEM) de los tratamientos harina de trigo. Se encontraron diferencias significativas $p<0,05$

Se encontró que el suplemento de caseína difiere significativamente de los demás suplementos ($p<0,01$).

TRIGO	Ensayo 1	Desv. est.	Ensayo 2	Desv. est.	Ensayo3	Desv. est.
Caseína	11,17	2,69	11,00	1,10	15,40	3,07
Suero	3,87	2,76	3,00	1,31	5,67	2,25
Leche	7,30	3,77	5,00	2,37	5,27	1,46
sin nada	6,85	1,05	6,53	1,37	7,63	0,70

Figura 18. Muestra las medias obtenidas por ensayo y por tratamientos con suplementos para la harina de trigo con su desviación estándar.



Como se observa en las siguientes fotografías (figura 19) se obtuvo crecimiento en la parte superior del frasco dejando debajo el nutriente.

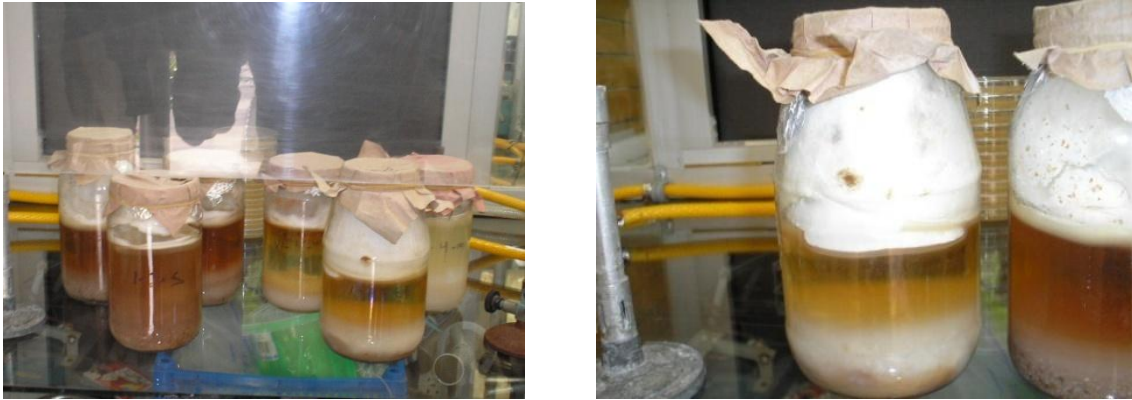


Figura 19 Que muestran crecimiento positivo de 4 tratamientos con las 3 diferentes harinas después de su incubación (el micelio en blanco se observa en la parte superior)

DISCUSIÓN

Las diferencias en cuanto al crecimiento del *L. edodes* en medios líquidos suplementados, con diferentes harinas diferentes suplementos (caseína, suero de leche y leche entera). Los resultados nos muestran que en el caso de las harinas se encontraron diferencias significativas de todas las harinas en todos los ensayos contra el testigo. Estos resultados no concuerdan con los encontrados por (Stamets 2000) ya que él no encontró diferencias significativas en cuanto al crecimiento del *L. edodes* utilizando malta (control), trigo y sorgo. Estas diferencias pueden corresponder al tipo de medio, ya que (Stamets 2000) utilizó medio sólido, sin embargo, varios autores han encontrado crecimiento favorable utilizando medio líquido (Labarère *et al.*, 1997). Esto puede deberse a que en el medio líquido se obtiene una mejor aireación que en el medio sólido (Boyle 1997) y este factor pudo haber afectado el crecimiento del hongo en el tratamiento control. Aun que existen reportes de un buen crecimiento en medios líquidos y en medios sólidos como el reportado por Aguilar L. en 2007, donde no observo diferencias significativa al cultivar micelio de *P. ostreatus* en medios líquidos y sólidos utilizando EMD (extracto de malta desproeinizado), EMS (extracto de malta sacarosa), EMA (Extracto malta agar) y EMSol (extracto de malta soluble) pero las diferencias con el siguiente trabajo pueden deberse a que la especie de hongo es diferente (aun cuando presentan algunas similitudes en su metabolismo) (Sánchez *et al.*, 2001).



En cuanto a los suplementos, los resultados nos muestran dos cuestiones importantes: la primera es que el único suplemento que presentó diferencias significativas teniendo un mejor crecimiento fue la caseína comparado con los demás suplementos. Estos resultados concuerdan con Boyle (1997) ya que él encontró mejor crecimiento en *L. edodes* utilizando caseína. Esto puede deberse a que los requerimientos de nitrógeno, necesarios para un buen crecimiento del *L. edodes*, se encuentran en mayores cantidades, a diferencia de los otros suplementos, ya que en el caso de la leche entera y el suero de leche se encuentra una menor cantidad de proteína (Beate B. U.S.DEC 1989) y aunque estos suplementos presenten mas micronutrientes, azúcares o grasas, se ha reportado que estos compuestos no afectan el crecimiento del *L. edodes*, de la misma manera que el nitrógeno, de hecho se ha reportado la utilización de medios ricos en carbohidratos disponibles sin que muestren un crecimiento significativo (Boyle, 1997) estos resultados concuerdan con los encontrados por (Manu-Tawiah) donde demostraron que el crecimiento de hongos lignocelulocicos como *L. edodes* y *P. ostreatus* tuvieron un mejor crecimiento en presencia de una fuente rica en nitrógeno, adicionando sus grupos con nitrógeno orgánico. La segunda cuestión es que solamente se encontraron diferencias con el suplemento de caseína en el tratamiento con harina de trigo. Esto puede deberse nuevamente a la cantidad de proteína en este caso, al conjunto de harina de trigo y caseína, debido a que la harina de trigo es la que presenta la mayor cantidad de proteína que la harina de maíz y sorgo (FAO, 1995). Y la caseína también presenta la mayor cantidad de proteínas en comparación con los demás suplementos (Beate B. U.S.DEC 1989).

Los resultados del presente trabajo nos indican que el medio líquido es una buena opción para el cultivo del *L. edodes* presentándose un buen crecimiento, en este medio y concuerda con lo encontrado por Staments (2000), Boyle (1997) y Aguilar (2007) donde se sugiere la utilización de medios líquidos ya que representan una buena alternativa por el intercambio gaseoso que estos pueden presentar además, los resultados nos muestran que el mejor suplemento para el crecimiento es la caseína, por la disposición de nitrógeno que esta aporta.

Por lo anterior se sugiere recurrir a suplementos a base de nitrógeno que sean de más fácil acceso para las comunidades rurales. Igualmente se recomienda la utilización de



harina de trigo ya que fue la que presentó mejor crecimiento conjuntamente con la caseína. También se recomiendan más estudios que combinen tanto harinas como suplementos en el crecimiento de *L. edodes* así como otros hongos a nivel industrial como a nivel bioquímico.

Para las harinas adicionadas se considera su utilización basándose en la nutrición del hongo, ya que estas forman una fuente rica de nitrógeno, almidones, azúcares y pueden fomentar así el crecimiento micelial.



CONCLUSIONES

- El medio líquido suplementado rico en carbohidratos (harinas de: sorgo, maíz y trigo) es un buen sustrato para el crecimiento del *L. edodes*.
- El medio líquido suplementado con una fuente rica de aminoácidos (caseína, suero de leche y leche entera) y carbohidratos (harinas de: sorgo, maíz y trigo) es más económico y de más fácil acceso que la mayoría de los medios de cultivo comerciales.
- Todos los tratamientos (sorgo, maíz y trigo) presentaron buen crecimiento en comparación del control.
- Los suplementos mostraron crecimientos independientemente de la fuente de carbohidratos (harina) utilizada.
- Los resultados con mayor crecimiento de biomasa fueron el conjunto de la caseína y la harina de trigo.



Referencias

- Aguilar L. D. 2007 Producción de inóculo líquido para el cultivo de *Pleurotus spp.* Tesis de maestría Instituto Politécnico Nacional México 12-36.
- ALEXOPOULOS C.J. - C.W. MIMS. 2001 Introductory Mycology 5ta edición, John Wiley & Sons. NY. 122.
- Boyle D. 1997 Nutritional factors limiting the growth of *Lentinula edodes* and other white-rot fungi in wood *Soil Biology and Biochemistry* 6(30):817-823.
- Breene, W. M. 1990. Nutritional and medicinal, value of specialty mushrooms. *Journal of Food Protection*.53 (10):883-894.
- Beate B. L. 1989 U.S. Whey products and child nutrition U.S. Dairy Export Council, Global Research Solutions Arlington, VA U.S.A. 4.
- Carrillo L. 2003 Microbiología Agrícola 7 Universidad Nacional de Salta, Argentina. 107
- Chang S. T., P. G. Miles. 2004 Mushrooms: cultivation. Nutritional value, medicinal effect, environmental impact. CRC Press, Boca Raton 22.
- Cheung L. M. and Peter C. K. Cheung. 2005 Mushroom extracts with antioxidant activity against lipid peroxidation. *Food Chemistry*. 99. 381 - 387.
- Dix, N. J. Webster J. 1995 Fungal Ecology Chapman and Hall, London, 549
- FAO 1995 El sorgo y el mijo en la nutrición humana Food and Agriculture Organization Vol. 27 p.p. 197
- García S. L., E. A. Pérez G. y H. R. Ramos 2004 Cultivo de *Lentinula edodes* (berk.) pegler, empleando tres formas de obtención de inóculo. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo, México. 14-19.
- Guevara G. G., A. G. Zúñiga Medina. 1999 Cultivo del hongo comestible Shiitake (*Lentinus edodes*) en Tamaulipas. *Instituto Tecnológico de Cd. Victoria* 11.19-22.



Guzmán, G. 1994 "Los hongos en la medicina tradicional de Mesoamérica y de México" en *Revista Iberoamericana de Micología*.11. 81-85.

Hadar, Y., E. Cohen-Arazi. 1986. Chemical Composition of the Edible Mushroom *Pleurotus ostreatus* Produced by Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*. 51(6): 1352.

Herrera T., M. Ulloa. 2004. El reino de los hongos. Micología básica y aplicada. Fondo de cultura Económica y UNAM. México. 122,522.

Hirasawa M, Shouji N, Neta T, Fukushima K, Takada K. 1999. Three kinds of antibacterial substances from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (Shiitake, an edible mushroom). *Int J Antimicrob Agents*. 11:151.

Honda, Y., T. Irie., T. Matsuyama., T Watanabe., M. Kuwahara. 2000. Carboxin resistance transformation of the homobasidiomycete fungus *Pleurotus ostreatus*. *Curr. Genet*. 37: 209-211.

Hong, J. S. 1978 Studies on the physicochemical properties and the cultivation of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *J. Korean Arg. Chem. Soc*. 21(3): 150.

Kabir Y, Kimura S. 1989. Dietary mushrooms reduce blood pressure in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 35: 91.

Kirk, P. M., P. F. Cannon., J. C. David., J. A. Stalpers. 2001. Dictionary of the Fungi. Ed. CABI Publishing. New York. 655.

Kurashige S, Akuzawa Y, Endo F. 1997 Effects of *Lentinus edodes*, *Grifola frondosa* and *Pleurotus ostreatus* administration on cancer outbreak, and activities of macrophages and lymphocytes in mice treated with a carcinogen, N-butyl-N-butanolnitrosoamine 19(2):172-173



Labarère J. G. Barroso.1997 Genetic evidence for nonrandom sorting of mitochondria in the basidiomycete *Agrocybe aegerita*. Appl Environ Microbiol. 1997 December; 63(12): 4686, 4689.

Lankinen P. 2004 Ligninolytic enzymes of the basidiomycetes fungi *Agaricus bisporus* and *Phlebia radiata* on lignocelluloses-containing media tesis doctoral, Department of Applied Chemistry and Microbiology University of Helsinki 10-14.

Kues, U., Y. Liu. 2000. Fruting body production in basidiomicetes. Appl. Microbiol. Biotechnol. 54: 141-142.

Laboratorios Fungi Cap, S.A. de C.V. Carretera Federal Orizaba – Tehuacan Callejón San José No. 16, Tecamalucan 94760 Acultzingo, Ver. México Mycology News. Verano 2001 Vol. nº 1. Número 1 500

Manu-Tawiah W; Martin A. M. 1988 Sources d'azote et réaction de croissance du mycélium du champignon comestible *Pleurotus ostreatus*, Canadian Institute of Food Science and Technology journal 21.194-199

Martínez-Carrera D, M. Sobal, P. Morales, W. Martínez, M. Martínez, Y. Mayett 2004.Los hongos comestibles: propiedades nutricionales, medicinales, y su contribución a la alimentación mexicana. Colegio de Posgraduados 3.10-16.

Martínez-Carrera, D., P. Morales, M. Sobal, M. Bonilla & W. Martínez. 2007 México ante la globalización en el siglo XXI: el sistema de producción consumo de los hongos comestibles. 6.1-20

Martínez-Soto, G., Córdova-Delgado, E. B., Duarte-Vázquez, M. A., Paredes-López, O. 1997. Evaluación de la textura como un parámetro de calidad de setas (*Pleurotus ostreatus*). VII Congreso Nacional de Ingeniería Agrícola, pág. 250-254

Mikosch T. S. P., B. Lavrijssen., A. S. M. Sonnenberg., L. J. L. D. van Griensven. 2000 Agrobacterium tumefaciens mediated transformation of *Agaricus bisporus*. Mushroom Science. 15: 173-174.



Palmieri G, Giardina P, Bianco C, Fontanella B, Sannia G. 2000 Copper inducing of laccase isoenzyme in the ligninolytic fungus *Pleurotus ostreatus*. Applied and Environmental Microbiology 3.8-9.

Khanna, P. y H. S. Garcha. 1985. Physiological studies on *Pleurotus* spp. I. Nitrogen utilization. Mushrooms News Tropics 5 .16.

Patrick H. K. Ngai and T. B. Ng. 2003. Lentin, a novel and potent antifungal protein from shitake mushroom with inhibitory effects on activity of human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase and proliferation of leukemia cells. Life Science. 73. 3363-3374

Ramírez-Carrillo, R., H. Leal-Lara & G. Eger-Hummel, 1991. Genetic control of cellulose degradation by *Pleurotus ostreatus*. Mushroom Science 13: 11.

Ramón Regés 2000. Hongos Medicinales en la Historia instructivo sobre hongos medicinales, *Centro de Estudios Ecológicos Argentino* 5 122-132.

Rajarathnam, S. and Bano 1987 Biological utilization of edible fruiting fungi. Foods and feeds. 3. 241-292.

Salmones, D., R. Gaitán-Hernández., R. Pérez., G. Guzmán. 1997. Estudios sobre el género *Pleurotus*. VIII. Interacción entre el crecimiento micelial y productividad. Rev. Iberoam. Micol. 14: 173.

Sánchez Vásquez J. E., D. J. Royse. 2001. Cresimiento y Fructificacion en la biología y el cultivo de *Pleurotus* ssp y *Lentinus* ssp. Ecosur. El Colegio de la Frontera Sur, Chiapas México.

Shu-ting Chang , Philip G. Miles 1999 Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect and Evironmental Impact International Centre for Cryptogamic Plants and Fungi, Institute of Evolution, University of Haifa 3. 298-302.

Srivastava Bano 1992. Recycling of spent shiitake substrate for production of the oyster mushroom, *Pleurotus sajor-caju*. Mushroom Research Center 38(2). 156-157.



Staments P., 2000 “Techniques for the cultivation of the royal sun Agaricus, Agaricus blazei Murrill Himematsutake on compost and wood substrates” International journal of medicinal Mushrooms. 2.151-160.

Valencia del Toro, G. 2002. Estudio sobre la expresión del color de los esporóforos en Pleurotus spp. por apareamiento de neohaplones compatibles y progenies monospóricas. Tesis Doctorado. Mexico D.F.

Tchierpe, M. J., K. Hartmann. 1977. A comparison of different growing methods. Mush. J. 60: 406.

Wasser S.P. Weis C. 2002 Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. Appl. Microbiol. Biotechnol. 4 122-129.

Wu X. J. 2004 Effects of Whey Permeate-Based Medium on the Proximate Composition of Lentinus edodes in the Submerged Culture Journal of Food Science 71.2-5.