

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

“CULTIVO DE *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn COMO UNA  
ALTERNATIVA PARA EL MANEJO DE RESIDUOS DE PODA URBANA”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**BIÓLOGO**

PRESENTA

**Mejía Salazar Emilio.**

Bajo la dirección del **M. en C. LUIS ANTONIO HERNÁNDEZ GONZALEZ**

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México., 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

- I. Índice
1. Introducción
  - 1.1 Antecedentes
2. Marco Teórico
  - 2.1 Filo *Basidiomycota*
    - 2.1.1 Orden *Agaricales*
      - 2.1.1.1 Familia *Pleurotaceae*
        - 2.1.1.1.1 *Pleurotus djamor*
  - 2.2 El cultivo comercial de hongos alimenticios en México
  - 2.3 Residuos sólidos urbanos (RSU)
3. Objetivos
  - 3.1 Objetivo general
  - 3.2 Objetivos particulares
4. Hipótesis
5. Material y métodos
  - 5.1 Ubicación
  - 5.2 Obtención de la cepa
  - 5.3 Comparación de medios de cultivo
    - 5.3.1 Medición de la cobertura
  - 5.4 Obtención y preparación del sustrato experimental
  - 5.5 Elaboración del inóculo en semilla
  - 5.6 Preparación del sustrato experimental
  - 5.7 Inoculación del sustrato experimental
  - 5.8 Tratamiento de las bolsas de sustrato
    - 5.8.1 Fase de incubación
    - 5.8.2 Fase luminosa
  - 5.9 Cosecha, conservación y medición de productividad
  - 5.10 Procesamiento de la muestra.
  - 5.11 Evaluación de carbohidratos, proteínas y fenoles.
6. Resultados y Discusión
  - 6.1 Crecimiento radial
  - 6.2 Crecimiento en bolsa
    - 6.2.1 tiempo de aparición de primordios
    - 6.2.2 Tiempo y peso fresco de la primera cosecha
  - 6.3 Eficiencia biológica
  - 6.4 Cuantificación de proteínas, carbohidratos y fenoles
    - 6.4.1 Determinación de proteínas (Lowry, 1951)
    - 6.4.2 Cuantificación de hexosas por reactivo de antrona
    - 6.4.3 Cuantificación de fenoles (Slinkard, Singleton, 1977)
7. Conclusiones
8. Recomendaciones
9. Bibliografía
10. Anexos

## 1. Introducción

En años recientes, la problemática del procesamiento de los residuos sólidos urbanos (RSU) en las ciudades grandes ha alcanzado niveles críticos. Esto es debido al creciente volumen de éstos, que reciben poco o nulo tratamiento, terminando en tiraderos y rellenos sanitarios. Esto representa un grave problema ambiental, el cual incluye, pero no se limita a los países urbanizados (Barradas, 1999). La inexistencia de alternativas para el manejo de dichos residuos de manera integral, la mala aplicación de los procesos de separación y el descuido en general, solo contribuye a agravar el problema, siendo un claro ejemplo la numerosa cantidad de rellenos sanitarios y tiraderos existentes en México, los cuales son foco de graves problemas, tanto ambientales como de salubridad, dañando la imagen urbana y siendo criaderos de fauna nociva.

En la Ciudad de México (CDMX) y la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM) se producen aproximadamente 10 millones de toneladas anuales de RSU (SEMARNAT, 2012), de las cuales cerca de un 40% son residuos lignocelulósicos de distinta procedencia, como los programas de poda y mantenimiento de áreas verdes urbanas, limpia de calles y residuos procedentes de casa-habitación, sin que éstos reciban tratamiento alguno, terminando muchas veces como parte de la conformación de los rellenos sanitarios, o son quemados en los basureros, contribuyendo al aumento de la contaminación atmosférica (Delfín-Alcalá, Durán-de-Bazúa, 2003).

Existen alternativas de aprovechamiento de éste tipo de residuos, como el composteo. En la CDMX y el Estado de México existen más de 30 plantas de compostaje en funcionamiento distribuidas por el territorio, sin embargo, el volumen de RSU que se tratan es mínimo comparado con el total, ya que también hacen uso de otra clase de residuos (Rodríguez, Córdova, 2006). Una alternativa para el procesamiento de éstos podría ser su utilización como sustratos para cepas de hongos aprovechables.

Los hongos, organismos eucariotas pertenecientes al reino *Fungi*, desempeñan un papel único en el ciclo de la descomposición de la materia orgánica inerte. Al ser carentes de clorofila, es menester que obtengan su sustento a través de la transformación de las sustancias químicas componentes de otros organismos, tanto vegetales como animales, en elementos más simples, como aminoácidos o carbohidratos de cadena corta, exudando enzimas que mineralizan dichas sustancias, para posteriormente aprovecharlas para su desarrollo. A este proceso se le denomina osmotrofia (Kavanagh, 2011). Además, al ser capaces de degradar polímeros de difícil desintegración, como la lignina, permiten a otros organismos aprovechar dichos nutrientes para su propio beneficio. Esto les confiere un papel esencial en la economía del suelo (Manjarrés, Castro y Rodríguez; 2010).

Dentro de las diferentes variedades de hongos existen aquellos denominados de pudrición blanca. Éstos producen enzimas celulasa y lignasa que degradan la lignina y la celulosa de la madera del sustrato que consumen, removiendo dichos componentes al mismo tiempo, a diferencia de los hongos de pudrición marrón, que degrada primero los componentes celulósicos de la madera. (Luley; 2005). Entre ellos existen organismos saprófitos de varias especies que se cultivan para su utilización como parte de la dieta del ser humano (Martínez, 2012). Al ser organismos de relativamente fácil cultivo y rápida propagación, los costos de producción son notablemente menores a la de otro tipo de alimentos, como los cárnicos. Además su valor nutricional ha sido catalogado como adecuado, ya que contienen una cantidad aceptable de proteína, vitaminas, carbohidratos y fibra, aunado a su bajo contenido graso (Gaitán-Hernández *et al*; 2006).

Entre los hongos más aprovechados para el consumo humano se incluyen los del género *Pleurotus* (Delfín-Alcalá, Durán-de-Bazúa; 2003). Éstos destacan por sobre otras especies de hongos comestibles por su bajo costo de producción, la relativa facilidad que ofrece su cultivo, su

cuerpo fructífero de grato aroma y sabor, el cual es de gran valor nutricional para el ser humano y más recientemente, la capacidad que tienen éstos de producir sustancias aprovechables en otros ámbitos, como la medicina y la biotecnología (Garzón, Cuervo; 2008).

De manera reciente, se han estudiado otras especies de hongos comestibles distintas a las comercializadas más comúnmente, como es el caso del hongo *Pleurotus djamor*. Ésta especie presenta una excelente calidad nutritiva, siendo comparables con otras variedades comercializadas, además de ser de grato sabor, excelente apariencia y aroma (Álvarez, Vega, 2010). No obstante a lo anterior, existen pocos estudios referentes a este hongo.

#### 1.1. Antecedentes.

Bernabé-González *et al.*, en 2004, evaluaron la producción de *P. ostreatus* en rastrojo de jícama, maíz y agave. Hallaron altas eficiencias biológicas (E.B.) en los sustratos mezclados con paja de arroz.

López, Ancona y Medina en 2005, llevaron a cabo propagación de una cepa de *P. djamor* en rastrojo de calabaza, henequén y maíz, comparando condiciones de laboratorio y una casa rural. Hallaron tasas de E.B. de hasta 83% en condiciones de laboratorio y 38.9% en condiciones rurales.

Pérez y Mata en 2005, cultivaron y seleccionaron cepas de *Pleurotus ostreatus* y *P. pulmonarius* sobre viruta de pino. Obtuvieron fructificación, con E.B. de hasta 60% en el tratamiento de virutas.

Motato, Mejía y León en 2006, estudiaron la viabilidad de residuos de *Musa paradisiaca* y aserrín para el cultivo de *P. djamor*, hallando que el crecimiento de micelio y cuerpos fructíferos variaba entre tratamientos, resultando el mejor compuesto las hojas de la planta del plátano.

Cayetano-Catarino y Bernabé-González en 2008, hicieron un análisis de eficiencia sobre 2 especies del género *Pleurotus*, utilizando residuos agrícolas de *Musa paradisiaca* e *Hibiscus sabdariffa*. Obtuvieron E.B. altas en los tratamientos de hoja de plátano.

Varnero, Quiroz y Álvarez en 2010, utilizaron residuos de eucalipto y álamo para medir la calidad de la cosecha de *P. ostreatus*. Encontraron que la efectividad biológica fue mayor en el sustrato mezclado de paja-astillas de eucalipto, además de hallar valores proteicos aceptables en los cultivos de todos los sustratos.

Álvarez y Vega en 2010, evaluaron la aceptación y las propiedades organolépticas del hongo *P. djamor* en la opinión de un grupo de expertos en el ámbito culinario, hallando que el hongo tiene propiedades muy favorables para su consumo a nivel generalizado.

Martínez-Cañedo en 2012, utilizó residuos de la industria agrícola como sustrato potencial para *P. ostreatus*, obteniendo altos rendimientos de productividad utilizando restos de frijol, maíz y trigo.

## 2. Marco teórico

Los hongos son organismos eucariotas pertenecientes al Reino *Fungi*. Éstos se caracterizan por carecer de clorofila, convirtiéndolos en heterótrofos que se alimentan mediante la absorción de nutrientes digeridos extracelularmente mediante enzimas. Dichos nutrientes pueden ser obtenidos de tres maneras: interacciones simbióticas, parasitismo o saprofitismo (Rosa, Capelari, 2009; Aguirre-Acosta *et al.*, 2014; Alexopoulos, Mims 1985).

Son además organismos con una pared celular quitinosa en su mayoría, aunque se presentan también aquellos que cuentan con pared celular de celulosa, o incluso pueden carecer de ella. Pueden ser unicelulares y pluricelulares, habiendo casos de hongos que presentan ambas formas (Ruiz, 2001).

Los hongos se reproducen de manera sexual y asexual mediante esporas, las cuales son liberadas de una amplia variedad de estructuras reproductivas. Las mismas esporas pueden tener movimiento, aunque la mayoría son sésiles (Aguirre-Acosta *et al.*, 2014).

La gran generalidad de estos organismos es multinucleada, con estructuras filamentosas llamadas hifas, compuestas de series de células en forma de bloque con poros de comunicación en los septos entre ellas, aunque también los hay sin dichas divisiones (Webster, Weber, 2007; Denchev, Venturella y Zervakis, 2013).

Los Hongos se subdividen en Macroscópicos y microscópicos. Una característica en común de ambas clasificaciones es la presencia de micelio, es decir, la agrupación de las hifas en una estructura que constituye el talo o cuerpo del organismo. La misma se divide por lo general en una parte vegetativa y una reproductiva (Martínez-Cañedo, 2012; Gaitán-Hernández *et al.*, 2006).

Los macromicetos, entre los que se pueden destacar los *Basidiomycota*, se caracterizan por producir una estructura reproductiva llamada basidioma a partir de su cuerpo micelial. Dicha estructura se conoce comúnmente como seta (Alexopoulos, Mims, 1985) y tiene como finalidad la dispersión de las

esporas del hongo para continuar con su reproducción, quedando el micelio oculto dentro del sustrato (Carrillo, 2003; Pardavé *et al.*, 2007).

## 2.1. Filo *Basidiomycota*

La característica que distingue a los hongos de este filo es la presencia de estructuras reproductivas llamados basidios. Éstos son células especializadas que, posterior a la meiosis que se lleva a cabo luego de la fusión de los dos núcleos dentro de las células del cuerpo fructífero, forman por lo general de 2 a 4 esporas haploides por cada basidio, las cuales son dispersadas en su mayoría mediante anemocoria (Webster, Weber, 2007).

El ciclo de vida de los basidiomicetos es como se describe brevemente a continuación (Webster, Weber, 2007; Moreno, 1980):

- A) La basidiospora, que puede ser mononucleada o multinucleada, cae en el área en la que comenzará a desarrollarse; la espora puede permanecer en latencia durante algunos meses si las condiciones no son favorables. Cuando el ambiente es propicio, comienza el desarrollo del micelio, el cual en las primeras fases es homocariótico, además de no contar con septos (hifa cenocítica). Posteriormente la hifa se va subdividiendo en secciones transversales con un solo núcleo. Cada sección tiene intercambio citoplasmático mediante una horadación presente en cada septo, la cual es rodeada por un engrosamiento llamado doliporo. A ésta fase se le llama micelio primario y dura relativamente poco tiempo. En ésta fase el micelio puede reproducirse de manera asexual mediante la fragmentación o la producción de conidios.
- B) En cuanto las hifas del micelio primario se encuentran con otras, ocurre un proceso llamado somatogamia, en el cual las hifas compatibles se fusionan entre sí, dando lugar a una nueva hifa dicariótica. En éste estado el crecimiento micelial se lleva a cabo mediante estructuras llamadas fíbulas; éstas aparecen en la célula apical de la hifa, en el

momento de la división de los núcleos, de manera que en el momento que se crea el septo que dividirá la nueva célula apical de la anterior, uno de los núcleos hijos producto de la división migrará hacia la sección posterior mientras que el otro migrará hacia la sección apical, quedando ambas secciones con copias de ambos núcleos. Esta forma del micelio es la más abundante en la naturaleza, llegando a ser muy longeva y tener una biomasa excepcional.

- C) El micelio secundario lleva a cabo un proceso de cariogamia estructuras especializadas llamadas basidios, que a su vez se encuentran dentro de una agrupación pseudoparenquimática llamado basidiocarpo. Dentro del basidio se lleva a cabo un proceso de meiosis que produce por lo general 4 esporas haploides, que quedan expuestas en la parte externa del basidio y son posteriormente expulsadas.

#### 2.1.1. Orden *Agaricales*

Son el orden más diverso dentro de los basidiomicetos. Comprenden un total de 347 géneros, con más de 9000 especies descritas. Son importantes degradadores de materia orgánica del suelo, siendo capaces de procesar la celulosa y la lignina, entre otros residuos, además de que sus carpóforos proveen de alimento a numerosas otras especies. En éste orden se incluyen varias familias de hongos de importancia alimentaria para el ser humano, como lo son *Pleurotaceae* o *Agaricaceae* (Moreno, Checa, 1983; Rosa, Capelari, 2009).

##### 2.1.1.1. Familia *Pleurotaceae*

Ésta familia se compone de 6 géneros y 94 especies descritas. La descripción general de los organismos de ésta familia incluye las siguientes características (Lechner, 2002; Carrillo, 2003):

- a) Poseen un pie lateral, excéntrico o carecen del mismo
- b) Su esporada es color blanco, amarillo claro o rosa pálido.
- c) Las laminillas del sombrero están adheridas al pie

Existen algunas especies de ésta familia que han presentado nematofagia, es decir, depredan nemátodos presentes en el sustrato.

#### 2.1.1.1.1. *Pleurotus djamor*

Es un hongo de distribución pantropical; es decir, se ubica en zonas tropicales alrededor del globo. Se desarrolla de manera natural sobre diversos sustratos lignocelulósicos, incluyendo bagazos y troncos muertos, hallándose en su mayor parte de forma silvestre (Salmones *et al*, 2004).

Su morfología es similar a otras especies del género *Pleurotus*, teniendo un píleo blanco, espatulado, con 2 a 6 cm de diámetro, suave al tacto, margen entero y adquiriendo apariencia lobulada al envejecer (Lechner, 2002). El himenio cuenta con laminillas del mismo color que el píleo, unidas al pie. Produce una esporada es color blanco. El pie es, en la mayoría de los casos, excéntrico y corto, aunque puede presentarse de manera lateral (Landa, 2008).

Los basidiocarpos crecen en grupos densos, formando repisas de manera lateral en los troncos de los árboles en los cuales se fija, los cuales al envejecer pierden la forma abombada del píleo y adquieren una estructura con una depresión central.

Según *Index fungorum*, *Pleurotus djamor* se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera:

- Reino: *Fungi*
- Phylum: *Basidiomycota*
- Subphylum: *Agaricomycotina*
- Clase: *Agaricomycetes*
- Subclase *Agaricomycetidae*
- Orden: *Agaricales*
- Familia: *Pleurotaceae*
- Género: *Pleurotus*

- Especie: *P. djamor*

## 2.2. El cultivo comercial de hongos alimenticios en México.

Desde épocas prehispánicas, varias especies de hongos comestibles han sido consumidas en nuestro país. Aunque no existe evidencia de que hayan sido cultivados, la cultura de consumo de los hongos ha existido desde entonces, influenciando algunos aspectos de la cultura (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006) y continuando hasta el día de hoy, a un nivel más tecnificado.

Actualmente, en México se cultivan varias especies de hongos de consumo, entre las cuales se incluyen varias del género *Pleurotus* siendo la más conocida *P. ostreatus* comúnmente conocida como hongo seta, que se cultiva a gran escala en México. Sin embargo existen numerosas otras especies tanto del género *Pleurotus* como de otros, que de ser cultivados a mayor escala, proveerían de una alternativa adecuada y de buen nivel a la ya conocida seta (Sánchez, Royse, 2002).

Aunado a la alternativa alimentaria que proporciona el consumo de setas, el propio cultivo de éstas tiene una utilidad ambiental ya que, siendo que requieren una relativamente reducida cantidad de espacio y agua para ser producidos, ayudan a la liberación de recursos hídricos y del propio suelo (Esparza, De La Torre; 2011), además de que al ser empleados residuos agroindustriales para este fin, se reduce de manera significativa la cantidad de éstos residuos que son sub-aprovechados (Delfín-Alcalá, Durán-de-Bazúa, 2003).

*Pleurotus djamor* es una especie de hongo comestible con potencial para ser cultivado a mayor escala ya que, además de tener valores nutrimentales comparables con otras especies cultivadas comercialmente, es de grato sabor, aroma y apariencia (Álvarez, Vega, 2010). En México se tiene registrado el crecimiento en el

medio silvestre de éste hongo en diversos residuos agroindustriales y forestales, sin embargo en muchas comunidades no se cultiva ni se consume debido al desconocimiento de su especie y utilización (Ruan-Soto, Garibay-Orijel y Cifuentes, 2004; Lopez, Ancona y Medina, 2005).

### 2.3. Residuos Sólidos Urbanos (RSU)

Representan un problema que, debido al aumento poblacional y el mal manejo de los mismos, se ha ido agravando con los años. En México ese problema no se trata de la manera más correcta, ya que resulta muy complicado procesar adecuadamente el volumen de residuos existente, que en el año 2012 se estimó en 41 millones de toneladas (112.5 k toneladas diarias) a nivel nacional (SEMARNAT, 2012).

De los RSU que se producen en todo el país, el 52.4% aproximadamente son residuos orgánicos producto de actividades domésticas, jardinería, etcétera, incluyéndose dentro de éstos, todos los residuos procedentes de la poda y limpieza del arbolado urbano (SEMARNAT, 2015). La mayoría de los anteriores no se aprovechan de la manera adecuada, terminando en rellenos sanitarios o siendo quemados, lo que además incrementa la contaminación ambiental (Delfín-Alcalá, Durán-de-Bazúa, 2003).

### 3. Objetivos.

#### 3.1. Objetivo general:

- Caracterizar 2 residuos lignocelulósicos provenientes de poda urbana como sustratos posibles para el cultivo de hongos de la especie *Pleurotus djamor*.

#### 3.2. Objetivos particulares:

- Comparar el ritmo de crecimiento del micelio en dos variedades de medio de cultivo.
- Determinar si los residuos de poda de fresno (*Fraxinus uhdei*) y almez (*Celtis australis*) son adecuados para el cultivo de *Pleurotus djamor*.
- Comparar la fenología entre sustratos.
- Determinar el contenido de proteínas y carbohidratos de los carpóforos.
- Evaluar el contenido de fenoles totales del cuerpo fructífero.

#### **4. Hipótesis**

Se espera que los residuos de poda de *Fraxinus uhdei* y *Celtis australis* puedan ser utilizados como sustratos alternativos para el cultivo del hongo *Pleurotus djamor* dando resultados comparables al sustrato comercial.

## 5. Material y Métodos

### 5.1. Ubicación.

El estudio se llevó a cabo en el Jardín Botánico y el Laboratorio de Química Biológica y Microbiología Aplicada de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

### 5.2. Obtención de la cepa.

La cepa CMIZT-11 fue obtenida de la colección microbiológica del Laboratorio de Química Biológica y Microbiología Aplicada de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (CMIZT) a partir de un stock elaborado previamente por el M. en C. Luis Antonio Hernández González.

La misma fue reactivada en medio de cultivo de Agar-Malta para su utilización en las etapas siguientes.

### 5.3. Comparación de medios de cultivo.

Se tomó la cepa reactivada y se procedió a hacer la siembra en los medios de cultivo requeridos para su crecimiento. Se utilizaron dos diferentes clases de agar: Agar-Malta (MA) y Agar Papa-Dextrosa (PDA) para comparar el ritmo del crecimiento del micelio conforme a a velocidad de cobertura de las placas en las que se colocaron.

Se llevó a cabo la siembra mediante la extracción de fragmentos de la placa de MA en la que se reactivó la cepa, una vez que ésta hubo alcanzado la cobertura completa de la caja, acomodándolas en la parte central de la nueva caja, dividiéndola posteriormente en cuadrantes para medir el ritmo de cobertura una vez por día.

Cada tratamiento constó de 10 repeticiones.

### 5.3.1. Medición de crecimiento micelial.

Se hicieron mediciones diariamente por un periodo de 11 días mediante la utilización de un calibrador Vernier para medir a lo largo de las 4 líneas de cuadrante que dividían cada caja, haciendo un promedio de los 4 datos para obtener el crecimiento radial diario.

### 5.4. Obtención y preparación del sustrato experimental.

La hojarasca de fresno (*Fraxinus uhdei*) se obtuvo de los residuos de poda urbana realizada por el Departamento de parques y áreas verdes del ayuntamiento de Atizapán de Zaragoza. Los residuos fueron recolectados en el camellón ubicado sobre Av. De los Jinetes, Colonia las Arboledas, en el Municipio antes mencionado. Posteriormente, fueron trasladados en bolsas cerradas al Jardín botánico de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, donde la hojarasca fue separada del resto del material (ramas y semillas) para ser posteriormente puesta a secar. Se obtuvieron aproximadamente 2 kg de residuos secos para éste tratamiento

La hojarasca de almez (*Celtis australis*) fue obtenida dentro del Jardín Botánico de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Se recolectó el material a partir de los residuos de poda realizados por parte de la Institución, separando posteriormente la hojarasca de las ramas, aunque se dejaron algunos frutos, y se dejaron secar. Se obtuvieron aproximadamente 3 kg de residuo seco.

El sustrato testigo (Paja de trigo) fue obtenido en un expendio de forrajes del municipio de Tlalnepantla de Baz y trasladada al jardín botánico, donde fue limpiado y fragmentado en trozos más cortos y manejables, antes de ser guardado en bolsas cerradas.

### 5.5. Elaboración del inóculo en semilla.

Se adquirieron 3 kg de semilla de trigo en una bodega de grano. Posteriormente fue limpiado con agua corriente hasta que quedó libre de polvo y residuos, y se colocó en remojo por un periodo de 2 días.

Luego del remojo se procedió a la separación de la semilla en bolsas de 200 g cada una. Las bolsas fueron colocadas a esterilizar en autoclave marca press-to durante 45 minutos a 121°C.

Las bolsas esterilizadas fueron inoculadas mediante la fragmentación de la mitad de una placa de agar completamente invadido para cada repetición, que fue distribuido a todo lo largo de la semilla. Después se sellaron y se dejaron en incubación en la oscuridad. A partir de éstas se llevaron a cabo dos nuevas inoculaciones, con el fin de vigorizar el inóculo. (Inóculos secundario y terciario)

#### 5.6. Preparación de los sustratos

La hojarasca de almez y fresno y la paja de trigo fueron rehidratados por un periodo de 4 días y posteriormente lavados para eliminar rastros de polvo y otros contaminantes que pudieran interferir con la experimentación. El material fue sometido entonces a pasteurización en contenedor por 2 horas a 100°C. El material se separó en bolsas de 500 g. Se elaboraron 10 repeticiones de cada tratamiento.

#### 5.7. Inoculación del sustrato experimental.

El inóculo terciario fue transferido a las bolsas con paja de trigo, hojarasca de fresno (*Fraxinus uhdei*) y hojarasca de almez (*Celtis australis*) respectivamente, colocando aproximadamente 50 g del inóculo terciario en cada bolsa con sustrato pasteurizado, desmoronándolo y distribuyéndolo de manera uniforme a todo lo largo de la bolsa. Se colocó una concentración mayor del grano en el centro de la bolsa, buscando asegurar una invasión equitativa del sustrato.

## 5.8. Tratamiento de las bolsas de sustrato.

### 5.8.1. Fase de incubación.

Las bolsas inoculadas fueron perforadas de manera uniforme para permitir la entrada de una pequeña corriente de aire, lo suficientemente grande para estimular el crecimiento de primordios, pero sin el tamaño suficiente para permitir el paso de insectos y/o partículas contaminantes, y luego trasladadas a la primera fase del proceso de invasión, la cual se denomina fase de incubación (Garzón, Cuervo. 2008). En ésta fase, las bolsas se colocaron en la oscuridad y se mantuvieron selladas, a temperatura ambiente, con la finalidad de que el micelio comenzara a regenerarse utilizando el material circundante para sustentarse y que absorbiera nutrientes. Las bolsas se mantuvieron en fase oscura hasta la invasión total del micelio en los sustratos.

### 5.8.2. Fase luminosa.

Posterior a la invasión del sustrato, las bolsas fueron trasladadas a estantes con iluminación natural; se cortaron en la bolsa orificios grandes en el lugar donde se encontraban los primordios para que a través de ellos crecieran los cuerpos fructíferos. Los estantes se cubrieron de malla de mosquitero para evitar el ingreso de moscas y otros animales que pudieran ovipositar sobre el sustrato, o que directamente pudieran ingerirlo, dañando el micelio y alterando el resultado. Durante éste tiempo las bolsas se mantuvieron con goteo constante para evitar que la humedad descendiera debajo del grado óptimo para el crecimiento adecuado del micelio. La temperatura se mantuvo al nivel de la exterior.

5.9. Cosecha, conservación y medición de productividad.

Cuando se observaron carpóforos completamente formados se procedió a la remoción y pesaje de los mismos mediante balanza vernier, almacenándolos después en bolsas plásticas abiertas. De los cuerpos fructíferos se midieron diversos parámetros para caracterizar la productividad de la cepa (Gaitán-Hernandez *et al*; 2006). Se midieron variables como peso, eficiencia biológica y tiempo de aparición. Luego, las bolsas con muestra fueron colocadas a -20°C para que fueran perdiendo la humedad del carpóforo, quedando el producto completamente seco y listo para ser procesado para las mediciones nutrimentales.

5.10. Procesamiento de la muestra.

Cuando las muestras se encontraron completamente libres de humedad, fueron pesadas en balanza analítica Mettler H78 y trituradas manualmente mediante el uso de mortero de porcelana hasta pulverizarlas.

El material fue almacenado en tubos Falcon herméticamente cerrados. Posteriormente, se pesaron por tercera vez para obtener la cantidad de material disponible. Con base en la cantidad obtenida se calculó la cantidad de extracto etanolico a elaborar.

Se diluyó la muestra pulverizada en etanol al 55% en una proporción 30:1, (30 ml de etanol, 1 g de muestra). Para las muestras cuyo peso era inferior a 1 g, se elaboró menor cantidad, pero siempre utilizando la misma proporción. Se dejó reposar en oscuridad durante una semana, para posteriormente someter el extracto a centrifugación usando una centrífuga de la marca Sol-Bat, modelo J-600. Se extrajo el sobrenadante y el mismo se sometió a un nuevo ciclo de centrifugación. El sobrenadante fue extraído de nuevo y fue puesto en un congelador a -20°C para su posterior utilización.

5.11. Evaluación de carbohidratos, proteínas y fenoles.

Se hicieron mediciones nutrimentales comparativas entre las muestras. Los parámetros evaluados fueron:

- a) Cantidad de carbohidratos totales mediante la técnica de determinación de hexosas con reactivo de antrona.
- b) Cuantificación de proteínas totales mediante técnica de Lowry (1951)
- c) Cuantificación de fenoles; mediante la técnica de conteo de fenoles totales propuesto por Slinkard y Singleton (1977)

## 6. Resultados y Discusión.

### 6.1. Crecimiento radial

El micelio primario fue sembrado inicialmente el día 25 de mayo de 2016. Las mediciones se llevaron a cabo en el periodo comprendido entre los días 26 de mayo al 15 de julio de 2016, siendo un total de 11, de las cuales se obtuvieron los siguientes resultados de crecimiento (Figura 6.1, Figura 6.2)

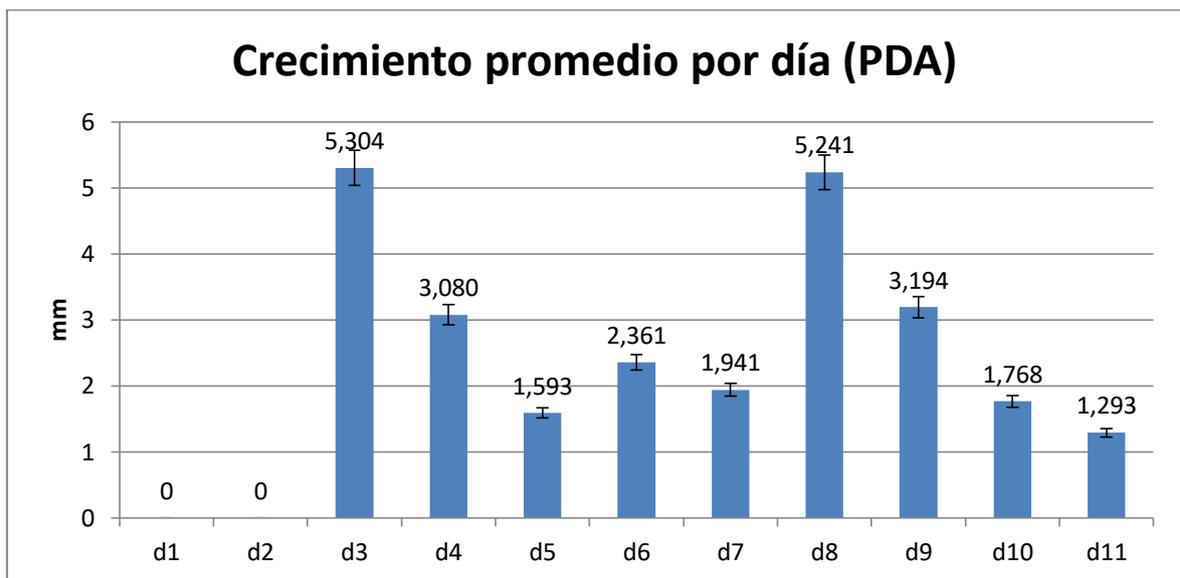


Figura 6.1: Crecimiento radial promedio de *Pleurotus djamor* en caja Petri con medio Agar papa-dextrosa (PDA)

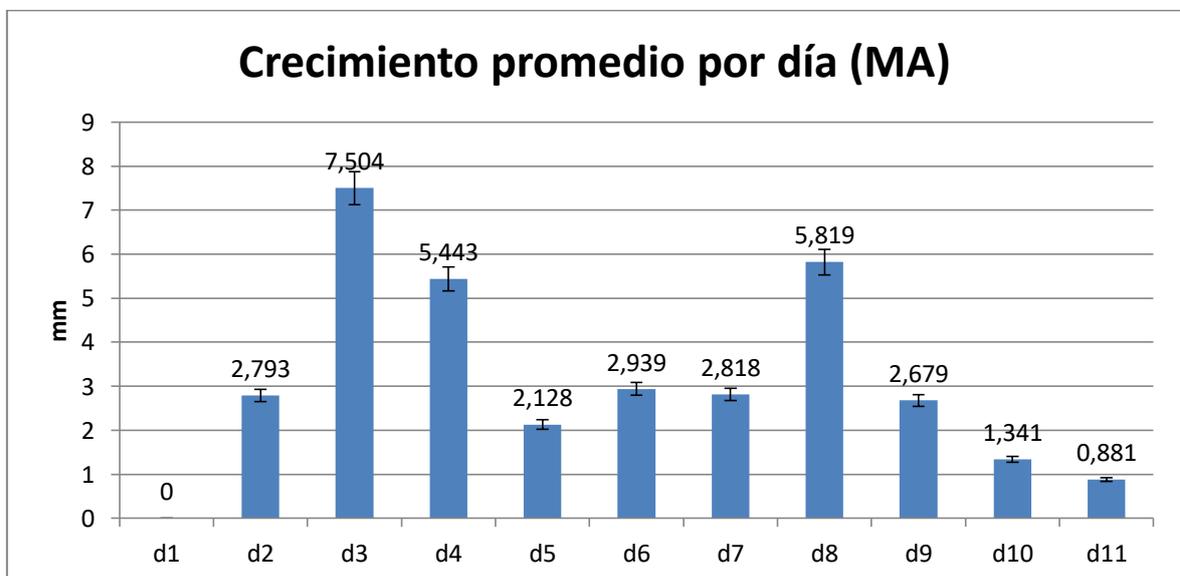


Figura 6.2: Crecimiento radial promedio de *P. djamor* en caja Petri con medio Agar Malta (MA)

Gráficamente se puede representar el ritmo de crecimiento de la cepa en ambos medios de cultivo de la siguiente manera (Figura 6.3)

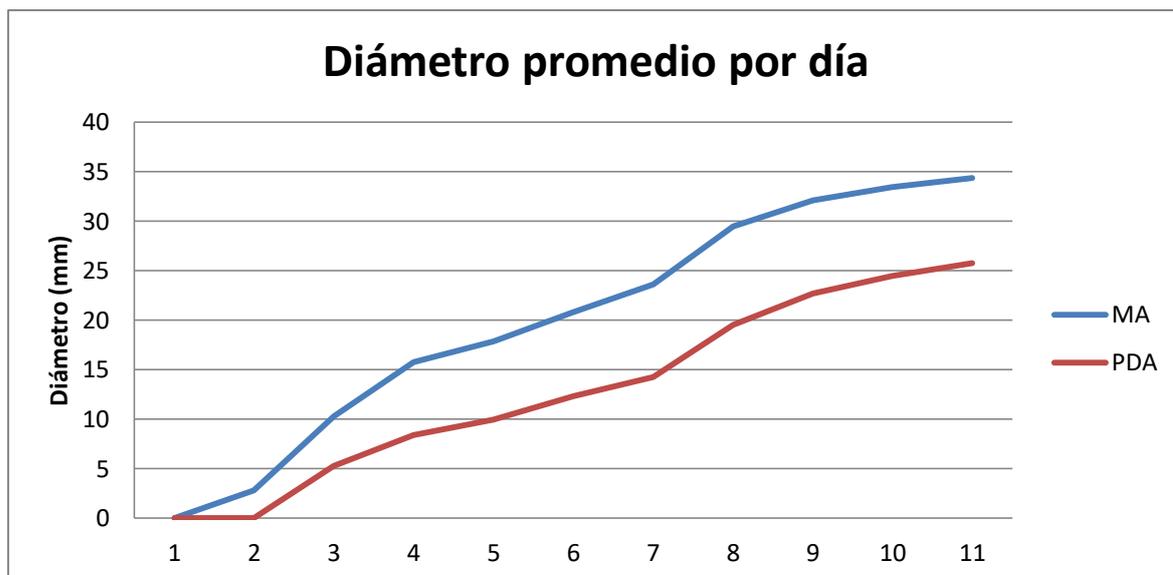


Figura 6.3: Comparación del diámetro promedio por día.

Hubo una diferencia notoria entre el ritmo de crecimiento de ambos tipos de medio. En el medio Malta-agar (MA), el micelio creció a un ritmo mucho mayor que en Agar Papa-Dextrosa (PDA), completándose la primera caja en un tiempo de 9 días. En comparación, ninguna caja de PDA completó el crecimiento en el tiempo que duraron las mediciones, siendo la más cercana la caja PD8, la cual casi completa la caja en la medición (post periodo) número 13, el día 15 de julio de 2016 (19 días). Se hizo el análisis estadístico mediante la prueba de T de Student ( $\alpha = 0.05$ ). Ésta arrojó que existen diferencias significativas entre ambos tratamientos.

## 6.2. Crecimiento en Bolsa

### 6.2.1. Tiempo de aparición de primordios.

Se midió el tiempo de aparición de los primordios, resultando en lo siguiente:

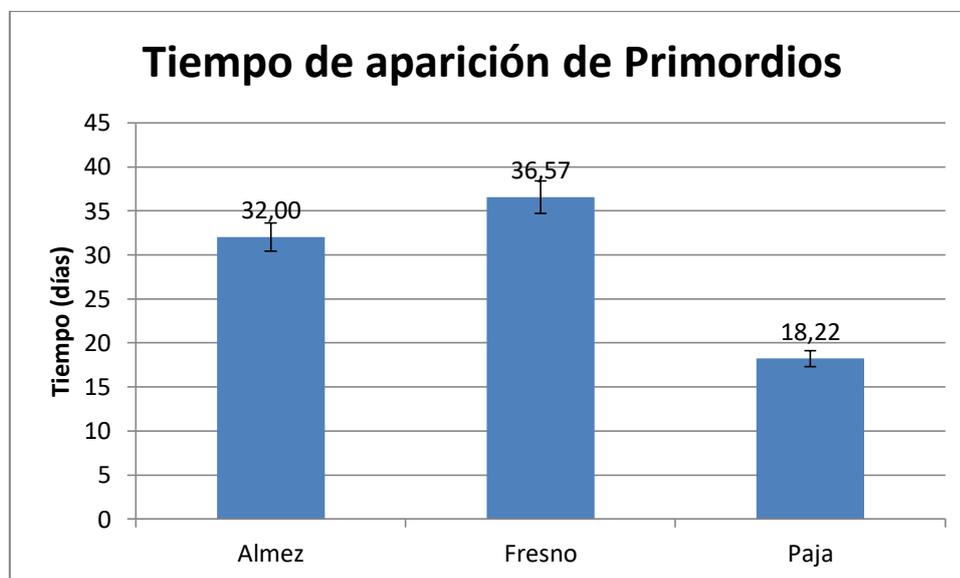


Figura 6.4: Tiempo de aparición de los primordios en sustrato testigo. Medido en días.

Como se puede observar en la figura 6.4, se nota una amplia diferencia entre los tres tratamientos en cuanto al tiempo de aparición de los primordios. Los tiempos de aparición en el sustrato testigo fueron en promedio de 18 días, mientras que en almez (*Celtis australis*) y fresno (*Fraxinus uhdei*) fueron de 32 y 35 días respectivamente. Esto puede deberse a que el hongo podía colonizar el sustrato testigo con más facilidad al contener nutrientes de más fácil acceso que la hojarasca. También pudo deberse al tamaño de partícula, ya que en el tratamiento de paja, la misma se encontraba cortada, mientras que en la hojarasca, la misma no se encontraba fragmentada, si no que las hojas estaban completas (Martinez-Cañedo, 2012). Además, en el caso de la hojarasca de almez, la hoja presentaba pilosidad, lo que pudo haber dificultado la fijación del micelio al mismo. Se hizo una prueba de T de Student y se llegó a la conclusión de que si existen diferencias significativas entre los

tratamientos experimentales (hojarasca de fresno y almez) y el sustrato testigo. ( $\alpha = 0.05$ )

### 6.2.2. Tiempo y peso fresco de la primera cosecha

Se obtuvieron los siguientes datos:

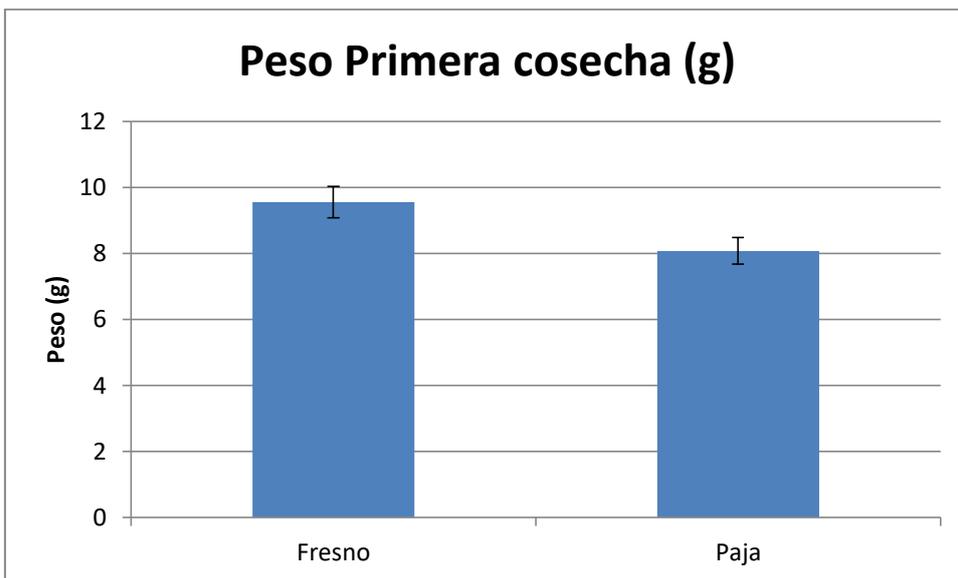


Figura 6.5: Peso fresco de la primera cosecha por bolsa. Tratamiento de paja y hojarasca de fresno.

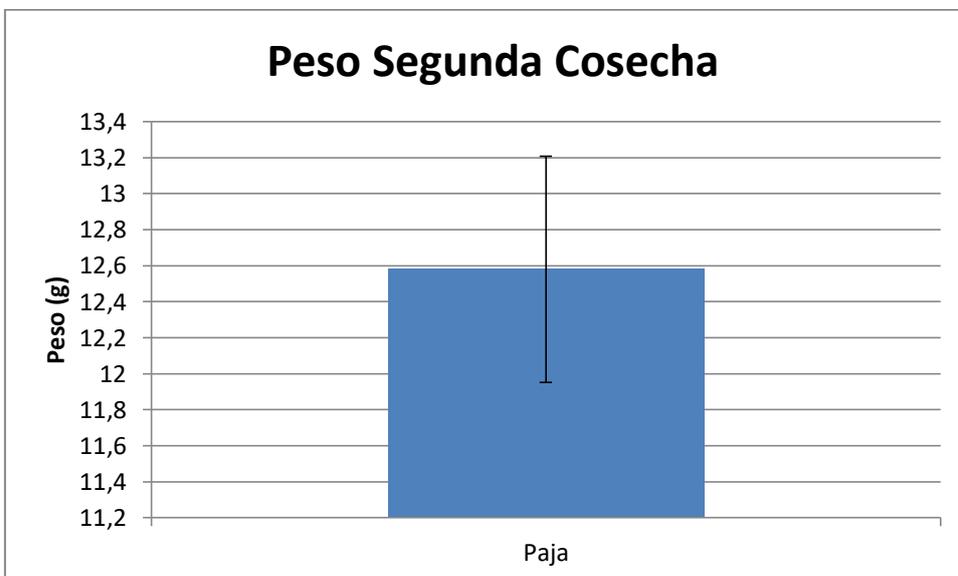


Figura 6.6: Peso fresco segunda cosecha.

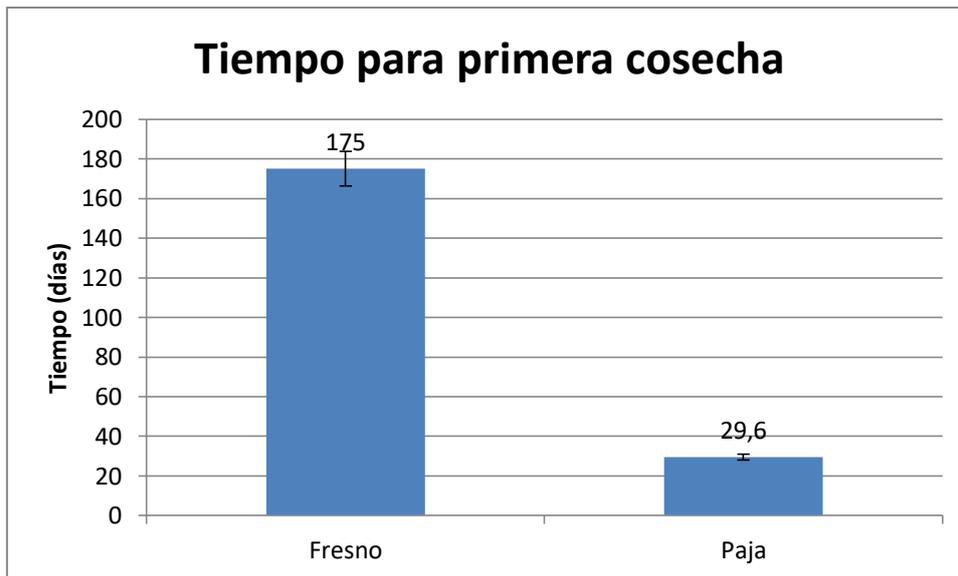


Figura 6.7: Tiempo en días para la primera cosecha.

Se observa en las figuras 6.4 y 6.7 que el tiempo entre la aparición de los primordios al de la primera cosecha difiere de manera notoria. La cosecha en fresno se llevó a cabo sin la presencia de carpóforos debido a que, a pesar del tiempo transcurrido, no había presencia de los mismos; éstos nunca llegaban a formarse, secándose y muriendo antes de diferenciar sus estructuras. Además de lo anterior, varias de las bolsas se habían contaminado más allá del punto de recuperación, por lo que se urgió a cosechar el material disponible antes de que el resto de las bolsas fuera contaminado o terminara su periodo de disponibilidad.

Lo anterior pudo deberse a la menor disponibilidad de nutrientes presentes en la hoja de fresno, ya que después de revisar literatura, no se encontró información acerca de actividad antifúngica de *Fraxinus uhdei* descartando la misma posibilidad.

En cuanto a las bolsas de almez (*Celtis australis*) no se obtuvieron resultados de tiempo de cosecha ni peso, debido a que ninguna bolsa fue capaz de producir primordios de tamaño suficiente para ser cosechados. El contenido de las bolsas se contaminó antes de que pudiera llevarse a cabo una cosecha similar a las de fresno, aunque se mantuvieron las medidas de higiene pertinentes.

Ota *et al.* en 2016, hallaron que el extracto etanólico de las hojas tiene actividad inhibitoria contra algunos hongos oportunistas, la mayoría filamentosos. Se requieren estudios posteriores acerca de la aseveración anterior.

### 6.3. Eficiencia biológica.

Se obtuvieron los siguientes resultados:

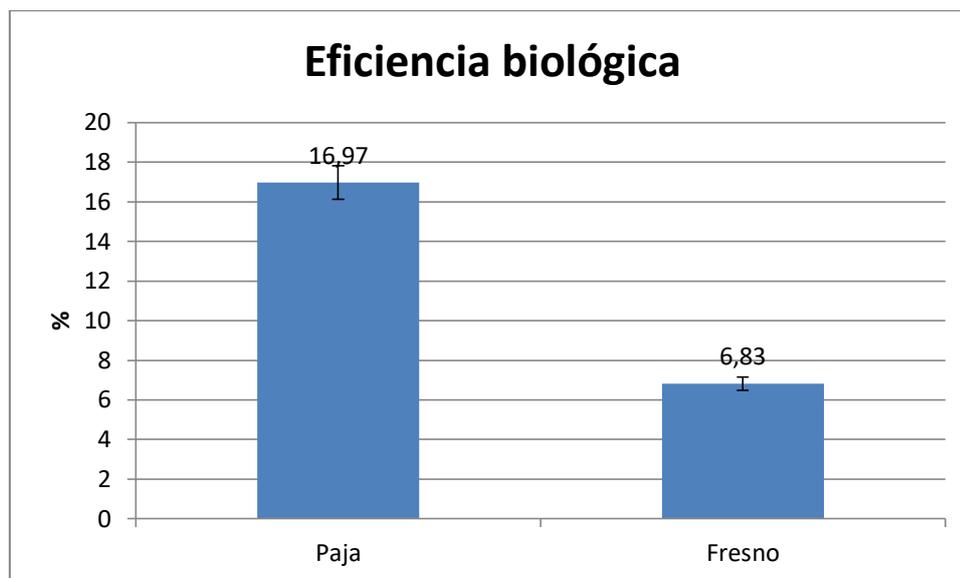


Figura 6.7: Porcentaje promedio de Eficiencia biológica por tratamiento.

La eficiencia biológica fue notablemente baja, siendo el mayor de 16.97% en promedio para el tratamiento de paja. Se hizo revisión de literatura, en la cual se reportan resultados variados, siendo los más bajos del 30% y los más altos superiores al 100% (Shukla, Jaitly 2011; Huerta *et al*, 2009; Vega, Franco, 2013). Se piensa que la baja eficiencia biológica de la cepa pudo deberse a condiciones ambientales desfavorables que pudieron disminuir la calidad del micelio, ya que se reporta que ésta especie de hongo tiene una menor tolerancia a los cambios de temperatura y humedad (Landa, 2008), ya que el sitio donde se llevó a cabo el crecimiento no estaba completamente aislado de las corrientes de aire seco y frío, por lo que pudo ralentizarse el crecimiento de la cepa. Referente al tratamiento de fresno, la eficiencia biológica fue muy baja, aunque no se hallaron resultados comparables con el experimento, por lo cual concluyo que se deben realizar experimentos posteriores con condiciones más controladas para poder evaluar adecuadamente el desempeño de éste hongo en conjunción con éste tipo de sustrato.

#### 6.4. Cuantificación de Proteínas, Carbohidratos y Fenoles.

Se obtuvieron los siguientes resultados:

##### 6.4.1. Determinación de proteínas (Lowry, 1951)

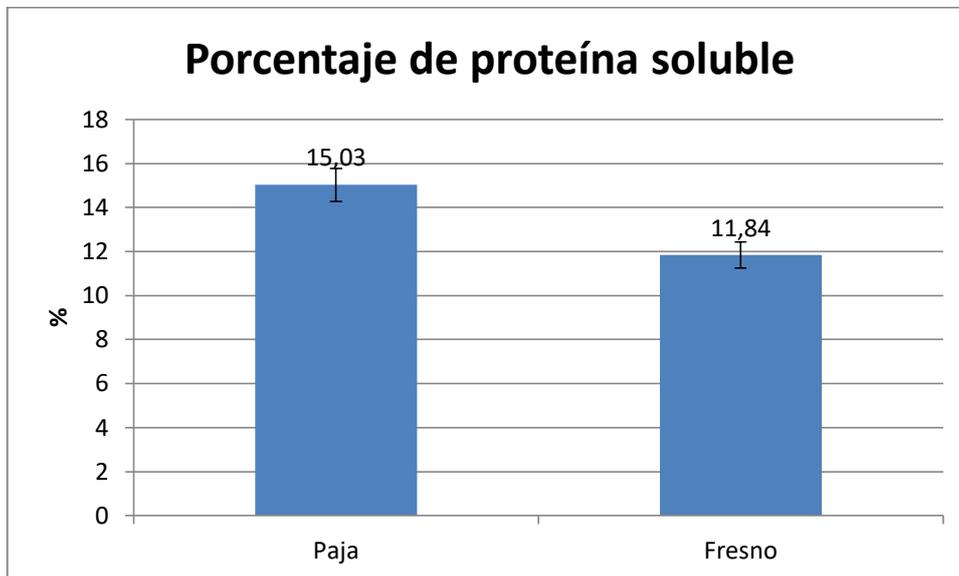


Figura 6.8: Porcentaje de proteínas solubles por muestra. (30g=100%)

Se observa un contenido de proteínas en promedio más alto en el tratamiento testigo que el obtenido en el sustrato de hojarasca de fresno (*Fraxinus uhdei*). Sin embargo, al realizarse una prueba de T de student, se llegó a la conclusión de que no existen diferencias significativas entre dichos tratamientos. ( $\alpha=0,05$ )

Los resultados por prueba fueron muy variados. En revisión posterior de literatura, se hallaron valores de proteína superiores en el sustrato testigo, aunque se reportan variaciones dentro de la especie entre el 10% y el 40% de proteína, por lo que los resultados coinciden con lo reportado en la literatura. (Vega, Franco, 2013; Shukla, Jaitly, 2011, Dharmaraj *et al*, 2014, Aparajita *et al*. 2014)

#### 6.4.2. Cuantificación de hexosas por Reactivo de Antrona.

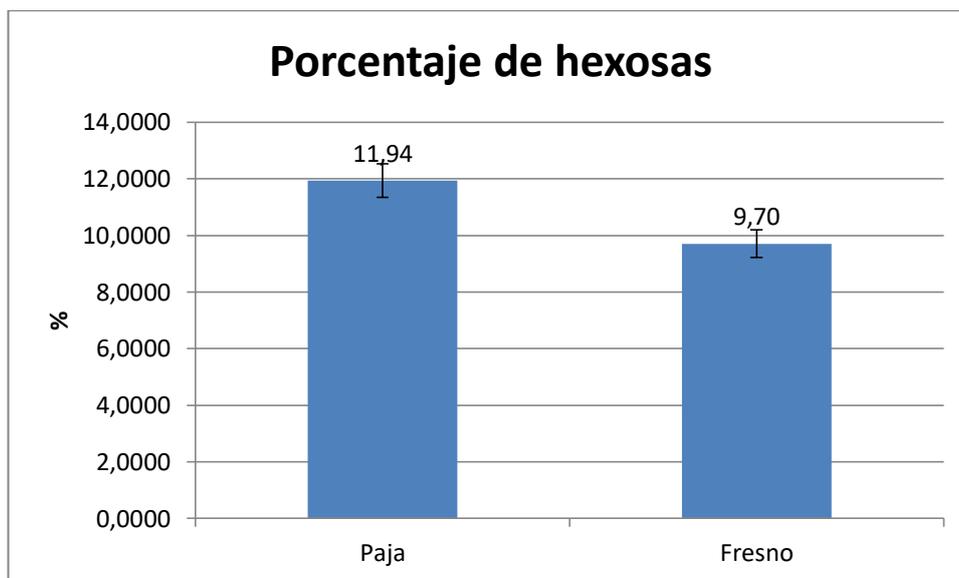


Figura 6.7: Porcentaje promedio de hexosas totales por tratamiento. (30g=100%)

Los resultados de contenido de carbohidratos fueron en promedio de 11.9% y 9.70% para los tratamientos de Paja de trigo y Hojarasca de fresno, respectivamente. Dichos resultados coinciden con lo observado en la literatura, la cual reporta contenidos de carbohidratos del 13.5% para *Pleurotus djamor* en el sustrato testigo del experimento. (Shukla, Jaitly, 2011; Vega, Franco, 2013) Los resultados obtenidos se sometieron a una prueba de T de Student llegándose a la conclusión de que no existen diferencias significativas entre ambos. ( $\alpha=0,05$ ).

### 6.4.3. Cuantificación de Fenoles (Slinkard, Singleton, 1977)

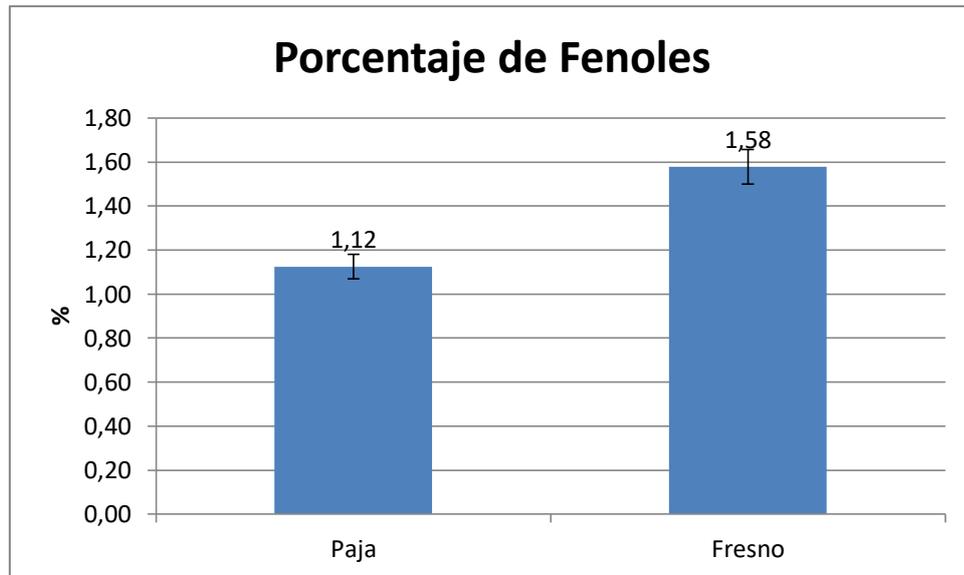


Figura 6.8: Porcentaje de fenoles totales por tratamiento. (30g=100%)

Se puede observar que el porcentaje de fenoles en el tratamiento de fresno es más alto que en el tratamiento testigo. Según la búsqueda en literatura el extracto etanólico de otra planta del género *Fraxinus* muestra un contenido entre moderado y alto de fenoles (Guzmán *et al*, 2009) además, debido a que no se encontraron artículos que utilizaran el método de Slinkard-Singleton los resultados no son comparables. Al realizar una prueba de T de student, se encontró que no existen diferencias significativas entre ambos tratamientos. ( $\alpha=0,05$ )

## **7. Conclusiones**

Se observaron marcadas diferencias entre los tipos de medios utilizados para el desarrollo del micelio, por lo que se podría deducir que el medio más adecuado para la producción del hongo sería el de Agar Malta.

Los resultados de tiempo de aparición de primordios fueron los deseados en el tratamiento testigo; en cambio, fueron mucho más extensos en el tratamiento de hojarasca. En cuanto al tratamiento de Almez, no se obtuvieron resultados posteriores al tiempo de aparición de primordios.

La eficiencia biológica obtenida, aunque baja, quedó dentro del rango de resultados reportados con anterioridad.

Los resultados de las mediciones nutrimentales resultaron variados, aunque dentro de los rangos reportados en la literatura revisada. La hojarasca de fresno parece no proveer de una cantidad significativamente distinta de nutrientes a la del sustrato testigo.

## 8. Recomendaciones.

Con base en los resultados obtenidos se sugiere llevar a cabo mediciones de manera posterior utilizando los mismos medios de cultivo, con el fin de ratificar los resultados actuales.

Se recomienda también hacer estudios posteriores acerca de los mismos sustratos experimentales, haciendo cambios en algunos factores, como el tamaño de partícula o agregando al sustrato otros elementos de la misma planta, como aserrín, ramas o semillas, o incluso haciendo combinaciones con otros sustratos de eficiencia probada, como la paja de trigo, además de repetir la experimentación con hojarasca de almez para comprobar si dicha planta no es propicia para el crecimiento de *Pleurotus djamor* u otros hongos de consumo.

Asimismo, se recomienda repetir el experimento de manera posterior, cuidando más las condiciones de asepsia, riego y temperatura para así maximizar la producción. Lo anterior será de gran ayuda para la realización de mediciones más exactas, ya que se podrán realizar un mayor número de repeticiones.

Por último se recomienda hacer nuevas evaluaciones de proteínas, carbohidratos y fenoles, entre otras cuantificaciones, pero utilizando técnicas distintas a las ya empleadas, con el fin de ratificar los resultados obtenidos.

## 9. Bibliografía.

- (1) Aguirre-Acosta, E., Ulloa, M., Aguilar, S., Cifuentes, J., Valenzuela, R. (2014) Biodiversidad de Hongos en México. Revista Mexicana de Biodiversidad, Vol. 85. Pp. 76-85.
- (2) Alexopoulos, C.J., Mims, C.W. (1985) **Introducción a la micología**. Ediciones Omega, Barcelona, España. 621 pp.
- (3) Alvarez, Z. M. A., Vega, R. A. (2013) Aceptación y apreciación de hongos comestibles *Pleurotus djamor* por expertos de cocina internacional y su perspectiva de comercialización en restaurantes de hoteles de Panamá. Año 2010. RIDTEC Vol. 9, No. 1. Pp. 43-49.
- (4) Aparajita, R.D., Das, P., Bhattacharjee, S., Saha, A.K. (2014) Chemical analysis of wild edible mushroom: *Pleurotus djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn. Mushroom Research Vol. 23, No. 2. Pp. 161-166.
- (5) Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., Atmani, D. (2009) Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. Food Chemistry Vol. 112, No. 2. Pp. 303-309.
- (6) Barradas, R.A. (1999) Investigación sobre metodología adecuada a la planificación de la gestión integral de los residuos sólidos urbanos y rurales (aplicada a la zona Minatitlán-Cosoleacaque, en el sur de México). Tesis de Doctorado. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Caminos, Canales y Puertos. Madrid, España. 403 pp.
- (7) Bernabé-Gonzalez, T., Cayetano-Catarino, M., Adán-Díaz, A., Torres-Pastrana, M.A. (2004) Cultivo de *Pleurotus pulmonarius* sobre diversos subproductos agrícolas de Guerrero, México. Revista Mexicana de Micología. Vol. 18. Pp. 77-80.
- (8) Carrillo, L. (2003) **Los hongos de los alimentos y forrajes**. Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina. Pp. 119-125.
- (9) Cayetano-Catarino, M., Bernabé-Gonzalez, T. (2008) Cultivo de *Pleurotus* sobre residuos de las cosechas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y plátano (*Musa paradisíaca*). Revista Mexicana de Micología. Vol. 26. Pp. 57-60.

- (10) Delfín-Alcalá, I., Durán-De-Bazúa, C. (2003) Biodegradación de residuos lignocelulósicos por *Pleurotus*. Revista Internacional de Contaminación Ambiental Vol. 19, No. 1. Pp. 37-45
- (11) Denchev, C.M., Venturella, G., Zervakis, G. (2013) **MYCOTICON textbook: Identification and sustainable exploitation of wild edible mushrooms in rural areas**. MYCOTICON project, TEI Thessaly, Larissa, Grecia. 360pp.
- (12) Dharmaraj, K., Kuberan, T., Mahalakshmi, R. (2014) Comparison of nutrient contents and antimicrobial properties of *Pleurotus djamor*, *Agaricus bisporus* and *Ganoderma tsugae*. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences Vol. 3 No. 6. Pp. 518-526.
- (13) Esparza-Martinez, V.M., De la Torre-Almaraz, R. (2011) **El cultivo de hongos comestibles como una alternativa de biotecnología integral**. 1ª Edición. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Tlalnepantla de Baz, Estado de México. México. 78pp.
- (14) Gaitán-Hernández, R., Salmones, D., Perez, M. R., Mata, G. (2006) **Manual práctico del cultivo de setas: Aislamiento, siembra y producción**. 1ª Edición. 2ª Reimpresión. Instituto de Ecología A.C. Xalapa, Veracruz. México. 56pp.
- (15) Garzón, G. J. P., Cuervo, A. J. L. (2008) Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. NOVA- publicación científica en ciencias biomédicas Vol. 6. Pp. 101-236.
- (16) Guzmán, M., Zúñiga, N., Santafé, G.G., Torres, O., Angulo, A. (2009) Actividad antioxidante y estudio químico del hongo *Pleurotus djamor* recolectado en Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias Vol. 7, No. 2. Pp. 63-69.
- (17) Huerta, G., Martínez-Carrera, D., Sánchez, J.E., Leal-Lara, H. (2009) Grupos de interesterilidad y productividad de cepas de *Pleurotus* de regiones tropicales y subtropicales de México. Revista Mexicana de Micología Vol. 30. Pp. 31-42.
- (18) Kavanagh, K. (2011) **Fungi: Biology and Applications**. 2ª Edición. John Wiley & Sons. Kildare, Irlanda. 384pp.

- (19) Landa, P.E. (2008) Aislamiento de esteroides a partir del hongo comestible *Pleurotus djamor* var. *djamor*. Tesis de Maestría. Instituto de Ciencias Básicas. Universidad Veracruzana. Veracruz. México. Pp. 52.
- (20) Lechner, B.E. (2002) Estudio de la biodiversidad, fisiología y cultivo de las especies silvestres del género *Pleurotus* (*Basidiomycetes*, *Agaricales*) en la República Argentina. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires. Argentina. Pp. 189.
- (21) León-Avenidaño, H., Martínez-García, R., Caballero, G.P., Martínez-Carrera, D. (2013) Caracterización de dos cepas de *Pleurotus djamor* nativas de Oaxaca, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. Pub. Esp. No. 6. Pp 1285-1291.
- (22) Lopez, C.E.H., Ancona, M.L., Medina, P.S. (2005) Cultivo de *Pleurotus djamor* en condiciones de laboratorio y en casa rural tropical. Revista Mexicana de Micología Vol. 21. Pp. 93-97
- (23) Luley, C.J. (2005) **Wood decay fungi common to urban living trees in Northeast and Central United States**. Urban Forestry LLC. Nueva York, Estados Unidos. 58pp.
- (24) Manjarrés, K., Castro, A., Rodríguez, S.E. (2010) Producción de lacasa utilizando *Pleurotus ostreatus* sobre cáscaras de plátano y bagazo de caña. Revista Lasallista de Investigación Vol. 7, No. 2. Pp. 9-15.
- (25) Martínez, C. J. (2012) Cultivo de *Pleurotus ostreatus* en el valle de El Fuerte, Sinaloa: Una alternativa al uso de esquilmos agrícolas. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Indígena de México. Sinaloa, México. 59pp.
- (26) Mishra, K.K. Pal, R.S., ArunKumar, C., Chandrashekara, C., Jain, S.K., Bhatt, J.C. (2013) Antioxidant properties of different edible mushroom species and increased bioconversion efficiency of *Pleurotus eryngii* using local casing materials. Food Chemistry Vol. 138, No. 1-2. Pp. 1557-1563.
- (27) Moreno, G. (1980) Estudios sobre *Basidiomycetes* I (*Agaricales*) Anales Jardín Botánico Madrid Vol. 36. Pp. 23-42

- (28) Moreno, G., Checa, J. (1983) Estudios sobre *Basidiomycetes* VIII (*Agaricales*). Anales Jardín Botánico Madrid Vol. 40. Pp. 15-28
- (29) Motato, R.K.E., Mejía, G.A.I., León, P.A. (2006) Evaluación de los recursos agroindustriales de plátano (*Musa paradisiaca*) y aserrín de abarco (*Cariniana piriformes*) como sustratos para el cultivo del hongo *Pleurotus djamor*. VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica Vol. 13, No. 1. Pp. 24-29.
- (30) Ota, A., Visnjevec, A.M., Vidrih, R., Prgomet, Z., Necemer, M., Hribar, J., Cimerman, N.G., Mozina, S.S., Bucar-Miclavcic, M., Ulrih, N.P. (2016) Nutritional, Antioxidative and Antimicrobial analysis of the Mediterranean hackberry (*Celtis australis* L.) Food Science & Nutrition Vol. 5, No. 1. Pp. 160-170.
- (31) Pardavé, D.L.M., Flores, P.L., Franco, R.E.V., Robledo, C.M. (2007) Contribución al conocimiento de los hongos (*Macromicetos*) de la Sierra Fría, Aguascalientes. Revista Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes Vol. 37. Pp. 4-12.
- (32) Perez, M.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. Revista Mexicana de Micología Vol. 20. Pp. 53-59.
- (33) Periasamy, K., Natarajan, K. (2004) Role of lignocellulosic enzymes during basidiomata production by *Pleurotus djamor* var. *roseus*. Indian Journal of Biotechnology Vol. 3. Pp. 577-583.
- (34) Rodriguez, S.M.A., Córdova, V.A. (2006) **Manual de compostaje municipal. Tratamiento de residuos sólidos urbanos**. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Ciudad de México, México. 102pp.
- (35) Rosa, L.H., Capelari, M. (2009) *Agaricales* fungi from atlantic rain forest fragments in Minas Gerais, Brazil. Brazilian Journal of Microbiology Vol. 40. Pp. 846-551.
- (36) Ruan-Soto, F., Garibay-Orijel, R., Cifuentes, J. (2004) Conocimiento micológico tradicional en la planicie costera del Golfo de México. Revista Mexicana de Micología Vol. 19. Pp. 57-70

- (37) Ruiz, H.R. (2001) El asombroso reino de los hongos. Avance y Perspectiva Vol. 20. CINVESTAV, Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de México, México. Pp. 255-281.
- (38) Salmones, D., Mestizo, V.L., Gaitán-Hernández, R. (2004) Entrecruzamiento y evaluación de la producción de las variedades de *Pleurotus djamor* (Fr.) Boedijn. Revista Mexicana de Micología Vol. 18. 21-26 pp.
- (39) Sánchez, J.E., Royse, D. (2002) **La biología y el cultivo de *Pleurotus spp.*** 1ª edición. ECOSUR. Chiapas, México. 293pp.
- (40) Sánchez, J.E., Royse, D. (2017) **La Biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas *Pleurotus spp.*** 1ª edición. ECOSUR, Chiapas, México. 352pp.
- (41) Semarnat. (2012) **Informe de la Situación del Medio Ambiente en México, Compendio de estadísticas ambientales. Indicadores Clave y de Desempeño Ambiental.** Edición 2012. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Ciudad de México, México. Pp. 318-361
- (42) Semarnat (2015) **Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Indicadores Clave, de Desempeño Ambiental y de Crecimiento Verde.** Edición 2015. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Ciudad de México, México. Pp. 431-470
- (43) Shukla, S., Jaitly, A.K. (2011) Morphological and biochemical characterization of different oyster mushroom. Journal of Phytology Vol. 3, No. 8. Pp. 18-20.
- (44) Slinkard, K., Singleton, V.L. (1977) Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. American Journal of Enology and Viticulture Vol. 28, No. 1. Pp. 49-55.
- (45) Varnero, M.T., Quiroz, M.S., Álvarez, C.H. (2010) Utilización de residuos forestales lignocelulósicos para producción de hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*). Información Tecnológica. Vol. 21. No. 2. Pp. 13-20
- (46) Vega, A., Franco, H. (2013) Productividad y calidad de los cuerpos fructíferos de los hongos comestibles *Pleurotus pulmonarius* RN2 y *P. djamor* RN81 y RN82 cultivados sobre sustratos lignocelulósicos. Información Tecnológica Vol. 24, No. 1. Pp. 69-78.

- (47) Webster, J., Weber R.W.S. (2007) **Introduction to Fungi**. 3<sup>o</sup> edición. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido. 841pp.

## 10. Anexos.

### I. Fórmulas Utilizadas:

Eficiencia biológica (%):

$$Eb=(P_f/P_s)\times 100$$

Donde:

$P_f$ = Peso fresco total de los cuerpos fructíferos producidos.

$P_s$ =Peso seco del sustrato utilizado para el cultivo

### II. Métodos de análisis:

Cuantificación de proteínas por método de Lowry:

--Reactivos:

A)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2% en NaOH 0.1M

B<sub>1</sub>)  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  1%

B<sub>2</sub>) Tartrato de Sodio-Potasio 2%

C) A+B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub> (50:0,5:0,5)

D) Reactivo de Folin-Ciocalteu 1:4

E) Patrón de albúmina bovina (BSA) 2mg/ml

--Procedimiento:

a) Numerar tubos de ensayo del 1 al 8.

b) Preparar el reactivo C, a partir de A, B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>.

c) Pipetear las cantidades de agua, solución patrón de albúmina y solución problema señaladas en la siguiente tabla:

Tubo	H <sub>2</sub> O Destilada	BSA	Muestra Problema	Reactivo C	Folin
1	1 ml	0 ml	-	5 ml	0,5 ml
2	0,9 ml	0,1 ml	-	5 ml	0,5 ml
3	0,8 ml	0,2 ml	-	5 ml	0,5ml
4	0,7 ml	0,3 ml	-	5 ml	0,5 ml
5	0,6 ml	0,4 ml	-	5 ml	0,5 ml
6	0,5 ml	0,5 ml	-	5 ml	0,5 ml
7	0,99 ml	-	0,01 ml	5 ml	0,5 ml
8	0,99 ml	-	0,01 ml	5 ml	0,5 ml

d) Agregar a todos los tubos el reactivo C. Mezclar el contenido y dejarlo reposar 15 minutos en oscuridad.

e) A continuación añadir a todos los tubos el reactivo de Folin-Ciocalteu mezclando por agitación. Dejar reposar 30 minutos en la oscuridad.

f) Leer las absorbancias en espectrofotómetro a 580 nm; No olvidar ajustar a 0 utilizando el blanco.

## Cuantificación de hexosas por reactivo de Antrona.

-- Reactivos:

-Antrona 0,2% en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado.

-Stock de glucosa 500mg/L.

-- Procedimiento:

1- Numerar tubos de ensayo del 1 al 6.

2- Colocar en los tubos las cantidades de stock, agua destilada y muestra problema mostrados en la siguiente tabla:

Tubo	Stock	Agua destilada	Muestra Problema	Reactivo antrona
1	0 ml	10 ml	-	2 ml
2	1 ml	9 ml	-	2 ml
3	2,5 ml	7,5 ml	-	2 ml
4	5 ml	5 ml	-	2 ml
5	7,5 ml	2,5 ml	-	2 ml
6	-	9,9 ml	0,1 ml	2 ml

3- Colocar los tubos en baño de hielo por 45 minutos.

4- Agregar el reactivo de antrona por goteo y agitar en el baño de hielo. Tapar los tubos.

5- Poner los tubos a baño María a 92°C por 8 minutos.

6- Regresar al baño de hielo para detener la reacción.

7- Leer en espectrofotómetro a 620 nm. Calibrar con el blanco.

## Determinación de Fenoles

-- Reactivos:

- Reactivo Folin-Ciocalteu 0,2 N (1:10)

- Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10%

- Etanol 10%

- Stock de ácido gálico 500 mg/l. Preparar máximo 2 semanas antes.

--Procedimiento:

1- Numerar tubos del 1-6

2- Colocar las cantidades de ácido gálico, etanol, reactivo de Folin-Ciocalteu y muestra problema que se indican en la siguiente tabla:

Tubo	Ácido gálico	Etanol 10%	Reactivo Folin-Ciocalteu	Muestra Problema	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 10%
1	0 µl	100 µl	1,5 ml	-	1,2 ml
2	30 µl	70 µl	1,5 ml	-	1,2 ml
3	50 µl	50 µl	1,5 ml	-	1,2 ml
4	70 µl	30 µl	1,5 ml	-	1,2 ml
5	80 µl	20 µl	1,5 ml	-	1,2 ml
6	-	50 µl	1,5 ml	50 µl	1,2 ml

3- Se deja reposar el contenido de los tubos por 10 minutos. Luego, se agrega por goteo el Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, mezclando por agitación.

4- Se dejan reposar los tubos por un periodo de 2 horas a temperatura ambiente o 30 minutos calentando a 40°C.

5- Se lee la absorbancia en espectrofotómetro a 765nm. Calibrar con el blanco.

### III. Fotografías



Figura 10.1 – Placa de Agar Malta Sembrado

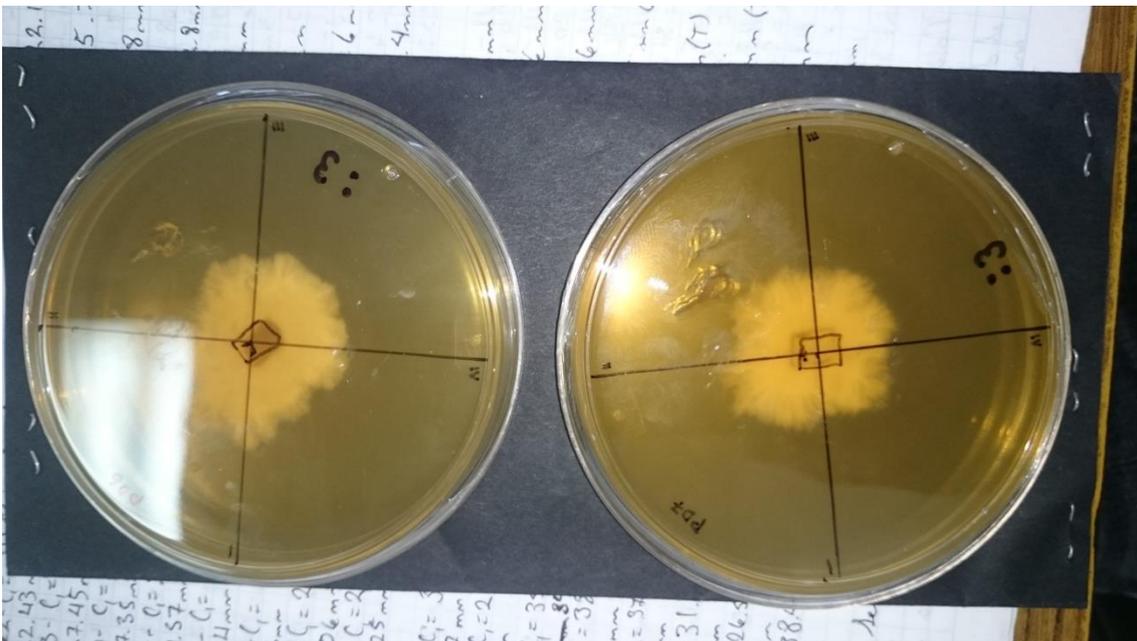


Figura 10.2 – Placa de Agar Papa-Dextrosa sembrado. Se observan las líneas de cuadrante sobre las cuales se hicieron las mediciones de cobertura.

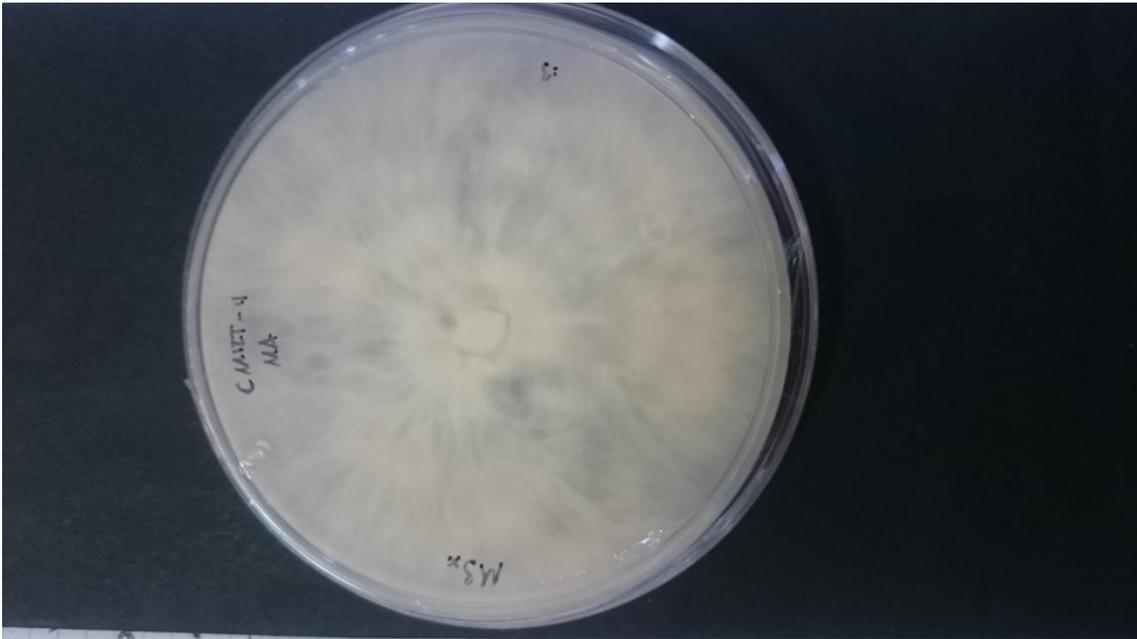


Figura 10.3 – Placa de agar malta con cobertura total. A partir del mismo se hicieron resiembras.

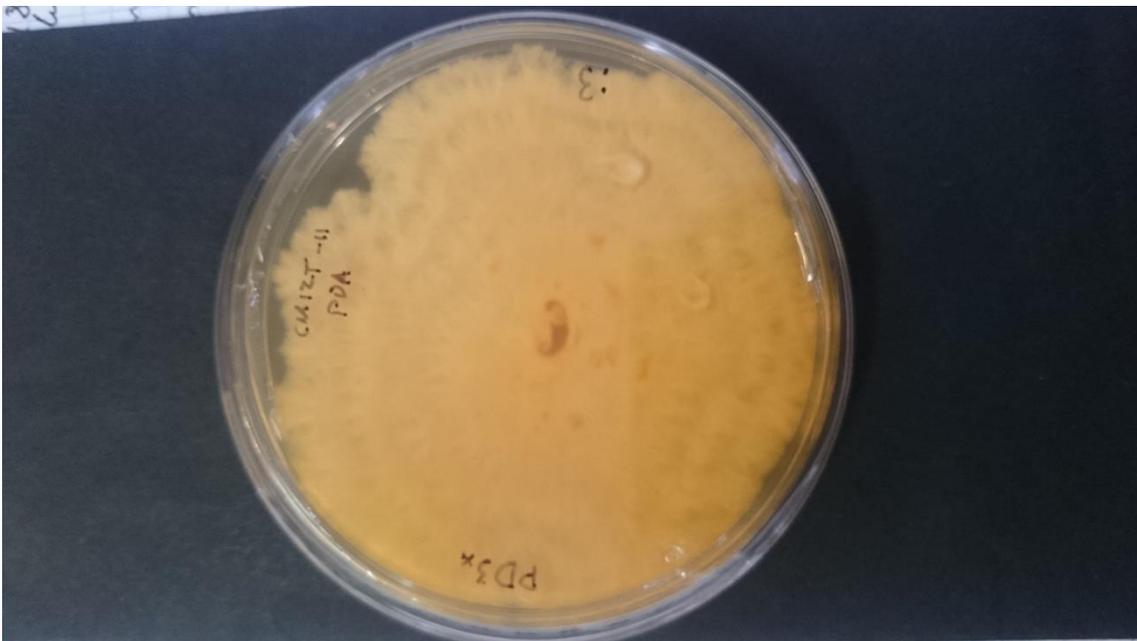


Figura 10.4 – Placa de Agar papa-dextrosa con cobertura casi completa.

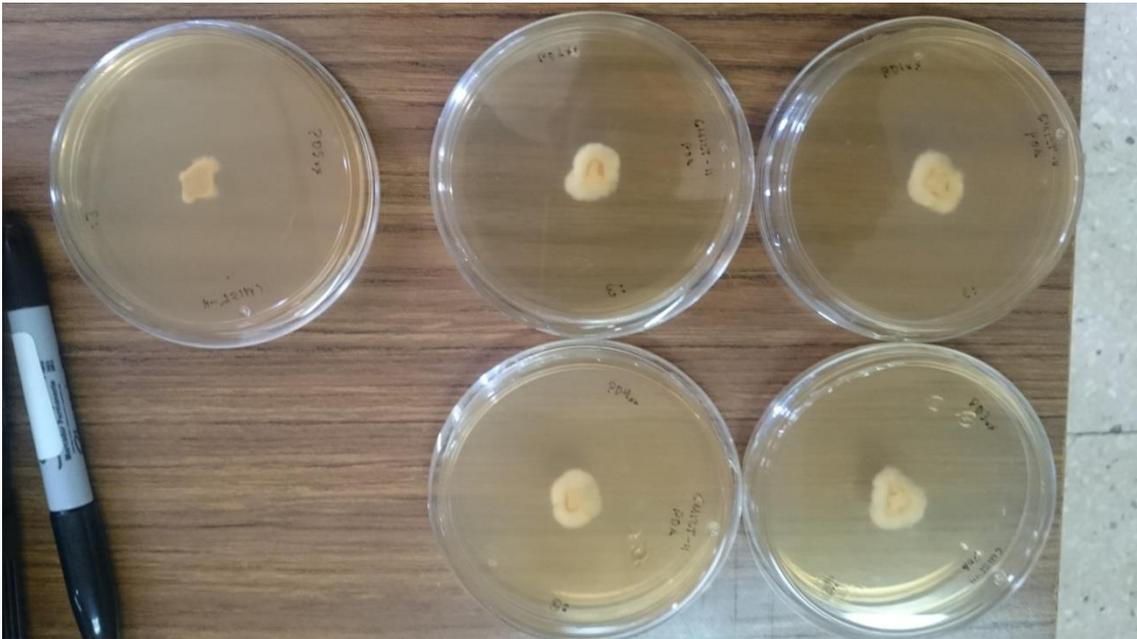


Figura 10.5 – Placas de Agar malta de resiembra.



Figura 10.6 – Bolsas de paja y de hojarasca de fresno en fase luminosa. Se observa un primordio en la bolsa posterior.



Figura 10.7 – Bolsas de Fresno y paja con varios primordios visibles.



Figura 10.8 – Bolsas de Fresno recién salidas de la fase de incubación.



Figura 10.9 – Bolsas de Almez en fase de incubación.



Figura 10.10 – Bolsas de Paja en fase de crecimiento. Algunas ya presentan primordios.



Figura 10.11 – Sistema de goteo utilizado para el riego de las bolsas de sustrato.



Figura 10.12 – Carpóforo obtenido de una de las bolsas de paja.



Figura 10.13 – Carpóforos emergiendo por una de las ventilas de la bolsa de sustrato.



Figura 10.14 – Carpóforos recién cosechados.



Figura 10.15 – Curva patrón de tubos utilizados para la cuantificación de hexosas por reactivo de antrona.

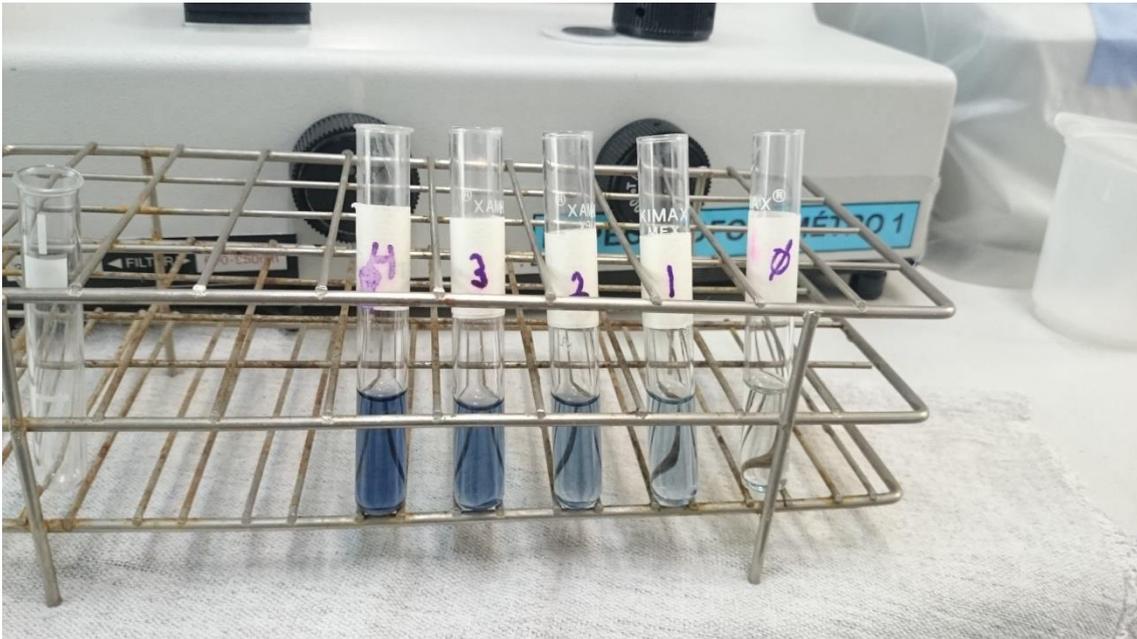


Figura 10.16 – Patrón de tubos utilizado para la técnica de conteo de fenoles.



Figura 10.17 – Espectrofotómetro utilizado para las mediciones colorimétricas.

#### IV. Glosario

1. **Anemocoria:** Dispersión de propágulos mediante el viento.
2. **Cárnico:** Alimento procedente de la carne.
3. **Cepa:** Población de células provenientes de una sola célula madre.
4. **Fenología:** Efecto que causan los factores ambientales en el desarrollo de un organismo.
5. **Haploide:** aquella célula que presenta en su núcleo una serie simple de cromosomas.
6. **Homocariótico:** Que posee núcleos genéticamente iguales.
7. **Inóculo:** Conjunto de microorganismos transferidos a un medio.
8. **Lignocelulósico:** Que contienen en su estructura celular lignina y celulosa.
9. **Meiosis:** Modo de reproducción en el cual los cromosomas se reducen a la mitad.
10. **Multinucleado:** Que posee más de un núcleo dentro de una sola célula.
11. **Oviposición:** Puesta de huevecillos.
12. **Píleo:** Sombrero del hongo, en el cual se encuentran las laminillas.
13. **Rastrojo:** Residuos procedentes del cultivo.
14. **Saprophyto:** Organismo que obtiene su sustento a partir de la descomposición de restos vegetales o animales.
15. **Sésil:** Que no tiene la capacidad de moverse por sí mismo al carecer de medios de locomoción propios.