



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**APORTACIONES PARA CONFORMAR TALLER DE
CULTIVO DE HONGOS COMESTIBLES EN
INTERNADO DE NIÑOS INDÍGENAS DE OAXACA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

PALACIOS HERNÁNDEZ ADRIÁN RAFAEL



**DIRECTOR DE TESIS: Dr. HERMILO LEAL LARA
2010**



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.

El presente trabajo fue realizado bajo la dirección del Dr. Hermilo Leal Lara en: el laboratorio 324 del Departamento de Alimentos y Biotecnología, de la Facultad de Química de la UNAM; un cuarto de cultivo y un laboratorio, con instalaciones mínimas pero funcionales, desarrollados por el autor en la ciudad de México; instalaciones fabricadas por el autor en el Centro de Integración Social No. 8 de Zoogocho, Villa Alta, Oaxaca.

Este trabajo se desarrolló gracias al financiamiento de la Psic. Emma Soto Feria, la familia Palacios-Hernández, la familia Soto-Feria y el Autor, además del decidido apoyo del Prof. Natalio Carrillo y la dirección del Centro de Integración Social No. 8. de la comunidad de San Bartolomé Zoogocho, Villa Alta, Oaxaca.

AGRADECIMIENTOS

El éxito y culminación de un trabajo involucra el esfuerzo y constancia de innumerables personas, quienes directa e indirectamente contribuyen en diferentes aspectos a la realización del mismo, que sin su apoyo no sería posible.

Agradezco al Dr. Hermilo Leal Lara, mi director de tesis, por haber dirigido este trabajo, por todo su apoyo, asesoría, toda su paciencia y sobre todo su amistad.

A la M. en B. Rebeca Ramírez Carrillo, por toda su amistad, invaluable asesoría, consejos, la revisión y corrección del trabajo, el apoyo incondicional brindado durante todo este tiempo y por aceptar ser parte del jurado.

A la Bióloga Lilia Pérez Ramírez, por su invaluable ayuda en la identificación de algunos de los ejemplares recolectados, así como la revisión y corrección del trabajo, sus valiosos comentarios que permitieron mejorar el presente trabajo y por aceptar ser parte del jurado.

A los doctores Ángel Moreno y Sigfrido Sierra por sus invaluable sugerencias en la revisión y correcciones que permitieron mejorar el presente trabajo y por aceptar ser parte del jurado.

Agradezco infinitamente a la Psic. Emma Soto Feria, la familia Palacios-Hernández, la familia Soto-Feria, el Prof. Natalio Carrillo y el apoyo de los Profesores Francisco Sigüenza, Ismael Méndez y Hortensia Domínguez de la Dirección del Centro de Integración Social No. 8., del año 1992 al 2007, sin el cual este trabajo y logros serían difíciles de alcanzar.

Un agradecimiento especial a las Familias: Robles, Hernández Maqueo, González, Carrillo, Cruz y Ríos de Zoogocho; Guzmán Domínguez y Domínguez García de Tavehua, Ramírez de Capulalpam y González de Oaxaca, por la hospitalidad, el gran apoyo que nos han brindado y, sobre todo, por su gran amistad.

DEDICATORIA

Para Emmita, “mi cómplice y todo” por el apoyo incondicional en la tarea de brindarles a los niños (de esas comunidades aisladas en un mar de conocimientos, en este mundo tan lleno de posibilidades y promesas), los elementos suficientes para que, por sus propios medios, encuentren oportunidades de desarrollo sin perder su esencia.

Para mis padres, Doña Fran y Don Rafa, mis hermanos Felipe, Araceli, Gerardo y Sergio, por todo lo que significan en mi vida.

Para los niños de la sierra: Queremos que descubran que la ciencia forma parte de su vida cotidiana y que su aprendizaje puede ser algo divertido. Rompamos con los mitos en torno al quehacer científico y convirtámoslo en una aventura. Y que sobre todo “nunca olvidemos nuestras raíces y nuestra identidad”

Para mi amigo el Biólogo Hugo Barba, cuyo apoyo y compañía en los inicios de este trabajo fue muy importante

Índice

- Resumen
- 1.0 Introducción
- 2.0 Antecedentes
 - 2.1 Centro de Integración Social No. 8
 - 2.2 Hongos comestibles
 - 2.3 Hongos medicinales
 - 2.4 Hongos comestibles cultivados
 - 2.5 Hongos comestibles silvestres en México
 - 2.6 Cultivo de hongos en México
 - 2.7 Biología de los hongos
 - 2.7.1 Sistemas de compatibilidad sexual en los basidiomicetos
 - 2.8 Controversia taxonómica en basidiomicetos y en particular el género *Pleurotus*
 - 2.9 Perspectivas de mejoramiento genético en el cultivo de hongos comestibles
 - 2.9.1 Desdicariorización natural
 - 2.9.2 Desdicariorización artificial
- 3.0 Justificación
- 4.0 Objetivos
- 5.0 Materiales y métodos
 - 5.1 Material biológico
 - 5.2 Medios de cultivo
 - 5.2.1 Extracto de malta agar (EMA) y extracto de malta agar ampicilina (EMAA)
 - 5.2.2 Papa dextrosa agar (PDA) y harina integral de trigo agar (HITA)
 - 5.2.3 Medios líquidos para desdicariorizar
 - 5.3 Fungicida de contacto
 - 5.4 Ubicación de las zonas de recolecta
 - 5.5 Trabajo de campo, recolecta y entrevistas
 - 5.6 Aislamiento de tejido micelial de material silvestre
 - 5.7 Propagación de cepas
 - 5.8 Desdicariorización de cepas dicarióticas de *Pleurotus* spp., y clasificación de monocariotes (neohaplontes) en sus tipos de compatibilidad
 - 5.8.1 Desdicariorización de cepas de *Pleurotus* spp.
 - 5.9 Clasificación de neohaplontes en los 2 tipos de compatibilidad
 - 5.10 Recuperación y análisis de progenie monospórica de cepa dicariótica de *Pleurotus* spp.
 - 5.11 Evaluación del desarrollo micelial de cepas experimentales en diferentes medios de cultivo
 - 5.11.1 Desarrollo micelial en EMA para cepas, L 9, L 10 y L 11 de *Lentinula edodes*
 - 5.11.2 Desarrollo micelial y cuantificación de biomasa de las cepas G 1, G 7, G 10, de *Ganoderma* spp., NL 18 de *Neolentinus ponderosus*, NL 21 de *N. lepideus* y L 5 de *Lentinula edodes* en los medios EMA, PDA y HITA

Índice (continuación)

- 5.12 Preparación de inóculo
 - 5.12.1 Inóculo de trigo y mijo
 - 5.12.2 Inóculo en taquetes de madera para *Lentinula edodes*
 - 5.13 Cultivo de *Lentinula edodes* en troncos de encino
 - 5.14 Cultivo de *Ganoderma* spp., *Neolentinus lepideus*, *N. ponderosus*, *Lentinula edodes* y *Pleurotus* spp., en laboratorio
 - 5.15 Cultivo de cepas silvestres y comerciales en condiciones rústicas
 - 5.15.1 Adaptación de casas de adobe como cuarto de cultivo
 - 5.15.2 Sustrato tratado térmicamente por inmersión en agua caliente
 - 5.15.3 Sustratos preparados por tratamiento térmico con vapor
 - 5.15.3.1 Cultivo de *Pleurotus* spp.
 - 5.15.3.2 Cultivo de *Lentinula edodes* (L 5) y *Neolentinus lepideus* (NL 21) en viruta de *Pinus* sp., (c/s fungicida sistémico "Benlate")
 - 5.16 Taller de Capacitación
- 6.0 Resultados
- 6.1 Recolecta, identificación, recuperación de usos y nombres en zapoteco de material silvestre de la Sierra Norte de Oaxaca
 - 6.2 Aislamiento de tejido micelial de material silvestre
 - 6.3 Cultivo de *Lentinula edodes* en troncos de encino en el internado de Zoogocho
 - 6.4 Evaluación sobre la potencialidad de cultivo de especies silvestres en condiciones de laboratorio
 - 6.4.1 Evaluación de crecimiento micelial y cuantificación de biomasa de cepas de *Ganoderma* spp.: G 1, G 7 y G 10
 - 6.4.2 Evaluación de crecimiento micelial y cuantificación de biomasa de cepas de *Neolentinus*: NL 18 y NL 21 y *Lentinula*: L 5
 - 6.4.3 Evaluación de crecimiento micelial, de diferentes cepas, en semillas
 - 6.4.4 Fructificación en desechos agrícolas y forestales de cepas seleccionadas
 - 6.4.4.1 *Ganoderma*
 - 6.4.4.2 *Neolentinus* y *Lentinula*
 - 6.4.4.3 *Pleurotus* spp.: IA, Pfl y PO
 - 6.4.5 Mejoramiento genético por descariotización de cepas de *Pleurotus* spp.
 - 6.4.5.1 Procedimientos para la descariotización de cepas dicarióticas IA y Pfl
 - 6.4.5.2 Identificación de los 2 tipos de componentes monocarióticos (neohaplontes) de la cepa Pfl de *Pleurotus* sp.
 - 6.4.5.3 Identificación de los 2 tipos de componentes monocarióticos (neohaplontes) de la cepa IA de *Pleurotus* sp.

Índice (continuación)

- 6.4.5.3.1 Obtención de micelio monocariótico monospórico y reacciones de compatibilidad sexual del micelio monospórico (pm) y del componente neohaplonte de la cepa parental IA (nh1) de *Pleurotus* sp.
- 6.4.5.3.2 Resultado de apareamientos entre las cepas de referencia (pmIA) con el componente neohaplonte de la cepa parental Pfl (nhPfl) y los neohaplotones de la cepa parental IA (nhIA)
- 6.4.5.3.3 Resultado de apareamientos entre cepas de referencia (pmIA), el neohaplonte de la cepa IA (nhIA), los neohaplonte de la cepa Pfl (nhPfl) y una colección de cepas monocariotes de *P. ostreatus*
- 6.5 Cultivo sobre sustratos tratados térmicamente por inmersión en agua caliente y por vapor, en condiciones rústicas
 - 6.5.1 Cultivo sobre sustratos tratados térmicamente por inmersión en agua caliente
 - 6.5.2 Cultivo sobre sustratos tratados térmicamente con vapor
 - 6.5.2.1 Cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Pfl) y *P. pulmonarius* (IA)
 - 6.5.2.2 Cultivo de *Neolentinus lepideus* (NL 21)
 - 6.5.2.3 Cultivo de *Lentinula edodes* (L 5)
- 7.0 Taller de capacitación, avances y resultados
- 8.0 Discusión
- 9.0 Conclusiones
- 10.0 Anexos
- 11.0 Bibliografía

Resumen

Esta serie de trabajos y la conformación de material didáctico forman parte de la estrategia con la que se pretendió establecer, formalmente, un taller gratuito de capacitación en el cultivo de hongos comestibles en el Centro de Integración Social No. 8, en la Sierra Norte de Oaxaca de 1992 al 2007. El trabajo se desarrolló en varias partes:

- La recolecta de ejemplares silvestres tuvo la intención de conocer parte de la riqueza fúngica de esta zona, como reconocen, nombran a los hongos y los usos que dan a algunas especies los habitantes de estas comunidades, así como obtener cepas de algunos ejemplares para iniciar un banco de germoplasma, para su posterior uso en investigación.
- Previo al inicio del cultivo en condiciones rústicas se desarrolló un experimento de mejoramiento genético, mediante desdicarriotización química y obtención de neohaplontes de 2 cepas de *Pleurotus* spp., (IA y Pfl) para, posteriormente, realizar apareamientos con la intención de obtener un híbrido adecuado para el cultivo en condiciones rústicas.
- Se desarrollaron algunas pruebas en laboratorio y otras bajo condiciones rústicas para evaluar el potencial de cultivo, sobre troncos de encino y/o esquilmos agrícolas y forestales, de especies silvestres y comerciales de *Ganoderma* spp., *Neolentinus ponderosus*, *N. lepideus*, *Lentinula edodes* y *Pleurotus* spp.

Como resultado de este trabajo se logró conformar un banco de imágenes e información de las diferentes actividades que se desarrollaron. Con las imágenes y la explicación de las técnicas, en un lenguaje sencillo, se elaborará material didáctico que servirá para futuros cursos de capacitación. Sobre la base de los conocimientos que existen sobre el cultivo de hongos y utilizando técnicas prácticas, lo más sencillas posible, se intentó facilitar que estos niños y niñas comprendieran, manejaran y se apropiaran de estos conocimientos, para que en un futuro, de ser posible, ellos sean capaces de desarrollar y transmitir estos conocimientos a otras personas.

1.0 Introducción

La Sierra Norte de Oaxaca es una de las zonas, reconocidas mundialmente, con una gran variedad de climas que van desde zonas áridas, tierras agrícolas, bosques mixtos, bosques de coníferas y en las partes altas se localizan pastizales subalpinos. La humedad proveniente del Golfo de México irriga esta vasta región que posee una increíble diversidad biológica, con la cual han interactuado, durante muchos siglos, las comunidades chinantecas, mixes y zapotecas (Dávila *et al.*, 1997).

No obstante los vastos recursos naturales y culturales que poseen estas comunidades continúan siendo de las poblaciones más pobres y marginadas de México. En esta región sólo algunas comunidades han logrado organizarse como unidades de aprovechamiento forestal, pero únicamente aprovechan la madera de pino en rollo. No obstante que existen encinos, éstos sólo se utilizan para producir carbón o leña, además de considerarlos plaga pues son competidores de espacio con el pino. Debido a esto, cada determinado tiempo realizan “aclareos de encino”, para permitir un mejor desarrollo de los pinos, quedando la madera de encino subutilizada¹. Por otro lado, en los aserraderos se observan los grandes cúmulos de viruta y aserrín que quedan como basura, con el consabido problema de la lenta degradación y el no saber qué hacer con los desechos, pues no existe un lugar lejos donde tirarlos.

No obstante que en esta sierra oaxaqueña existe una gran diversidad de hongos silvestres, para 1993 aún no se habían realizado muchas investigaciones formales, es por ello que no se contaba con antecedentes sobre los actuales usos que los habitantes de esta zona dan a los hongos. Consideramos que en estas comunidades aún existen personas que conservan la tradición de recolectar hongos y saben reconocerlos como alimento y tal vez como medicina. Pero, tal parece, esta tradición se está perdiendo rápidamente junto con el bosque.

Como una forma de aportar un grano de arena en la solución de esta vasta problemática se decidió iniciar un pequeño estudio sobre los hongos silvestres de esta sierra oaxaqueña y los usos que les dan los pobladores. A lo largo de varios años de interactuar con algunas personas de diversas comunidades, se notó el interés que despertaba el conocer cómo se cultivan los hongos comestibles. Sin embargo, asistir a cada comunidad para brindarles cursos de cultivo era complicado, debido principalmente

¹Gabriel Contreras (SEMARNAT), marzo de 1993. Com. Pers.

a la falta de recursos del autor y la dispersión de comunidades en la montaña. Por otro lado, el que ellos asistieran a una comunidad a recibir un curso también se dificultaba, ya que tenían que ausentarse varios días de su comunidad, caminar entre 3 y 4 días en la montaña para llegar al pueblo donde se podría dar el curso y la mayoría de los interesados no contaba con recursos suficientes para asistir al curso y proveer de alimentos a su familia. Sin embargo, si no era posible capacitar a estas personas, existía la posibilidad de capacitar a los hijos de éstos, que asisten a un internado de nivel básico (Centro de Integración Social No. 8 “C. I. S. No. 8”), en San Bartolomé Zoogocho, distrito de Villa Alta; Zoogocho es una comunidad zapoteca dedicada a la agricultura y el comercio, se encuentra ubicada al Noreste de la Ciudad de Oaxaca y es una comunidad estratégica, tanto que varias comunidades aledañas son reconocidas como el “Sector Zoogocho”.

Este centro de nivel primaria funciona como internado y recibe a niños y niñas de escasos recursos de todas las comunidades de la región (figura 1). Los estudiantes provienen de las etnias chinanteca, mixe y zapoteca. Ellos además de recibir la educación formal, se capacitan en talleres de oficios propios de la zona, como elaboración de pan, huaraches y uno de los talleres que por sus características es sobresaliente ha sido la música.



Figura 1. Alumnos del Centro de Integración Social No. 8

Para el desarrollo de esta nueva actividad el director del C.I.S. No. 8 dio las primeras facilidades para iniciar y establecer, formalmente, un taller gratuito de capacitación en el cultivo de hongos comestibles. De lograr que estos niños y niñas se apropien de estos conocimientos estaremos generando (a corta edad) capital humano con un alto potencial técnico. Esperamos que cuando ellos retornen a su comunidad sean capaces de transmitir estos conocimientos a sus familiares y logren desarrollar el cultivo de hongos en condiciones rústicas. De lograrlo, estarán aprovechando sus desechos agrícolas y forestales que, muchas de las veces sólo quedan como basura, logrando así obtener, además de un producto de alto valor alimenticio, un buen abono orgánico que tanta falta hace a sus tierras de cultivo.

Algunos de los siguientes trabajos y experimentos se desarrollaron de manera simultánea; parte de los experimentos se realizaron en el Internado de Zoogocho, otros experimentos se efectuaron tanto en el Laboratorio 324 del Departamento de Alimentos y Biotecnología, de la Facultad de Química de la UNAM, así como en un cuarto de cultivo y un laboratorio, con instalaciones mínimas pero funcionales, desarrollados por el autor en la ciudad de México.

Con el trabajo realizado se pretendió:

- Obtener información sobre hongos silvestres que aún conservan personas de algunas comunidades indígenas de la Sierra Norte de Oaxaca.
- Aislar germoplasma de variedades silvestres para fines de investigación.
- Realizar pruebas experimentales para evaluar el potencial de cultivo de variedades silvestres de hongos comestibles y medicinales.
- Obtener, mediante el método de desdicarización química y apareamiento, cepas del genero *Pleurotus* con propiedades adecuadas al cultivo en condiciones rústicas.
- Desarrollar material didáctico que servirá para futuros cursos de capacitación en este taller de capacitación para niños y niñas.

2.0 Antecedentes

2.1 Centro de Integración Social No. 8

El Centro de Integración Social número 8 (C. I. S. No. 8) es una escuela primaria, tipo internado, que se estableció en la población de San Bartolomé Zoogocho en el año de 1952. Las actuales instalaciones fueron inauguradas en mayo de 1967 y beneficia de cuarenta a cincuenta comunidades indígenas pertenecientes a las etnias: chinanteca, mixe y zapoteca. Esta escuela la dirige el Instituto Estatal de Educación Pública de Oaxaca (IEEPO), perteneciente a la Dirección de Educación Indígena de la Secretaría de Educación Pública.

El objetivo principal de este centro es proporcionar educación básica a niños y jóvenes, al mismo tiempo que se les capacita en diferentes oficios como son: agricultura, carpintería, herrería, corte y confección, talabartería y música. Estos talleres los toman los niños según sus intereses, habilidades y desarrollo físico y mental.

Las actividades escolares, de lunes a viernes, están organizadas de tal forma que las clases de primaria se alternan con los talleres y otras actividades en un horario de las 9:00 a 13:00 y de 15:30 a 19:30 horas.

Los talleres cuentan con: su propio espacio, infraestructura básica (aunque vieja y en mal estado), mesas de trabajo, maquinaria y herramientas elementales para la producción. Estos talleres reciben recursos de la dirección escolar, dichos recursos, aunque limitados, son dirigidos a aquellos talleres en donde se demuestra buen resultado del aprendizaje de los niños.

En cada taller existen objetivos particulares que se centran en el quehacer práctico, otros en el conocimiento técnico, pero todos se encuentran enfocados al desarrollo de habilidades para capacitarse en una actividad productiva, basada en el arraigo y valores culturales.

La organización de estos talleres es algo muy particular; los alumnos eligen por votación abierta, entre ellos mismos, quién llevará la responsabilidad del manejo de los recursos, en la organización se ve reflejado su acervo cultural democrático, así eligen:

- Un presidente, que se hará responsable de la administración de inventario de las materias primas, productos elaborados, nuevas compras de materiales y herramientas, venta de productos o servicios y ganancias obtenidas.

- Un tesorero, que será el responsable del manejo de los recursos económicos con que cuenta el taller.
- Un secretario, cuya responsabilidad es interactuar con el presidente y el tesorero para llevar un registro escrito de las actividades del taller (entradas y salidas). Al final redacta un informe escrito, el cual tiene que leer, al final del curso frente a toda la escuela, en una asamblea general. Esto tiene la intención de llevar una administración sana de cada uno de los talleres.
- Un jefe de equipo, responsable del orden y de que todos los miembros realicen adecuadamente el aseo del taller.

Los maestros, encargados de los diferentes talleres, mencionaron que tenían algunas dificultades con el desarrollo de las actividades: herramientas y maquinaria vieja o en mal estado; recursos económicos limitados; falta de capacitación, ya que la mayoría habían sido elegidos para impartir los talleres sobre la base de un conocimiento de las técnicas, pero éste era muy incipiente. No contaban con un programa de superación docente (capacitación o actualización en el ámbito de su actividad); no tenían muy claro “el modelo de capacitación para el trabajo”, sin embargo, hacían su mejor esfuerzo considerando que, si a los niños no les gustaba estudiar, pero les gustó lo que aprendieron en el taller puedan aplicarlo y dedicarse a una actividad productiva que les ayudaría a tener un mejor futuro. No obstante, los talleres carecían de un programa educativo con visión administrativa que permitiera a los egresados el desarrollo de empresas que pudieran atender las necesidades del mercado de la zona de Villa Alta².

²Francisco Sigüenza (CIS No. 8), abril de 1993. Com. Pers.: toda esta información fue recabada en conversaciones con el director y profesores del internado de Zoogocho.

2.2 Hongos comestibles

Desde tiempos remotos los seres humanos han utilizado los hongos como un alimento muy estimado por tener aromas y sabores para satisfacer al gastrónomo más exigente. Pero si bien a muchas personas les gustan los hongos, también llegan a abstenerse de comerlos por la probabilidad de consumir alguna especie tóxica. Aunque el número de especies comestibles es abundante, es muy importante saber distinguir y seleccionar las especies comestibles de las venenosas.

El término hongo comestible se aplica a la estructura que resulta de la fase reproductora conocida como: seta, cuerpo fructífero, carpóforo, esporóforo, nanacatl o nanacate (en náhuatl), bi'a (en la variante del zapoteco de la zona de Zoogocho); las cuales pertenecen a especies cuyo consumo no provoca algún grado de intoxicación para el ser humano. Hasta la fecha el desconocimiento de las distintas especies comestibles y el temor al envenenamiento sigue creando desconfianza y ahuyenta a los posibles consumidores.

Una creencia popular tan generalizada, como falsa, es que tan sólo con cocer los hongos silvestres con algún objeto de plata o una cebolla es suficiente para saber si es comestible; si la plata o la cebolla se ennegrece el hongo es peligroso; si por el contrario el color, de la plata o cebolla, no se torna oscuro, el hongo se podrá consumir sin preocupación. Las investigaciones de micólogos especializados han demostrado que esta prueba no es confiable; ya que muchos hongos inofensivos, durante la cocción, ennegrecen la plata o la cebolla y otros muy venenosos no alteran el color; los alcaloides (que son los principios venenosos en algunas especies de hongos) no alteran el color de la plata y la cebolla. El cambio de color se debe al ácido sulfhídrico, que poseen productos tan inofensivos como los huevos que al ser cocidos con un objeto de plata, también la oscurecerán.

Los hongos silvestres comestibles no siempre están a la disposición del consumidor, por ser un producto temporal; aparecen sólo en época de lluvia; hay que ir a buscarlos a las zonas boscosas y no siempre se les encuentra, incluso hay épocas en que la sequía reduce mucho el crecimiento, por lo que se tornan muy escasos.

El desarrollo de la investigación, en el cultivo de hongos, ha propiciado la obtención de algunas variedades que, al ser cultivadas será posible disponer de éstas en cualquier época del año, sin riesgo de que sean venenosas (Leal-Lara, 1985).

2.3 Hongos medicinales

En general, para México, poco se conoce del uso tradicional de hongos para usos terapéuticos. Guzmán (1994) publicó un trabajo sobre líquenes y hongos en la medicina tradicional indígena y Pérez-Silva *et al.* (1988) publicaron sobre los usos de *Pycnoporus sanguineus* para curar erupciones cutáneas y eliminar mezquinos de la piel. Galván *et al.* (1998) mencionan que en cuestiones medicinales los basidiomicetos son los mejor representados y de los gasteromicetos el género *Lycoperdon* es el más usado como antibiótico, hemostático, cicatrizante, anti-inflamatorio y contra las picaduras de abeja. También menciona otras especies como *Amanita muscaria*, *Calvatia cyathiformis*, *Hexagonia hydroides* y *Lactarius indigo*, que son utilizadas con fines medicinales en algunos estados de la república: Michoacán, Morelos, Puebla, Yucatán, Estado de México y Oaxaca.

En el ámbito mundial, Hobbs (1996) hace referencia que, de aproximadamente 300 variedades de hongos silvestres y cultivados, 117 poseen propiedades terapéuticas y aunque en varias partes del mundo los hongos han sido utilizados como alimento y medicina, durante miles de años, su papel en la actual sociedad de consumo se está extendiendo todos los días. Las recientes investigaciones sobre los hongos están prometiendo, independientemente de ser un buen alimento, ser materia prima para el desarrollo de productos farmacéuticos, cosméticos, suplementos dietéticos y productos que retardan el envejecimiento, etc.

Hoy día es posible encontrar numerosos artículos científicos y de divulgación conteniendo información detallada sobre la fisiología, química, farmacología y valor medicinal, preventivo y curativo de muchos hongos. Dentro de los hongos con propiedades medicinales se encuentra *Ganoderma lucidum*, este hongo es conocido como “Reishi” en Japón y “Ling-Zhi” en China donde, durante miles de años, se ha utilizado con propósitos preventivos y curativos.

Actualmente algunos investigadores han logrado aislar de *Ganoderma* sustancias biológicamente activas con propiedades medicinales, algunas de las cuales se han utilizado como coadyuvantes en el tratamiento de cáncer (Miyazaki y Nishijina, 1981; Mizuno, 1991). Estas investigaciones, así como la divulgación de sus propiedades medicinales, han propiciado un incremento en la demanda de productos que contienen *Ganoderma*.

En el pasado *Ganoderma* se cultivó en países asiáticos utilizando troncos, lo que propiciaba que las incubaciones fueran largas, de 2 a 3 años. A partir de 1980 se han desarrollado nuevas técnicas que, utilizan bolsas ventiladas conteniendo aserrines de diferentes maderas suplementados con: salvado de arroz, cáscara de arroz, fibra de coco, cáscara del cacahuate o bagazo de la caña de azúcar, todo esterilizado. Esta técnica reduce sustancialmente el tiempo de cosecha (Triratana *et al.*, 1991).

En México, el estudio y cultivo de cepas silvestres nativas ha tenido poco desarrollo, así como el desarrollo de técnicas de cultivo acordes con las condiciones de cada zona y sustratos que ahí se producen.

2.4 Hongos comestibles cultivados

Los hongos comestibles cultivados son aquellos cuyos cuerpos fructíferos se obtienen como resultado de la domesticación de especies silvestres. Esto se logra mediante un proceso tecnificado, con base en condiciones controladas, que asemeja las condiciones naturales en las que estos organismos se desarrollan normalmente.

De las más de 2000 especies de hongos comestibles en el mundo, sólo unas 25 son consumidas ampliamente (Chang, 1982). Entre los hongos cultivados actualmente, la mayoría de ellos pertenecen a 6 géneros: *Agaricus*, *Lentinula*, *Volvariella*, *Flammulina*, *Auricularia* y *Pleurotus* (Chang y Miles, 1989). Sin embargo, no todos los hongos silvestres comestibles pueden cultivarse, debido a que algunos se desarrollan asociados a las raíces de árboles y arbustos (hongos micorrizógenos) (Moore-Landecker, 1996). Los hongos saprófitos que se han logrado aislar presentan complicaciones técnicas como son: la preparación de sustratos adecuados para cultivarlos, el control de las condiciones ambientales como: temperatura, humedad, aireación, etc., factores necesarios para el desarrollo de tan extraños y complicados organismos. De no tener, por lo menos, los conocimientos básicos sobre la biología de los hongos, los ensayos de cultivo pueden fracasar.

Varias décadas han tenido que pasar para que el cultivo del champiñón haya llegado al manejo técnico actual, pero sigue siendo un cultivo difícil. Es uno de los pocos hongos comestibles que ha alcanzado una producción mundial alta, siendo Estados Unidos, Holanda, Canadá, Taiwán y China los principales productores. No obstante, para la producción de esta especie se requieren altos costos de inversión en infraestructura y

tecnología; el cultivo rentable de champiñones requiere: inversión inicial alta, conocimiento de las técnicas del proceso de producción, abasto suficiente de sustratos, inóculo de buena calidad, además de contar con un mercado que pueda comprar toda su producción (Martínez *et al.*, 1984; Kalberer, 1989).

Por fortuna el panorama del cultivo de hongos ha cambiado gracias a muchos investigadores que han enfocado sus esfuerzos por obtener germoplasma y cultivar otras especies silvestres comestibles. Dichas especies se desarrollan en materiales lignocelulósicos y pueden ser más fáciles de cultivar. Algunos géneros como *Pleurotus* (setas), *Auricularia* (oreja de ratón), *Flammulina* y *Lentinula* (shiitake), entre otros, se han logrado cultivar en residuos agrícolas y forestales (truncos, tocones, aserrines, bagazos, pajas, cascarillas, etc.).

En el caso de *Lentinula edodes* el consumo y producción se ha incrementado notablemente, este incremento se debe principalmente a sus características nutricionales, medicinales y que se han desarrollado nuevas técnicas para el cultivo en condiciones controladas. Para esto se utilizan aserrines y otros desechos agro-industriales, los cuales son esterilizados en bolsas plásticas resistentes al calor, que además cuentan con micro-filtros de aire que facilitan el intercambio de gases. El objetivo de esta técnica es contar con una producción alta en el menor tiempo posible. Esto ha permitido obtener cosechas en 6 meses o menos, a diferencia de los 12 meses o más que se requieren para fructificar en troncos. Con esta técnica el tiempo de cosecha se reduce sustancialmente pero, el costo de mantener la humedad, temperatura, luz, ventilación y mano de obra es alto.

Tratándose de *Pleurotus* éste ha tenido mayor difusión y aceptación debido a su capacidad de crecer en desechos agro-industriales (esquilmos), además de requerir de tecnologías de fácil adaptación, tiempos cortos de incubación y fructificación, así como alta producción (Kalberer, 1989).

2.5 Hongos comestibles silvestres en México

En México el consumo de hongos forma parte del acervo cultural de la población rural, su conocimiento y uso fue muy importante en las culturas prehispánicas, sobre todo en las mesoamericanas; de tal manera constituyeron parte de una estrategia de subsistencia basada en el uso múltiple de los recursos naturales, en ciertas regiones del país aún persisten las recolectas realizadas por toda la familia con fines de autoconsumo

o comercialización. El conocimiento tradicional de los hongos comestibles se ha manifestado en el gran número de nombres comunes que diversos autores han registrado, el cual supera los 400, mismos que corresponden a cerca de 200 especies, de las cuales, aproximadamente, la mitad son micorrizógenas, lo que dificulta su cultivo y la única forma de aprovecharlas es la recolección. Estas prácticas familiares de recolección se mantienen hasta el día de hoy para obtener un producto de autoconsumo y comercialización a baja escala (Villarreal, 1995a, 1995b).

Pérez-Silva (1979), reportó que, en el altiplano mexicano, de 48 géneros y 165 especies registradas solamente 39 géneros y 87 especies eran consumidas como resultado de la recolecta y venta en los mercados locales. Por su parte, Estrada-Martínez *et al.* (2009) en un estudio realizado en 4 mercados regionales de los estados de México, Tlaxcala, Puebla y la Ciudad de México reportaron la venta y consumo de 67 especies, lo que representa, para las personas de esta región, un buen alimento que pueden recolectar o adquirir a un precio accesible y que sigue formando parte la dieta de una población con escasos recursos económicos.

Para Oaxaca, los trabajos sobre identificación y uso de hongos comestibles son escasos, como los publicados por: Herrera *et al.* (1995) donde hacen mención del potencial que tienen, para la población, los hongos comestibles y medicinales; mientras que León (1995) menciona que en el estado, de manera tradicional, se consumen 76 especies y tiene estimado que los habitantes de "la Sierra Norte de Oaxaca" consumen unas 20 de éstas; por su parte Córdova *et al.* (2002) han presentado un listado preliminar de 82 especies de hongos potencialmente comestibles en los bosques cercanos de Ixtlán; en tanto que, con el trabajo realizado por Garibay *et al.* (2006) este listado se incrementó a 96 especies, incluyendo algunos nombres en zapoteco (variante de la zona de Ixtlán) de las especies recolectadas.

Estos trabajos dan una idea de la riqueza y potencial fúngico que existe en esta región oaxaqueña. No obstante, en algunas comunidades de esta sierra los conocimientos tradicionales sobre los hongos y la riqueza de especies silvestres se están perdiendo, principalmente por la destrucción de amplias zonas forestales, la transculturación, mestizaje y emigración.

2.6 Cultivo de hongos en México

En nuestro país, a pesar de que los hongos son utilizados por diferentes grupos étnicos en alimentación, medicina, diversas festividades y prácticas religiosas no existen registros prehispánicos del cultivo de alguna especie (Guzmán, 1984). Como resultado de la investigación sobre el cultivo de hongos comestibles se tiene que, esta actividad es una valiosa alternativa para la producción de alimentos de consumo humano; a través del reciclaje de subproductos agrícolas que, además de producir un alimento de calidad se obtendrán subproductos que puedan destinarse a la alimentación de animales o biofertilizantes (Chang, 1982).

En México, a mediados de la década de los 30's, se inició el cultivo de *Agaricus bisporus* (champiñón) con cepas y técnicas europeas. En la actualidad se cultivan además de *Agaricus bitorquis*, *Pleurotus* spp., (setas) y *Lentinula edodes* (shiitake). Sin embargo, este número podría aumentar, si se utilizara la gran cantidad y diversidad de residuos agrícolas y forestales que se generan en el país (Martínez *et al.*, 1984).

Nuestro territorio cuenta con una gran riqueza micológica que no debe desperdiciarse, por ello resulta de particular importancia la utilización de especies de hongos, que sean capaces de metabolizar lignina, como es el caso de: *Lentinula*, *Neolentinus*, *Ganoderma* y *Pleurotus*, entre otros. Existen varios factores que han limitado el uso de los subproductos agro-forestales, que en su mayoría están conformados por una mezcla de polisacáridos (celulosa, hemicelulosa y lignina), sin embargo, es más bien la última asociación física que existe entre la lignina y la celulosa la causa de la resistencia a la degradación biológica. Pero, si bien es importante que estos hongos degraden lignina, también es importante que posean propiedades organolépticas adecuadas, buena productividad, presentar un buen manejo pos-cosecha y tener una vida de anaquel mayor que permita que el producto llegue en excelentes condiciones al consumidor final (Leal-Lara, 1985).

En México, muchos de los laboratorios de investigación de hongos comestibles poseen cepas de hongos comerciales, como es el caso de *Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinula* y tal vez un par más pero, muchos de ellos no cuentan con variedades silvestres, endémicas de México. Muchas de estas variedades silvestres, comestibles y medicinales, que han sido estudiadas principalmente por taxónomos no han sido aisladas para obtener

las cepas correspondientes, material con el que se podría iniciar la investigación necesaria para evaluar su potencial de cultivo (Labarère, 1998; Labarère y Menini, 2000).

En la actualidad para muchas personas interesadas en desarrollar el cultivo de hongos no existe la información técnica suficiente y difícilmente tienen posibilidad de adquirirla. Existe bibliografía sobre estos temas, pero se encuentra en un idioma diferente al español o por desgracia no se consigue fácilmente. La información basada en folletos, manuales o algunos libros, que en un momento se consiguen, son poco funcionales y muchas veces están basados en técnicas obsoletas. La información contenida en estos muchas veces es tan elemental que no permite a los futuros productores contemplar todas las condiciones que requiere el sistema de producción.

Otro detalle importante son los “técnicos”, que en los últimos años han aparecido en el campo del cultivo de hongos; algunos de estos técnicos poseen una preparación incipiente y sin embargo son capaces de involucrar a grupos de personas para “desarrollar proyectos productivos de cultivo de hongos”. Muchos de estos proyectos están destinados al fracaso, con la consecuente pérdida de cuantiosos recursos económicos y el desánimo de los involucrados. Todo esto propiciado por una mala preparación por parte de los “especialistas” que imparten los cursos de capacitación a los nuevos “técnicos” (40 horas, repartidas en una semana, de las cuales la mayoría son clases teóricas) y muchas veces “los especialistas” nunca se han enfrentado a desarrollar un cultivo ¡qué sea rentable! Esto ha provocado un círculo vicioso, en donde los más afectados son las personas que esperan que el desarrollo de este cultivo les brinde los resultados esperados. También, se ha observado que los cultivadores que poseen experiencia tienen la costumbre de ocultar información a quien se la pide, por obvias razones.

2.7 Biología de los hongos

Hasta hace cierto tiempo los hongos se consideraban pertenecientes al reino vegetal, no obstante que ellos son incapaces de realizar fotosíntesis, debido a la carencia de clorofila, por lo que su alimentación depende de metabolizar la materia orgánica producida por otros organismos (figura 2).

ABSORCIÓN Y DIGESTIÓN DE UN HONGO

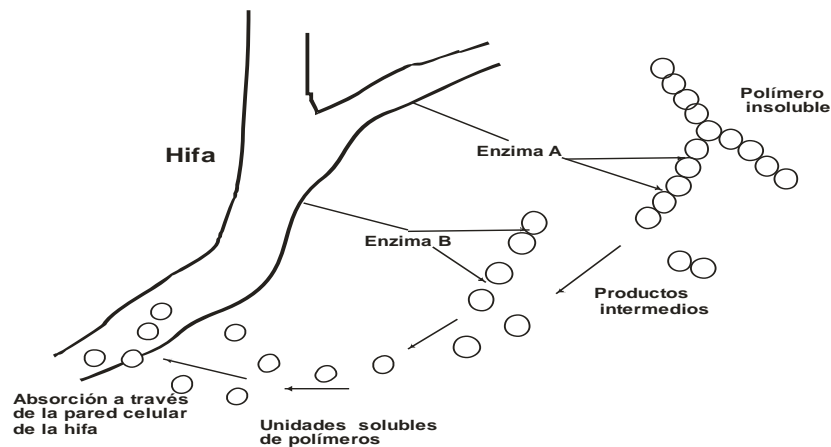


Figura 2. Esquema del sistema de alimentación de un hongo

Los hongos, son “el fruto que dará las semillas para la generación de nuevos hongos”. Estos hongos están formados por millones de células, llamadas hifas; pequeños filamentos en forma de tubo. Las hifas al desarrollarse forman una masa algodonosa, la cual técnicamente se conoce con el nombre de micelio. Estas células microscópicas son las que se encargan de degradar la materia orgánica para alimentarse. En el caso de los hongos degradadores de madera, la hojarasca, ramas y troncos de árboles muertos son el mejor alimento.

Las plantas utilizan la energía del sol, la transforman y almacenan para desarrollarse y producir sus hojas, frutos y semillas para la reproducción. Los hongos, al no absorber la luz del sol para producir su alimento (esto los hace diferentes a las plantas), lo toman de la materia orgánica que se encuentra en su derredor, digiriéndola previamente antes de absorberla, así obtienen energía y nutrientes para producir su fruto (seta, carpóforo, esporóforo, esporoma, basidioma, ascoma o cuerpo fructífero).

Durante el estado somático el micelio crece como una masa algodonosa, que algunas veces alcanzan tamaños grandes, hasta de 10 metros de diámetro. Parte de este micelio podemos observarlo si levantamos un poco de hojarasca del suelo del bosque; este material, que recibe el nombre de sustrato, sirve como una fuente alimenticia y un hogar para este tipo de hongos.

Las plantas, gracias a ciertas condiciones ambientales, producen sus frutos con semilla para reproducirse. Por analogía el micelio del hongo, después de nutrirse, produce

su esporóforo, propiciado por ciertos cambios ambientales. La disminución de alimento, un aumento rápido en la humedad relativa y una disminución en la temperatura le indican al micelio que es tiempo de reproducirse. Los hongos para su reproducción producen esporas, estructuras reproductoras análogas a las semillas de una planta, estas esporas se producen en la parte baja del sombrero (píleo), donde se presentan una gran cantidad de laminillas o poros (himenio). Las esporas son estructuras de reproducción de tamaño microscópico y no se aprecian a simple vista, pero al producirse por millones se observan como polvo, talco o neblina y son de diferentes colores, según la especie a la que pertenezca.

Debido a la recombinación sexual, el micelio que se produce a partir de las esporas es un poco diferente, genéticamente, al micelio que le dio origen y los hongos obtenidos tal vez no tengan la calidad esperada (Leal-Lara y Eger-Hummel, 1982).

Durante su ciclo biológico los basidiomicetos generalmente pasan por 3 fases de desarrollo micelial, que corresponden a los tipos: primario, secundario y terciario (Herrera y Ulloa, 1990).

- El micelio primario, (haplonte u homocariote) se desarrolla a partir de la germinación de la basidiospora. Al inicio las hifas (estructuras vegetativas filamentosas) están conformadas por células multinucleadas, propiciado por que el núcleo, de la basidiospora, se divide muchas veces y a medida que el tubo germinativo emerge, las hifas se alargan sin producir septos. Esta fase multinucleada es relativamente breve, ya que muy pronto se forman tabicaciones que dividen al micelio en células uninucleadas (monocariotes).
- El micelio secundario (dicariótico o heterocariote) deriva del micelio primario; en esta fase las células poseen normalmente 2 núcleos, esto da inicio cuando se fusionan los protoplasmas de 2 células uninucleadas compatibles (plasmogamia). La célula binucleada produce una bifurcación, a la cual emigra uno de los núcleos (figura 7). Los núcleos se dividen conjuntamente por mitosis y los núcleos hermanos se distribuyen en 2 células hijas, para generar el micelio binucleado (dicariote).
- El micelio terciario (dicariote) se caracteriza por producir tejidos especializados, los cuales darán origen a los esporóforos. Para la formación de esporas, durante la

fase sexual, los basidiomicetos producen basidios, los cuales se localizan en el himenio (láminas que se encuentran en la parte baja del píleo). Estos basidios se forman, al inicio, como células apicales en las hifas binucleadas; primero son de forma angosta y cortos, con el tiempo se hacen más anchos y largos, normalmente se encuentran a un costado de una fíbula (figura 7). La fusión de los núcleos celulares haploides (cariogamia), para formar un núcleo diploide, se lleva a cabo en el interior del basidio. Este núcleo pronto sufre meiosis para generar 4 núcleos haploides de donde emergen 4 esterigmas (apéndices o prolongaciones en el extremo del basidio) y sus extremos se amplían para formar las futuras basidiosporas.

La fase haploide se presenta cuando existe un número “ n ” de cromosomas, en este estado las células o grupos de células se denominan haplontes o monocariotes. La fase dicariote se obtiene cuando hay un número “ $n + n$ ” de cromosomas (figura 3).

Carácter sexual de los hongos

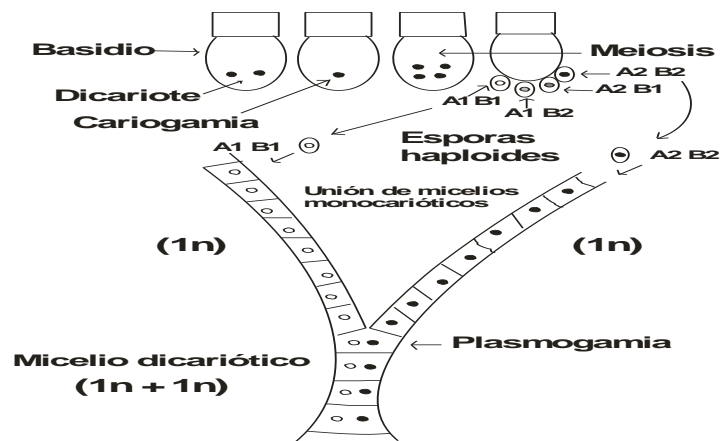


Figura 3. Carácter sexual de los hongos

Para muchos basidiomicetos después de que se llevó a cabo la plasmogamia no se efectúa, en forma inmediata, la cariogamia. De esta situación resulta una célula binucleada (2 núcleos) llamada dicariote o dicarion, donde cada núcleo posee diferentes factores de compatibilidad sexual. A este proceso se le conoce como dicarionización y a toda la fase completa se le conoce como “estado o fase dicariótica o dicarionfase”. La célula dicariótica obtenida llegará a formar un micelio completo, para lo cual crece, se ramifica y

se divide formando nuevas células dicarióticas. Finalmente, este micelio se diferencia en tejidos especializados para generar una estructura llamada esporóforo, la cual se encargará de la dispersión de esporas. En la figura 4 se esquematiza el ciclo de vida.



Figura 4. Esquema de ciclo de vida de un hongo basidiomiceto (modificado de Stamets and Chilton, 1983)

Una basidiospora al germinar dará origen a células con un núcleo haploide (hifas monocarióticas), las cuales, por acumulación, generaran el micelio homocariote. Este micelio puede o no pasar a través del ciclo asexual a través de reproducción de oídios o clamidosporas. Si el micelio logra crecer y desarrollarse, tiene la posibilidad de encontrarse con otro micelio monocariótico. Al momento del encuentro, si los micelios son compatibles, las hifas de ambos micelios logran fusionarse, generando micelio

heterocariote. Si ocurrió la plasmogamia, el núcleo de una de las células fusionadas emigrará hacia la otra célula monocariótica compatible. En el interior del filamento hifal existe un septo, que separa las células, el cual contiene un poro complejo llamado doliporo, el cual previene los movimientos nucleares, entre las células de la hifa. La degradación de este doliporo facilita la migración nuclear después de la plasmogamia. Inmediatamente después de la migración del núcleo, los septos son reconstruidos entre las células. Una vez que los 2 núcleos compatibles se encuentran dentro de la hifa, se inicia el desarrollo del micelio dicariótico, mediante la división simultánea de los 2 núcleos iniciales y la distribución de los pares de núcleos en las células hijas. Durante este proceso la formación de fíbulas es indicativa del desarrollo de micelio dicariótico. Después de la dicarionización, y contando con condiciones ambientales adecuadas, este micelio (terciario) podrá generar un nuevo esporóforo (Kues y Liu, 2000).

En los basidiomicetos, para llevar a cabo la reproducción sexual primero se forman, por crecimiento somático, protuberancias de hifas o nódulos primarios sobre el micelio indiferenciado, el cual genera una trama micelial muy consistente. Los nódulos se originan como conjuntos de ramas cortas, de hifas generativas, con una morfología globosa y cubiertas por material mucilaginoso. Paulatinamente las ramificaciones hifales se agregan para formar una asociación esférica de micelio, de aproximadamente 1 o 2 mm de diámetro (nódulos secundarios). En el interior de estos nódulos ocurre la diferenciación celular que, básicamente, contienen todos los distintos tejidos que se presentan en el esporóforo (Kues, 2000; Kues y Liu, 2000).

2.7.1 Sistemas de compatibilidad sexual en los basidiomicetos

En este grupo de hongos basidiomicetos existen tanto especies auto-fértiles u homotálicas como auto-estériles o heterotálicas (Burnett, 1975, 1986; Raper, 1966; Guzmán, 1984):

1) El homotalismo es una de las estrategias de reproducción sexual de estos hongos, las especies auto-fértiles representan aproximadamente el 10% del total de especies dentro de los basidiomicetos. En esta estrategia de reproducción la estructura fructífera es producida por un sólo micelio monospórico. Se han observado 2 tipos de homotalismo entre especies auto-fértiles:

- Homotalismo primario, en donde el micelio homocariótico (proveniente de una basidiospora con un sólo núcleo meiótico), tiene la posibilidad de alcanzar la culminación del ciclo sexual a través de heterocariosis; mediante la conjugación de 2 micelios compatibles pertenecientes al mismo individuo.
- Homotalismo secundario, en el cual se establece un micelio dicariótico fértil a partir de una basidiospora que posee 2 núcleos meióticos (binucleada) de diferentes tipos de apareamiento que dan origen directamente a un micelio secundario.

2) El heterotalismo es otra estrategia de reproducción de los basidiomicetos y se presenta en cerca del 90% del total de especies. Dentro de las especies heterotálicas el 25% es bipolar y el 65% es tetrapolar. Para esta estrategia de reproducción se requiere el apareamiento entre diferentes micelios homocarióticos, para completar el ciclo sexual. Se han observado 2 sistemas de heterotalismo en basidiomicetos:

- La compatibilidad bifactorial o bipolar está controlada por un solo factor, que se denomina factor **A**. Éste se encuentra en un par de cromosomas homólogos, que necesitan unirse durante la reproducción sexual, para formar el par de genes alelos o alelomorfos compatibles (A_1A_2), los otros tipos de unión (A_1A_1), (A_2A_2) dará origen a genes o alelos incompatibles y por tanto estériles.
- La compatibilidad tetrapolar depende de 2 factores: **A** y **B**, situados en pares de cromosomas homólogos. Éstos se encuentran ubicados en cromosomas diferentes, por lo que la segregación de éstos durante la meiosis es independiente. Cada uno tiene su par de genes alelos o alelomorfos que controlan el mismo tipo de caracteres. En éstos se presenta un alelo, en cada lugar o locus, en posición idéntica respecto a su cromosoma homólogo, formando parejas de genes (A_1A_2) y (B_1B_2) situados en sus loci correspondientes. Sólo es fértil la unión sexual en la que se reúnen 4 alelos diferentes, para formar un micelio heterocigótico; por ejemplo, un talo con el juego de alelos ($A_1A_2B_1B_2$) produce basidiosporas de 4 genotipos diferentes: (A_1B_1), (A_1B_2), (A_2B_1) y (A_2B_2). Es posible, también, que se produzcan esporas de 2 tipos exclusivamente, si la combinación de caracteres se efectúa de la siguiente forma: (A_1B_1), (A_1B_1), (A_2B_2) y (A_2B_2). Esto depende del arreglo de los cromosomas homólogos durante la meiosis y el entrecruzamiento

(*crossing over*) o falta de entrecruzamiento de un par o de ambos pares de cromosomas. En este caso, después del proceso de meiosis, la segregación de los tipos de compatibilidad se distribuye en una relación 1:1:1:1 (Herrera y Ulloa, 1990). En la figura 5 se esquematiza la fusión de los núcleos con genotipos (A_1B_1) y (A_2B_2).

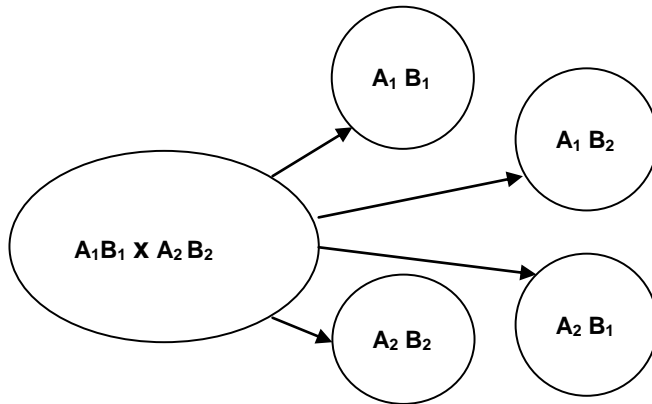


Figura 5. Segregación de los tipos de compatibilidad

La característica tetrapolar significa que las esporas del hongo tienen los factores del sexo en 2 parejas de alelos: ($A_1B_1 A_2B_2$ y $A_1B_2 A_2B_1$) y para obtener micelios dicarióticos o fértiles es necesario realizar hibridaciones entre micelios monospóricos con pares complementarios de estos factores (es decir el tipo A_1B_1 sólo es compatible con A_2B_2 y el tipo A_1B_2 sólo es compatible con el A_2B_1).

Durante el apareamiento de estos genotipos, en todas las combinaciones posibles, únicamente el 25% de los híbridos serán fértiles, es decir, producirán cuerpos fructíferos y basidiosporas. En la figura 6 se presenta el siguiente patrón de segregación de caracteres de compatibilidad sexual, de acuerdo a la segunda ley de Mendel.

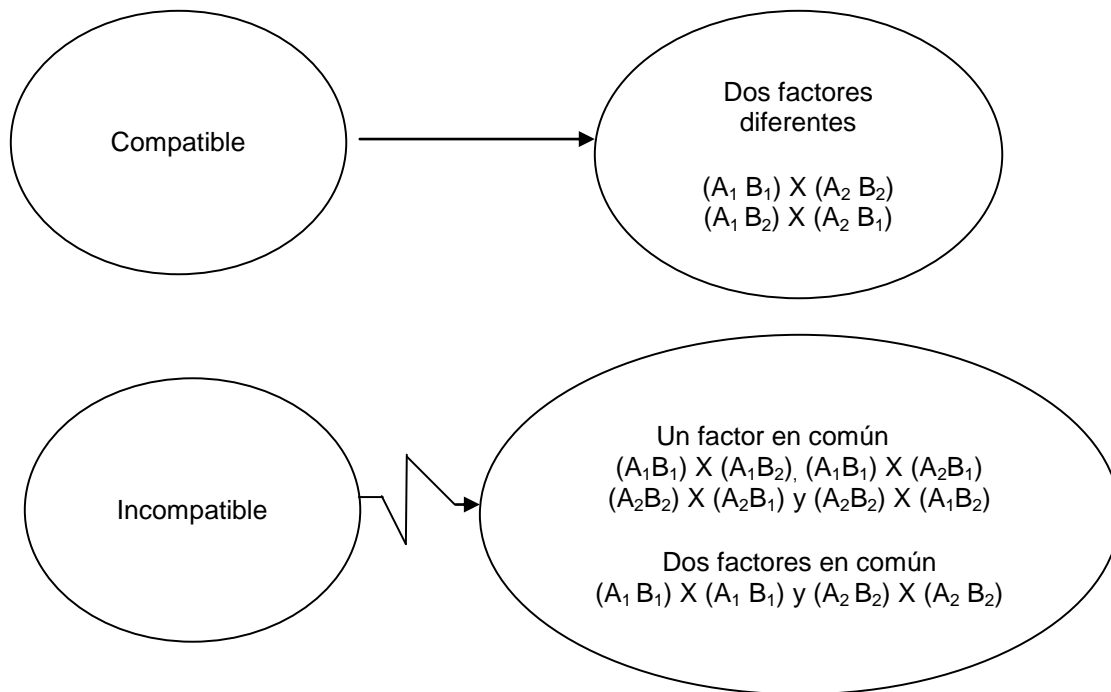


Figura 6. Patrón de segregación de caracteres de compatibilidad sexual

Los genes de A y B regulan diferentes funciones celulares durante el apareamiento y formación del dicarion. Los genes del locus del tipo de compatibilidad A controlan la formación del par de núcleos parentales, dentro del dicarion, e inducen la formación de fíbulas, sincronizando la división nuclear y sucesivamente la formación de septos. Una vez efectuada la fusión de micelios monocarióticos, los genes B son responsables de la disolución de septos y la migración nuclear. En el dicarion los genes B controlan la fusión de la fíbula con la célula sub-apical, después de la sincronización de la división nuclear, de esta forma regulan la liberación del núcleo, inicialmente atrapado dentro de la fíbula no fusionada (Kues y Liu, 2000) (figura 7).

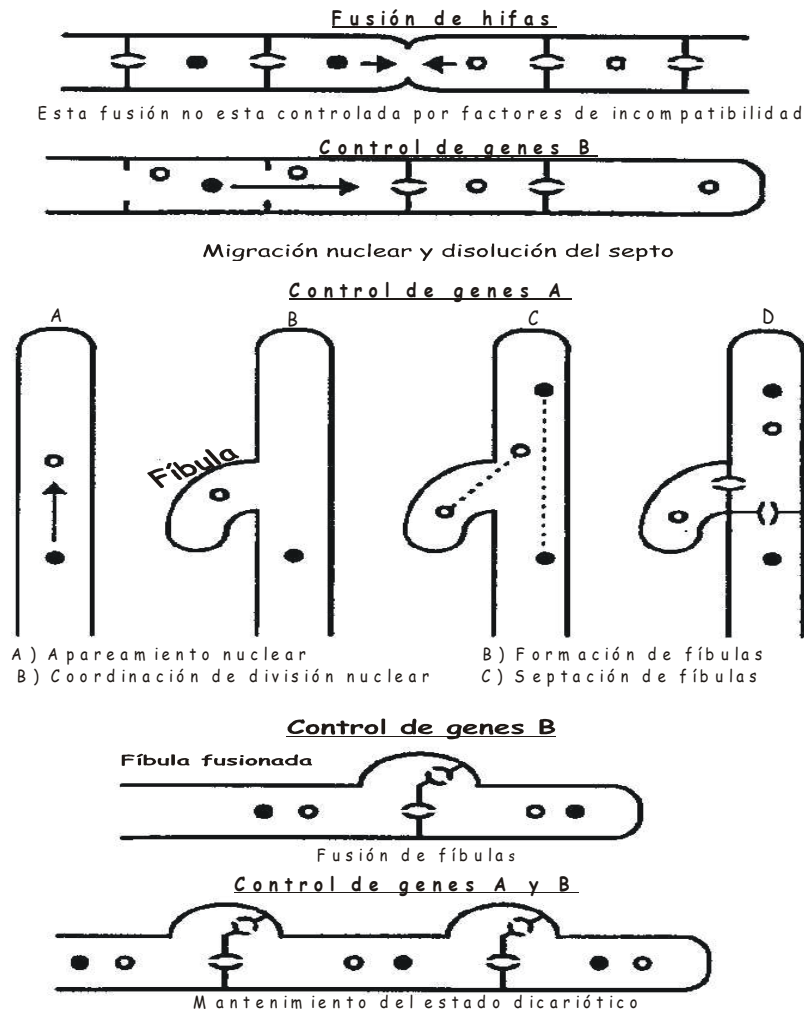


Figura 7. Actuación de los genes con factores de compatibilidad A y B en la regulación de la formación y mantenimiento del dicarion (Imagen modificada de Casselton y Olesnicky, 1998)

2.8 Controversia taxonómica en basidiomicetos y en particular el género *Pleurotus*

A lo largo de los últimos años la clasificación taxonómica de especies del género *Pleurotus* ha sufrido varios cambios, debido a que los trabajos taxonómicos se basaban únicamente en las características morfológicas de los esporóforos. La identificación de especies basada únicamente en características morfológicas es complicada, sobre todo en especies de amplia distribución como es el caso del género *Pleurotus*.

Dentro de la taxonomía de los macromicetos, el color de los esporóforos ha sido tradicionalmente una de las características importantes para la identificación y clasificación. Sin embargo, cada día se presentan mayores contradicciones respecto a la validez de este criterio debido, principalmente, a que en la mayoría de los macromicetos, y particularmente dentro del género *Pleurotus*, existe una gran variabilidad en la coloración de esporas, primordios y esporóforos. Por ejemplo, Corner *et al.* (1981) reporta que los resultados de estudios realizados con las especies *Pleurotus salmoneostramenius* y *P. djamor* var. *roseus* indican que no hay diferencias esenciales entre estas especies, no obstante que una produce basidiosporas rosas y la otra las produce blancas. Por su parte Neda *et al.* (1988) reportaron que *P. salmoneostramenius* y *P. djamor* (Fr.) Boedijn son compatibles, lo que sugiere una estrecha relación entre estas especies. Vilgalys *et al.* (1993) realizaron estudios de compatibilidad con 170 cepas de *Pleurotus ostreatus*, de colecciones de Estados Unidos y Canadá, encontrando que éstas se clasificaban en 3 especies inter-estériles: *P. ostreatus*, *P. populinus* y *P. pulmonarius*, esto los llevó a considerar la existencia de un complejo integrado por 3 diferentes especies de *Pleurotus*.

Con todos estos trabajos que han demostrado las limitantes de la taxonomía descriptiva para identificar las diferentes especies del género *Pleurotus*, se reconoce cada vez más que es indispensable incorporar estudios de compatibilidad sexual, para la diferenciación de especies. Para esto Eger (1978) propuso, como una alternativa para evitar confusiones, que las cepas que se quisieran estudiar, primero se confrontaran contra cepas de referencia en pruebas de apareamiento apropiadas.

La singular situación de la taxonomía ha llevado a muchos investigadores a reconsiderar los conceptos de especie y especiación al interior del género *Pleurotus*. La especiación es el proceso por el cual un grupo de individuos, que por apareamiento tienen un flujo génico, se dividen en 2 o más grupos genéticamente distintos (por aislamiento reproductivo). Un requisito indispensable en este proceso es el bloqueo del intercambio de genes para un grupo particular, ya sea por barreras intrínsecas reproductivas (compatibilidad genética) o por factores extrínsecos (ecología del organismo o la separación geográfica). Esto permite a cada grupo acumular diferencias genéticas, a través de procesos naturales evolutivos; mutación, selección y deriva genética. Cuando 2 grupos llegan a ser suficientemente diferentes son reconocidos como especies. En el género *Pleurotus* las diferencias fenotípicas en el esporóforo muchas veces son sutiles,

esto ha provocado muchas discrepancias para poder definir, claramente, cuándo 2 grupos son especies diferentes o grupos con algunas diferencias morfológicas, pero con apareamiento fértil dentro del grupo.

Para tener un marco de referencia, a partir del cual se analicen las variaciones fenotípicas observadas en los hongos del género *Pleurotus*, es importante considerar algunas de las definiciones de especie más ampliamente aplicables a los hongos Petersen y Hughes (1999).

- Especie morfológica: Las diferencias en las características morfológicas (fenotipo) reflejan las diferencias genéticas fundamentales (genotipo), por lo tanto esto implica una marcada diferencia genética entre 2 grupos.
- Especie filogenética: Las poblaciones pueden ser agrupadas como especie, sí y sólo sí estas comparten un linaje evolutivo común generalmente expresado como un taxón terminal en un árbol filogenético.
- Especie biológica: Habilidad de los individuos, pertenecientes a un grupo, para Inter-hibridarse y obtener híbridos viables y fértiles.

En los macromicetos el concepto de especie ha estado basado principalmente en un criterio morfológico, no obstante que el uso de la morfología para determinar especies en hongos superiores se ve limitada por las siguientes razones:

- Las características morfológicas consideran sólo una parte del ciclo de vida, es decir el esporóforo. De tal manera esta clasificación se ve limitada a las características de dicha estructura reproductora.
- Los esporóforos macromicetos, provenientes de diferentes líneas evolutivas, pueden compartir características morfológicas semejantes como consecuencia de una evolución convergente o paralela.
- Por último, la plasticidad fenotípica dentro de un mismo taxón en los hongos superiores es altamente desconocida. Esto se debe, en parte, a que la mayoría de los esporóforos son efímeros, ya que se forman sólo cuando las condiciones del entorno son apropiadas y sólo se observan por un tiempo muy corto.

Como resultado de estas limitaciones, los patrones de variación morfológica han dado relativamente poca luz sobre los procesos de especiación en hongos. Esto ha traído como consecuencia el desarrollo de variadas clasificaciones, basadas principalmente en cuestiones perceptivas, debido a que la mayoría de los taxónomos proponen clasificación de acuerdo a criterios propios (Vilgalys, 1991).

En los últimos años los estudios de inter-esterilidad en hongos han generado información de gran utilidad en la taxonomía de Basidiomicetos. Actualmente, como alternativa al concepto morfológico de especie, los estudios de sistemas de compatibilidad han ganado una amplia aceptación para la aplicación del concepto biológico de especie, dentro de la problemática taxonómica de los basidiomicetos (Petersen, 1995).

Los nuevos conocimientos de las barreras de inter-esterilidad han sido muy importantes para identificar caracteres taxonómicos confiables entre especies similares, así como, para confirmar la validez de los taxones morfológicos existentes. No obstante, el concepto biológico de especie, como un criterio sistemático, ha mostrado ser problemático para muchos grupos de hongos. Las pruebas de compatibilidad son imposibles de aplicar a los hongos que no producen esporas sexuales. Este problema es grave porque aproximadamente el 20% de los hongos son morfológicamente asexuales. También existen otros hongos que son homotálicos, es decir, producen esporas meióticas pero sin un patrón de compatibilidad, por lo que la presencia de esporas meióticas no es suficiente para comprobar la compatibilidad en estos hongos. Aunado a lo anterior, en algunos hongos heterotálicos no ha sido posible realizar las pruebas de apareamiento en condiciones de laboratorio y otros no pueden ser cultivados. En estas circunstancias es problemático aplicar el concepto de especie biológica a todas las especies de hongos macromicetos (Bock, 1986; Donoghue, 1985; Templeton, 1989; Petersen y Hughes, 1999).

Considerando los problemas anteriores, Mayden (1997), basándose en el concepto de especie filogenética utiliza el término concordancia genealógica en el reconocimiento de especies. La fuerza de este concepto surge de la comparación genealógica de más de un gen; un requisito de la genealogía de cada gen es que no ocurra recombinación entre ellos. Este concepto ha sido aplicado tanto en hongos que producen esporas meióticas, como en aquellos que producen esporas mitóticas. En todos los casos ha permitido identificar especies que no fueron detectadas por el concepto

morfológico y en algunos casos por el concepto biológico. Sin embargo también hay casos en donde concuerdan los conceptos de reconocimiento de especies biológicas y filogenéticas (Taylor *et al.* 2000).

2.9 Perspectivas de mejoramiento genético en el cultivo de hongos comestibles

Con las nuevas técnicas de mejoramiento genético se vislumbra la posibilidad de obtener híbridos, de cepas comerciales y silvestres, que puedan retener características de importancia comercial de las cepas originales. Estas características podrían ser entre otras:

- Elevada velocidad de crecimiento
- Amplio espectro de sustratos para su desarrollo
- Que presenten eficiencias biológicas por arriba del 100%
- Esporóforos resistentes que faciliten el manejo post-cosecha
- Colores y sabor agradables al consumidor
- Que el producto tenga una mayor vida de anaquel

Para lograr los objetivos anteriores resulta de gran importancia el uso de las técnicas de selección de cepas y mejoramiento genético. Con la intención de obtener híbridos, con características adecuadas para la producción comercial, se utilizan diferentes técnicas para recuperar los componentes monocariotes (haploides), sin pasar por meiosis, para obtener el material genético responsable de las características del dicariote. Con la recuperación de este material monocariótico (a partir de cepas comerciales y silvestres) resulta más fácil y práctica la obtención de híbridos. Sin embargo, la mayoría de las veces no se dispone de los componentes monocarióticos correspondientes (Leal-Lara y Eger-Hummel, 1982).

2.9.1 Desdicarionización natural

Debido a que el micelio dicariótico (diploide) es muy estable, no todas las especies poseen la característica de desdicarionizarse espontáneamente. Sin embargo, se ha reportado para unas cuantas especies de hongos basidiomicetos una habilidad de desdicarionizarse naturalmente. Esto consiste en que a partir de micelio dicariote (diploide)

una proporción de núcleos se separan espontáneamente para formar micelio monocariote (haploide), este fenómeno se conoce como desdicariorización, haploidización natural o aneuploidismo (Arita, 1979).

2.9.2 Desdicariorización artificial

Existen varias técnicas que han sido utilizadas para separar artificialmente, en sus 2 componentes monocarióticos, el micelio dicariote de hongos basidiomicetos. Estas técnicas han sido empleadas gracias a que estos hongos basidiomicetos presentan un micelio dicariótico con fíbulas (uniones en forma de grapa que indican que el micelio es dicariótico). Así, al separar un micelio dicariótico (con fíbulas) y posteriormente recuperar micelio monocariótico (sin fíbulas), indica que se ha logrado la desdicariorización. Al micelio monocariote recuperado se le denomina neohaplonte. El término neohaplonte fue introducido por Fries y Aschan (1952), para designar al micelio monocariótico (1N) derivado de micelio dicariótico (1N + 1N), sin la intervención de la cariogamia y meiosis.

La desdicariorización, por métodos artificiales, se ha logrado mediante microcirugía, la cual se realiza sobre hifas terminales, justo en la etapa en que el núcleo ha migrado hacia la fíbula, en ese momento se corta tanto la célula terminal como la fíbula. Este método ha resultado de baja reproductividad debido a la baja recuperación de neohaplontes.

Un método mecánico que podría permitir la obtención de fragmentos miceliales, para la recuperación de neohaplontes, es la homogeneización. Con este método se busca la obtención de trozos de hifas con un solo núcleo. Sin embargo, los resultados obtenidos han sido que: a baja velocidad no se obtiene ningún efecto desdicariorizante, mientras que a altas velocidades los micelios menos resistentes a las fuerzas de corte fueron selectivamente eliminados, por lo que sólo se logró la recuperación de un núcleo (Kerruish y Da Costa, 1963).

Dentro de los métodos químicos, inicialmente, se utilizaron sustancias altamente tóxicas como el deoxicolato de sodio o el ácido cólico (Milles y Raper, 1956). Para este tipo de desdicariorización química se ha reportado que, en la mayoría de los casos, se obtiene una recuperación no simétrica de los neohaplontes, es decir se logra recuperar únicamente un núcleo del dicariote.

Otro método de desdicarización química, utilizando soluciones no tóxicas de glucosa-glicina y glucosa-peptona, fue implementado por Leal-Lara (1980); Leal-Lara y Eger-Hummel (1982). Ellos estudiaron genéticamente 14 cepas (entre ellas 2 mutantes) de 5 especies de basidiomicetos, logrando obtener simétricamente los 2 componentes monocarióticos. Así mismo observaron, por el comportamiento y morfología del micelio, que en los neohaplontes obtenidos no se presentaron mutantes. Este método presenta las siguientes ventajas: obtener cepas monocarióticas que no han pasado por el proceso de meiosis, con lo cual se evita el problema de variabilidad genética que se presenta cuando se parte de progenies monocarióticas obtenidas a partir de esporas, además de reducir el tiempo requerido para aislar los genotipos de las cepas dicarióticas. Con este método es posible obtener los 2 componentes neohaplontes de una especie, los cuales pueden ser utilizados posteriormente para mejoramiento de cepas por sencillos apareamientos.

3.0 Justificación

En la sierra Norte de Oaxaca los problemas de deforestación, erosión y pérdida de diversidad biológica generados por la gran presión en zonas forestales, aunado a cuestiones políticas y sociales, han propiciado que las actividades económicas sean tan sólo de sobre-vivencia. Existe la disyuntiva de que muchos bosques y selvas han sido destruidos y muchas especies se han extinguido, y siguen extinguiéndose, pero la gente es muy pobre y tiene que encontrar la manera de producir alimentos y ganarse la vida. En muchas comunidades de esta región se escucha el siguiente comentario "Sí, queremos vivir en un ambiente saludable y conservar bosques, animales y demás plantas del monte, pero también queremos comer".

En esta zona las actividades económicas, no forestales, son muy limitadas y de baja productividad; esto ha obligado a muchos de sus habitantes a emigrar hacia ciudades como: Oaxaca, Veracruz, Distrito Federal y, principalmente, los Estados Unidos de Norteamérica, buscando mejores condiciones de vida. Esto, a su vez, ha facilitado un proceso de transculturación con la consecuente pérdida del conocimiento ancestral indígena. Hay que recalcar la importancia de acercarse a las comunidades indígenas que aun conservan los ancestrales conocimientos de los hongos de su región, antes de que desaparezcan, junto con los hongos, para rescatar en la medida de lo posible esta riqueza cultural y fúngica. Esto permitirá conocer otras especies silvestres comestibles y medicinales, para realizar investigación e intentar su cultivo con la intención de, posteriormente, generar un paquete tecnológico que se pueda implementar en las comunidades, para el aprovechamiento de sus recursos naturales.

Un gran problema de carácter social que comúnmente se presenta en México es la falta de apoyo tecnológico y científico para muchas comunidades indígenas, a las cuales se les ha exigido constantemente que cuiden más los recursos naturales. No obstante, la ayuda para que los habitantes de estas comunidades puedan aprovechar mejor estos recursos casi nunca llega, debido, principalmente, a que muchos de estos conocimientos únicamente se abordan en congresos y simposios, y muchas de las veces nunca llegan a salir de los laboratorios de investigación o de las aulas académicas hacia el campo. Para muchas de estas comunidades indígenas la capacitación en nuevas técnicas y estrategias de aprovechamiento de recursos naturales es casi nula o de mala calidad técnica, pues no existe un real interés en ayudarles.

En el ámbito político, los diversos proyectos para apoyar el desarrollo de estas comunidades únicamente tienen tintes propagandísticos y la mayoría nunca llega a concretarse adecuadamente, aunque se gasten recursos exagerados en lo que se ha dado por llamar “erradicación de la pobreza”. No obstante, es a estas personas a las que se les continúa culpando de la deforestación, desaparición de especies y ¡hasta de su ignorancia!

Muchos de los conocimientos científicos desarrollados en las universidades e institutos de investigación, en nuestro país, no tienen sentido si no trascienden fuera de los laboratorios hacia las comunidades que tanto requieren de esta información. De lograr apropiarse de estos conocimientos los habitantes serán capaces de utilizar, de una manera más adecuada, sus recursos naturales y lograr con esto generarse una mejor calidad de vida para ellos y sus familias. Esto redundará en la conservación de los recursos naturales para generaciones futuras.

El manejo forestal de multiproductos, al interior de un programa de administración para conservar la biodiversidad presenta alternativas aún no exploradas completamente, como sería, dentro de la biotecnología, el cultivo de hongos, esto permitirá la producción de diferentes productos para consumo humano, a través de la obtención de germoplasma de hongos micro y macromicetos, el manejo de bosques micorrizados y reciclaje de desechos agrícolas y forestales que, a su vez, generarán productos orgánicos para la alimentación de rumiantes y subproductos que pueden utilizarse como fertilizantes orgánicos para la recuperación de suelos forestales o suelos agrícolas (Banco Mundial, 1995).

En la República Mexicana existe una enorme riqueza fúngica que muchos de los investigadores nacionales apenas están conociendo y sólo se están estudiando pocos grupos taxonómicos. Además, son escasos los trabajos de aislamiento del material recolectado para la formación de ceparios; este germoplasma podrá servir como base para futuros proyectos de micorrización de plántulas de árboles para reforestación, aislamiento de principios activos en farmacología e inóculo para cultivo de hongos comestibles.

Dentro de la óptica de ayudar a dar a conocer parte del conocimiento, en el cultivo de hongos, hacia comunidades que lo necesitan y debido a que por falta de recursos no se podía capacitar a los adultos en sus comunidades, se planteó generar un centro de

capacitación en el cultivo de hongos para niños, niñas y adolescentes. Esto con la finalidad de que, a futuro, la aplicación de estos conocimientos les permita aprovechar de una forma sostenible sus recursos naturales y reducir la presión, lo más que se pueda, sobre la biodiversidad de su entorno (figura 8).



Figura 8. Bosque “rozado” para utilizarlo en la siembra de maíz

Por ser algo inédito, para la puesta en marcha de este centro de capacitación en el cultivo de hongos para niños indígenas, no se contó con información didáctica previa. Así que se planteó que la conformación del material didáctico necesario se iría elaborando sobre la marcha. Para este fin se consideró utilizar técnicas prácticas, lo más sencillas posible, para que los niños, interesados en el cultivo de hongos, comprendan, manejen y se apropien de estos conocimientos.

4.0 Objetivos

4.1 Realizar recolectas de hongos silvestres

4.1.1 Recolectar e identificar ejemplares de algunas especies silvestres, principalmente comestibles y medicinales.

4.1.2 Recabar información del uso que aún dan algunos habitantes a los hongos silvestres, principalmente comestibles y medicinales, así como su nombre común en zapoteco y español.

4.1.3 Aislar, propagar y experimentar con germoplasma de algunas especies de hongos silvestres saprófitos (comestibles y medicinales), para valorar su potencial de cultivo en condiciones de laboratorio y/o condiciones rústicas, para su posterior utilización en el taller de capacitación en el cultivo de hongos.

4.2 Comparar el crecimiento micelial de las cepas de hongos silvestres con respecto a cepas comerciales

4.2.1 Realizar pruebas comparativas en diferentes medios de cultivo, granos y taquetes de madera para evaluar el potencial de crecimiento de cepas en condiciones de laboratorio.

4.2.2 Realizar pruebas comparativas en esquilmos agrícolas y forestales para evaluar el potencial de crecimiento de cepas en condiciones de laboratorio y rústicas.

4.3 Mejoramiento genético de cepas de *Pleurotus* spp. (IA y Pfl)

4.3.1 Descartar, las 2 cepas de *Pleurotus* y recuperar los 2 componentes monocariotes (neohaplontes).

4.3.2 Mejoramiento de cepa silvestre (IA) de bosque mesófilo, con cepa comercial (Pfl) mediante hibridación, a partir de los componentes monocarióticos (neohaplontes), para su posterior utilización en el taller de capacitación en el cultivo de hongos.

4.4 Establecer taller de capacitación de cultivo de hongos comestibles, en internado para niños y niñas en la Sierra Norte de Oaxaca.

4.4.1 Fabricar o adaptar instalaciones y herramientas que permitan el desarrollo de las diferentes actividades del taller.

4.4.2 Elaborar temario para las actividades teóricas.

4.4.3 Elaborar material didáctico, acorde a las necesidades del taller de capacitación.

5.0 Materiales y métodos

Todas las fotografías presentes en este trabajo fueron tomadas por el autor.

En la figura 9 se esquematiza todo el proceso que se llevó a cabo.

5.1 Material biológico

Todas las cepas utilizadas en este estudio se encuentran depositadas en el cepario del Laboratorio 324 del Departamento de Alimentos y Biotecnología, de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México y en el cepario del autor.

- Cepas comerciales de *Lentinula edodes*: L 9, L 10 y L 11 provenientes de Corea y L 5 proveniente de Japón.
- Cepas de *Pleurotus* spp.: La cepa IA se obtuvo del Instituto de Ecología de Jalapa, Veracruz, mientras que la cepa Pfl se consiguió en la empresa “Hongos Leben”, en donde se utiliza para su producción comercial y la cepa PO, obtenida por el autor en las recolectas de la Sierra Norte de Oaxaca.
- Cepas de *Ganoderma*: G 1 originaria de China, G 7 aislada por el autor en el estado de Morelos, México y G 10 proveniente de Tailandia, ésta se obtuvo del Laboratorio 324 del Departamento de Alimentos y Biotecnología, de la Facultad de Química de la UNAM.
- Cepas de *Neolentinus*: *Neolentinus lepideus* NL 21 aislada por el autor en las recolectas de la Sierra Norte de Oaxaca y *N. ponderosus* (NL 18), proveniente del estado de Chihuahua, la cual fue donada por el Dr. Ángel Moreno Fuentes, Laboratorio de Micología del Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma de Hidalgo.

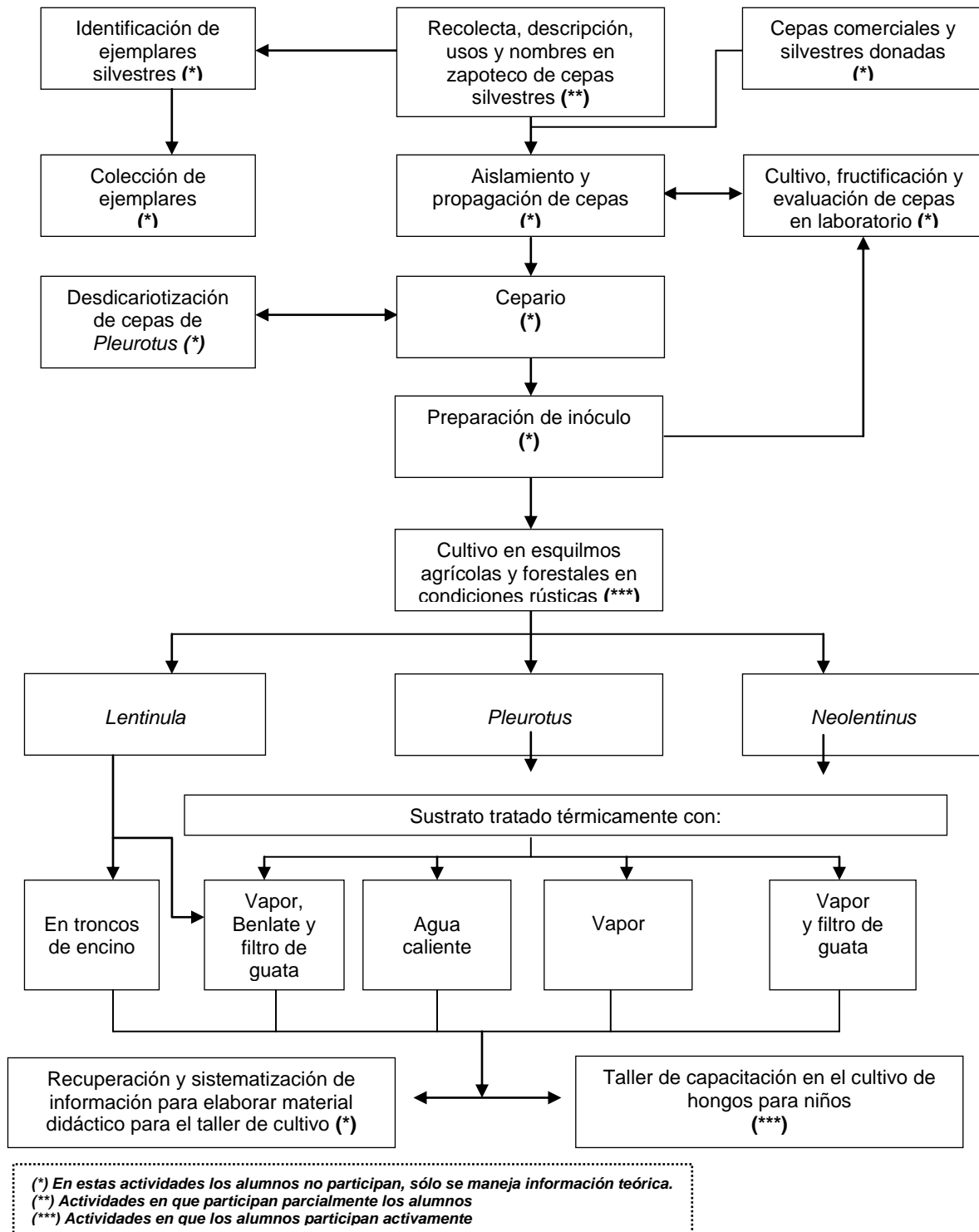


Figura 9. Actividades desarrolladas durante todo el proyecto

5.2 Medios de cultivo

5.2.1 Extracto de malta agar (EMA) y extracto de malta agar ampicilina (EMAA)

Para preparar 500 ml de medio: en un matraz Erlenmeyer de 1000 ml se agregaron: 10 g de Agar bacteriológico, 7.5 g de extracto de malta, éstos se disolvieron en 500 ml de agua destilada, añadiendo el agua poco a poco para eliminar los residuos de las paredes y suspender los reactivos. Se tapó el matraz con hule espuma, sujetado con una liga de hule, el cual se cubrió con papel aluminio y se dejó reposar por 30 minutos. Se esterilizó en autoclave a 121°C y 15 lb de presión durante 30 minutos. Después de la esterilización se dejó enfriar, un poco, en el interior de una campana de flujo laminar o en una caja con aire filtrado. Posteriormente se vertieron, con la ayuda de una jeringa dosificadora, 10 ml del medio de cultivo en cajas Petri desechables y se dejaron enfriar a temperatura ambiente.

Para preparar el medio con antibiótico, se procedió como en el caso anterior, pero después de esterilizar se dejó enfriar, aproximadamente, a 40°C y se agregaron 0.5 ml de una ampolla de ampicilina de 800,000 u, agitando suavemente para homogeneizar la solución y cuando el medio estuvo completamente homogeneizado se vertieron, con la ayuda de una jeringa dosificadora, 10 ml del medio en cada caja de Petri. Una vez solidificado el medio, se extrajo el agua condensada en las tapas de las cajas Petri y se guardaron las cajas en bolsas de plástico.

Para verificar la esterilidad del medio todas las cajas con y sin antibiótico se incubaron a 25°C durante 2 días. Las cajas libres de contaminación se utilizaron para el aislamiento y resiembra de las diferentes cepas.

5.2.2 Papa dextrosa agar (PDA) y harina integral de trigo agar (HITA)³

- Para PDA se depositaron, en un matraz de 1000 ml, 19.5 g de Papa Dextrosa Agar y 2.5 g de agar.
- Para HITA se depositaron, en un matraz de 1000 ml, 7.5 g de Harina de Trigo Integral (*Triticum* sp.), 7.5 g de azúcar refinada y 10 g de Agar.

³Conrado Soto. Com. Pers.

Estos medios de cultivo, por separado, se disolvieron en 500 ml de agua destilada, añadiendo el agua poco a poco para eliminar los residuos de las paredes y suspender los reactivos. Posteriormente se procedió como en la sección 5.2.1.

5.2.3 Medios líquidos para desdicariorizar

En todos los casos se utilizó como fuente de carbón glucosa (20 g/l), como fuente de nitrógeno se empleó, en algunas pruebas, glicina a una concentración de 3 y 5 g/l y para otras pruebas se utilizó peptona a una concentración de 10 g/l. En matraces de 125 ml se vertieron 50 ml de este medio, se taparon con hule espuma, papel aluminio y se esterilizaron en autoclave a 121°C y 15 lb de presión durante 30 minutos. Los matraces se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Se revisaron al tercer día para detectar la presencia de posibles contaminantes, al no presentar contaminación se procedió a inocularlos con el micelio homogeneizado (Leal-Lara, 1980).

5.3 Fungicida de Contacto

El fungicida se preparó mediante una solución al 0.5 %, de sulfato de cobre y cal en agua. La manera de elaborarlo fue la siguiente: el recipiente donde se preparó fue una cubeta de plástico, ya que para esto no se recomienda utilizar recipientes metálicos ni galvanizados, a la cual se le agregaron 10 litros de agua limpia. Posteriormente se disolvieron, perfectamente, 50 g de sulfato de cobre, para luego agregar 50 g de cal, hasta incorporarlos perfectamente. Es importante seguir esta secuencia, pues de no hacerlo los ingredientes no se mezclarán bien y por tanto no tendrá la función esperada. Para su aplicación se utiliza un aspersor de mochila, cubriendo con una llovizna ligera la corteza de los troncos inoculados, lo mismo que el suelo de la zona de incubación.

5.4 Ubicación de las zonas de recolecta

Los ejemplares silvestres considerados en este trabajo se recolectaron de 1993 al 2001, en forma esporádica y al azar, principalmente en época de lluvia (los mapas e información de las localidades visitadas fueron tomados de Internet: <http://www.e-local.gob.mx>). Las visitas se realizaron en:

- El distrito de Ixtlán de Juárez: La Trinidad, Capulalpam de Méndez, Santiago Xiacui, Yuvila, Santa María Jaltianguis, Santiago Laxopa incluyendo Santa Catarina Yahuio, San Sebastián Guiloxi y el paraje conocido como Maravillas.
- El distrito de Villa Alta: Zoogocho, Santa María Tavehua, San Baltasar Yatzachi el bajo, Santa María Yalina (únicamente en la colindancia con Zoogocho), Santiago Zochila, Otatitlán de Morelos, San Gerónimo Zochina.
- El Distrito de Choapam: Sta. Isabel Cajonos.



Figura 10. Mapa del estado de Oaxaca y los distritos en donde se realizaron recolectas de hongos silvestres

Santiago Laxopa: Se localiza en la región de la sierra norte, pertenece al Distrito de Ixtlán de Juárez. Se ubica en las coordenadas: latitud norte 17° 13' y longitud oeste 96° 18', a una altitud de 1,960 metros sobre el nivel del mar. Colinda al norte con Capulalpam de Méndez, al sur y al este con el distrito de Villa Alta y al oeste con Santiago Xiacuí y Santa María Yavesía. El municipio cuenta con una superficie de 118.65 Km². La cabecera municipal es Santiago Laxopa las localidades de mayor importancia son San Sebastián Guiloxi, Santa Catarina Yahuio.

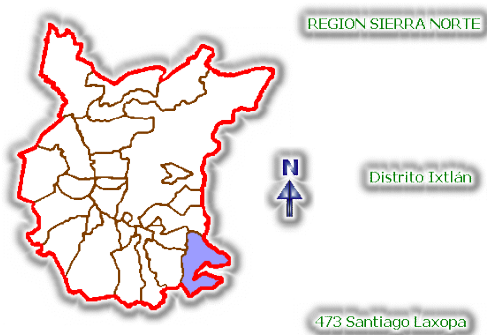


Figura 11. Mapa de Laxopa

Santa María Jaltianguis Se localiza en la región de la sierra norte, pertenece al Distrito de Ixtlán de Juárez. Se ubica en las coordenadas 17°22' de latitud norte y 96°32' de longitud oeste, a una altitud de 2,040 metros sobre el nivel del mar. El municipio cuenta con una superficie de 45.93 Km². Colinda al norte con Abejones, San Juan Evangelista Analco y Santa Ana Yareni; al sur con Guelatao de Juárez, San Juan Chicomezúchil, Santa Catarina Ixtepeji y San Miguel del Río; al oeste con San Miguel del Río, Santa Ana Yareni y Teococuilco de Marcos Pérez y al este con Guelatao de Juárez e Ixtlán de Juárez.

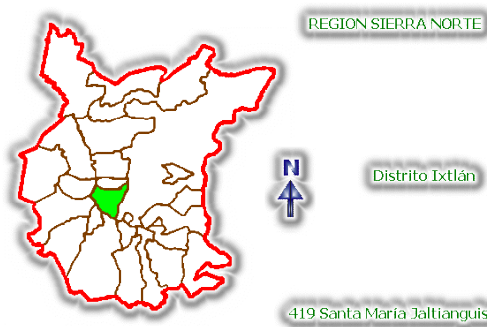


Figura 12. Mapa de Jaltianguis

San Bartolomé Zoogocho: Se localiza en la parte sur oriente de la capital del Estado, en las coordenadas 96°14' de longitud oeste y 17°14' de latitud norte y a una altura de 1,520 metros sobre

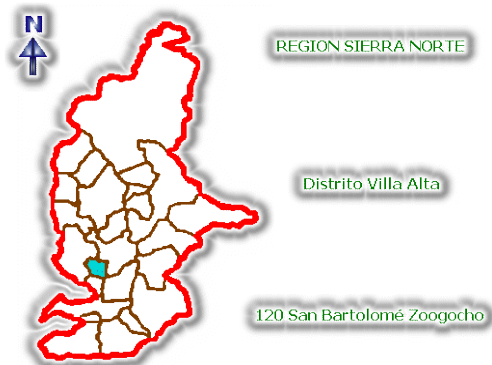


Figura 13. Mapa de Zoogocho

el nivel del mar. Limita al norte con San Juan Juquila Vijanos; al sur con Santiago Zochila; al oeste con Santa María Yalina y al este con San Andrés Solaga y San Baltazar Yatzachi el Bajo. La superficie total del municipio es de 22.96 Km². Su distancia aproximada a la capital del Estado es de 110 kilómetros.

Santa María Tavehua, agencia municipal de San Andrés Solaga. Se localiza en la parte noreste del estado, en las coordenadas 96°14' de longitud oeste y 17°16' de latitud norte, a una altura de 1,390 metros sobre el nivel del mar. La superficie total del municipio es de 38.27 Km².

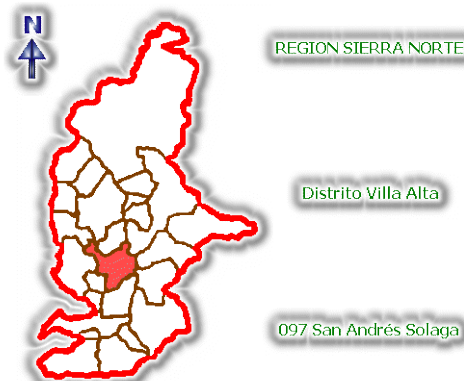


Figura 14. Mapa de Tavehua

Santa María Yalina: Se localiza en la parte este de la capital del Estado, en las coordenadas 96°16' de longitud oeste y 17°14' de latitud norte, a una altura de 1,860 metros sobre el nivel del mar. Limita al sur y poniente con San Bartolomé Zoogocho; al norte con San Juan Juquila Vijanos y al oriente con Santiago Laxopa. La superficie total del municipio es de 28.07 Km². Su distancia aproximada a la capital del Estado es de 111 kilómetros.

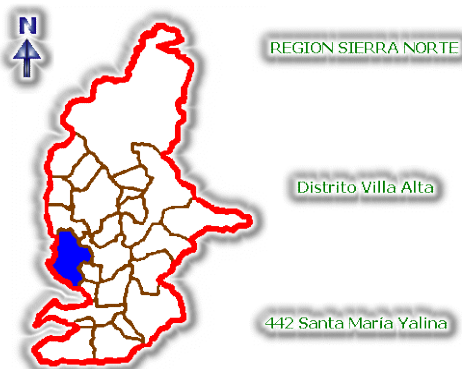


Figura 15. Mapa de Yalina

San Baltasar Yatzachi el bajo. Se localiza en la parte noreste del Estado, en las coordenadas 96°13' de longitud oeste y 17°13' de latitud norte, a una altura de 1,600 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con San Andrés Solaga y San Juan Tabaá; al sur con San Francisco Cajonos y Santiago Zochila;



Figura 16. Mapa de Yatzachi

al oeste con San Bartolomé Zoogocho y Santiago Zochila y al este con San Melchor Betaza y Villa Hidalgo. La superficie total del municipio es de 48.48 Km² .Su distancia aproximada a la capital del Estado es de 109 kilómetros.

Santiago Zochila Se localiza al noroeste de la capital del Estado, en las coordenadas 96°14' de longitud oeste y 17°13' de latitud norte, a una altura de 1,600 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con Zochina, al sur con Yalalag, al oriente con San Francisco Cajonos y al este con Yatzachi el Alto. La superficie total del municipio es de 24.24 Km². Su distancia aproximada a la capital del Estado es de 95 kilómetros.

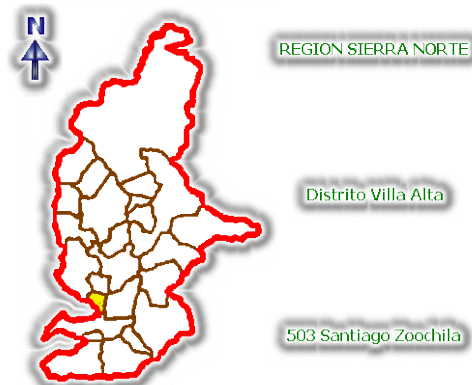


Figura 17. Mapa de Zochila

Otatitlán de Morelos (La Ollá) La cabecera Municipal es Villa Talea de Castro, las localidades de mayor importancia son San Bartolomé Yatoni y Otatitlán de Morelos. Se ubica en las coordenadas 96° 14' de longitud oeste y 17° 09' de latitud norte, a una altitud de 1,450 metros sobre el nivel del mar La extensión total del municipio es de 54.86 Km². Su distancia aproximada a la capital del Estado es de 113 kilómetros

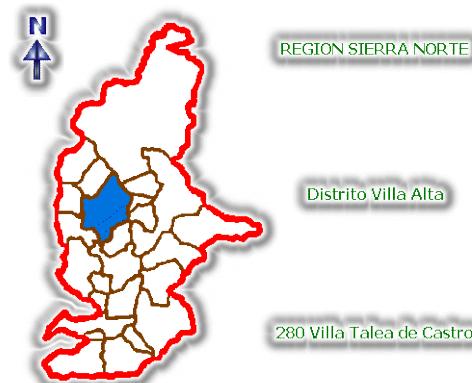


Figura 18. Mapa de Otatitlán

Santa Isabel Cajonos, la cabecera municipal es Santiago Choapam. Se localiza en la región del Papaloapam, en las coordenadas 95° 55' longitud oeste y 17° 21' latitud norte, a una altura de 840 msnm. El municipio cuenta con una superficie de 247.51 Km².

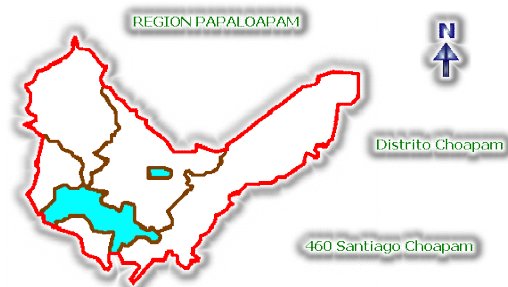


Figura 19. Mapa de Santa Isabel

5.5 Trabajo de campo, recolecta y entrevistas

La realización de recolectas en estas comunidades obedeció a varias consideraciones: en primer lugar se realizaron recolectas en Capulalpam, Xiacui y la Trinidad (distrito de Ixtlán) debido a que este es el camino que lleva a la comunidad de Zoogocho y quedaba de paso, además que muchas de estas comunidades están muy mestizadas y la mayoría de las personas hablan sólo español, lo que favoreció la comunicación. Al paso del tiempo se fueron conociendo a más personas, las cuales nos invitaban a sus pueblos, invitación que se aprovechaba para realizar algunas recolectas y recabar algunos datos; con respecto a las comunidades del distrito de Villa Alta, las recolectas se realizaron por la cercanía a la comunidad de Zoogocho o debido a que los alumnos del internado pertenecían a alguna de estas comunidades y ellos o sus padres nos invitaban a conocerlas así, con el tiempo, logramos llegar hasta el distrito de Choapam.

Estas comunidades se encuentran inmersas o cercanas a zonas de bosques de pino-encino, donde es más probable encontrar hongos comestibles en la época de lluvias. Se consideró que el estudio en estas comunidades podría aportar elementos que ayudarían a conocer un poco de la relación que existe entre los pobladores con los hongos de su entorno natural.

El enfoque de esta investigación se centró en los hongos comestibles y con potencial medicinal y no en el inventario general de la diversidad micológica en la región. Por tanto, durante las recolectas sólo se seleccionaron algunas especies. Las recolectas se realizaron al azar y el material se analizó empleando un manual de técnicas de campo y laboratorio de micología, editado por el Herbario de la Facultad de Ciencias (Cifuentes *et al.* 1984) y guías de campo para Norteamérica y Europa (Garnweinder, 1992; Pegler, 1982). Las técnicas utilizadas para la descripción de los ejemplares recolectados son las recomendadas por Cifuentes *et al.* (1986). Las descripciones de los ejemplares se basaron en las características macroscópicas descritas en los manuales.

La recopilación de información, sobre los ejemplares recolectados, no se realizó con encuestas formales, esto debido a que en algunos casos la persona con la que intentamos conversar no hablaba español, o lo hablaba poco y se dependía de la ayuda de alguien que tradujera, así que todo se desarrolló como una conversación informal.

Incluso cuando pedíamos que escribieran el nombre del hongo en zapoteco no sabían escribirlo, esto debido a que muchas personas lo saben hablar, pero no escribir.

Las preguntas básicas durante las conversaciones fueron:

- ¿Si comían hongos?
- ¿Iban exclusivamente al bosque a recogerlos o esto lo hacían de paso?
- ¿Cómo identificaban los comestibles de los venenosos?
- ¿Los recolectaban o compraban?
- ¿Los utilizaban como medicina?
- ¿Otra utilidad que le dieran?
- ¿Cómo lo llamaban en zapoteco o español?
- ¿Cómo los cocinaban?

En ocasiones hubo personas se ponían nerviosas ante la presencia de algún aparato para grabar, que estuviésemos escribiendo mientras se llevaba a cabo la conversación o que les tomásemos alguna fotografía. Incluso, hubo personas que se negaron a continuar ayudándonos cuando veían que escribíamos su nombre y algunos detalles de lo que nos informaban. Cabe mencionar, como situación particular, que en 1993, cuando se visitó por primera vez a las autoridades municipales de Santa María Yalina y se les explicó la intención de nuestra presencia en su comunidad, rotundamente se negaron a permitirnos el acceso, incluso pidieron que nos identificáramos y tomaron nuestros datos. Años después la situación cambió, pero únicamente realizamos una pequeña recolecta en las colindancias con la comunidad de Zoogocho y no volvimos más.

La identificación del nombre en zapoteco de las especies, cuando fue posible, se basó en la observación física del hongo y/o el reconocimiento de imágenes fotográficas, tomadas a los hongos recolectados previamente y que se mostraban a las personas entrevistadas. Esto representó algunas dificultades, ya que algunas personas mencionaron que necesitaban ver el hongo fresco, pues en fotografía era difícil saber qué hongo era realmente. Por ejemplo, en 1994 el Sr. Noé Maldonado, de la comunidad de Laxopa, al observar una fotografía comentó que era difícil saber si el hongo era un “nanacate” o uno venenoso (refiriéndose a *Amanita*, var. *caesarea* o *A. muscaria*) y que debía ver la parte baja para saber si tenía color amarillo o blanco, debido a que la lluvia o la madurez del hongo podían “lavar los granitos blancos del sombrero”, sí sólo veía la

parte superior podía equivocarse. Nos explicó las semejanzas y diferencias entre las variedades comestibles y venenosas que él conocía del género *Amanita*: rojo, naranja o amarillo.

La interacción, a lo largo del tiempo, con los habitantes de estas poblaciones nos permitió comprender la forma de pensar y del por qué es muy importante solicitarles permiso a las autoridades de las comunidades: en esta zona no se permite a personas extrañas el paso libre sin saber cuáles son los motivos por los que se encuentra ahí. Es muy importante solicitar un permiso previo a las autoridades municipales explicándoles cuál es el motivo de la visita, de esta manera estarán informados y en caso de algún percance tomaran las medidas necesarias. No es recomendable introducirse al bosque a recolectar sin el permiso correspondiente, pues se corre el riesgo de tener una experiencia desagradable por desconocer los usos y costumbres de la región. De hacer un acuerdo o una promesa, esta se deberá respetar y cumplir y no dejarla al olvido.

Al autorizar las visitas, las autoridades designaban a un miembro de la comunidad como guía; invariablemente la persona que servía como guía tenía el cargo de presidente de bienes comunales. Es muy importante contemplar que la mayoría de las veces la gente de estas comunidades no tiene tiempo de servir de guía, debido a que, por ser temporada de lluvias, ellos dedican mucho de su tiempo a las labores del campo. Por tal motivo las recolectas estarán supeditadas al tiempo libre con que cuenten estas personas.

Algunos de los guías recomendaron llevar un paquete de cigarrillos y una botella de mezcal. Estos productos tienen la función de servir como un presente, para solicitar permiso a las deidades (espíritus, divinidades o guardianes) del monte y de esta forma realizar la recolecta sin sufrir accidente alguno. La solicitud de permiso se lleva a cabo de la siguiente forma: en los límites de la base del monte el guía, en su idioma materno, se detiene y comienza a hablar al viento, (por ser un ritual de mucho respeto es importante no importunar la ceremonia con la presencia de grabadoras o tomando fotografías); mientras habla, se inclina y cava un pequeño hoyo en el suelo, en donde deposita un par de cigarrillos y vierte una copa de mezcal, posteriormente servirá otra copa y, junto con un cigarrillo, lo ofrecerá a cada uno de los presentes. Uno a uno tiene que tomar el cigarrillo y verter una pequeña cantidad de mezcal en el hoyo y tomar el resto, para después devolver la copa al guía. El cigarrillo se puede encender en el momento o conservarlo sin encender, si así lo decide uno.

Una traducción al español, lo más acercada posible a lo que mencionan en esta ceremonia en su lengua materna tiene que ver con solicitar a todos los “espíritus de monte” el permiso para introducirse y recolectar los hongos, haciendo hincapié en que sólo se tomará lo necesario, no más, y se respetará el monte (no causando daños). También se ofrecen disculpas anticipadas por cualquier error cometido por algunos de los presentes, argumentando que, si este error fue cometido, se realizó sin intención o maldad alguna.

Durante la recolecta es muy importante acatar las recomendaciones de cómo se deben recoger los hongos; primero solicitando permiso, al hongo, por retirarlo de la tierra, explicándole que se le necesita, se le ofrecen disculpas por tomarlo y que a cambio de lo que tomamos, después de un tiempo, cuando fallezcamos le ofrendaríamos nuestro cuerpo a la madre tierra, para que sirviera, a su vez, de alimento a sus descendientes. Cabe mencionar que no todas las personas que sirven de guías realizan esta ceremonia, lo que indica que muchas de estas costumbres están desapareciendo.

5.6 Aislamiento de tejido micelial de material silvestre

Por no contar con instalaciones adecuadas para obtener el aislamiento del tejido micelial fue necesario fabricar una caja que contara con aire filtrado a presión, basada en el principio de la campana de flujo laminar (figura 20).



Figura 20 Caja con aire filtrado para el aislamiento de tejido de hongos silvestres

La caja se fabricó con metal, madera, papel filtro, cristal y un motor usado de aspiradora. Ésta se probó encendiendo el motor y dejándolo trabajar por espacio de 15 minutos mientras se limpió la superficie con benzal al 2%, posteriormente se introdujeron 10 cajas Petri con medio de cultivo EMA estéril, éstas se destaparon en el interior y se dejaron así durante 2 minutos, pasado el tiempo se taparon y guardaron en bolsas de plástico, dejándose en incubación a temperatura ambiente y oscuridad. A partir del cuarto día las cajas se revisaron diariamente al microscopio para detectar la presencia de contaminantes, al décimo día sólo una caja presentó poca contaminación por bacterias. Esta prueba nos indicó que el aparato funcionó como se esperaba y permitió contar con un micro-ambiente, lo más estéril posible, para realizar el aislamiento del germoplasma de algunos hongos recolectados.

Los ejemplares seleccionados fueron estadios jóvenes y sin daños aparentes por insectos ni sus larvas. Después de identificarlos se limpiaron con una brocha para quitarles la tierra pegada, después, en el interior de la caja con aire filtrado, se procedió a abrirlos por la mitad, con un bisturí flameado al mechero, posteriormente con otro bisturí, también flameado, se tomaron pequeñas porciones del contexto del estípite y del píleo, y se depositaron en cajas Petri con medio EMAA (4 inóculos por caja). Las cajas inoculadas se guardaron en bolsas de plástico y se incubaron en oscuridad a temperatura ambiente. Estas cajas se revisaron al microscopio a partir del segundo día. El micelio que no presentó contaminaciones se resembró varias veces hasta que se obtuvo un micelio libre de contaminantes.

5.7 Propagación de cepas

En cajas Petri con medio EMA se depositó un inóculo, de 5 mm de diámetro, del micelio de cada una de las cepas de los géneros: *Pleurotus*: Pfl, IA y PO; *Lentinula*: L 5, L 9, L 10 y L 11; *Neolentinus*: NL 18 y NL 21; *Ganoderma*: G 1, G 7 y G 10 (5 repeticiones por cepa). Las cajas inoculadas se guardaron en bolsas de plástico y se incubaron en oscuridad a 25°C. Posteriormente para la propagación micelial, de cada una de estas cajas se tomó micelio y se depositaron 4 inóculos de 5 mm, equidistantes, en cajas con medio EMA (3 repeticiones por cepa). Las cajas inoculadas se guardaron en bolsas de plástico y se incubaron en oscuridad a 25°C. De estas cajas se tomó el micelio para los

diferentes experimentos y para preparar el inóculo, en semilla de trigo (*Triticum* sp.), mijo (*Panicum miliaceum*) y/o taquetes de pino (*Pinus* sp.) figura 21.



Figura 21. Preparación de medios de cultivo e inóculo

5.8 Desdicariorización de cepas dicarióticas de *Pleurotus* spp., y clasificación de monocariotes (neohaplontes) en sus tipos de compatibilidad

En las figuras 22 y 23 se puede observar la secuencia seguida para la desdicariorización y recuperación de neohaplontes.

5.8.1 Desdicariorización de Cepas de *Pleurotus* spp.

Las cepas dicarióticas se resembraron por quintuplicado en cajas Petri con medio EMA y se dejaron incubar a 25°C en oscuridad. Para cada cepa se seleccionó una caja con buen crecimiento micelial, de estas cajas se cortó un círculo de 7.0 cm de agar, invadido por micelio, y se depositó en un homogeneizador esterilizado. Al homogeneizador, conteniendo el micelio, se le agregaron 50 ml de agua destilada estéril y se homogeneizó por 120 o 180 segundos, a máxima velocidad. Se tomaron 10 µl de la muestra homogeneizada y se agregó a un matraz de 125 ml, el cual contenía 50 ml de alguno de los diferentes medios líquidos para desdicariorizar (sección 5.2.3).

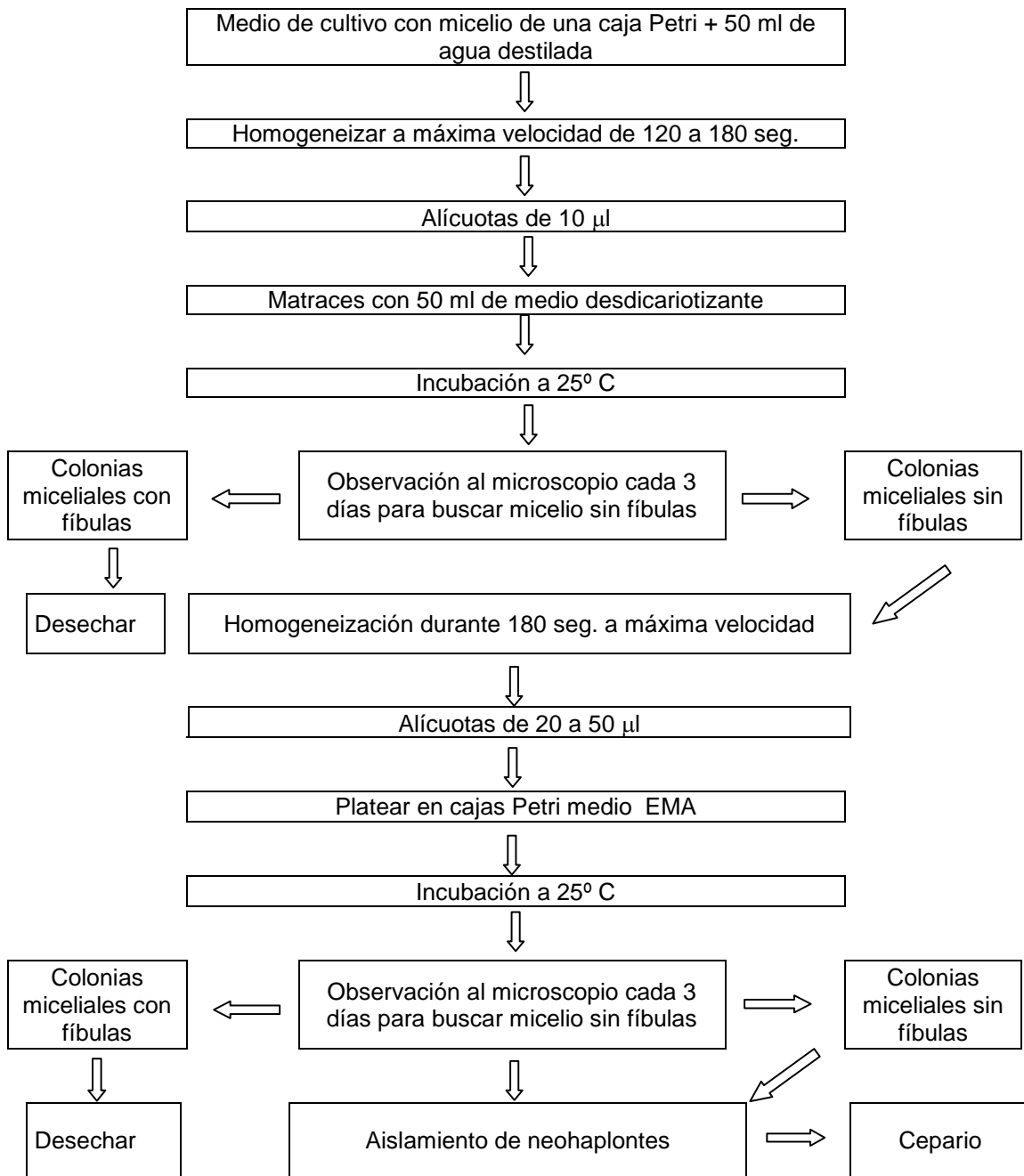


Figura 22. Secuencia para la desdicarización de cepas dicarióticas de *Pleurotus* spp.

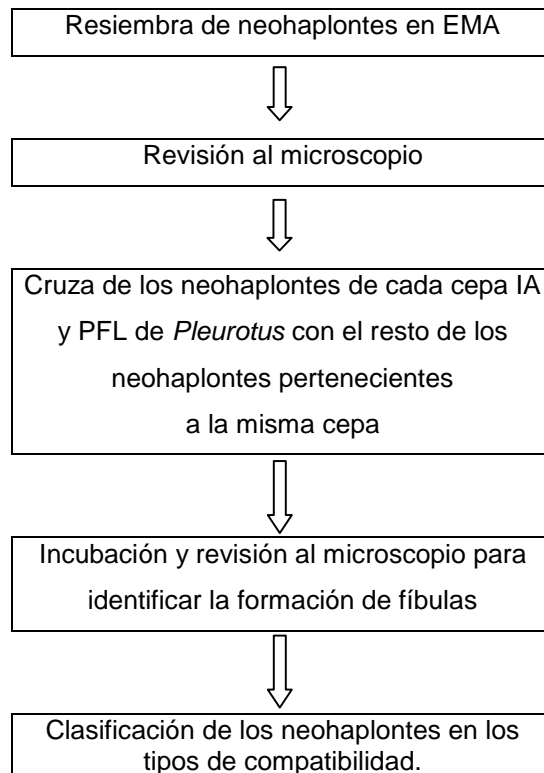


Figura 23. Continuación de procedimiento para la dedicariotización y recuperación de neohaplotentes

Se prepararon 3 repeticiones por cepa para cada medio dedicariotizador. Posteriormente todos los matraces se incubaron a 25°C en oscuridad. Se realizaron observaciones del medio líquido cada 3 días para detectar, a simple vista, el crecimiento de colonias. Al percibir el desarrollo de alguna colonia se tomaron pequeñas porciones del tejido micelial, mediante pipetas Pasteur estériles. Las muestras de tejido se revisaron al microscopio para detectar la presencia de micelio con fíbulas y así comprobar si éste era micelio monocariótico o dicariótico. Al no detectar hifas con fíbulas, todo el contenido del matraz se depositó en un homogeneizador esterilizado y se homogeneizó por 180 segundos a máxima velocidad. Se tomaron muestras de 20 y 50 µl, las cuales se depositaron en cajas Petri con 10 ml de medio EMA y se distribuyeron, sobre la superficie del medio de cultivo, con la ayuda de varillas de cristal estériles. Estas cajas se incubaron en oscuridad a 25°C y se revisaron al microscopio cada 3 días, para observar si los crecimientos miceliales continuaban sin presentar fíbulas. Las colonias que no

presentaron fíbulas fueron separadas, se trasladaron a otras cajas Petri con medio EMA y se les asignó una clave para identificarlas. En este caso la clave se refirió a “neohaplontes” (nh), la referencia de la cepa (IA o Pfl) y un número progresivo.

5.9 Clasificación de neohaplontes en los 2 tipos de compatibilidad

Una vez obtenidos los neohaplontes, se procedió a realizar los apareamientos para comprobar si había sido posible la recuperación de los 2 tipos de componentes monocarióticos. Previo al apareamiento se revisaron las cajas Petri al microscopio para confirmar la ausencia de fíbulas de los micelios. Al confirmar la ausencia de fíbulas se procedió a tomar pequeñas porciones del medio de cultivo con micelio, cuadros de 1 a 2 mm² (aproximadamente), de cada uno de los diferentes micelios obtenidos y se colocaron siguiendo la siguiente secuencia: de la caja 1 se tomó una porción de medio de cultivo con micelio, de 4 mm² (aproximadamente) y se depositó al centro de la nueva caja, con medio EMA, ahí se cortó en 4 partes iguales, y cada porción se repartió equidistante en la periferia de la caja, aproximadamente a 1 cm de la orilla de la caja. Posteriormente, siguiendo la secuencia de las manecillas del reloj, se fue agregando, a cada uno de los trozos de micelio, lo más junto posible, otro trozo de micelio proveniente de la caja 2, el siguiente con micelio de la caja 3 y así sucesivamente, hasta terminar con todas las cajas, realizando 4 apareamientos por cada caja. Posteriormente se tomó micelio de la caja 2 y se repetía el proceso con el resto de las cajas, así sucesivamente hasta terminar de aparear todos contra todos (figura 24).

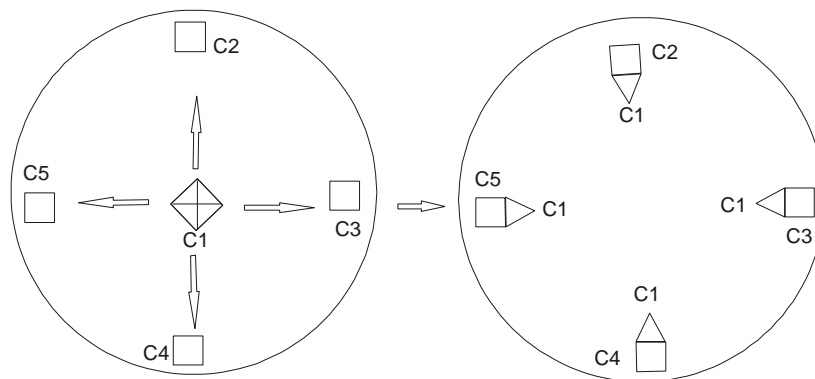


Figura 24. Esquema de secuencia de apareamientos, donde C1 corresponde a micelio de caja 1, C2 a micelio de caja 2 y así sucesivamente

Las cajas se incubaron en oscuridad a 25°C y se revisaron al microscopio después del tercer día para observar si algún micelio presentó fíbulas. Un apareamiento o hibridación se consideró positivo cuando, al observar al microscopio, se apreciaron fíbulas en por lo menos 3 diferentes puntos, situados de manera equidistantes, en la periferia de la colonia. Las fíbulas se forman cuando se lleva a cabo la fusión celular (plasmogamia) y una reproducción mitótica coordinada de los núcleos monocarióticos de las cepas híbridas. Esto implica que los 2 micelios monocarióticos apareados son compatibles y por lo tanto dan origen a la formación de un dicarion. Si el apareamiento resultó positivo en menos de 8 días apareció el micelio con fíbulas, en caso de no aparecer fíbulas se consideró negativo.

5.10 Recuperación y análisis de progenie monospórica de cepa dicariótica de *Pleurotus* sp.

Para la obtención de esporas se siguieron los siguientes pasos (todo dentro de una campana de flujo laminar): en la base de una caja Petri se depositó un círculo de papel filtro y sobre éste se colocó, en el centro, un cubre objetos (todo estéril). Se seleccionó un esporóforo joven de *Pleurotus* sp., el cual, para evitar que la base del estípite hiciera contacto con el papel filtro y lo contaminara, se colocó sobre el cubreobjetos y para sujetarlo, a la caja Petri y que no se moviera, se le introdujo en la parte media del estípite una punta de pipeta desechable estéril, ésta se sujetó a la caja con cinta adhesiva (figura 25).

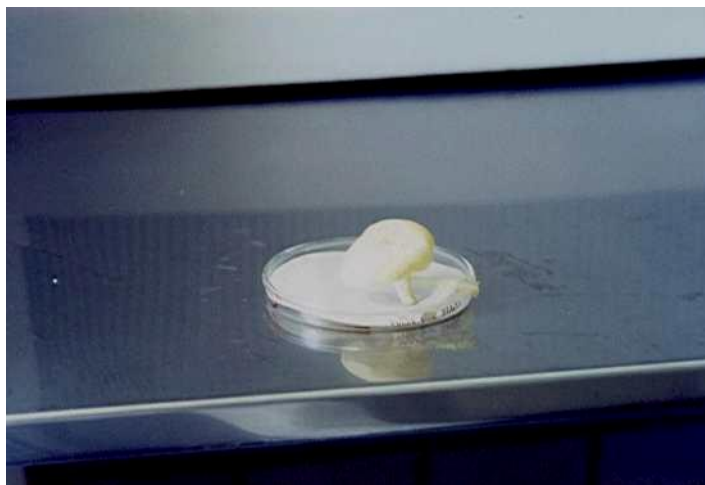


Figura 25. Obtención de esporada de esporóforo de *Pleurotus*

Con la intención de generar un microclima con una alta humedad relativa que favoreciera la esporulación (cámara húmeda), en el interior de una bolsa (a la cual se le realizaron previamente pequeñas perforaciones para permitir el intercambio de gases) se colocó una toalla de papel húmeda y después se introdujo la caja con el ejemplar bien asegurado y se cerró bolsa con cinta adhesiva. Para facilitar la esporulación esta bolsa se colocó dentro de una estufa de cultivo por espacio 24 horas a 25°C.

Cuando se obtuvo la esporada, sobre la superficie del papel filtro, con la ayuda de unas tijeras estériles, se procedió a cortar un cuadro de 1 cm² de este papel con esporas. Este trozo de papel se colocó dentro de un tubo de ensaye estéril de 15 ml, al cual se agregó 5 ml de agua destilada estéril. El tubo de ensaye se agitó durante 1 minuto. Después de agitarlo se tomaron 0.5 ml de la solución de esporas y se pasaron a otro tubo, conteniendo 4.5 ml de agua, se agitó y se tomaron 0.5 ml de esta suspensión; éstos se depositaron nuevamente en otro tubo conteniendo 4.5 ml de agua. De este tubo se tomaron muestras de 50 µl y se depositaron en cajas Petri conteniendo 5 ml de medio EMA y se distribuyó, en la superficie del medio de cultivo, con la ayuda de una varilla de cristal estéril. Las cajas inoculadas se incubaron a 25°C en oscuridad, se revisaron al microscopio después del segundo día, para identificar y aislar micelio monocariote.

Una vez obtenidas diferentes colonias de micelio monocariote, se procedió a aparearlas entre sí para obtener los diferentes tipos de compatibilidad de estas colonias. Los apareamientos se realizaron de la siguiente forma: en una caja Petri con 5 ml de medio EMA, se depositaron 4 cuadros de micelio monocariote, de 1 a 2 mm², todas equidistantes y se colocó, junto a éstos, una porción similar de micelio, también monocariote, proveniente de otras cajas (figura 24). Se incubaron a 25°C en oscuridad y se revisaron al microscopio, cada 2 días, para observar si el micelio presentó fíbulas. Si el apareamiento resultó positivo no tardó más de 8 días en aparecer el micelio con fíbulas, al no aparecer éstas se consideró que dicho apareamiento fue negativo.

5.11 Evaluación del desarrollo micelial de cepas experimentales en diferentes medios de cultivo

5.11.1 Desarrollo micelial en EMA para cepas, L 9, L 10 y L 11 de *Lentinula edodes*

Una vez verificada la esterilidad de las cajas Petri con medio EMA, se procedió a inocular el tejido de las cepas seleccionadas. En cada una de estas cajas se depositó un inóculo de aproximadamente 5 mm² en el centro, para posteriormente guardarlas en bolsas de plástico e incubarlas en oscuridad a 25°C. Cada cepa fue sembrada por quintuplicado. Las cajas se revisaron a partir del segundo día, para detectar alguna posible contaminación. Para evaluar el desarrollo micelial, los diámetros de las colonias se midieron a los 8, 13 y 16 días. Cuando alguna caja presentó contaminación fue desechada.

5.11.2 Desarrollo micelial y cuantificación de biomasa de las cepas G 1, G 7, G 10, de *Ganoderma* spp., NL 18 de *Neolentinus ponderosus*, NL 21 de *N. lepideus* y L 5 de *Lentinula edodes* en los medios EMA, PDA y HITA

Para evaluar el desarrollo de estas cepas, se procedió como en la sección 5.11.1, a excepción de que el diámetro se midió a los 2, 5 y 9 días. Al noveno día, cuando las cajas fueron colonizadas casi completamente, se procedió a realizar la cuantificación de biomasa. Para esto se siguió un proceso de filtración, para lo cual se utilizaron círculos de papel filtro Watman # 3, de 5 cm de diámetro. Para determinar el peso constante de cada papel, éstos se colocaron previamente en un horno a 65°C durante 24 horas. Pasado este tiempo se dejaron enfriar en un desecador. Posteriormente, estos papeles se pesaron en una balanza analítica y a cada papel se le colocó un número progresivo, se realizó una lista de éstos y su peso correspondiente.

A los 9 días, cuando casi la totalidad de las cajas Petri fueron invadidas por el micelio, se procedió extraer y fundir el agar de cada una de las cajas por separado. Para esto, en un vaso de precipitados se calentaron 150 ml de agua destilada, al alcanzar el punto de ebullición se agregó el medio de cultivo, invadido de micelio y se dejó en ebullición durante 15 minutos, esto con la intención de fundir el agar y liberar el micelio. Cuando el agar se disolvió, se procedió a filtrar la solución, muy caliente, en el papel filtro previamente tarado. Para acelerar el proceso de filtración éste se realizó al vacío.

mediante un matraz Kitazato y un embudo de filtración conteniendo el papel filtro. Ya filtrado el micelio, se procedió a secar el papel filtro en un horno a 65°C durante 24 horas. Pasado este tiempo el papel, con el micelio seco, se retiró del horno y se colocó en un desecador. Posteriormente, cada papel con micelio fue pesado en una balanza analítica. Para calcular la cantidad de biomasa, contenida en el papel, se obtuvo la diferencia del peso del papel (previamente tarado) y el peso de éste con el micelio filtrado.

Con la intención de que el peso del micelio resultante fuera lo más exacto posible, se realizó un filtrado previo de 10 muestras, de cada uno de los medios de cultivo, sin crecimiento micelial, para obtener el peso promedio de biomasa existente que pudiera contener el medio de cultivo. Ya obtenido el diámetro y el peso del micelio se restó el peso promedio del medio de cultivo respectivo, sin crecimiento. Posteriormente se procedió a realizar un análisis estadístico de la interacción entre el diámetro y la biomasa obtenida para cada cepa⁴.

5.12 Preparación de inóculo

5.12.1 Inóculo de trigo y mijo

Para preparar inóculo de trigo, éste se hirvió durante 45 minutos, ya cocido se drenó el exceso de agua. Cuando el grano cocido se inoculó con micelio de *Pleurotus*, *Neolentinus* y *Ganoderma* se le agregó 0.3% de carbonato de calcio y 1.3% de sulfato de calcio, omitiendo el carbonato y el sulfato cuando este grano se utilizó para *Lentinula*, esto debido a que se consideró que *Lentinula* podría desarrollarse bien sin estos complementos pues, tal parece, se desarrolla bien en sustratos ácidos (Kalberer, 1995). Además, que cuando se tuviese que preparar el inóculo en la sierra no se podrían conseguir estos suplementos allí. Por otro lado, cuando se prepara inóculo de taquetes no se le agrega nada más y, tal parece, esto no afecta el desarrollo micelial. Cuando se utilizó grano de mijo, éste se dejó en ebullición solamente 10 minutos y posteriormente se drenó y preparó como el inóculo de trigo.

Se empacaron 500 g de grano cocido en bolsas de polipapel de 18 x 25 cm y se esterilizaron en autoclave durante 120 minutos a 121°C y 15 lb de presión. Posteriormente, las bolsas se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Una vez frías, en el

⁴ Rebeca Ramírez. Com. Pers.

interior de una campana de flujo laminar o caja con aire filtrado (figura 20). Cada bolsa se inoculó con la mitad del micelio que se desarrolló en una caja Petri. Se incubaron en oscuridad a 25°C hasta que el grano fue invadido totalmente por el micelio.

5.12.2 Inóculo en taquetes de madera para *Lentinula edodes*

En el trabajo con cepas de *L. edodes*, para su cultivo en troncos de encino (*Quercus laurina*), el inóculo se preparó en taquetes de pino (*Pinus* sp.). Estos taquetes se sumergieron en agua durante 8 horas, se drenaron y se empacaron 500 g de taquetes húmedos en bolsas de polipapel de 18 x 25 cm. Las bolsas con taquetes fueron esterilizadas en autoclave durante 120 minutos a 121°C y 15 lb de presión. Después de la esterilización éstas se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Ya frías, en el interior de una campana de flujo laminar, cada bolsa se inoculó con la mitad del micelio que se desarrolló en una caja Petri y se incubó a 25°C en oscuridad, hasta que los taquetes fueron invadidos totalmente por el micelio.

5.13 Cultivo de *Lentinula edodes* en troncos de encino

Las cepas L 9, L 10 y L 11 fueron donadas al Laboratorio 324 del Departamento de Alimentos y Biotecnología, de la Facultad de Química de la UNAM por el Dr. Tai Soo Lee, del Instituto de Investigaciones Forestales de Chinju Kyongnam, Corea. La decisión de utilizar estas cepas fue, por un lado, que la zona de Corea en donde se ha desarrollado este cultivo, aparentemente, es parecida a las condiciones ambientales de la zona en donde se realizó este trabajo de capacitación y, en ese momento no se contaba con alguna cepa endémica de la región que pudiese servir para el trabajo. Por otro lado, el Dr. Tai Soo Lee recomendó ampliamente estas cepas por ser buenas productoras.

Al inicio fue difícil explicar a los niños todo el concepto y las técnicas del cultivo de hongos debido a que, por el momento, no se contaba con material didáctico adecuado para este fin. Por lo tanto, al inicio de las actividades sólo se realizaron pláticas teóricas con ayuda de un pizarrón y durante la práctica se les explicó, nuevamente, cuál era el sentido de cada uno de los trabajos desarrollados.

El manejo de los troncos requirió de un gran esfuerzo por parte de las niñas y niños, pero estaban tan entusiasmados que no les importó que el trabajo fuera muy pesado (figuras 26 y 27).



Figura 26. Manejo de troncos



Figura 27. Acarreo de troncos

Los troncos seleccionados fueron de la especie *Quercus laurina*, provenientes de una zona de aprovechamiento forestal donde se realizó un “aclareo”. Éstos se escogieron por tener la corteza delgada y no presentar daños por insectos u hongos. Se cortaron en el mes de noviembre, ya que la temporada sugerida para el corte es entre el otoño y la primavera. Esta sugerencia se debe a que en esta temporada los árboles entran en latencia; lo cual incrementa la concentración de carbohidratos y otras sustancias orgánicas y la corteza se encuentra muy adherida a la madera, todo esto favorece la invasión del micelio (Rae, 1980). Además que, para este tiempo, los árboles ya soltaron sus semillas, lo que beneficia la germinación de nuevas plántulas, que darán origen a nuevos árboles en el bosque.

Todos los troncos se cortaron de 90 cm de largo y se utilizaron todos los trozos, para aprovechar los árboles completos. Se separó el musgo, que se había desarrollado en la corteza y se dejaron secar a la sombra, durante 4 semanas, lejos de corrientes fuertes de aire. La principal intención fue, que los troncos perdieran un porcentaje de agua (30 al 40%), las células del tronco murieran para evitar la resistencia a la invasión del micelio de *Lentinula* y, al disminuir la humedad de la corteza, se restringiera la aparición de hongos competidores. En las figuras 28 y 29 se puede observar las condiciones en las que se inició el trabajo.

Para inocular los troncos, se improvisó una mesa de trabajo; colocando tablas sobre unos adobes, de esta manera fue posible trabajar con los troncos en posición horizontal, lo que facilitó la perforación. A cada tronco se les realizaron de 15 a 20 perforaciones, de un máximo de 5 cm de profundidad, con la ayuda de un taladro y una broca para metal de 3/8”. Para esta labor se requirió del trabajo en equipo, cada equipo

contó con 3 niños, uno que se dedicó al acarreo y sujetó los troncos, además, colocó un tapón de cera de campeche después de introducir el inóculo; otro que realizó las perforaciones y uno más que únicamente se dedicó a introducir el inóculo en los troncos perforados.



Figuras 28 y 29. Niños inoculando troncos en condiciones rústicas

Para introducir el inóculo de grano primero, el niño, apretó la bolsa para romper las uniones miceliales y separar los granos, después con tijeras, previamente desinfectadas con benzal al 2%, se realizó una pequeña abertura en una esquina de la bolsa, de un centímetro aproximadamente, para facilitar la salida de la semilla. Después de realizada la perforación del tronco el niño acercaba la bolsa con el inóculo, comenzaba a vaciar pequeñas porciones de semilla hasta que casi se llenaba la perforación para luego retirarse e inmediatamente otro niño colocara el tapón de cera de campeche.

Al inicio, el proceso de inoculación se complicó un poco, ya que no fue sencillo depositar la semilla en la perforación debido a que el grano, apelmazado, no se separaba fácilmente y no entraba en el hueco. Algunas veces fue más la semilla que se derramó que la que entró en la perforación.

Rae (1980), recomienda utilizar el inóculo en grano o aserrín y utilizar un aditamento en forma de tubo con un émbolo, parecido a un “sacabocados” (figura 30), para tomar porciones de inóculo e introducirlos a las perforaciones. Por no contar con ese aditamento, el proceso de inoculación fue lento. El utilizar inóculo de taquetes de pino facilitó proceso de inoculación.

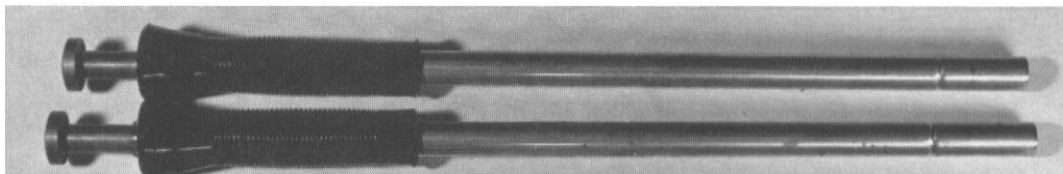


Figura 30. Aplicador de inóculo para troncos

Otro de los problemas que se presentaron fue que los troncos se giraban al intentar perforarlos. Por principio, para evitar que los troncos se giraran, los niños colocaron piedras a ambos lados del tronco, esto, por el momento, funcionó bien. Posteriormente, para agilizar la perforación e inoculación se diseñó un soporte de madera, en forma de tijera, el cual facilitó el manejo de los troncos (figura 31).

Durante el proceso de perforación se presentó un inconveniente, debido a que las brocas, por ser para perforar metal, se atascaban en la madera, lo que provocó que los taladros se calentaran en exceso. Para solucionar el problema se consiguieron brocas especiales que facilitaron el trabajo, pues perforaron más rápido y no se atascaron.

Utilizar brocas especiales, el diseño de soportes de madera que facilitó la perforación, el uso de inóculo de taquetes que permitió una inoculación más eficiente y colocar un tapón de cera de campeche, en lugar de un tapón de corteza o cera derretida, permitió disminuir los tiempos y movimientos sustancialmente, por lo que el trabajo se realizó en forma más eficiente.

De los 300 troncos que se consiguieron; 100 se inocularon con la cepa L 9, 100 con la cepa L 10 y los 100 restantes con la cepa L 11. Cada tronco se marcó con pintura con el número de cepa inoculada y se acomodaron por lotes. Para la incubación y protección de los troncos, del sol y la lluvia, se fabricó una estructura de madera y carrizo de 8 m de largo por 4 m de ancho y 2 m de alto. Ésta se cubrió con carrizos, plástico negro y posteriormente con láminas de cartón. Los troncos ya inoculados se incubaron bajo cubierta a temperatura ambiente (figura 32). Es importante evitar que los troncos reciban el sol directo, pues esto provocará un calentamiento excesivo, con la consecuente muerte del micelio (Rae, 1980).

Cada semana se realizó una revisión de los troncos para detectar la posible presencia de algunas plagas como insectos, que se alimentan de madera, u otros hongos contaminantes.



Figura 31. Soporte de madera



Figura 32. Incubación de troncos

De encontrar insectos, los troncos inmediatamente se sumergieron en tambos de 200 litros llenos de agua durante 4 horas, posteriormente se dejó escurrir el exceso de agua y se acomodaron de nuevo en su lugar. Estos troncos fueron revisados con más cuidado debido a que, posiblemente, aún existieran huevos de insectos, a los cuales el agua no les causo gran problema.

Durante los 12 meses que se requieren para la incubación, además de la revisión constante, se realizaron riegos ligeros para evitar que los troncos se deshidrataran. Es muy importante que la humedad de la madera no esté muy baja, menor al 50%, ya que el micelio no se desarrollará y morirá. Es mejor impedir la pérdida de humedad, mediante riegos moderados, que permitir que los troncos pierdan agua significativamente y entonces intentar re-hidratarlos. Es muy importante que los troncos no se mojen excesivamente, ya que un exceso de agua favorece el desarrollo de hongos contaminantes.

Cuando los troncos presentaron contaminación por mohos se tomaron las siguientes medidas: cuando el área contaminada era pequeña se cortó la zona afectada y fue quemada; cuando la contaminación fue abundante el tronco se retiró y quemó. Se debe tener mucho cuidado que la persona que llegue a tocar alguna contaminación, durante la revisión o manejo de troncos, se lave las manos perfectamente antes de tocar otros troncos, para evitar contaminaciones cruzadas.

Para prevenir la presencia de hongos contaminantes se aplicó un fungicida de contacto, en la superficie del tronco, inmediatamente después de inocular. Es muy importante la aplicación de este fungicida, después de la inoculación, tanto en los troncos como en el piso, para prevenir la aparición de hongos contaminantes. Este fungicida

nunca debe aplicarse durante la etapa de fructificación, ya que inhibe el desarrollo de los esporóforos.

Después de 12 meses de incubación se indujo la fructificación mediante riegos abundantes con la ayuda de una manguera. Es muy importante que los troncos no se sumerjan sí a éstos se les dio un tratamiento con fungicida, de ser así es recomendable que los troncos se laven mediante riegos; este lavado arrastra el fungicida de la corteza del tronco, también evita, cuando el piso es de tierra, la proliferación de mohos y otros hongos en el suelo, de no prevenirlo éstos se convertirán en plaga.

Se recomienda no sumergir los troncos en estanques o recipientes, donde el agua no se renueve constantemente, ya que en la superficie de los troncos existen muchas esporas de otros hongos contaminantes; las esporas disueltas en el agua se alojarán en otros troncos, germinarán e invadirán la corteza del tronco, propiciando contaminaciones cruzadas. Por todo lo anterior es recomendable inducir la fructificación mediante riegos continuos, 3 veces al día, durante 5 días.

Para facilitar la ventilación y el corte se construyeron soportes de madera en donde los troncos se acomodaron inclinados y separados entre sí (figura 33).



Figura 33. Inicio de fructificación



Figura 34. Cosecha

En esta etapa se cuidó que los troncos continuaran bajo sombra y que el sol de la tarde no incidiera sobre ellos. Los hongos se desprendieron del tronco con la ayuda de tijeras o navajas, para no dañar la corteza (figura 34).

Después del primer corte los troncos se dejaron reposar durante 30 días. Pasado este tiempo los troncos se regaron nuevamente y se realizó un segundo corte. Posteriormente se dejaron en incubación durante 12 meses.

Al principio de la cosecha los primeros hongos se cortaron cuando la abertura del píleo fue del 100% (entre 10 y 12 cm). Posteriormente sólo se cortaron cuando el píleo tenía un tamaño entre 3 y 5 cm y el velo inicia el desgarrar (abertura entre el 50 y 60%); es decir, cuando se logran observar algunas láminas a través del velo, que es cuando el hongo posee las mejores características respecto a los índices de calidad de shiitake que se manejan comercialmente en México y Japón (tablas 1 y 2).⁵

Tabla 1. Calidad de *Lentinula edodes* (shiitake) seco según criterios japoneses.

Nombre	Características
Donko	Píleo (sombbrero) grueso, carnosos, con el borde enrollado (desarrollado entre 50 y 60%)
Koko	Entre Donko y Koshin.
Koshin	Píleo delgado, menos carnosos, margen completamente extendido (desarrollado entre 80 y 100%,)

Los criterios que tienen los japoneses para seleccionar estos hongos se basan en el tamaño y desarrollo, utilizando nombres japoneses

Tabla 2. Calidad de *Lentinula edodes* (shiitake) seco según criterios mexicanos.

Clase	Características
1ª	Píleo (sombbrero) redondo, con una abertura de no más del 60%, no deberán verse las láminas, pues éstas deberán estar cubiertas por el velo, sin daños físicos e imperfecciones.
2ª	Píleo redondo o semi-redondo, con una abertura de no más del 70%, el velo podrá estar un poco desgarrado, por lo que se podrán observar algunas láminas. No deberán tener daños físicos.
3ª	Hongos con una abertura de más del 70%, sin daños físicos.
4ª	Hongos con una abertura de más del 70%, deforme y con daños físicos.

Para todos los casos el diámetro del píleo debe estar entre 3 y 7.5 cm

⁵ Atención al público (JETRO). Com. Pers.: JETRO es un organismo oficial del gobierno de Japón, con representación en México, que promueve el intercambio económico con otros países.

5.14 Cultivo de *Ganoderma* spp., *Neolentinus lepideus*, *N. ponderosus*, *Lentinula edodes* y *Pleurotus* spp., en laboratorio

Para preparar los sustratos de paja de trigo (*Triticum* sp.), aserrín de encino (*Quercus laurina* y *Q. rugosa*) y viruta de pino (*Pinus* sp.) se realizaron los siguientes pasos: la paja se cortó en trozos de aproximadamente 5 cm; por separado los sustratos se sumergieron en agua, a temperatura ambiente, durante 2 horas y posteriormente se drenaron durante una hora; únicamente la viruta y los aserrines se adicionaron con 6% (en peso seco) de salvado de trigo.

Para obtener el contenido de humedad se realizó la siguiente prueba de deshidratación: en una balanza granataria se pesaron, sobre papel aluminio (el cual se taró previamente), 5 muestras de 100 g de cada uno de los sustratos húmedos. Posteriormente se colocaron dentro de una estufa y se procedió a secarlos a 65°C durante 24 horas. Pasado este tiempo las muestras se depositaron en un desecador y se dejaron enfriar durante 30 minutos. Posteriormente las muestras fueron pesadas en una balanza granataria, una a una, para obtener la diferencia del peso y con esto determinar la humedad de los sustratos. La humedad de estos sustratos fueron las siguientes: paja 65.8%, viruta de pino 65.2% y aserrín de encino 59.0%

Las bolsas utilizadas fueron de polipapel de diferentes medidas. En el caso de las cepas de *Ganoderma*, se utilizaron bolsas de 18 x 25 cm a las cuales se les agregaron 500 g de sustrato húmedo. Para *Neolentinus* y *Lentinula* se utilizaron bolsas de 20 x 30 cm a las cuales se les agregaron 1000 g de sustrato húmedo. En el caso de *Pleurotus*, a las bolsas de 18 x 25 cm únicamente se les agregaron 500 g de paja.

Todas las bolsas se esterilizaron a 121°C y 15 lb de presión durante 120 minutos. Las bolsas, ya esterilizadas, se dejaron enfriar a temperatura ambiente (dentro de una campana de flujo laminar apagada), cubiertas con un trozo de tela esterilizada; esto evita la condensación de agua en el interior de la bolsa por un cambio drástico de temperatura, además evita que algún contaminante se deposite en la superficie de las bolsas mientras se enfría. Una vez que se enfriaron las bolsas se inocularon en la campana de flujo laminar. A cada bolsa se le agregó 5% de inóculo de semilla, el sustrato se compactó perfectamente dentro de las bolsas para después cerrarlas con ligas. Se realizaron 5 repeticiones para cada cepa a excepción de *Pleurotus*, en donde sólo se hicieron 3 repeticiones por cepa.

Las bolsas se acomodaron en estantes metálicos, dejando un espacio de 10 ó 15 cm entre cada una. La incubación se realizó a 25°C en oscuridad. Ninguna de estas bolsas se perforó para el intercambio de gases. Cuando el sustrato fue cubierto completamente por el micelio se procedió a inducir la fructificación: con la ayuda de una navaja desinfectada se realizaron 8 incisiones equidistantes de 2 cm de largo a cada bolsa; las bolsas se separaron aún más para permitir que los brotes se desarrollaran sin problemas; se regaron las bolsas, mediante aspersores, 2 veces al día durante 15 minutos; se ventiló el cuarto, también 2 veces por día y se mantuvo iluminado con luz artificial por ciclos de 12 horas/día, todo esto a temperatura ambiente. La Eficiencia Biológica (E B) se calculó con la siguiente formula $E B = (\text{gramos de hongo fresco} / \text{gramos de sustrato seco}) * 100$.

5.15. Cultivo de cepas silvestres y comerciales en condiciones rústicas

5.15.1 Adaptación de casas de adobe como cuarto de cultivo

Debido a la falta de recursos para construir una nave o cuarto de cultivo se procedió a adaptar instalaciones ya existentes, una casa de adobe con techo de teja, abandonada, pero en buenas condiciones. Esta casa se forró por dentro con plástico grueso. Se fabricó una segunda puerta de acceso con madera y plástico para permitir el acceso y limitar la entrada de insectos (figura 35).



Figura 35. Segunda puerta de acceso



Figura 36. Estantes de madera

A las ventanas se les colocaron bastidores de madera con una capa de fibra sintética (guata), para permitir la entrada de aire y evitar la entrada de insectos, además se colocó plástico negro para disminuir la entrada de luz. Para acomodar las bolsas se fabricaron estantes de madera de 90 cm de ancho por 150 cm de alto por 4 m de largo con 3 entrepaños y se cubrieron con una capa de aceite automotor usado, para evitar el desarrollo de mohos contaminantes (figura 36).

5.15.2 Sustrato tratado térmicamente por inmersión en agua caliente

Este trabajo se basó en la técnica sugerida por Stamets y Chilton (1983); Herrera-Figueroa (1992) y Guzmán *et al.*, (1993), para el cultivo de *Pleurotus*. En estos ensayos, para el cultivo de las cepas IA y Pfl de *Pleurotus* spp., los sustratos fueron trasladados hasta el internado (figura 37). Se prepararon mezclas de los siguientes desechos agrícolas y forestales, en función de la disponibilidad de cada uno de ellos: bagazo de caña de azúcar, rastrojo de maíz, olotes y hojas de maíz, cascarilla de café, vaina de chícharo y frijol, y viruta de pino. En el caso de los primeros 3 materiales, éstos fueron picados con machetes, hasta alcanzar un tamaño de 5 a 10 cm de largo (figura 38).



Figura 37 Acarreo de sustratos



Figura 38 Picado de sustratos

Para este tratamiento se fabricaron 2 contenedores de malla gruesa de acero galvanizado, con medidas de 45 cm de diámetro y 70 cm de altura. Se utilizaron tambos de lámina de 200 litros que no contuvieron sustancias tóxicas y parrillas con quemadores de gas de alta presión.

El tratamiento térmico con agua caliente se realizó de la siguiente manera: en los contenedores de malla se colocó el sustrato ya picado, seco, sin compactar; en cada

tambo de 200 litros se calentaron aproximadamente 150 litros de agua a 80°C; en el agua caliente se sumergieron los contenedores con el sustrato; en los tambos el sustrato permaneció durante 45 minutos a 80°C; se sacó el contenedor y se drenó el exceso de agua. Este proceso se llevó a cabo en el interior de un cuarto cerrado, el cual se mantuvo lo más limpio posible y sin corrientes de aire.

Para la inoculación se dispuso de una mesa cubierta con plástico grueso, perfectamente limpia, utilizando para esto una esponja de hule comercial y benzal al 1%. Las personas que participaron en este proceso se presentaron bañadas, con una playera limpia y un cubre bocas, los cuales se colocaron en el interior del cuarto de inoculación. Para enfriar el sustrato, éste se depositó sobre la mesa y se terminó de enfriar manualmente.

Para el embolsado se utilizaron bolsas de plástico transparentes de 50 x 70 cm. En cada bolsa se depositaron aproximadamente 8 Kg de sustrato en capas, alternando con capas de inóculo de trigo; a cada bolsa se le agregaron 200 g de inóculo (3% aprox.). Se prepararon 50 bolsas para la cepa IA y 50 para Pfl. A las bolsas inoculadas se les extrajo el exceso de aire, se cerraron con un nudo y se incubaron en oscuridad a temperatura ambiente. Al tercer día de incubación, con la ayuda de navajas desinfectadas, a cada bolsa se le realizaron 12 cortes de 2 cm de largo, distribuidos en toda la superficie. Entre los 25 y 30 días, cuando el sustrato ha sido completamente invadido, se procedió a inducir la fructificación, para esto se retiró el plástico de las ventanas y se ventiló la habitación, además se regó agua en el piso 3 veces al día.

5.15.3 Sustratos preparados por tratamiento térmico con vapor

Con las primeras pruebas de cultivo, mediante el tratamiento térmico de sustratos con agua caliente, que recomiendan Stamets y Chilton (1983); Herrera-Figueroa (1992) y Guzmán *et al.* (1993), (sección 5.15.2), se encontraron muchas desventajas que limitaron su uso en el taller de capacitación. Debido a estas circunstancias y para darle una continuidad al trabajo con los niños, se implementó una técnica de cultivo que se basa en el manejo de sustratos fermentados previamente, tratamiento térmico mediante vapor, manejo de bolsas durante la etapa de incubación y fructificación (estas bolsas deberán permanecer en un solo lugar para evitar el daño al sustrato y el riesgo de contaminaciones cruzadas), además de un programa de higiene, prevención y control de

plagas, y manejo adecuado de desechos. La técnica se implementó debido a las necesidades que se tienen en el internado de Zoogocho, donde no se cuenta con muchos recursos, espacio suficiente, además de que el trabajo se realiza con niños y niñas principalmente.

5.15.3.1 Cultivo de *Pleurotus* spp.

El sustrato utilizado fue una mezcla similar a la que se uso para el tratamiento con agua caliente (sección 5.15.2). Pero ahora, para este tratamiento, después de haber humedecido el sustrato se acomodó sobre un piso de cemento, para formar una pila de aproximadamente 1.50 m de ancho y 1.50 m de alto (figura 39).



Figura 39. Fermentación de sustratos

La pila se cubrió con costales y se dejó fermentar durante 5 días siguiendo el siguiente procedimiento de trabajo.

- Día 0 remojo y apilamiento.
- Día 1 volteo y riego en caso necesario.
- Día 2 volteo y riego en caso necesario.
- Día 3 volteo y riego en caso necesario.
- Día 4 volteo y riego en caso necesario.
- Día 5 tratamiento térmico por vapor.

Para esta técnica se utilizaron tambos de 200 litros, a los cuales se les colocó en el interior un soporte o rejilla de metal, aproximadamente a 10 cm del fondo. Se agregaron entre 20 y 25 litros de agua limpia, hasta casi cubrir la rejilla, posteriormente se colocó el sustrato en el interior de los tambos, sobre las rejillas, compactándolo perfectamente. Para lograr una buena compactación fue necesario apisonarlo perfectamente (figura 40).



Figura 40 Llenado de tambos

Se dejó un espacio libre de 8 a 10 cm entre el sustrato y la parte superior de los tambos para, posteriormente, cubrir perfectamente el sustrato con una tela de algodón y tapar los tambos perfectamente. Los tambos se calentaron sobre una parrilla, con quemadores de alta presión, hasta que todo el sustrato alcanzara una temperatura entre 85 y 90°C. La temperatura se midió con un termómetro de mercurio (-10 a 150°C). Cuando se alcanzó una temperatura entre 85 y 90°C se redujo la flama, lo suficiente para mantener esta temperatura durante 2 horas. Pasado el tiempo se apagó el fuego y los tambos se dejaron enfriar, de 8 a 12 horas, a temperatura ambiente. De este sustrato se tomaron muestras para determinar el contenido de humedad y se procedió como en la sección 5.14, obteniendo una humedad del 67.2% para esta mezcla de residuos agrícolas fermentados.

El proceso de la siembra se llevó a cabo en el interior de un cuarto cerrado y bajo las mismas condiciones utilizadas para el tratamiento con agua caliente (sección 5.15.2). Sólo que ahora, a los niños y niñas que participaron en este trabajo se les fabricó una “camiseta” con una bolsa de plástico de 50 X 70 cm, a la cual se le hicieron 3 perforaciones, una en la parte superior y dos en los costados, para que entraran la cabeza y los brazos, para evitar que la ropa hiciera contacto con el sustrato. Cuando todos estuvieron listos y con las manos lavadas y desinfectadas con benzal, se procedió a destapar uno por uno los tambos y se les retiró la tela de algodón. Por estar muy compactado el sustrato, éste fue difícil de sacar, por lo que se facilitó la extracción utilizando un pequeño tridente metálico, el cual se desinfecto previamente con benzal.

El sustrato fue depositado sobre la mesa, el cual a pesar de haberse dejado enfriar durante 12 horas tenía una temperatura de aproximadamente 60°C, por lo que se terminó de enfriar manualmente. Al sustrato, ya frío, se le agregó el inóculo al 1 % aproximadamente, una bolsa de 500 g de inóculo por tambo (a cada tambo le caben aproximadamente 50 Kg de sustrato húmedo) y se mezcló perfectamente, para después embolsarlo en bolsas de plástico de 50 x 70 cm. Cuando las bolsas estuvieron casi llenas, se procedió a amarrarlas. En las figuras 41 a 44 se muestra parte del proceso.



Figuras 41 y 42. Enfriado e inoculación del sustrato



Figuras 43 y 44. Embolsado e incubación de sustrato

Para la incubación y fructificación se utilizó la misma técnica que para el tratamiento con agua caliente (sección 5.15.2), a excepción de que, para permitir el intercambio de gases, al tercer día de incubación se perforaron las bolsas (60 a 70 perforaciones por bolsa) con agujas de coser previamente desinfectadas con formaldehído al 2%, alcohol etílico de 96° o benzal al 1%.

Para el control de insectos que pudieran entrar a los cuartos de cultivo se fabricaron trampas de papel con aceite. Estas trampas consistieron en bastidores de madera de 50 x 70 cm, sobre los cuales se colocó un pliego de papel bond blanco, sujeto con grapas, para luego cubrirlo con una capa de aceite comestible, éstos se colocaron en las ventanas y sobre algunos estantes.

Para evitar la proliferación de mohos contaminantes se aplicó al piso una capa de fungicida de contacto. Hay que tener cuidado cuando el piso es de tierra, pues un exceso de agua provoca que éste se ponga muy lodoso. Cuando se presentaron pequeñas contaminaciones, por bacterias o mohos, se aplicó alrededor de la contaminación una solución de cal al 5% mediante jeringas hipodérmicas.

Cuando el sustrato fue cubierto completamente por el micelio se procedió a inducir la fructificación, para esto se realizaron 12 cortes de 5 cm de largo, repartidos en toda la superficie de la bolsa. Para permitir el paso de luz se retiraron, de las ventanas, los plásticos negros que servían como cortinas. Se ventiló la habitación y se realizaron riegos en el piso 3 veces al día.

En esta prueba de cultivo el sustrato preparado alcanzó para llenar 20 tambos aproximadamente, por lo que se inocularon y embolsaron 10 tambos para cada cepa, cada bolsa se pesó y marcó con el peso, la fecha, un número sucesivo, la cepa utilizada y las siglas del alumno que embolsó. Para evaluar el promedio de producción se seleccionaron 10 bolsas por cepa con un peso de 8 Kg aproximadamente. Estas bolsas se acomodaron en estantes separadas en 2 lotes: IA y Pfl.

5.15.3.2 Cultivo de *Lentinula edodes* (L 5) y *Neolentinus lepideus* (NL 21) en viruta de *Pinus* sp., (c/s fungicida sistémico “Benlate”)

El propósito de probar las cepas silvestres NL 18 de *Neolentinus ponderosus* y NL 21 de *Neolentinus lepideus* con respecto a la cepa comercial L 5 de *Lentinula edodes* fue porque se consideró la cercanía de estos géneros, ya que como comenta Moreno-Fuentes *et al.* (1996), citando a Redhead y Ginns (1985), que el género *Neolentinus* fue propuesto para aquellas especies de *Lentinus* o *Lentinula* que ocasionan pudrición café en la madera, entre otros detalles morfológicos. También comenta que la especie *N. ponderosus* es bastante parecida a *N. lepideus*, la cual ha sido citada en México como *Lentinus lepideus* (Gaitán-Hernández *et al.*, 1993). Por tal motivo se consideró que estas variedades tendrían comportamientos similares en el desarrollo al cultivarse.

Neolentinus lepideus es conocido en zapoteco como bi'a beech o bi'a nech (hongo de ocote o de rayo) el cual es muy apreciado por los zapotecos de la Sierra Norte de Oaxaca. Mientras que *N. ponderosus* es un hongo comestible de los indígenas rarámuri de Chihuahua y se le conoce con el nombre de kuté-mo'kó-a (Moreno-Fuentes *et al.*, 1996). Estas 2 especies han sido consumidas durante mucho tiempo por estas comunidades indígenas. No obstante, a la fecha, se han realizado pocas investigaciones sobre el aislamiento de cepas de *Neolentinus* y la forma de cultivarlas. Algunas referencias de cultivo se encuentran en: Gaitán-Hernández *et al.* (1993, 1995); Gaitán-Hernández (2000). Cabe mencionar que *N. lepideus* es una especie que se encuentra

amenazada, debido a una sobre-explotación de los bosques en donde se desarrollaba. El estudio, aislamiento y ensayo sobre su cultivo son muy importantes, principalmente para intentar su reintroducción en el bosque y en segundo lugar para desarrollar técnicas de cultivo, en condiciones rústicas, con el fin de aplicarlos en estas comunidades. Con esto estaremos favoreciendo el buen aprovechamiento de este recurso natural. Para estas pruebas se siguió la misma técnica y sustratos que para las cepas de *Ganoderma*.

La viruta de *Pinus* sp., se consiguió en un aserradero de la zona de Ixtlán. Ésta se humedeció por inmersión, para lo cual se llenaron costales y se sumergieron, durante 30 minutos, en agua a temperatura ambiente en tambos de 200 litros. Pasado este tiempo los costales se sacaron y se drenaron durante 2 horas. En el caso de *Lentinula edodes*, debido a su lento crecimiento y que el tratamiento térmico del sustrato no se hizo por esterilización, la probabilidad de contaminación era alta, por tanto al agua donde se sumergió el sustrato se agregó un fungicida sistémico de baja toxicidad Benlate (Dupont); Metil 1-(butilcarbamoil)-2-benzimidazol carbamato, a una concentración de 0.6 g/l. El uso de este fungicida tuvo la intención de disminuir la probabilidad de contaminación del sustrato durante la etapa de incubación. Para estos experimentos se utilizó la misma técnica de tratamiento térmico por vapor que para *Pleurotus* (sección 5.15.3.1).

Para el caso de *Neolentinus* el proceso de enfriado, inoculación y embolsado fue similar que para *Pleurotus* (sección 5.15.3.1), con la excepción de que a cada bolsa de 50 x 70 cm se le agregó 5 Kg de viruta con una humedad del 65.8%, inoculada al 1%. Se prepararon 20 bolsas, de las cuales 10 se amarraron con un nudo y a las 10 restantes se les colocó un tubo de PVC de 1 ½ pulgadas de diámetro por 5 cm de largo, de la siguiente manera: la parte superior de la bolsa se hizo pasar a través del tubo, para después abrirla y extenderla hacia abajo sobre el tubo para dejar un hueco por donde pudiera pasar el aire. Posteriormente se colocó un tramo de guata de 10 x 10 cm que se sujetó con una liga sobre el mismo tubo (figura 45). Las bolsas inoculadas se acomodaron sobre estantes, dejando un espacio de 15 cm entre cada bolsa, y se incubaron a temperatura ambiente.

En el caso de *Neolentinus*, para permitir el intercambio de gases, las bolsas que fueron amarradas, al tercer día de incubación se perforaron con agujas de coser (60 a 70 perforaciones por bolsa), previamente desinfectadas con formaldehído al 2% o alcohol etílico de 96° o benzal al 1%. A las bolsas con filtro de guata no se les realizaron

perforaciones. En las ventanas se colocaron trampas de papel con aceite, para atrapar las posibles mosquitas que pudieran entrar.



Figura 45. Bolsas con filtro de guata para el intercambio de gases

Cuando el sustrato fue cubierto completamente por el micelio se procedió a inducir la fructificación, para esto se realizaron cortes de 5 cm en toda la superficie de la bolsa, 12 cortes por bolsa. Para permitir el paso de luz se retiró de las ventanas el plástico negro que servía como cortina. Se realizaron riegos por aspersión 3 veces al día y se ventiló la habitación, hasta que la humedad relativa se encontraba alrededor del 70%.

Para el caso de *Lentinula*, el proceso de enfriado, inoculación y embolsado fue similar al de *Pleurotus* (sección 5.15.3.1), sólo que durante el enfriado se utilizaron guantes de látex para evitar que la piel tuviera contacto con la viruta tratada con Benlate y así tener una mayor limpieza durante el manejo. La inoculación fue similar a *Neolentinus*. Se prepararon 10 bolsas conteniendo 5 Kg de sustrato con una humedad del 65.8%, en este caso a todas las bolsas se les colocaron el tubo de PVC y filtro de guata. La incubación fue similar a *Neolentinus*.

Para inducir la fructificación las bolsas fueron retiradas del sustrato y debido a que el micelio, que cubre el sustrato, es muy impermeable y no permite humedecerlo uniformemente, para incrementar la humedad los riegos fueron directos y abundantes; se utilizó un aspersor de agua para que el riego fuera fino y lograra penetrar el sustrato. Los cortes de los hongos se realizaron con tijeras para evitar daños en el sustrato.

5.16 Taller de Capacitación

Con el propósito de colaborar en el mejoramiento de la educación de los niños de estas comunidades, donde la calidad de la educación es menor que en otras partes de la República Mexicana, se decidió conformar un taller gratuito, en la capacitación del cultivo de hongos para niños indígenas. Este taller tiene la intención de ayudar en la formación, a temprana edad, de los futuros investigadores y profesionales en el cultivo de hongos; con una preparación más fundamentada en la práctica y sustentada en la teoría.

Todos los trabajos previos tienen como principal intención servir de herramientas para desarrollar dicho taller. Por ser un trabajo inédito no se contó con suficiente bibliografía ni material didáctico que sirviera de apoyo para el desarrollo del taller de capacitación. Debido a esta situación se planteó que la conformación de éste se iría dando sobre la marcha. Para este fin se consideró utilizar técnicas prácticas, lo más sencillas posible, para que estos niños, interesados en el cultivo de hongos, comprendieran, manejaran y se apropiaran de estos conocimientos. De esta forma estaremos ayudando a formar técnicos profesionales con una alta capacidad técnica, a corta edad, con la ventaja de ser bilingües, (hablan y escriben en español y uno o dos idiomas o lenguas indígenas), esto favorecerá la transmisión de estos conocimientos en sus comunidades, en su lengua materna.

Debido a que no se contó con recursos suficientes para fabricar instalaciones o comprar herramientas con las características técnicas utilizadas en la producción comercial, a lo largo de varios años se fue construyendo y/o modificando instalaciones y fabricando herramientas, según las necesidades y con los recursos disponibles, para llevar a cabo las actividades de capacitación de la mejor manera posible:

- Para el aislamiento de germoplasma de especies silvestres, preparación de medios de cultivo y elaboración de inóculo se fabricó una caja con aire filtrado, con el principio de la campana de flujo laminar (figura 20).
- Para el cultivo de *Lentinula edodes* en troncos se fabricó: un cobertizo con madera, carrizo, láminas de cartón y plástico negro para cubrir los troncos del sol y la lluvia; soporte de madera, en forma de tijera, el cual facilitó el manejo de los troncos figura 31. Posteriormente se incrementó el cultivo a 2000 troncos (figura 54), para esto el autor fabricó una galera para la protección de los troncos (figuras 46 a 53).
- Para iniciar el cultivo de *Pleurotus* en desechos agrícolas, se decidió adaptar una casa de adobe en la comunidad de Zoogocho (figuras 35 y 36). Sin embargo, ésta quedaba retirada del internado y se perdía tiempo en el traslado, así que se optó por modificar la galera, para el cultivo en troncos, como cuarto de cultivo (figuras 55 y 56).
- Por no contar con ropa adecuada, en un principio únicamente se les colocaba a los niños una bolsa plástica, a manera de camiseta, y un cubre-bocas desechable para que pudieran trabajar en la siembra. Posteriormente se compró tela y en el taller de corte y confección se elaboraron batas, cofias y cubre-bocas, con los cuales trabajaron más cómodamente (figuras 57 y 58).

En un principio, por no contar con material adecuado para esta tarea, fue difícil explicarles a los niños los fundamentos del cultivo de los hongos. Se buscó la mejor forma de tratar las cuestiones teóricas, de una manera en que pudiese ser más fácil la asimilación de estos conocimientos por parte de los niños (figuras 59 a 64).

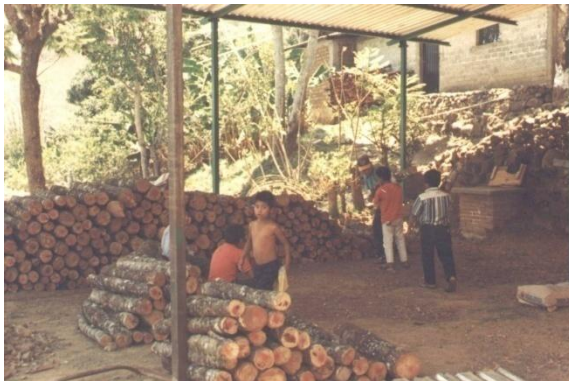
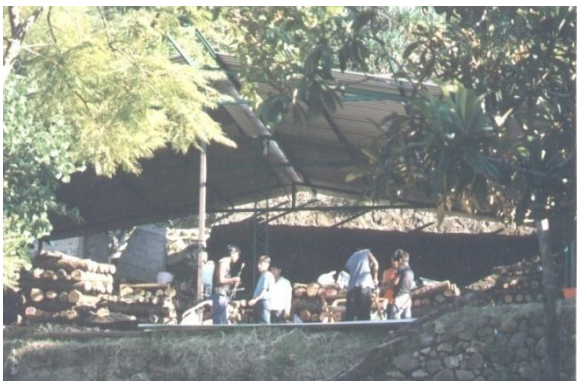
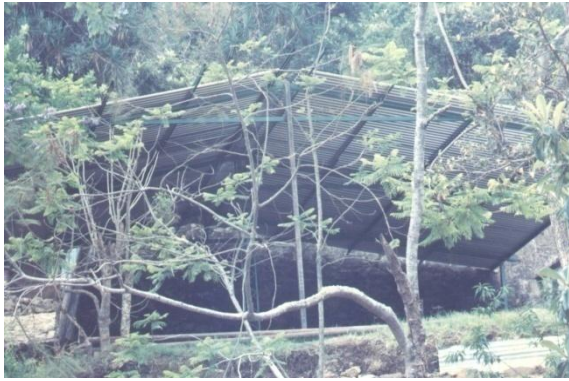
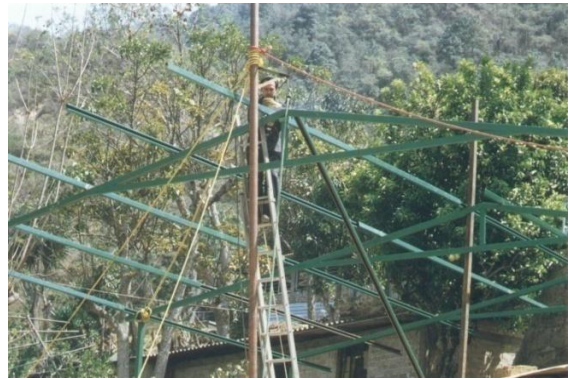
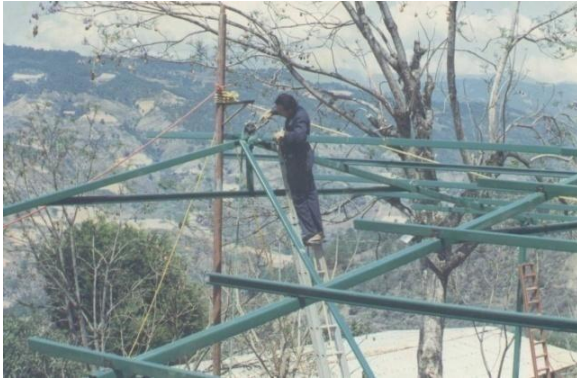
En tanto se llevaron a cabo las actividades prácticas con los alumnos, se fue explicando la intención de cada uno de los pasos que se siguieron durante las diferentes fases del proceso de cultivo (sección 5.13 y 5.15). Al mismo tiempo se fue conformando un archivo de datos e imágenes de todo el proceso para, posteriormente, elaborar un manual didáctico. En este manual se buscó plasmar toda la información necesaria, de una manera sencilla, sin mucho lenguaje técnico, con el propósito que todo esto sirviera para que los niños comprendieran de una forma clara todo el proceso del cultivo. Esto con la intención de que, posteriormente, pudieran ser capaces de realizar ellos solos todo

el cultivo. Con base en los resultados obtenidos y dentro de las actividades que se realizaron para desarrollar el material didáctico, se especificaron y ajustaron los temas que se trataron durante las diferentes actividades del proceso de cultivo.

Se consiguió reparar un proyector de diapositivas (modelo 1957) que se encontraba almacenado, por no funcionar, en una bodega del internado de Zoogocho. Con este proyector se ha intentado que los niños conozcan algunas imágenes de lo que el autor ha realizado en el cultivo en condiciones rústicas y que esto les pueda ayudar a entender, un poco, cómo es que este cultivo puede realizarse en las condiciones que existen en la sierra.

Un profesor del internado nos facilitó una cámara de video, con la cual se han tomado imágenes de los procesos de cultivo, así como algunos de los diferentes hongos que se desarrollan en la sierra. Estas imágenes serán editadas para conformar una serie de videos sobre las diferentes técnicas de cultivo, que se han implementado y adaptado en el internado, y las especies de hongos silvestres que pueden ser comestibles o medicinales, además de las diferentes técnicas que se utilizan para el cultivo en condiciones comerciales en algunas de empresas que existen en México. Con estos videos se espera lograr una mejor atención y una mejor comprensión por parte de los niños, siempre y cuando se pueda conseguir una vídeo-casetera y un televisor.

Toda esta información se utilizará como base para el "Plan de estudios del taller de capacitación en el cultivo de hongos".



Figuras 46 a 53 Construcción de galera para cultivo en troncos



Fotografía Adrián Palacios

Figura 54. Troncos inoculados



Figura 55. Modificación de galera



Fotografía: Adrián Palacios/1999

Figura 56. Cuarto de cultivo



Figura 57. Inoculación sin ropa adecuada



Figura 58. Inoculación con ropa de trabajo



Figura 59. Clase teórica



Figura 60. Clase teórico-práctica



Figura 61. Clase teórica



Figura 62. Clase teórico-práctica



Figura 63. Primeros avances



Figura 64. Problemas a enfrentar

6.0 Resultados

La aplicación de los resultados de recolecta, aislamiento, experimentos con cepas comerciales y silvestres, la aplicación de diversas prácticas de cultivo, así como la conformación de material didáctico, forman parte de la estrategia con la que se pretende establecer, formalmente, un taller de capacitación para niños y niñas indígenas en el cultivo de hongos comestibles.

Parte de las actividades se desarrollaron, de manera simultánea, en el C. I. S. No. 8 en la Sierra Norte de Oaxaca. Otras actividades, relacionadas con el trabajo experimental, se realizaron en el Laboratorio de Hongos Comestibles del Departamento de Alimentos y Biotecnología, de la Facultad de Química de la UNAM y otras instalaciones, desarrolladas por el autor, en la Ciudad de México.

En la figura 9 se puede observar el esquema de la secuencia experimental seguida en todo el proceso, algunas de las actividades se desarrollaron de manera simultánea.

6.1 Recolecta, identificación, recuperación de usos y nombres en zapoteco de material silvestre de la Sierra Norte de Oaxaca

Se obtuvieron 46 especies de 33 géneros, pertenecientes a 23 familias, siendo las familias Tricholomataceae y Boletaceae las mejor representadas. Para 20 especies se logró obtener los nombres comunes en español y 19 en zapoteco. De éstas especies únicamente 10 ejemplares fueron reconocidos como comestibles y ninguno con uso medicinal.

En la tabla 3 se enlistan las especies recolectadas y en la tabla 4 se relacionan estas especies con su nombre común en español y en la variante zapoteca de la zona de Zoogocho.

Tabla 3. Especímenes recolectados por el autor en varias localidades de la Sierra Juárez.

Familia	Especie	Localidad				
		Otatitlán	Zoogocho Yatzachi Tavehua	Maravillas Laxopa Yahuio Guiloxi	Capulalpam La Trinidad Xiacui	Yalina, Zoochila, Zoochina
Agaricaceae	<i>Agaricus</i> sp. 1		X			X
	<i>Agaricus</i> sp. 2		X	X	X	X
Amanitaceae	<i>Amanita grupo caesarea</i>	X	X	X	X	X
	<i>Amanita</i> sp. 1	X			X	
	<i>Amanita</i> sp. 2		X	X	X	
	<i>Amanita</i> sp. 3	X	X	X	X	X
Auriculariaceae	<i>Auricularia</i> sp.	X	X	X	X	X
Boletaceae	<i>Boletus</i> sp. 1		X			X
	<i>Boletus</i> sp. 2	X	X	X	X	
	<i>Suillus</i> sp.			X	X	X
	<i>Tylopilus</i> sp.	X				
Cantharellaceae	<i>Cantharellus grupo cibarius</i>		X	X	X	X
	<i>Cantharellus</i> sp.		X	X	X	X
Clavariaceae	<i>Ramaria</i> sp.	X	X	X	X	X
Coprinaceae	<i>Coprinus</i> sp.	X	X	X	X	X
Cortinariaceae	<i>Cortinarius</i> sp.		X			
	<i>Hebeloma</i> sp.	X				
Geastraceae	<i>Geastrum</i> sp.				X	
Helvellaceae	<i>Helvella</i> sp.		X			X
Hygrophoraceae	<i>Hygrophorus</i> sp.	X			X	
Hymenogastraceae	<i>Hymenogaster</i> sp.	X				
Hypocreaceae	<i>Hypomyces</i> sp.		X	X	X	
Lycoperdaceae	<i>Calvatia</i> sp.					X
	<i>Lycoperdon</i> sp. 1	X	X	X	X	X
	<i>Lycoperdon</i> sp. 2				X	

Tabla 3. Especímenes recolectados por el autor en varias localidades de la Sierra Juárez (continuación)

Familia	Especie	Localidad				
		Otatitlán	Zoogocho Yatzachi Tavehua	Maravillas Laxopa Yahuio Guiloxi	Capulalpam La Trinidad Xiacui	Yalina, Zoochila, Zoochina
Pezizaceae	<i>Peziza</i> sp.		X	X		X
Polyporaceae	<i>Ganoderma</i> sp.		X		X	
	<i>Polyporus</i> sp.	X	X			X
Russulaceae	<i>Lactarius</i> sp. 1		X	X	X	X
	<i>Lactarius</i> sp. 2		X	X		
	<i>Russula</i> sp. 1	X	X	X	X	X
	<i>Russula</i> sp. 2		X	X	X	X
Schizophyllaceae	<i>Schizophyllum</i> sp.	X	X	X	X	X
Sparassidaceae	<i>Sparassis</i> sp.				X	
Strophariaceae	<i>Naematoloma</i> sp. 1	X				
	<i>Naematoloma</i> sp. 2	X				
Tricholomataceae	<i>Laccaria</i> sp.		X		X	
	<i>Marasmius</i> sp.	X			X	
	<i>Neolentinus lepideus</i>				X	
	<i>Pleurotus pulmonarius</i>		X			
	<i>Tricholoma magnivelare</i>				X	
	<i>Tricholoma</i> sp.				X	
Tremellaceae	<i>Tremella</i> sp.	X				
Xylariaceae	<i>Xylaria</i> sp.	X				

Tabla 4. Nombres comunes de algunas especies encontradas en las recolectas

Especie	Nombre en zapoteco variante Zoogocho	Nombre en español	Comestible	
			Sí	No
<i>Agaricus</i> sp. 1	Bi'a beł, Bi'a yixe'	Hongo de campo, hongo de San Juan	X	
<i>Agaricus</i> sp. 2	Bi'a xche'e go'n	Hongo de excremento de toro		X
<i>Amanita grupo caesarea</i>	Bi'a bchecw yag	Yemita roja	X	
<i>Amanita grupo caesarea</i>	Bi'a yech	Yemita amarilla	X	

Tabla 4. Nombres comunes de algunas especies encontradas en las recolectas (continuación)

Especie	Nombre en zapoteco variante Zoogocho	Nombre en español	Comestible	
			Sí	No
<i>Amanita</i> sp.3	bi'a venen	Hongo venenoso		X
<i>Auricularia</i> sp.	Bi'a yid	Oreja de ratón		X
<i>Boletus</i> spp.	Bi'a chsaz	Esponjoso	X	
<i>Calvatia</i> sp.	Bi'a zigw yole	Pedos de tierra		X
<i>Cantharellus grupo cibarius</i>	Bi'a ze	Hongo amarillo	X	
<i>Clavaria</i> sp.	Bi'a xben	Cacho o cuerno de venado	X	
<i>Hydnum</i> sp.	No referido	Lengua de gato		X
<i>Hygrophorus</i> sp.	Bi'a xis	Hongo baboso, gelatinoso		X
<i>Hypomyces</i> sp.	No referido	Hongo de águila, enchilado		X
<i>Lactarius</i> sp. 1	Bi'a nhlle	Hongo de leche	X	
<i>Lactarius</i> sp. 2	Bi'a nize'	Hongo de leche		X
<i>Lycoperdon</i> spp.	Bi'a b o , Bi'a blis	Bolitas		X
<i>Neolentinus lepideus</i>	Bi'a beech, Bi'a yech, Bi'a gwzio'	Hongo de ocote u hongo de trueno	X	
<i>Sparassis</i> sp.	No referido	Coliflor		X
<i>Ramaria</i> sp.	Bi'a laho	Escobeta	X	
<i>Tricholoma magnivelare</i>	No referido	Hongo blanco o de rayo u Hongo blanco de Japonés	X	

En la figura 65 se puede observar que, respecto al consumo de hongos silvestres, de 74 personas entrevistadas:

- El 12% comentaron que no los recolectan ni los comen, debido al riesgo de envenenamiento, refiriendo algunos casos de familias enteras que murieron por comer hongos.
- El 88% mencionaron que ellos y sus familias los comen, pero no todos, únicamente los que saben identificar plenamente, tal y como les enseñaron a reconocerlos.

- El 81% los recolectan sólo cuando van a cortar y recoger leña o llevan a sus animales a pastar y los utilizan para autoconsumo.
- Un 7% manifestaron que una parte de lo que recolectan lo vende o intercambia (en trueque) con algunos comerciantes de la región.
- El 11% mencionaron que sí compran hongos silvestres y a partir de 1998 compran champiñones cultivados con los comerciantes que los llevan de la ciudad de Oaxaca.
- En general, todos manifestaron no saber del uso medicinal de algún hongo en particular.

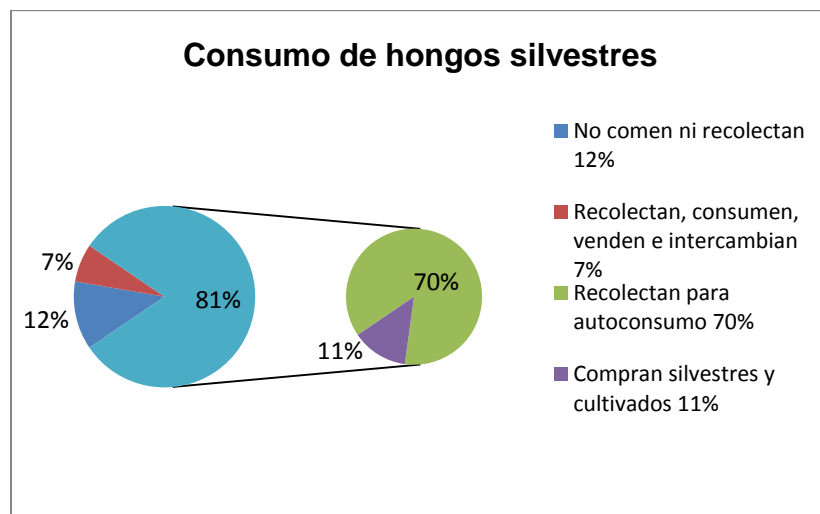


Figura 65. Referencias del consumo de hongos silvestres en una pequeña muestra de la población

Al preguntarles sobre los hongos que con más frecuencia consumían y por qué, la mayoría comentaron que Bi'a b̄hecw yag y Bi'a yech, que otras personas conocen como "nanacate" (*Amanita grupo caesarea*) son sus preferidas, seguidas de Bi'a ze (*Cantharellus grupo cibarius*), Bi'a chsaz (*Boletus* sp.), Bi'a xben (*Clavaria* sp.) y Bi'a beļ (*Agaricus* sp. 2), esto debido a su sabor y por sus características morfológicas que les permite identificarlos fácilmente de los venenosos. Los que consumen con menos frecuencia son: Bi'a beech (*Neolentinus lepideus*), hongo blanco o de rayo (*Tricholoma magnivelare*), entre otros, esto debido a que no es fácil encontrarlos. En este trabajo no

se consideró *Ustilago maydis* como parte de los hongos comestibles, ya que en estas poblaciones no se tiene la costumbre de consumirlo. Sus variedades de maíz son muy resistentes al ataque del hongo y cuando encuentran alguna mazorca infectada la destruyen quemándola.

Cuando se les preguntó sobre la manera de cocinarlos, todos coincidieron en que los comen asados al comal y en tacos o preparan un platillo tradicional conocido como amarillo, pues no conocen otra forma de prepararlos.

Una vez realizadas las recolectas e identificados los ejemplares se procedió a elaborar carteles con los resultados para los cursos de capacitación y difusión en el C.I.S. No. 8. Un resumen de estos carteles fue entregado a las personas que ayudaron con el trabajo.

Es de hacer notar que aunque muchos pobladores de esta región han perdido una buena parte de su cultura se siguen sintiendo “orgullosamente zapotecos”, aunque curiosamente no intenten el rescate de su cultura perdida. Tal el caso de poblaciones que se encuentran cercanas a la ciudad de Oaxaca y tienen más vías de comunicación, como Capulalpam, Ixtlán y La Trinidad, entre otras comunidades del Distrito de Ixtlán. Por otro lado se encuentran poblaciones alejadas de la capital oaxaqueña, como es el caso de San Ildefonso Villa Alta, en el distrito de Villa Alta, en donde existe una mayoría mestiza que no habla más que español, no obstante que en todas las comunidades alrededor aún se hablan muchas variantes del zapoteco. En estas poblaciones se encuentra poca gente, principalmente ancianos, que aún hablan zapoteco, y la mayoría de la población de jóvenes y adultos no quiere aprenderlo, por lo que se ha incrementado la pérdida de lenguaje, costumbres y tradiciones. Quienes tienen más apego y respeto a los recursos naturales, conservan los conocimientos tradicionales y lenguaje, son las poblaciones más aisladas, aunque existen excepciones. Hasta hace poco menos de 6 décadas había comunidades que conocían los usos tradicionales de los hongos como alimento y, tal vez, como medicina; a cada especie importante le asignaban, en su lengua materna, un nombre según las características que observaban y que les permitía diferenciarlos. Este conocimiento, como muchos otros, trascendía a las nuevas generaciones a través de la tradición oral, ahora, esta tradición se está perdiendo rápidamente⁶.

⁶ Pedro Ríos (CIS No. 8), 18 de junio de 1996. Com. Pers.: parte importante del inicio de la pérdida de muchas lenguas indígenas, en este caso el zapoteco, fue propiciado por el gobierno mexicano;

Algunas personas que aún recuerdan cómo llamar a ciertos hongos, cuándo se refieren a algunas variedades no comestibles les llaman Bi'a xche'e go'n y para las variedades venenosas se refieren como bi'a xis o bi'a venen⁷. La palabra "venen" tal parece una pronunciación modificada del español. Cabe mencionar algo muy interesante: invariablemente cuando se habla de hongos, la mayoría de las personas hace referencia a "lo que les han platicado, lo que han escuchado o lo que refieren como experiencia cercana con familiares" de que mucha gente ha muerto por comer hongos silvestres venenosos. Relatan que las personas que comieron hongos murieron, no obstante, desconocen qué tipo de hongo les causó la muerte. Es llamativo cómo refieren toda la sintomatología del envenenamiento, muchas veces exagerada. Posiblemente estas referencias o comentarios es lo que ha propiciado que la mayoría de la gente sólo consuma unas cuantas especies que saben identificar; esto parece ser un indicativo de por qué no consumen muchos de los hongos que existen en sus bosques.

Muchos habitantes identifican algunas variedades comestibles como "nanacate"; palabra en náhuatl que hace referencia a un hongo comestible (este detalle, del nombre nahua, es debido a que estos pueblos de la sierra (chinantecos, mixes y zapotecos) fueron tributarios de los aztecas), lo curioso es que utilicen esta palabra nahua en lugar del nombre en su lengua materna.

En lo que respecta a los hongos con propiedades medicinales, se recolectaron *Ganoderma* sp., y *Pycnoporus* sp., hongos saprófitos o parásitos con posible potencial medicinal. Sin embargo, en las conversaciones con algunos pobladores que mostraron mayor conocimiento sobre hongos ninguno refiere algún tipo de hongo que se empleara con fines curativos o preventivos, a diferencia de lo que comentan Pérez-Silva *et al.* (1988); Guzmán (1994) y Galván *et al.* (1998) sobre el uso de algunos hongos medicinales en diferentes estados de la república.

En las comunidades visitadas, de esta sierra oaxaqueña, lo que continúan utilizando para la cura de sus enfermedades son plantas medicinales, muchas de las cuales son endémicas y se continúan utilizando ampliamente, debido a que los servicios

éste, en su afán de "unificar el idioma español o castellano en todo el país" prohibió el uso de lenguas indígenas como forma de comunicación entre los alumnos, en las escuelas de comunidades indígenas y rurales.

⁷ Sofronio Cruz (Zoogocho). Com. Pers.

de salud son escasos y muchas de las veces no cuentan con abasto suficiente de medicamentos.

Es muy importante hacer notar que las personas que aún conservan el conocimiento ancestral de la herbolaria indígena llevan auestas una carga muy pesada, ser considerados “brujos”; a partir de la conquista española, el sabio y el médico indígenas fueron considerados como “hechiceros o brujos”, bajo el concepto católico de brujería. Que difícil ha sido, para esta “gente de conocimiento”, el mantener esta sabiduría e intentar difundirla, para que siga persistiendo. Esta situación es muy singular, ya que al mismo tiempo que se les busca para conseguir una cura milagrosa, por otro lado se les ataca y persigue por considerarlos malas personas. Muchos de sus descendientes prefieren no aprender u olvidar dichos conocimientos ancestrales, debido a que también esta tradición ha sido considerada despectivamente “conocimiento de indios”⁸.

La problemática social es muy compleja y continúa propiciando la pérdida de la cultura indígena. Esto nos ha llevado a considerar, ¿Realmente estas comunidades nunca han utilizado hongos en cuestiones terapéuticas?, o en todo caso estos conocimientos se han abandonado junto con los nombres en zapoteco y no será nada fácil su recuperación. La poca información que se obtuvo puede ser una muestra de la erosión de la cultura y pérdida del idioma zapoteco. Sin embargo, cabe mencionar que en algunas conversaciones con algunos maestros del C.I.S. No. 8, al preguntarles sobre el comportamiento de algunas personas que no quisieron ayudarnos con la identificación y recolecta comentaron que posiblemente se debió a que, a través del tiempo, a muchas de estas personas, aprovechando su ignorancia, las han engañado. Esta situación ha derivado en un comportamiento más receloso con personas extrañas a su comunidad. Además mencionaron “En esta sierra existe una recomendación popular, que traducida al español dice”: “No digas todo lo que sabes, ni creas todo lo que te dicen”. Esto puede explicar en parte su comportamiento.

Muchos de los habitantes de comunidades de la Sierra Norte desconocen el potencial de sus recursos naturales y los beneficios que pueden obtener de un adecuado aprovechamiento sostenible. En muchas comunidades serranas la recolecta de hongos era para autoconsumo y algunas veces para el trueque o la venta, a muy baja escala, similar a lo que menciona Pérez-Silva (1979), para el altiplano mexicano. Por ejemplo,

⁸ Ismael Guzmán (Tavehua), 18 de agosto de 1995. Com. Pers.

para 1999 en el poblado de Zoogocho un solo ejemplar de *Amanita grupo caesarea*, o *Boletus* sp., de aproximadamente 200 a 250 g se llegaba a vender o intercambiar por otros productos con un valor aproximado de 60 pesos y una bolsa conteniendo 250 g de *Cantharellus grupo cibarius*, tenía un equivalente de 10 a 15 pesos.

Las especies de hongos silvestres que se consumían y/o intercambiaban en estas comunidades eran, aparte de las ya mencionadas: *Agaricus* sp. 1, *Lactarius* sp. 1, *Ramaria* sp. y *Neolentinus lepideus*. En esta zona pocas personas de comunidades como Laxopa, Yahuio y Guiloxi, aún recolectaban algunas especies que reconocían como comestibles, de las que tenían duda se abstendían de recolectar y comerlas; tal es el caso de *Helvella* sp., *Lactarius* sp.1, *Pleurotus pulmonarius*., *Coprinus* sp., e *Hypomyces* sp. (una especie de *Lactarius* o *Russula* parasitado por un ascomiceto, Ulloa, 1994).

En el todo el tiempo que pasamos en esta zona hemos sido testigos de la notable destrucción de recursos forestales, anteriormente por sobreexplotación y nula reforestación por parte de la empresa FAPATUX, (Fábrica de Papel de Tuxtepec) y actualmente para transformarlos en zonas de cultivo de maíz, lo que indudablemente ha provocado un decaimiento en la regeneración del bosque (figura 8).

De acuerdo a diversas pláticas con algunos pobladores mencionan que la abundancia de los hongos ha ido disminuyendo con el paso del tiempo. Algunas especies micorrizógenas como: *Amanita grupo caesarea*, *Cantharellus grupo cibarius*, *Lactarius* spp., entre otras, ya no se encuentran fácilmente debido a que muchos de los terrenos en donde se desarrollaban, y que eran zonas para obtención de leña, actualmente se rozaron y quemaron para la siembra de maíz. En conversaciones con algunas autoridades municipales de esta región, a pregunta expresa de ¿Por qué se ha incrementado la roza, tumba y quema en laderas que no van a producir casi nada de maíz? Han comentado que esto ha sido propiciado por el programa PROCAMPO del gobierno federal. Este programa ofrece recursos económicos a los pobladores para la siembra de maíz, los cuales van de acuerdo a la superficie por sembrar, lo que provocó la tumba y quema de extensas áreas de bosque con la intención de obtener mayores recursos. Esto explica porque, en muchos casos, se ha tumbado el monte y se siembra un poco de grano “al voleo”, no importando si dará cosecha o no.

El hongo saprofito *Neolentinus lepideus*, que también era fuente de consumo y por efectos de una sobreexplotación forestal, en la zona donde antes abundaba ahora ya no

se consigue fácilmente⁹. Esta especie tampoco ha sido estudiada y es muy importante su recuperación, debido a que es potencialmente cultivable sobre los desechos de los aserraderos, como menciona Gaitán-Hernández (2000) que en la zona de Xalapa, Veracruz existe la especie *Neolentinus suffrutescens* (Brot.:Fr.) May & Wood, (= *Neolentinus lepideus* (Fr.) Redhead & Ginns), la cual, a pesar de que es objeto de consumo en varias comunidades y es potencialmente cultivable sobre una gran cantidad de residuos de madera de pino que se generan en la región, ha sido poco estudiada. A su vez Moreno-Fuentes y Cifuentes (2000), mencionan la especie *Neolentinus ponderosus*, una variedad comestible de la zona rarámuri. Este hongo promete ser una importante fuente alternativa de alimento para este pueblo, al mismo tiempo que contribuirá de manera indirecta al mejoramiento local de los suelos agrícolas y la eliminación de subproductos forestales contaminantes.

Entre los hongos que es poco frecuente encontrar, en esta zona, está la especie *Tricholoma magnivelare*, conocido por algunos pobladores del distrito de Ixtlán como “hongo blanco” u “hongo del rayo”. Este hongo, a pesar de ser comestible no se consumía, y si alguna vez se consumió este conocimiento se ha ido perdiendo con el paso del tiempo¹⁰. Este es un caso especial, debido a que en 1994 grupos de comerciantes llegaron a la sierra para comprar este hongo, que por su parecido con el “matsutake” japonés *Tricholoma nauseosum* (Villarreal y Pérez-Moreno, 1989) tiene mucha demanda en el mercado japonés. En ciudades como Tokio, Yokohama, Fukuoka, Kameoka, Nagoya, Kove y Osaka según la temporada, se llegó a vender entre 100 y 150 dólares la libra. Esto favoreció un incremento del precio que pagaban los comerciantes por este hongo; en la temporada de lluvia de 1994 se pagaba más de 180 pesos el kilogramo de hongo de primera calidad; ¡este precio era equivalente a lo que costaba, en promedio, un metro cúbico de madera en rollo! Para 1996 el precio del hongo de primera calidad llegó a costar hasta ¡600 pesos el kilogramo!

Los pobladores al percatarse del potencial que tenía la explotación de esta variedad de hongo se interesaron mucho en entender cómo podían cultivarlo. Sin embargo, el principal problema del cultivo del *Tricholoma magnivelare* es que esta variedad es micorrizógena; micorriza = conjunto de hifas de un hongo que se unen a las

⁹Lilia Pérez Santiago (UZACHI), 12 de febrero de 1997. Com. Pers.

¹⁰ Francisco Ramírez (Capulalpam), 30 de mayo de 1996. Com. Pers.

raíces de una planta con la cual establece una relación de simbiosis (Moore-Landecker, 1996) en este caso con las raíces de *Pinus teocote*, por lo que su cultivo es difícil y requieren del bosque para poder fructificar.

Los altos precios que se pagaban por *T. magnivelare* representaba una enorme ventaja para los ejidos y comunidades, así que se apresuraron a comercializarlo. Como requisito previo, para la recolección y venta, la SEMARNAP pidió a las comunidades una notificación técnica elaborada por un ingeniero forestal, basada en la norma oficial NOMEM 009 pero, como se comentó anteriormente; muchos de los ingenieros forestales no poseían el conocimiento de cómo aprovechar este recurso. Incluso no conocían nada sobre la biología de estos hongos, por tal motivo sus notificaciones estaban basadas en insustancial información bibliográfica que no correspondía con la realidad. No obstante tantas incongruencias, la SEMARNAP aceptaba estas notificaciones como válidas. Muchas de estas notificaciones estuvieron tan mal diseñadas que para áreas de aprovechamiento de 17,000 a 20,000 Ha se consideró obtener un volumen de 6,000 Kg por ciclo anual. Al revisar los reportes de las zonas de aprovechamiento se encontró que lo que se obtuvo realmente fue un volumen de 1,117 a 1,978 Kg como máximo, lo que está muy alejado del volumen propuesto (SEMARNAP, 1995, 1996). Otro de los errores de la notificación era que no se explicaba, en detalle, el cuidado que deberían observar los recolectores, para no afectar las zonas de aprovechamiento y evitar la sobreexplotación del recurso. El gran desconocimiento sobre el buen aprovechamiento del recurso, tanto de técnicos forestales, pobladores y funcionarios de SEMARNAP, aunado a los altos precios que se habían pagado por este hongo ejercieron fuerte presión sobre un recurso en principio renovable, pero de cuya biología se sabía poco. Toda esta problemática propició la modificación de estas normas que culminó con la publicación de la norma NOM-010-RECNAT-1996, *establece los procedimientos, criterios y especificaciones para realizar el aprovechamiento, transporte y almacenamiento de hongos. El propósito de esta normatividad es mitigar una sobreexplotación y fijar criterios de manejo para mantener la productividad natural del recurso.*

Durante varios años de acompañar a algunas personas de las comunidades de Capulalpam y Xiacui en las recolectas, se observó que este tipo de hongo no se reproduce en cualquier lugar; los lugares en donde fue posible localizarlo eran zonas de *Pinus teocote*, e invariablemente estaba asociado con árboles de una edad aproximada

de 30 a 40 años. Era una gran ventaja que en las zonas de aprovechamiento forestal el *P. teocote* no fuera una especie maderable. Los ocotales presentaban un fuste largo, pero muy delgado para su edad, éstos se encontraron en nichos con suelos muy pobres, pendientes muy pronunciadas, una orientación sur, sur-este, un microclima cálido y una altura de 2200 a 2500 m.s.n.m. No obstante, la misma especie de árbol que se encontró en zonas con pendientes más suaves y suelos más profundos no tuvo, aparentemente, la asociación micorrizógena con el hongo *Tricholoma*¹¹. Otra particularidad es que, este hongo no sobresale de la hojarasca; su presencia únicamente se percibe por su aroma particular, aunado a la formación de pequeños montículos, que muchas de las veces se confunden con piedras cubiertas por hojarasca y no se aprecia fácilmente en el suelo del bosque. En algunos casos se encontraron 1 o 2 hongos, cuando más, pero en otros lugares se encontraron, asociados al mismo árbol, varios ejemplares juntos, en diferentes fases de madurez.

Después de varios años de trabajar en la recolecta de hongos silvestres, de observar la dificultad que tenían los recolectores para encontrar este hongo y las malas condiciones con las que manejaban el recurso, para el año 1995 se decidió presentarles algunas sugerencias.¹²

- No cortar ejemplares muy jóvenes, de menos de 7 cm, ni ejemplares en un estado de madurez avanzado.
- Para revisar el estado de madurez es necesario que se presione el sombrero del hongo, si éste es firme podrá cortarse. Pero, si el sombrero no tiene firmeza puede tener gusanos y no se recomienda cortarlo.
- Para cortar los hongos es necesario sujetar el sombrero y el pie del hongo, girarlo y jalarlo suavemente para evitar dañarlo.
- Que cuando levantaran la hojarasca, para buscar el hongo, de encontrarlo o no volvieran a cubrir el lugar para evitar la deshidratación del suelo y por ende, del micelio.

¹¹Javier Toro, 10 de febrero de 1994. Com. Pers.

¹² Javier Toro, 8 de abril de 1995. Com. Pers.: las sugerencias se basaron en la información recabada por el autor durante varios años y tuvo la intención de facilitar la recolecta de este hongo y que, al mismo tiempo, los recolectores se percataran que cuidar su recurso de una sobreexplotación los beneficiaría a todos a largo plazo.

- No cortar árboles de la especie *Pinus teocote*, sino que permitieran y propiciaran el desarrollo de estos pinos.
- Para obtener árboles micorrizados era necesario que depositaran semillas o plántulas de *Pinus teocote* en la periferia de la base de los árboles adultos, que ya estaban produciendo el hongo y posteriormente trasplantarlos a una zona cercana con las mismas características, para que facilitara el desarrollo de la planta y del hongo.
- Evitar el pastoreo, roza y quema en las zonas cercanas al área de recolecta.

No obstante estas propuestas y que ya se había publicado la norma NOM-010-RECNAT-1996 muchos de los recolectores, por sugerencia de los compradores y también por ambición, recogían todos los ejemplares que se encontraban, aún los estadios muy jóvenes. Incluso, se dio el caso de que habitantes de comunidades colindantes invadían las zonas de aprovechamiento de sus vecinos, esto llegó a causar muchas molestias e incluso agresiones. En adelante se tendrán que cuidar más estos detalles, para realmente favorecer un buen aprovechamiento del recurso y evitar que, por ambición, estos hongos lleguen a estar en peligro de extinción por una sobreexplotación y mal manejo.

Moreno-Fuentes y Cifuentes (2000), hacen mención de la importancia de apoyar los estudios de prospección, investigación y desarrollo de técnicas de cultivo, con la intención de realizar transferencias tecnológicas a posibles productores, considerando un desarrollo dentro de un contexto regional y nacional, que sea simultáneamente congruente con el modelo de desarrollo global. Es muy importante que, en este marco de desarrollo, la principal intención sea favorecer un buen aprovechamiento de los recursos naturales. Esto podrá propiciar una mejor calidad de vida para las comunidades y evitar perder micro-ambientes en donde es posible que aún existan algunas especies endémicas. De no actuar rápido, tal vez nunca logremos conocer o recuperar dichas especies. Es muy importante que se continúe trabajando en la recuperación de los conocimientos tradicionales, así como en recolecta, investigación, aislamiento y propagación de hongos endémicos, para contribuir al rescate de la cultura y recursos bióticos que aún existe de la Sierra Norte, porque después será demasiado tarde.

Como comentario final cabe hacer algunas acotaciones que tienen que ver con el fenómeno de la transculturación en esta región. En las poblaciones poco mestizadas se

pudo observar una relación estrecha con el entorno natural, donde el uso de los recursos naturales era aprendido por las nuevas generaciones a través de la experiencia y la tradición oral. Sin embargo, actualmente dicha tradición se está perdiendo junto al idioma zapoteco por diversas causas.

En pláticas realizadas con algunos profesores y alumnos del C.I.S. No. 8, secundaria de Zoogocho y alumnos del Bachillerato Tecnológico de San Juan Tabaá, Villa Alta, permitió apreciar que el conocimiento y uso tradicional de sus recursos naturales, junto con parte de su cultura están siendo fuertemente alterados por la interacción con sus paisanos que han emigrado a los estados Unidos de Norteamérica, la ciudad de Oaxaca, la ciudad de México u otras ciudades y que regresan esporádicamente a sus comunidades para asistir a sus fiestas patronales.

6.2 Aislamiento de tejido micelial de material silvestre

El trabajo de recolecta, en diferentes comunidades, nos ha permitido hasta ahora conocer algunas especies comestibles y posiblemente medicinales. El obtener cepas de estas especies endémicas nos permitirá contar con un cepario que servirá para futuros trabajos de investigación. Con esta visión se desarrolló el siguiente trabajo de aislamiento de tejido micelial y la obtención de las cepas respectivas. En la tabla 5 se muestra una relación de las cepas que se lograron aislar, así como su lugar de origen.

El aislamiento de tejido micelial presentó grandes problemas, que sobre la marcha se fueron solucionando: en primer lugar, en la sierra no se contaba con instalaciones adecuadas para aislar el tejido micelial de los hongos recolectados, por lo cual se intentó trasladar los ejemplares hasta la ciudad de México, pero éstos nunca llegaron en buen estado para lograr su aislamiento.

La obtención de cepas fue posible gracias a que la caja con aire filtrado que se fabricó (figura 20) basada en el principio de la campana de flujo laminar, permitió trabajar en condiciones de limpieza favorables y evitó contaminaciones. Esta caja redujo sustancialmente los recursos económicos y el tiempo para realizar el aislamiento de cepas de los hongos recolectados más importantes.

La carencia de recursos limitó la compra de más reactivos y materiales necesarios para continuar con los aislamientos, obtención y conservación de cepas. Esto propició no poder mantener el desarrollo de algunas cepas obtenidas, con la consiguiente pérdida de

casi la mitad de las cepas aisladas. Con todo, se cumplió con el cometido de obtener tejido micelial para iniciar un banco de germoplasma de hongos silvestres de la Sierra Norte.

Tabla 5. Cepas de hongos silvestres, aisladas por el autor, de algunas localidades en la Sierra Juárez y otros lugares de México de 1994 al 2001

Especie	Lugar de origen	Disponibilidad de cultivo micelial
<i>Agaricus</i> sp.1	Tavehua, Villa alta, Oaxaca	Sí
<i>Agaricus</i> sp.1	Zoochina Villa alta, Oaxaca	No
<i>Amanita grupo caesarea</i>	Estado de México	No
<i>Amanita grupo caesarea</i>	Laxopa, Ixtlán, Oaxaca	No
<i>Calvatia</i> sp.	Estado de México	Sí
<i>Calvatia</i> sp.	San Pedro, Toluca, Estado de México	Sí
<i>Calvatia</i> sp.	Tavehua Villa alta, Oaxaca	No
<i>Calvatia</i> sp.	Yodocono, Nochixtlán, Oaxaca	No
<i>Cantharellus grupo cibarius</i>	Tavehua Villa alta, Oaxaca	Sí
<i>Cantharellus grupo cibarius</i>	Estado de México	Sí
<i>Ganoderma</i> sp.	San Juan Tlacotenco, Tepoztlán, Morelos.	Sí
<i>Ganoderma</i> sp.	Santa Isabel Cajonos, Choapam, Oaxaca	Sí
<i>Helvella</i> sp.	Yatzachi el bajo Villa alta, Oaxaca	No
<i>Lycoperdon</i> sp. 1	Zoogocho Villa alta, Oaxaca	Sí
<i>Lyophyllum decastes</i>	Estado de México	Sí
<i>Morchella</i> sp.	Estado de México	Sí
<i>Morchella</i> sp.	México, D. F.	Sí
<i>Neolentinus lepideus</i>	Xiacui Ixtlán, Oaxaca	Sí
<i>Pycnoporus</i> sp.	Zoogocho Villa alta, Oaxaca	No
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Zoogocho Villa alta, Oaxaca	Sí
<i>Suillus</i> sp.	La trinidad Ixtlán, Oaxaca	No
<i>Tricholoma magnivelare</i>	Capulalpam Ixtlán, Oaxaca	No
<i>Tricholoma</i> sp.	Yuvila, Ixtlán, Oaxaca	No

Algunas de las cepas que se lograron obtener, de estos organismos silvestres, servirán como base para futuros proyectos de micorrización, inóculo para cultivo de hongos comestibles y estudios de principios activos para diversos productos.

Los estudios de identificación, obtención de germoplasma de hongos y la creación de un banco de cepas, aunado a una real protección de la biodiversidad para evitar la erosión genética, es de mucha importancia. Labarère y Menini (2000), mencionan que la creación de un banco de germoplasma es muy importante como base para la promoción y

expansión del cultivo de hongos para el desarrollo de las comunidades. Mientras muchos países latinoamericanos aún continuamos ensayando la adaptación de técnicas, la evaluación del desarrollo de cepas sobre diferentes sustratos (con cepas muchas veces probadas) Labarère (1998), señala que los países desarrollados están enfocando su investigación a la biología molecular, la protección de la biodiversidad y la constitución de bancos genéticos utilizando tecnología avanzada.

En tanto el estudio de los hongos no sea considerado como una estrategia que puede brindar buenas alternativas económicas al país y las políticas de apoyo a la ciencia continúen con su ceguera histórica, los resultados que tal vez obtengamos será que, en un corto plazo, vamos a tener que adquirir, a empresas extranjeras, productos con principios activos derivados del germoplasma de especies mexicanas. De querer cultivar estas especies tendremos que pagar regalías por concepto de patente.

Con sorpresa podremos encontrar que empresas farmacéuticas internacionales como Monsanto o Novartis, entre otras, ya poseen y tal vez ya patentaron el genoma de algunas especies silvestres mexicanas; entre ellas muchas especies de hongos micromicetos, de bosque mesófilo. El peligro de nuevas formas de explotación es evidente, por ejemplo, la organización forestal Unión Zapoteca Chinanteca (UZACHI) de la comunidad de Capulalpam, del distrito de Ixtlán, Oaxaca, realizó entre 1994 y 1995 convenios con la empresa suiza SANDOZ (actualmente Novartis).

A pregunta expresa, el Sr. Reynaldo Ramírez de la organización UZACHI comentó un poco resignado: "Estos instrumentos han sido intercambiados con la empresa SANDOZ a cambio de enviar, puntualmente, todas las cepas que se lograron aislar (gracias a los aparatos y reactivos que facilitó dicha empresa (figura 66). "No queremos que la compañía Suiza gane todos los beneficios al final, igual que nos pasó con el bosque, pero la realidad es que no teníamos los recursos para aprovechar estas montañas. Ahora, por lo menos, ya contamos con la tecnología básica necesaria para investigar lo que hay aquí".¹³

¹³ Reynaldo Ramírez (UZACHI), 12 de junio de 1998. Com. Pers.: en este convenio la empresa intercambió microscopios, una campana de flujo laminar, autoclaves y reactivos, entre otras cosas, para montar un micro-laboratorio a la UZACHI, a cambio de 6,000 cepas de hongos micromicetos de bosque mesófilo con potenciales propiedades farmacéuticas.



Figura 66. Parte de las herramientas e instalaciones del micro-laboratorio de la UZACHI

La UZACHI, con la promesa de SANDOZ que de encontrar algunos principios activos importantes, en las muestras de hongos enviados, se le otorgaría una prima económica. Obviamente el premio gordo nunca llegó y la organización se vio envuelta en un problema legal de bio-prospección no autorizada por el gobierno federal. Es muy importante evitar que por desconocimiento de los habitantes de estas comunidades se sigan dando casos de saqueo biológico.

La potencialidad de los recursos fúngicos de la sierra aún es grande, por lo que es importante recalcar la conveniencia de ampliar su estudio e iniciar la conformación de un banco de germoplasma, para su posterior utilización en investigación, propagación y cultivo. Esto favorecerá la generación de paquetes tecnológicos que puedan implementarse en sus comunidades, para lograr un mejor aprovechamiento de sus recursos naturales, lo que podrán generar beneficios en su calidad de vida, sin afectar sustancialmente su entorno.

6.3 Cultivo de *Lentinula edodes* en troncos de encino en el internado de Zoogocho

Mientras se llevaban a cabo las recolectas y aislamiento de cepas silvestres se dio inicio a la capacitación, en el cultivo de hongos, para los alumnos del internado. Sin

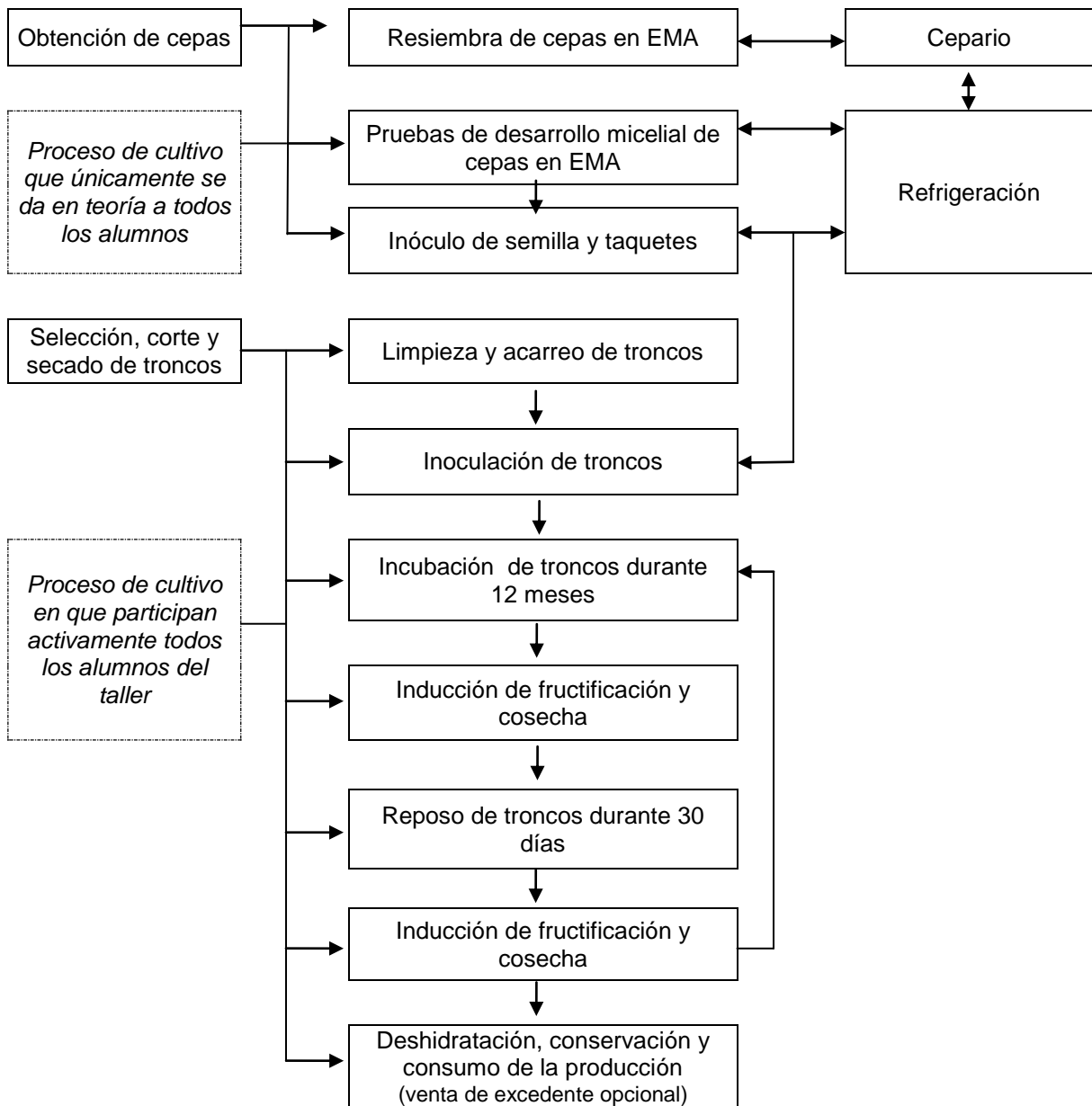
embargo, en ese momento todavía no se contaba con una cepa endémica, con características adecuadas para el taller de cultivo, aunado a que tampoco se contaba con recursos económicos para fabricar un cuarto de cultivo y dar inicio a la producción de *Pleurotus* en residuos agrícolas y forestales. Por tal motivo, se decidió utilizar la técnica de producción de *Lentinula edodes* en troncos de encino, que era, en ese momento, la que mejor se prestaba para iniciar el trabajo.

En la figura 67 se puede observar esquemáticamente el proceso llevado a cabo para el cultivo de *L. edodes* en troncos de encino. Las cepas de *L. edodes* (L 9, L 10 y L 11) presentaron un buen desarrollo, tanto en el medio de cultivo como en granos de trigo y taquetes de pino, no existiendo diferencias en la velocidad de invasión para ninguna de las cepas, las cuales invadieron al 100% las bolsas de grano y taquetes en 17 días a 25°C, semejante a lo que mencionan Ramírez-Carrillo y Leal-Lara (2002), que para el inóculo de trigo, que prepararon con cepas de *Lentinula*, la invasión al 100% la obtuvieron en 21 días a 24°C.

El tiempo para la inoculación se redujo, aproximadamente en un 33%, con respecto al tiempo utilizado cuando se trabajó sobre tablas y se perforó con brocas para metal, en la tabla 6 se puede observar la comparación del tiempo utilizado en estas actividades.

Tabla 6. Tiempos y movimientos, para la inoculación en el cultivo de *Lentinula edodes* (shiitake) en troncos, con un grupo de trabajo conformado por 3 niños

Actividades	Tiempo utilizado (min/tronco)	Troncos inoculados en una hora de trabajo	Tiempo utilizado para inocular 300 troncos
Inoculación de troncos sobre tablas y adobes, perforando los troncos con brocas para metal, utilizando inóculo de semilla	15	4	75 horas
Inoculación sobre soporte de madera, utilizando brocas especiales para perforar madera, utilizando inóculo de taquetes	5	12	25 horas



En el taller a los alumnos se les da una explicación teórica o teórica-práctica, en un lenguaje sencillo, de cada fase del proceso de cultivo, a lo largo de todo el ciclo. Haciendo énfasis en las cuestiones de higiene y limpieza. Así como el manejo y control de plagas y contaminantes, el manejo de cosecha y pos-cosecha. Además de los cuidados que se deberán tener con el producto hasta el consumo final.

Figura 67. Diagrama de cultivo de *Lentinula edodes* en troncos de encino

En esta prueba se observó que de 300 troncos inoculados se perdieron 50 por contaminación. De los 250 troncos restantes se obtuvieron alrededor de 70 Kg de hongo fresco en una cosecha con 2 cortes. Esto nos sugiere que, aproximadamente, cada tronco de 90 cm de largo y de 12 a 15 cm de diámetro puede producir de 200 a 300 gramos de hongo fresco en una cosecha el primer año. Manejamos esta información de la producción debido a que no se contó con una balanza que facilitara pesar la producción de cada tronco al momento del corte. El volumen total se obtuvo gracias a que un comerciante de la localidad nos permitía pesar en su balanza las cosechas obtenidas. Por tal motivo la producción por cepa y por tronco no se cuantificó adecuadamente. Sin embargo, la principal intención de la enseñanza de esta técnica de cultivo a los niños se estaba logrando. Toda la producción obtenida se consumió en el internado, con gran aceptación de los niños.

Durante la fase de incubación, fue muy importante la revisión de troncos para identificar y controlar la presencia de plaga de insectos, así como la aplicación del fungicida de contacto, que evitó la presencia de hongos contaminantes.

Para la fructificación no se utilizó la técnica de sumergir los troncos en estanques, debido a que en el internado no se cuenta con suficiente agua corriente para este fin. De haber introducido los troncos en un estanque, donde el agua no se renueva constantemente, era muy fácil una contaminación cruzada por la gran presencia de esporas de hongos contaminantes disueltas en el agua. La alternativa de inducir la fructificación mediante riegos fue adecuada, ya que este riego facilitó que la capa de fungicida de contacto se desprendiera de la superficie de los troncos, lo que permitió un buen desarrollo de los primordios.

Las plagas que se presentaron fueron principalmente insectos como cucarachas de la madera (no identificadas) y escarabajos de la especie *Passalus fabricius* (Reyes-Castillo, 1970) (figura 68); estos insectos forman grandes galerías en el interior de los troncos, dejando rastros de madera sobre la corteza o en el piso. Estos organismos depositan sus huevos en el interior del tronco y cuando éstos eclosionan, las larvas también forman galerías al alimentarse de la madera (figura 69). Esta plaga es muy perjudicial, pues son vectores de dispersión de otros hongos, que se desarrollan sobre madera. Estos organismos al alimentarse de la madera y del micelio disminuyen sustancialmente la producción.



Figura 68. Escarabajo *Passalus fabricius*



Figura 69. Larva de escarabajo

Cuando se encontraron troncos perforados por insectos inmediatamente se sumergieron en agua con el fin de hacer salir a los adultos y las larvas; éstas, al no salir, morían asfixiadas, ya sea por el agua o porque la madera al hincharse disminuía la luz de las galerías y las atrapaba. Los hongos contaminantes que se presentaron sobre la corteza y parte de la madera expuesta fueron principalmente mixomicetos (figuras 70 y 71).



Figuras 70 y 71. Cuerpos fructíferos de hongos mixomicetos sobre troncos

La presencia de estos organismos contaminantes permitió que los niños comprendieran la importancia de los cuidados que se deben tener durante toda la fase de incubación. Como parte de la capacitación se les mostró que el corte de los brotes es más recomendable cuando el píleo tenía un tamaño entre 3 y 5 cm y el velo está intacto o inicia el desgarre (abertura entre el 50 y 60%); es cuando el hongo posee las mejores características, sobre la base de los índices de calidad de shiitake que se manejan comercialmente en México y Japón (tablas 1 y 2 sección 5.13). Además se les instruyó acerca de la forma más económica y fácil de preservar los hongos cosechados; se les mostró que si éstos son secados al sol y posteriormente se depositan en bolsas de papel y se guardan en bolsas de plástico, bien selladas, logran durar varios años sin descomponerse. También se les mostró que para consumirlos posteriormente sólo es necesario remojarlos en agua caliente y cocinarlos de manera convencional.

Mientras se llevaban a cabo las actividades se tomaron fotografías, las cuales se pasaron al formato de diapositivas, éstas servirán como datos de referencia para la explicación teórica de las diferentes actividades para el cultivo de *Lentinula edodes* en troncos de encino. Y no obstante que en un principio a los niños se les explicó que el cultivo en troncos es un cultivo de producción anual, ahora, pasado cierto tiempo, se impacientaban por obtener cosechas más rápido.

Para el desarrollo de este trabajo se realizaron algunas actividades de manera simultánea, en ese momento se llevaba a cabo:

- Cultivo de *Lentinula edodes* en troncos en el Centro de Integración Social No. 8.
- Recolecta e investigación de los hongos silvestres comestibles y medicinales, así como los usos que les dan en diferentes comunidades.
- Desarrollo de material didáctico para apoyar las actividades teóricas del taller de capacitación.

En el cultivo en troncos ya se había obtenido la primer cosecha, mientras que en las recolectas y aislamientos se habían obtenido algunas cepas de diferentes variedades lignocelulósicas; dichas cepas pueden tener capacidad para desarrollarse en desechos agrícolas y forestales. Los siguientes experimentos tienen la intención de evaluar algunas cepas silvestres, para su posterior uso en el taller de capacitación en condiciones rústicas.

6.4 Evaluación sobre la potencialidad de cultivo de especies silvestres en condiciones de laboratorio

6.4.1 Evaluación de desarrollo micelial y cuantificación de biomasa de cepas de *Ganoderma* spp.: G 1, G 7 y G 10

En las pruebas realizadas para comparar el desarrollo de cepas en diferentes medios de cultivo se obtuvo: diámetro micelial (figura 72), producción de biomasa (figura 73) y diferencia entre el diámetro y biomasa obtenidos (figura 74). A los datos obtenidos se les realizó un análisis de varianza y la prueba de rango múltiple de Duncan (tablas 7 y 8).

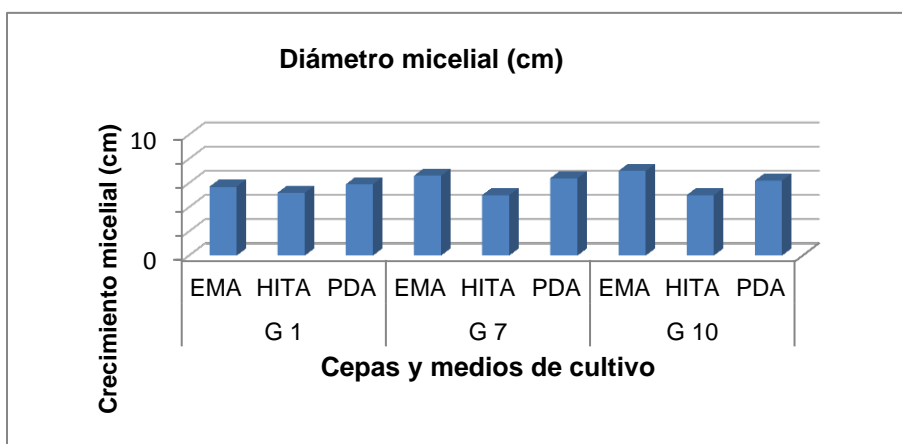


Figura 72. Diámetro micelial de 3 cepas de *Ganoderma* a 9 días de incubación

Tabla 7. Diámetro micelial de 3 cepas de *Ganoderma* a 9 días de incubación

Cepas	Medio de cultivo	Diámetro micelial (cm)			
		$\bar{X} \pm \sigma$	C V (*)	Duncan	
G 1	EMA	5.7 ± 0.1	2		b
	HITA	5.2 ± 0.29	6	a	
	PDA	5.9 ± 0.12	2		b
G 7	EMA	6.6 ± 0.12	2		c
	HITA	5.0 ± 0.05	1	a	
	PDA	6.4 ± 0.12	2		b
G 10	EMA	7.0 ± 0.06	1		c
	HITA	5.0 ± 0.1	2	a	
	PDA	6.2 ± 0.13	2		b

Letras diferentes muestran diferencias significativas a un nivel de confianza del 95% de acuerdo a la prueba de Duncan.

(*) Coeficiente de Variación.

Los resultados obtenidos (figura 72 y tabla 7) indican que para las cepas G 7 y G 10 el mayor diámetro micelial se obtuvo en el medio EMA, existiendo diferencia significativa con el medio PDA para todas las cepas y EMA para la cepa G 1, las cuales presentaron menor desarrollo. Donde se presentó una alta diferencia significativa fue en la interacción con el medio HITA, para todas las cepas, en donde se obtuvo el menor diámetro micelial.

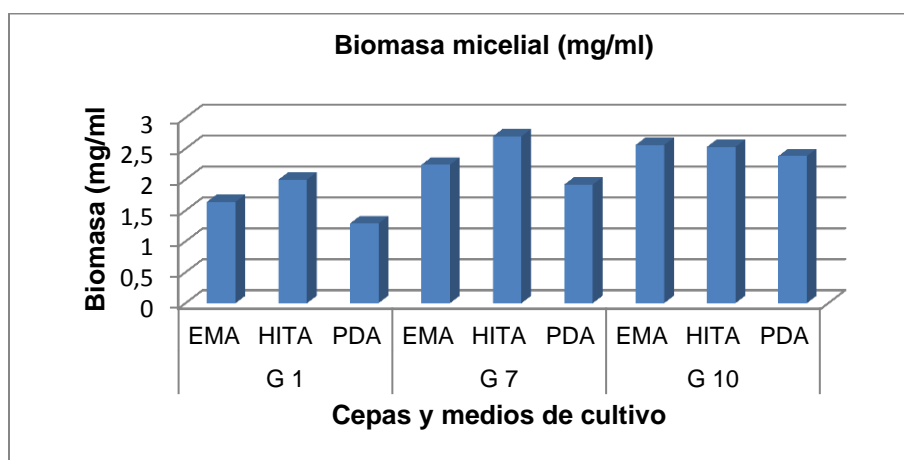


Figura 73. Biomasa micelial de 3 cepas de *Ganoderma* a 9 días de incubación

Tabla 8. Biomasa micelial de 3 cepas de *Ganoderma* a 9 días de incubación

Cepas	Medio de cultivo	Producción de biomasa (mg/ml)			
		$\bar{X} \pm \sigma$	C V (*)	Duncan	
G 1	EMA	1.64 ± 0.07	4	b	
	HITA	2.00 ± 0.20	10	b	
	PDA	1.29 ± 0.07	6	a	
G 7	EMA	2.24 ± 0.06	3		c
	HITA	2.70 ± 0.15	2		d
	PDA	1.92 ± 0.02	1	b	
G 10	EMA	2.56 ± 0.09	6		c
	HITA	2.53 ± 0.03	6		c
	PDA	2.38 ± 0.07	2		c

Letras diferentes muestran diferencias significativas a un nivel de confianza del 95% de acuerdo a la prueba de Duncan.

(*) Coeficiente de Variación.

Con respecto a la producción de biomasa (figura 73 y tabla 8), se observó que en la interacción de la cepa G 7 y el medio HITA se obtuvo la mayor producción de biomasa, presentando diferencia significativa con la interacción G 7 en EMA y G 10 en todos los medios. Donde se observó una marcada diferencia significativa fue en la interacción de la cepa G 7 con el medio PDA y G 1 con EMA y PDA. En donde se obtuvo la menor producción y una alta diferencia significativa fue en la interacción de la cepa G 1 con PDA.

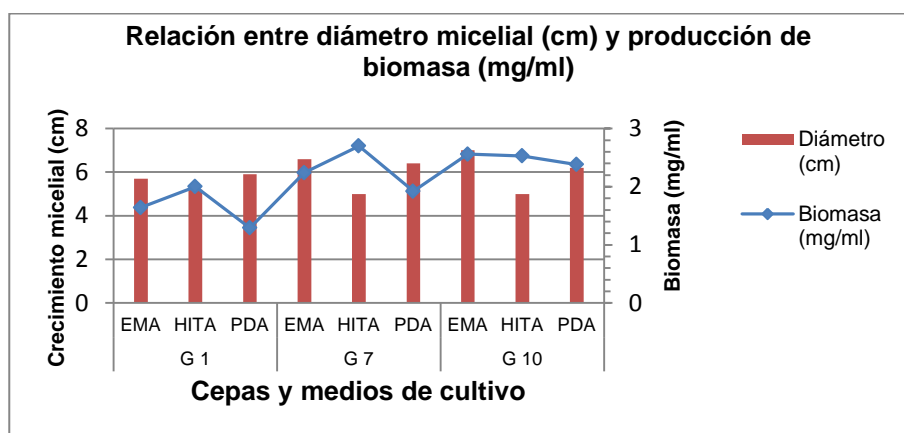


Figura 74. Comparación entre diámetro y biomasa micelial de 3 cepas de *Ganoderma*

En la figura 74 se puede observar que, para las cepas G 1 en medio HITA, G 7 en EMA y G 10 en los medios EMA y PDA existió una concordancia entre el diámetro micelial y la producción de biomasa obtenida, mientras que para las cepas G 7 y G 10 en el medio HITA se observó una mayor producción de biomasa micelial y menor diámetro de la colonia.

Los resultados obtenidos en las pruebas realizadas sugieren que para las cepas G 7 y G 10 los diámetros de las colonias miceliales no necesariamente son un buen indicador del desarrollo de tejido micelial. Esto corrobora lo que mencionan Ramírez y Leal-Lara (2000a), siendo el análisis de producción de biomasa una alternativa para la adecuada evaluación de cepas.

6.4.2 Evaluación de desarrollo micelial y cuantificación de biomasa de cepas de *Neolentinus*: NL 18 y NL 21 y *Lentinula*: L 5

Continuando con la evaluación de algunas cepas silvestres se obtuvo: diámetro micelial (figura 75), producción de biomasa (figura 76) y diferencia entre el diámetro y biomasa obtenidos (figura 77). A los datos obtenidos se les realizó un análisis de varianza y la prueba de rango múltiple de Duncan, los resultados se pueden observar en las tablas 9 y 10.

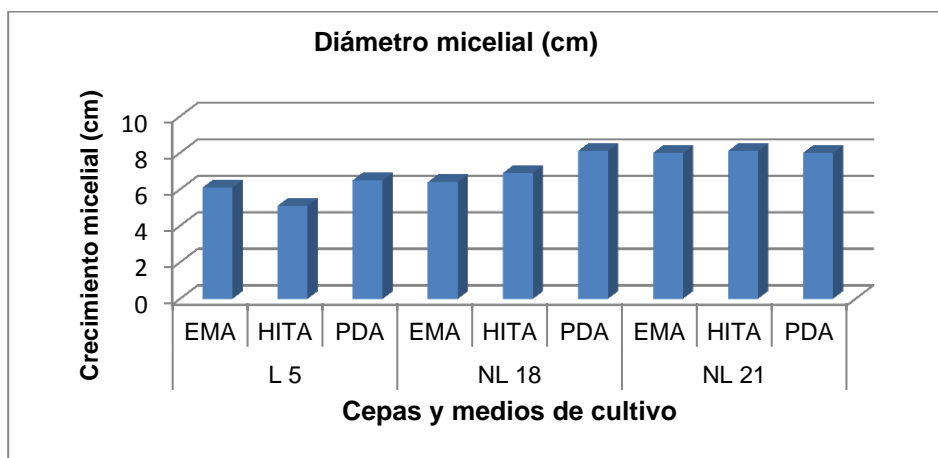


Figura 75. Diámetro micelial de cepas de *Neolentinus* y *Lentinula* a 9 días de incubación

Tabla 9. Diámetro micelial de cepas de *Neolentinus* y *Lentinula* a 9 días de incubación

Cepas	Medio de cultivo	Crecimiento micelial (cm)			
		$\bar{X} \pm \sigma$	CV (*)	Duncan	
L 5	EMA	6.1 ± 0.6	1.0		b
	HITA	5.1 ± 0.6	1.0	a	
	PDA	6.5 ± 0.6	0.9		b
NL 18	EMA	6.4 ± 0.0	0.9		b
	HITA	6.9 ± 0.0	0.0		b
	PDA	8.1 ± 0.6	0.0		c
NL 21	EMA	8.0 ± 0.6	0.7		c
	HITA	8.1 ± 0.6	0.7		c
	PDA	8.0 ± 0.6	0.7		c

Letras diferentes muestran diferencias significativas a un nivel de confianza del 95% de acuerdo a la prueba de Duncan.

(*) Coeficiente de Variación

En la figura 75 y tabla 9 se puede observar que los mayores diámetros miceliales se obtuvieron en la interacción de la cepa NL 21 en todos los medios y NL 18 en PDA,

presentado diferencia significativa en las interacciones del medio HITA con NL 18 y el medio EMA con las cepas NL 18 y L 5 donde se obtuvieron menores diámetros miceliales. Donde se presentó una alta diferencia significativa fue en la interacción de la cepa L 5 con el medio HITA donde se obtuvo el menor diámetro micelial.

Figura 76. Biomasa micelial de cepas de *Neolentinus* y *Lentinula* a 9 días de incubación

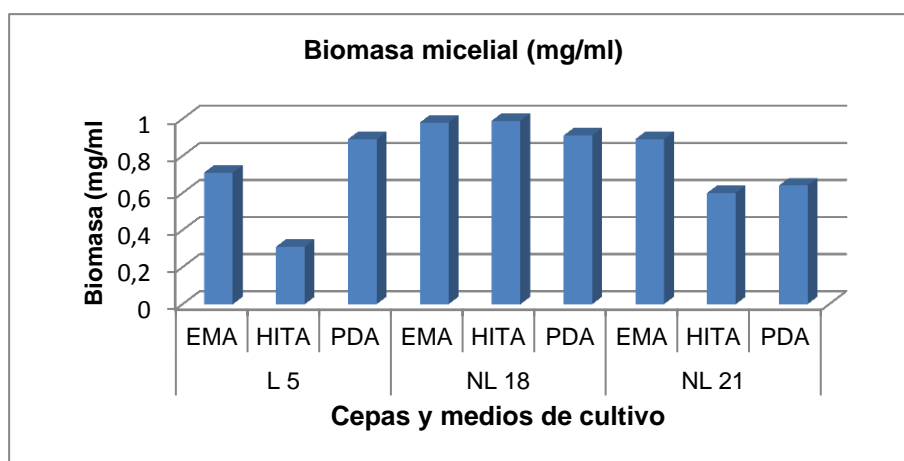


Tabla 10. Biomasa micelial de cepas de *Neolentinus* y *Lentinula* a 9 días de incubación

Cepas	Medio de cultivo	Biomasa micelial (mg/ml)			
		$\bar{X} \pm \sigma$	C V (*)	Duncan	
L 5	EMA	0.7 ± 0.07	1		b
	HITA	0.3 ± 0.17	6	a	
	PDA	0.9 ± 0.27	3		c
NL 18	EMA	1 ± 0.25	3		c
	HITA	1 ± 0.55	6		c
	PDA	0.9 ± 0.24	3		c
NL 21	EMA	0.9 ± 0.09	1		c
	HITA	0.6 ± 0.29	5		b
	PDA	0.6 ± 0.12	2		b

Letras diferentes muestran diferencias significativas a un nivel de confianza del 95% de acuerdo a la prueba de Duncan.

(*) Coeficiente de Variación

En la figura 76 y tabla 10 se puede observar que la mayor producción de biomasa se obtuvo en las interacciones de las cepas NL 18 en todos los medios, NL 21 en EMA y L 5 en PDA, presentando diferencia significativa con las interacciones de NL 21 en HITA y

PDA, y L 5 en Ema donde se obtuvo una menor cantidad de biomasa. En donde se obtuvo la menor producción de biomasa y una alta diferencia significativa fue en la interacción de la cepa NL 5 y el medio HITA.

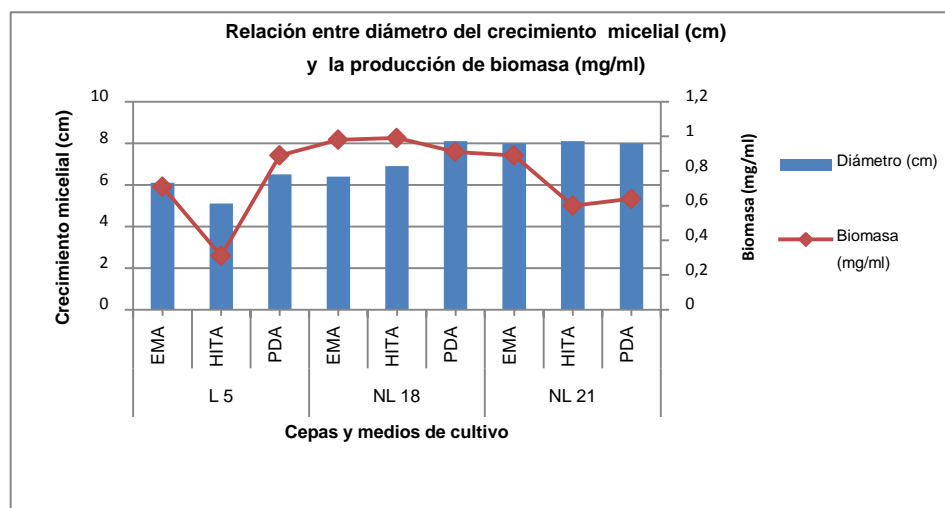


Figura 77. Comparación entre diámetro y biomasa micelial de *Neolentinus* y *Lentinula*

En la figura 77 se puede observar que, al comparar el diámetro micelial y la producción de biomasa obtenida, sólo se aprecian algunas concordancias: como la interacción de la cepa L 5 con el medio EMA, la cepa NL 18 con el medio PDA y la cepa NL 21 con el medio EMA. En estas interacciones el diámetro micelial observado corresponde con la producción de biomasa obtenida, no así para otras interacciones donde no existieron coincidencias. El comportamiento de estas cepas no permite recomendar un medio de cultivo específico para todas las cepas, aunque éstas pertenezcan al mismo género o especie.

No obstante las variaciones observadas, la evaluación de la biomasa ha mostrado ser una buena alternativa en la evaluación del desarrollo micelial. Este resultado es importante, considerando que muchas veces el diámetro de las colonias miceliales es el único parámetro utilizado para la evaluación del desarrollo y vigor de cepas (Mata, 1987; Mata y Guzmán, 1989; Salmones *et al.*, 1990; Triratana *et al.*, 1991). Así que el uso de los parámetros diámetro y biomasa podrían dar mejores resultados al evaluar y decidir sobre los medios de cultivo más adecuados para obtener un mejor desarrollo micelial.

6.4.3 Evaluación de crecimiento micelial, de diferentes cepas, en semillas

En la producción de inóculo de grano para diferentes especies cultivadas se ha utilizado, por lo general, semilla de trigo. No obstante, en el mercado es posible conseguir diferentes tipos de grano que pueden tener la ventaja de ser más pequeños que un grano de trigo, con lo cual, se lograría tener un inóculo con mayor cantidad de núcleos de desarrollo y propagación, por unidad de peso, que con la misma cantidad de gramos de trigo.

Con las pruebas realizadas se encontró que tanto para las cepas de *Ganoderma* como para *Lentinula* y *Neolentinus* el mejor desarrollo se observó en semilla de trigo; la cual fue invadida al 100% entre 15 y 17 días, mientras que para la semilla de mijo la invasión micelial al 100% tardó alrededor de 20 a 25 días. Ramírez y Leal-Lara (2002), mencionan que para el inóculo de trigo, que prepararon con cepas de *Lentinula*, la invasión al 100% la obtuvieron en 21 días a 24°C.

Para todas las cepas el mejor desarrollo micelial se obtuvo en trigo, el cual también presentó mejor consistencia que el mijo. Otro inconveniente del uso de mijo para preparar inóculo es que tiene un costo de 250 a 300% más alto que el trigo (venta al menudeo en la ciudad de México).

6.4.4 Fructificación en desechos agrícolas y forestales de cepas seleccionadas

6.4.4.1 *Ganoderma*

En las pruebas realizadas para evaluar el desarrollo en diferentes esquilmos se puede observar que para estas cepas, en la mayoría de los sustratos, la invasión al 100% se dio, aproximadamente, a los 20 días de incubación, a excepción del pino y para la cepa G 7 en *Q. rugosa*, donde la invasión fue un poco lenta (figura 78).

La producción obtenida se calculó en base a la Eficiencia Biológica (E B), los resultados se encuentran en la figura 79. A los datos obtenidos se les aplicó un análisis de varianza y la prueba de rango múltiple de Duncan (tabla 11).

En los resultados de la tabla 11 se observó que la mayor E B se obtuvo, para ambas cepas, en la interacción con los sustratos de paja y pino, existiendo diferencias significativas en la interacción con los sustratos de *Quercus rugosa* y *Q. laurina*, donde la E B fue

notablemente menor, siendo la interacción de *Q. rugosa* con la cepa G 7 la que obtuvo la menor E B.

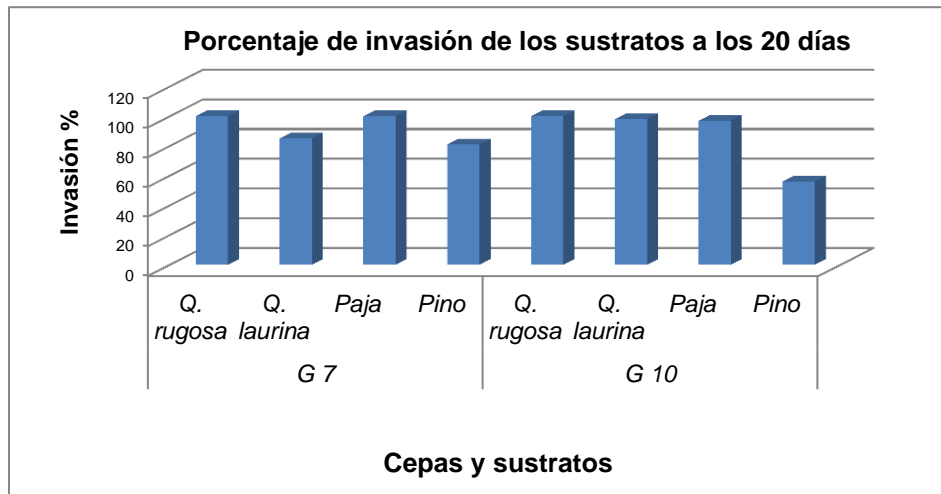


Figura 78. Invasión de diferentes sustratos por cepas de *Ganoderma* a los 20 días de incubación

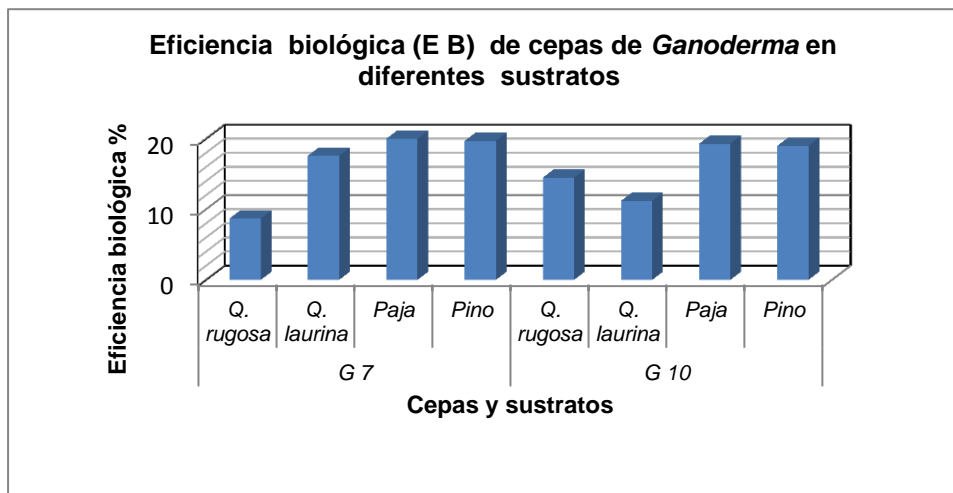


Figura 79. Eficiencia biológica de cepas de *Ganoderma* en diferentes sustratos

Tabla 11. Eficiencia Biológica de cepas de *Ganoderma* en diferentes sustratos

Sustrato	Cepa	Eficiencia Biológica (E B)						
		E B	$\bar{X} \pm \sigma$	C V (*)	DUNCAN			
<i>Q. rugosa</i>	G 7	8.7	± 0.04	2.3	a			
	G 10	14.5	± 0.05	1.6		c		
<i>Q. laurina</i>	G 7	17.6	± 0.07	4.8			d	
	G 10	11.2	± 1.12	9.4		b		
Paja	G 7	20.0	± 0.60	2.8				e
	G 10	19.3	± 0.05	1.2				e
Pino	G 7	19.7	± 0.44	3.3				e
	G 10	19.0	± 0.07	4.4				e

Letras diferentes muestran diferencias significativas a un nivel de confianza del 95% de acuerdo a la prueba de DUNCAN.

(*) Coeficiente de Variación

(E B) Eficiencia biológica: (g de hongo fresco/g de sustrato seco)*100

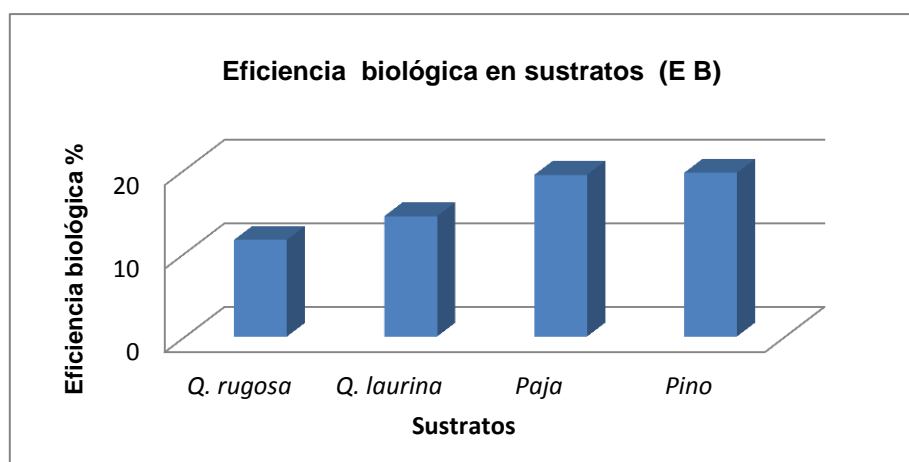


Figura 80. Eficiencia biológica de sustratos

Con respecto a los datos obtenidos de la E B realizado sólo para sustratos (figura 80) y el análisis de varianza y prueba de rango múltiple de Duncan aplicado a estos resultados (tabla 12), indican que la mayor E B se obtuvo en pino y paja, presentando diferencia significativa y altamente significativa con *Quercus laurina* y *Q. rugosa*, respectivamente, donde la E B obtenida fue menor.

Tabla 12. Eficiencia biológica de sustratos

Sustrato	Eficiencia biológica (E B)				
	E B	$\bar{X} \pm \sigma$	σ	C V (*)	DUNCAN
<i>Q. rugosa</i>	11.58	± 0		0.27	a
<i>Q. laurina</i>	14.4	± 0.32		0.25	b
Paja	19.3	± 0.11		0.03	c
Pino	19.6	± 0.41		0.04	c

Letras diferentes muestran diferencias significativas a un nivel de confianza del 95% de acuerdo a la prueba de DUNCAN.

(*) Coeficiente de Variación

(E B) Eficiencia biológica: (g de hongo fresco/g de sustrato seco)*100

Al realizar un análisis comparativo de la E B acumulada, obtenida por cada cepa, se observó que éstas no presentaron diferencia significativa, ya que ambas tuvieron un rendimiento similar (figura 81 y tabla 13). Esto permite considerar que ambas cepas presentan buen desarrollo, únicamente la interacción con los sustratos derivará en una mayor o menor producción.

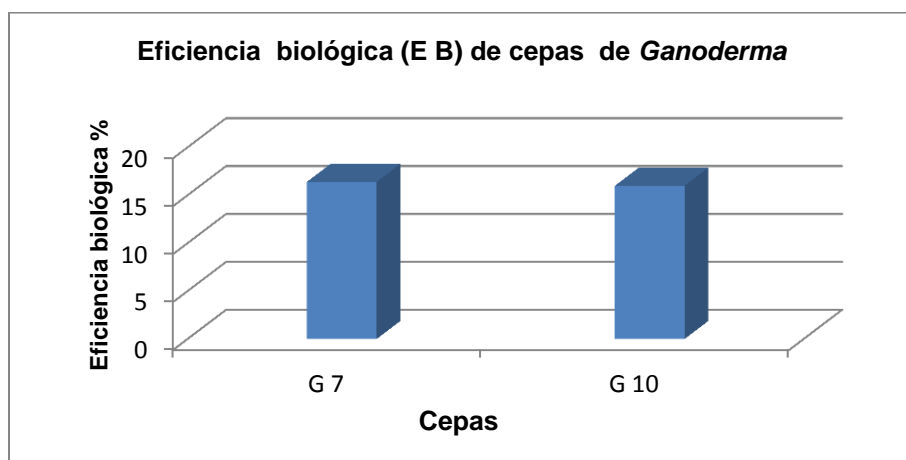


Figura 81. Eficiencia biológica de cepas

Tabla 13. Eficiencia biológica de cepas

Cepas	Eficiencia biológica (E B)				
	E B	$\bar{X} \pm \sigma$	σ	C V (*)	DUNCAN
G 7	16.4	± 23.1		0.29	a
G 10	16.0	± 12.6		0.22	a

Letras diferentes muestran diferencias significativas a un nivel de confianza del 95% de acuerdo a la prueba de DUNCAN.

(*) Coeficiente de Variación

(E B) Eficiencia biológica: (g de hongo fresco/g de sustrato seco)*100

En la figura 78 se observó que durante la incubación las cepas invadieron rápido los sustratos, a excepción del pino, sin embargo, cuando se comparó la E B obtenida (figura 79), se observó que en pino la cepa G 7 obtuvo una eficiencia mayor, no obstante la menor velocidad de invasión del sustrato. Esto sugiere que no siempre una mayor velocidad de invasión se verá reflejada en una mayor producción.

Durante la incubación se pudo observar que la viruta, invadida por micelio, presentó una consistencia muy laxa en comparación con los otros sustratos, en donde la consistencia es firme. Posiblemente la lentitud de invasión y falta de consistencia del micelio se debió a que, aunque se intentó compactar bien el sustrato, éste conservó muchos espacios de aire, por el tamaño, forma y consistencia de las partículas de la viruta.

Las bolsas invadidas completamente por tejido micelial presentaron algunas zonas con manchas irregulares, de color amarillo mostaza. En estas zonas es donde, a los 30 días de incubación, sin haber inducido la fructificación, se inició la formación de primordios. Durante la incubación ninguna de las bolsas se perforó para el intercambio de gases, ni se incrementó la humedad relativa, por lo que el inicio de los primordios, posiblemente, se debió a la estimulación por luz; durante la incubación las bolsas se revisaron cada 3 días, para esto se tuvo que encender la luz, lo que aunado a la invasión total de los sustratos posiblemente estimuló la formación de primordios. Una vez que el sustrato fue invadido al 100% por el micelio se procedió a trasladar las bolsas al cuarto de fructificación. Se realizó una sola cosecha entre los 60 y 90 días posteriores a la inoculación y aunque las bolsas se mantuvieron durante algunos días más, éstas se fueron contaminando, los primordios se abortaron y ya no se obtuvo más producción.

Es importante mencionar que el inicio del primordio se formó con un tejido blanco y conforme se alargó, el ápice del estípote continuaba blanco y la base tomó un color café rojizo, mientras que en la parte media se observó una franja amarilla. Al continuar el desarrollo éstos se alargaron, siguiendo la fuente de luz, pero nunca hubo diferenciación (figuras 82 y 83).

Después de varios días los primordios se abortaron; tomaron una coloración amarillenta en el ápice, posteriormente se tornaron café rojizo y no desarrollaron más. Posiblemente la falta de diferenciación se debió, no a la falta de oxígeno como menciona Triratana *et al.* (1991), sino a que, tal vez, esta especie se desarrolla de forma silvestre en

un clima tropical y en el cuarto de fructificación la temperatura ambiente no sobrepasó los 23°C, lo que posiblemente propició que la diferenciación no se concretara. Habrá que realizar ensayos con rangos de temperatura más altos para determinar si esto realmente es lo que afecta el desarrollo del esporóforo.



Figuras 82 y 83. Desarrollo anormal de cepas G 7 y G 10

El tiempo de incubación (20 a 30 días) y maduración de esporóforos (2 a 3 meses), así como la eficiencia biológica del 10 al 21% fue similar a lo que mencionan Triratana *et al.* (1991) y Chow-chin y Zuei-Ching (1990). Estos resultados sugieren que la cepa endémica G 7 también puede utilizarse para el cultivo en sustrato de viruta de pino o paja.

6.4.4.2 *Neolentinus* y *Lentinula*

Continuando con las evaluaciones se probó el desarrollo de las cepas silvestres *Neolentinus ponderosus* (NL 18), *N. lepideus* (NL 21) y la cepa comercial (L5) de *Lentinula edodes* siguiendo la misma técnica y utilizando los mismos sustratos que para las cepas de *Ganoderma*. En la figura 84 y tabla 14 se observan los resultados obtenidos.

En la figura 84 se puede observar que las cepas de *Neolentinus* presentaron una mayor invasión sobre los sustratos que la cepa de *Lentinula*, a excepción de la paja, la cual todas las cepas invadieron lentamente.

Durante la incubación y fructificación las bolsas de *Neolentinus* presentaron diversas contaminaciones que propiciaron que las bolsas se perdieran y no se lograra obtener fructificaciones.

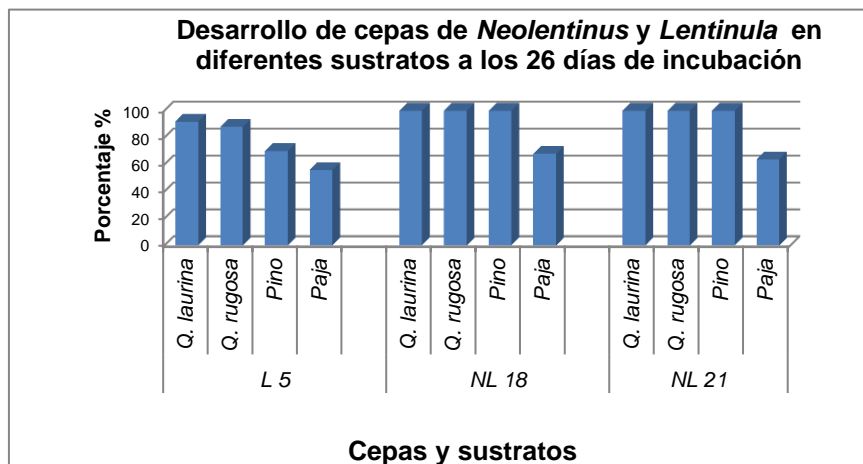


Figura 84. Porcentaje de desarrollo micelial en sustratos a los 26 días de incubación.

Para la cepa L 5, a los 90 días de incubación, cuando el micelio que cubría el sustrato exterior de las bolsas cambió casi totalmente su coloración a café se procedió a inducir la fructificación. Los primordios se observaron entre los 104 y 110 días después de la inoculación. Se realizaron 3 cortes, un corte aproximadamente cada 30 días. A los datos obtenidos se les aplicó un análisis de varianza y la prueba de rango múltiple de DUNCAN (tabla 14).

Tabla 14. Producción de *Lentinula edodes* (L 5) en diferentes sustratos

Sustrato	Eficiencia biológica (E B)			
	E B	$\bar{X} \pm \sigma$	C V (*)	DUNCAN
Pino		25.2 \pm 0.01	0.3	a
<i>Q. rugosa</i>		85.8 \pm 11.6	4	b
<i>Q. laurina</i>		87.4 \pm 2.4	1.8	b
Paja		0 \pm 0	0	

Letras diferentes muestran diferencias significativas a un nivel de confianza del 95% de acuerdo a la prueba de DUNCAN.

(*) Coeficiente de Variación

(E B) Eficiencia biológica: (g de hongo fresco/g de sustrato seco)*100

Los resultados indican que, en la interacción de L 5 con *Q. laurina* y *Q. rugosa* no existió diferencia significativa. Donde existió diferencia significativa fue en la interacción con pino, donde la E B fue substancialmente menor, mientras que en paja no se obtuvo

producción; las bolsas, aunque aparentemente no presentaron contaminación, no hubo una invasión total del sustrato y no se obtuvieron primordios.

El tiempo de incubación, cosecha y eficiencia biológica para la interacción de la cepa L 5 con los sustratos de *Quercus laurina* y *Q. rugosa* concuerdan con lo reportado por Delpech y Olivier (1991); Rinker (1991) y Levanon *et al.* (1993), (citados por Ramírez y Leal-Lara (2002)), Royse (1985) y Guzmán *et al.* (1993), no así para la interacción con pino, la cual tuvo una E B muy baja, de tan sólo un 20.2%. Pero los resultados obtenidos en este trabajo fueron menores en comparación con los obtenidos por Ramírez-Carrillo y Leal-Lara (2002), donde reportan un tiempo de incubación de 70 días y un lapso de 45 días posteriores para la cosecha total, obteniendo eficiencias biológicas bajas de 24 a 83% y altas que van de 143% a 261%, sin embargo no menciona la composición del sustrato. También citan a Hiromoto (1991), el cual ha obtenido eficiencias biológicas del 325%, pero refieren que la técnica de cultivo y sustrato utilizado está patentada y no lo mencionan.

Con respecto a lo obtenido con las cepas de *Neolentinus* es necesario hacer mención que, a los 26 días de incubación, el micelio de NL 18 y NL 21 invadieron completamente el sustrato y aparecieron los primeros primordios, aún sin haber inducido la fructificación. Las bolsas con primordios se pasaron al cuarto de fructificación y se les retiró el plástico para facilitar el desarrollo. Durante la fructificación, el riego mediante aspersión provocó que la superficie del sustrato y los primordios absorbieran una gran cantidad de humedad, esto propició un exceso de agua, que aunado a la presencia de mosquitas, y sus larvas, provocaron gran contaminación por mohos y bacterias, lo que causó que estas bolsas se perdieran completamente. Para evitar que se presentara este problema con las bolsas con paja, que aún no se desarrollaban completamente, cuando se llevaron a fructificar no se les retiraron las bolsas de plástico, únicamente se les hicieron algunas aberturas con navaja. Tampoco se realizaron riegos por aspersión; únicamente se regó ligeramente el piso y se ventiló el cuarto, además de evitar la entrada de mosquitas. De esta forma se pudieron observar algunos primordios, sin embargo, éstos presentaron muchas deformidades y no se desarrollaron.

Estos primeros resultados sugieren que las cepas de *Neolentinus* no requiere de tanta humedad como es el caso de *L. edodes*. Gaitán-Hernández *et al.* (1993) señalan que la especie *Lentinus lepideus* (Fr.:Fr) Fr. (= *Neolentinus*, Redhead & Ginns), de Veracruz,

se presenta de manera silvestre de enero a junio, con un rango de humedad relativa del 73 a 95%, una temperatura mínima de 11 a 22°C y una máxima de 16 a 28°C; mientras que Moreno-Fuentes *et al.* (1996) mencionan que la recolecta de *N. ponderosus* de Chihuahua se realizó en junio, pero no menciona si también se le encuentra antes o después de ese mes y no refiere datos de humedad y temperatura. En tanto, *N. lepideus* de Oaxaca se ha recolectado entre los meses de febrero a mayo. Además, algunos pobladores de Capulalpam, La Trinidad y Xiacui, del distrito de Ixtlán, Oaxaca, mencionan que “Este hongo se presenta sólo con las primeras lluvias ligeras y cuando éstas son abundantes el hongo ya no aparece”. Esto podría explicar por qué, para el inicio de los primordios y el desarrollo de esporóforos, se requieren niveles de humedad menores que para *L. edodes*.

Gaitán-Hernández *et al.* (1993) refieren que una cepa de *Lentinus lepideus* (= *Neolentinus lepideus*) invade al 100% aserrines de *Abies hickelii*, *Pinus montezumae* o *P. teocote*, entre los 30 a 35 días, similar al desarrollo de NL 18 y NL 21 que invadió al 100% el sustrato en 26 días. También menciona que los primordios aparecen entre los 50 a 70 días con una humedad relativa del 90%. Aquí se presentó una gran diferencia, pues los primordios aparecieron a los 26 días y con una humedad relativa baja. Ellos obtuvieron una E B de 9.33% para *Abies hickelii*, 27.55% para *Pinus montezumae* y 7.90% para *P. teocote*, lo cual no se logró comparar debido a que las contaminaciones durante la fructificación propiciaron que casi todas las bolsas se echaran a perder.

Estos resultados sugieren que existe una gran diferencia entre las cepas de *N. lepideus* y *N. ponderosus* con respecto a *Lentinula edodes*, sin embargo, existe la posibilidad de desarrollar el cultivo de estas especies silvestres, ya que lograron desarrollarse sobre sustratos lignocelulósicos. Estas cepas servirán para futuras investigaciones que ayuden a determinar los mejores sustratos y condiciones de cultivo.

6.4.4.3 *Pleurotus* spp.: IA, Pfl y PO

Los primordios se presentaron después de 25 días, a partir de la inoculación. Los cortes se realizaron cuando los esporóforos se encontraban completamente maduros; se realizaron 3 cortes y se evaluó la E B obtenida por cepa. A los datos obtenidos se les aplicó un análisis de varianza y la prueba de rango múltiple de DUNCAN (tabla 15).

Tabla 15. Producción de cepas de *Pleurotus* spp.

Cepas	Eficiencia biológica (E B)			
	E B	$\bar{X} \pm \sigma$	C V (*)	Duncan
PO	51.2	± 0.8	1.7	a
IA	73.9	± 2.2	2	b
Pfl	88.9	± 1.1	1.1	c

Letras diferentes muestran diferencias significativas a un nivel de confianza del 95% de acuerdo a la prueba de DUNCAN.

(*) Coeficiente de Variación

E B Eficiencia biológica (= g de hongo fresco/g de sustrato seco)* 100

Los resultados obtenidos indican que, sí existe diferencia significativa en la producción para todas las cepas; para la cepa Pfl se obtuvo una E B 88.9%, mientras que para la cepa IA se obtuvo una E B del 73.9% y de tan sólo el 51.2% para la cepa PO. Estos resultados sugieren que la cepa Pfl posee mejores características para la producción, seguida de la cepa IA, la que presenta menor producción es la cepa PO.

Al obtener las fructificaciones se observaron las características morfológicas de cada cepa. Como se puede observar en la tabla 16, las cepas IA y Pfl presentaron marcadas diferencias morfológicas, no obstante se encuentran catalogadas como *Pleurotus ostreatus*.

Las controversias en la clasificación taxonómica, del conjunto de especies del género *Pleurotus*, son debidas a que los trabajos de identificación se basaban, principalmente, en las características morfológicas de los esporóforos. Petersen y Hughes (1999); Eger (1978) y Vilgalys *et al.* (1993), reportan que estas especies muestran una gran plasticidad fenotípica; presentando diferencias en el color de los esporóforos dependiendo de las condiciones ambientales en las que se desarrollan.

Tabla 16. Características de los esporóforos de *Pleurotus* spp.

Cepa	Características de esporóforos	
	Descripción	Manejo postcosecha
PO	Esporóforos individuales o en racimos, píleo café (diámetro de 3 a 10 cm), estípite fibroso de 2 a 5 cm de largo.	Resistente
IA	Esporóforos individuales, píleo café claro (diámetro de 3 a 12 cm), estípite muy fibroso de 2 a 5 cm de largo.	Resistente
Pfl	Esporóforos en racimos, píleo color blanco cremoso (diámetro de 1 a 8 cm), estípite fibroso de 2 a 7 cm de largo. Gran peso por alto contenido de agua.	Esporóforo quebradizo

Arita (1974), menciona que algunos taxónomos se basan en el color de la esporada para la identificación y determinación de algunas especies, mientras que otros investigadores no prestan mucha atención a esta característica. Eger (1978), ha encontrado que especies como *Pleurotus salignus*, *P. pulmonarius* y *P. columbinus* difieren de la especie *P. ostreatus* en el color del píleo, así como por el sustrato en donde se desarrollan. No obstante, Eger-Hummel (1980) y Li (1980) mencionan que los colores se podrían considerar una característica muy variable que depende, muchas de las veces, de las condiciones en que se desarrolla el cultivo, ya que en diferentes condiciones de crecimiento los esporóforos de *P. ostreatus* pueden desarrollar el píleo blanco, de color crema, café o gris en diferentes tonalidades, a pesar de pertenecer a la misma especie.

Tal parece que, a la fecha, un trabajo de descripción taxonómica no es suficiente para la correcta identificación de la especie. Esto nos permitió asumir que, estas cepas pueden ser variedades de una misma especie y que las diferencias estén determinadas por la zona geográfica en donde se han desarrollado.

6.4.5 Mejoramiento genético por desdicarriotización de cepas de *Pleurotus* spp.

6.4.5.1 Procedimientos para la desdicarriotización de cepas dicarióticas IA y Pfl

En estas pruebas se evaluaron 2 concentraciones de glicina (3 y 5 g/l) y una sola concentración de peptona (10 g/l). Esto tiene la intención de determinar a qué concentración es posible obtener micelios monocarióticos. Para fragmentar el micelio dicariótico se utilizaron tiempos de homogeneización de 120 y 180 segundos, a máxima velocidad. En las tabla 17 y 18 se encuentran los resultados obtenidos.

Tabla 17. Recuperación de micelio monocariote de las cepas IA y Pfl de *Pleurotus* spp. (120 segundos de homogeneización de la solución desdicarionizadora)

Cepa	Fuente de nitrógeno		Repetición	Tipo de micelio observado (%)		Monocariotes recuperados
	Tipo	Concentración (g/l)		Mon	Dicar.	
IA	Peptona (B)	10	1	0	100	0
			2	0	100	0
			3	0	100	0
	Glicina (A)	3	4	0	100	0
			5	0	100	0
			6	0	100	0
		5	7	0	100	0
			8	0	100	0
			9	0	100	0
Pfl	Peptona (B)	10	1	0	100	0
			2	0	100	0
			3	0	100	0
	Glicina (A)	3	4	0	100	0
			5	0	100	0
			6	0	100	0
		5	7	0	100	0
			8	0	100	0
			9	0	100	0

Los resultados a 120 segundos de homogeneización indican que no fue posible la obtención de micelio neohaplonte en ninguno de los medios.

Tabla 18. Recuperación de micelio monocariote de las cepas IA y Pfl de *Pleurotus* spp. (180 segundos de homogeneización de la solución desdicarionizadora)

Cepa	Fuente de nitrógeno		Repetición	Tipo de micelio observado (%)		Monocariotes recuperados
	Tipo	Concentración (g/l)		Mono	Dicar.	
IA	Peptona (B)	10	1	100	0	52
			2	0	100	0
			3	0	100	0
	Glicina (A)	3	4	0	100	0
			5	0	100	0
			6	0	100	0
		5	7	0	100	0
			8	100	0	20
			9	0	100	0
Pfl	Peptona (B)	10	1	100	0	45
			2	0	100	0
			3	0	100	0
	Glicina (A)	3	4	0	100	0
			5	0	100	0
			6	0	100	0
		5	7	0	100	0
			8	0	100	0
			9	100	0	95

Monocariotes Obtenidos a 180 segundos de homogeneización:

Para la Cepa IA:

- En un matraz con medio de peptona (10 g/l) se observó crecimiento micelial de tipo monocariótico y de este matraz se recuperaron 52 neohaplontes. Estos micelios se pasaron a cajas individuales y se les asignó la clave nhIA y un número progresivo del 1 al 52.
- En un matraz con glicina (5 g/l) se observó crecimiento micelial de tipo monocariótico y de este matraz se recuperaron 20 neohaplontes. Estos micelios se pasaron a cajas individuales y se les asignó la clave nhIA y un número progresivo del 101 al 120.

Para la Cepa Pfl:

- En un matraz con 5 g/l de glicina se observó crecimiento micelial de tipo monocariótico y de este matraz se recuperaron 95 neohaplontes. Estos micelios se pasaron a cajas individuales y se les asignó la clave nhPfl y un número progresivo del 1 al 95.
- En un matraz con medio de peptona (10 g/l) se observó crecimiento micelial de tipo monocariótico y de este matraz se recuperaron 45 neohaplontes. Estos micelios se pasaron a cajas individuales y se les asignó la clave nhPfl y un número progresivo del 101 al 145.

6.4.5.2 Identificación de los 2 tipos de componentes monocarióticos (neohaplontes) de la cepa Pfl de *Pleurotus* sp.

Una vez obtenidos los neohaplontes, se procedió a realizar los apareamientos, todos contra todos, para determinar si había sido posible la recuperación de los 2 tipos de componentes monocarióticos de cada cepa. En la tabla 19 se pueden observar los resultados obtenidos.

En la tabla 19 se puede observar que, al realizar los apareamientos, los neohaplontes del 1 al 95 fueron totalmente incompatibles entre sí. Por su parte, los neohaplontes del 101 al 145 fueron, también, totalmente incompatibles entre sí. No obstante, los neohaplontes del 1 al 95 fueron compatibles con los neohaplontes del 101 al 145, lo que nos indica que, sí fue posible la recuperación de los 2 componentes monocariotes para la cepa Pfl. Los primeros 95 neohaplontes de la cepa Pfl fueron

asignados al tipo de compatibilidad I, mientras que los 45 neohaplontes obtenidos en la segunda recuperación, fueron asignados al tipo de compatibilidad II.

Tabla 19. Apareamientos entre los neohaplontes recuperados de la cepa Pfl

Neohaplontes recuperados en:		Glicina (5 g/l)											Peptona (10 g/l)				
		1	6	10	15	20	28	37	45	52	71	83	95	101	120	135	140
Glicina (5 g/l)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
	37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
	45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
	52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
	71	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
	83	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	
Peptona (10 g/l)	101	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	
	120	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	
	135	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	
	140	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	
	145	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	

(+) Indica apareamientos positivos; (0) indica apareamientos nulos

6.4.5.3 Identificación de los 2 tipos de componentes monocarióticos (neohaplontes) de la cepa IA de *Pleurotus* sp.

En la tabla 20 se puede observar que, al realizar los apareamientos de los neohaplontes del 1 al 52, provenientes del medio de peptona (10 g/l), y los neohaplontes del 101 al 120, obtenidos en el medio de glicina (5 g/l), éstos fueron totalmente incompatibles entre sí. Esto sugiere que se logró obtener sólo un tipo de componente monocariótico.

Debido a la dificultad de obtener los componentes monocarióticos de la cepa IA, se optó por llevar a fructificar la cepa, con la intención de conseguir micelio monocariótico, a partir de esporas de un cuerpo fructífero.

Tabla 20. Apareamientos entre los neohaplontes recuperados de la cepa IA

Neohaplontes recuperados en:	Glicina (5 g/l)												Peptona (10 g/l)				
	1	6	10	15	21	28	32	35	42	49	50	52	101	105	109	115	120
Glicina (5 g/l)	1	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	15	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	21	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	28	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	32	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	35	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
	42	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0
	49	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
	52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0
Peptona (10 g/l)	101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	
	105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	
	109	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	
	115	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	
	120	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+

(+) Indica apareamientos positivos; (0) indica apareamientos nulos

6.4.5.3.1 Obtención de micelio monocariótico monospórico y reacciones de compatibilidad sexual del micelio monospórico (pm) y del componente neohaplonte de la cepa parental IA (nh1) de *Pleurotus* sp.

Esta prueba tuvo la intención de obtener micelio monocariote monospórico (a partir de esporas) y determinar su compatibilidad para, posteriormente, corroborar que tipo de micelio neohaplonte se obtuvo de la cepa IA. El micelio monocariote obtenido a partir de esporas se denominará progenie monospórica (pm). Después de la obtención de micelio monospórico se procedió a aparearlos entre sí y con el neohaplonte de la cepa parental (nhIA1). En la tabla 21 se pueden observar los resultados.

Tabla 21. Clasificación de la progenie monospórica de la cepa IA de *Pleurotus* sp., en los 4 tipos de compatibilidad y apareamientos con el neohaplonte recuperado de la cepa parental nhIA1

Progenie monospórica (prIA)																				nhIA1 (*)
Tipos de compatibilidad																				
Tipos de compatibilidad	I						II			III										IV
	26	27	28	29	33	38	22	31	37	20	21	23	24	25	32	34	35	36	30	
I	26	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	
	27	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	
	28	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	
	29	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	
	33	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	
	38	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	
II	22	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	31	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	37	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
III	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
IV	30	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	
Neohaplonte recuperado de la cepa parental IA (nh1*)																				
(*)nhIA 1	1	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

(*) nhIA 1 representa la reacción de compatibilidad sexual de los 72 neohaplontes recuperados de la cepa IA
 (+) Indica apareamientos positivos; (0) indica apareamientos nulos

Al neohaplonte nhIA1 le fue asignado el tipo de compatibilidad II, ya que sólo se apareó con el tipo I de la progenie monocariótica monospórica (pm) y con ninguno de los otros 3 tipos de la progenie (pm). De los 4 tipos de compatibilidad se tomaron representantes que, en adelante, para diferenciar los monocariotes monospóricos (pm) y de los neohaplontes (nhIA), se les denominará cepas de referencia (pmIA) y tendrán un número romano (I, II, III y IV) según el tipo de compatibilidad asignado.

6.4.5.3.2 Resultado de apareamientos entre las cepas de referencia (pmIA) con el componente neohaplonte de la cepa parental Pfl (nhPfl) y los neohaplontes de la cepa parental IA (nhIA)

En la tabla 22 se puede observar que los neohaplontes recuperados de la cepa IA sólo se aparearon con la cepa de referencia tipo I de IA, lo cual indica que todos los neohaplontes recuperados pertenecen al tipo de compatibilidad II. Esto confirma que para la cepa IA, durante el proceso de desdicarionización, sólo se obtuvo un tipo de componente monocariótico.

Tabla 22. Apareamientos entre cepas de referencia de los tipos de compatibilidad de la cepa IA (pmIA) con neohaplontes de cepa parental IA (nhIA) y Pfl (nhPfl)

			Cepa IA				Cepa Pfl		
			Cepas de referencia pmIA (tipos de compatibilidad)				Neohaplonte	Neohaplontes	
			I	II	III	IV	nh1	nh1 (1-95)	nh102 (102-120)
Cepa IA	Cepas de referencia pmIA (tipos de compatibilidad)	I		+	0	0	+	0	0
		II	+		0	0	0	0	0
		III	0	0		+	0	0	0
		IV	0	0	+		0	0	0
	Neohaplonte	nh1	+	0	0	0		0	0
Cepa Pfl	Neohaplontes	nh1 (1-95)	0	0	0	0	0		+
		nh102 (102-120)	0	0	0	0	0	+	

Para los neohaplontes de la cepa Pfl nh1 representa a los neohaplontes obtenidos del 1 al 95 (todos del mismo tipo), lo mismo que para el nh2 que representa a los neohaplontes obtenidos del 102 al 120. (+) Indica apareamientos positivos; (0) indica apareamientos nulos

También, se observó que ninguno de los neohaplontes y cepas de referencia de la cepa IA tuvo algún apareamiento positivo con los monocariotes recuperados de la cepa Pfl. Esto sugiere que, probablemente, la cepa IA no pertenece a la misma especie que la cepa Pfl. En la tabla 23 se clasifican los tipos de compatibilidad de las cepas de referencia (pmIA) y del neohaplonte recuperado de la cepa parental IA (nh1).

Tabla 23. Clasificación en los tipos de compatibilidad de las cepas de referencia (pmIA) y del neohaplonte recuperado de la cepa parental IA (nh1)

Tipos de compatibilidad de cepa IA			
Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV
Cepas de referencia (pmIA)			
26	22	20	30
27	31	21	
28	37	23	
29		24	
33		25	
38		32	
		34	
		35	
		36	
Neohaplontes recuperados de la cepa parental IA (nh1)			
	1 al 52		
	101 al 120		

Para corroborar que, probablemente, la cepa IA no pertenece a la misma especie que la cepa Pfl, se decidió realizar apareamientos con cepas monocariotes pertenecientes al cepario del Laboratorio de Hongos (Departamento de Alimentos de la Facultad de Química de la UNAM). Estas cepas monocariotes provienen de la especie *Pleurotus ostreatus*, lo que nos permitirá confirmar si estas cepas monocariotes experimentales pertenecen o no a dicha especie.

6.4.5.3.3 Resultado de apareamientos entre cepas de referencia (pmIA), el neohaplonte de la cepa IA (nhIA), los neohaplonte de la cepa Pfl (nhPfl) y una colección de cepas monocariotes de *P. ostreatus*

En la tabla 24 se puede observar que los neohaplontes de la cepa Pfl se aparearon con los monocariotes de *Pleurotus ostreatus* del cepario, esto sugiere que la cepa de Pfl pertenece a la especie *Pleurotus ostreatus*.

Por otro lado, al intentar aparear las cepas de referencia y neohaplontes de la cepa IA con los neohaplontes de Pfl y los monocariotes de *Pleurotus ostreatus* del cepario, todos los resultados fueron negativos.

Tabla 24. Apareamientos entre una colección de cepas monocariotes de *P. ostreatus*, cepas neohaplontes de cepa Pfl, cepas de referencia y neohaplontes de cepa IA

Monocariotes de <i>P. ostreatus</i>	Cepas de referencia (pmIA) (Tipo)				Neohaplontes de cepa IA (nhIA) Recuperados en:				Neohaplontes de cepa Pfl (nhPfl) Recuperados en:			
	I	II	III	IV	Peptona (10 g/l)		Glicina (5 g/l)		Glicina (5 g/l)		Peptona (10 g/l)	
	22	26	21	30	1	52	101	120	1	95	101	145
400	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0
401	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0
403	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0
404	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0
405	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
406	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0
407	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
408	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0
409	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0
411	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
413	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0
414	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+
415	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0
417	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0

(+) Indica apareamientos positivos; (0) indica apareamientos nulos

Todos los trabajos de hibridación, al intentar obtener micelio dicariote a partir de micelio monocariote de las cepas IA y Pfl han sido negativos. Al lograr aparear los neohaplontes de cepa Pfl con los monocariotes de *Pleurotus ostreatus* del cepario confirma que la cepa Pfl pertenece a la especie *P. ostreatus*, no así la cepa IA, la cual tal vez pertenece al género *Pleurotus*, pero a una especie diferente a *P. ostreatus*.

Gracias a que durante el trabajo de descripción de hongos silvestres se identificó el esporóforo de la cepa PO como probable *Pleurotus pulmonarius* (el cual posee muchas semejanzas con el esporóforo de la cepa IA), se decidió intentar su hibridación mediante apareamientos. Para esto se obtuvo: la esporada; el micelio monocariótico correspondiente y los tipos de compatibilidad de la cepa PO, siguiendo el mismo método que para la cepa IA (sección 5.10).

Al micelio monocariótico obtenido se le nombró como cepas de referencia de PO (pmPO), con los cuales se aparearon las cepas de referencia de IA (pmIA), y neohaplontes de las cepas nhIA y nhPfl. En la tabla 25 se pueden observar los resultados obtenidos.

Tabla 25. Apareamientos entre cepas de referencia de los tipos de compatibilidad de la cepa PO de *P. pulmonarius* (pmPO), IA (pmIA) con neohaplontes de cepa parental IA (nhIA) y Pfl (nhPfl)

			Cepa IA				Cepa Pfl		
			Cepas de referencia pmIA (tipos de compatibilidad)				Neohaplonte	Neohaplontes	
			I	II	III	IV		nhIA1	nhPfl1
Cepa PO	Cepas de referencia pmPO (tipos de compatibilidad)	I	0	0	+	0	0	0	0
		II	0	0	0	+	0	0	0
		III	+	0	0	0	0	0	0
		IV	0	+	0	0	+	0	0

(+) Indica apareamientos positivos; (0) indica apareamientos nulos

En esta prueba los resultados fueron positivos, con esto se pudo constatar que la cepa IA pertenece a la especie *Pleurotus pulmonarius* y no a *P. ostreatus* como estaba caracterizada en el laboratorio de donde se obtuvo.

Como se puede observar en las tablas 17 y 18 los resultados obtenidos al intentar la desdicariorización fueron, que las colonias monocariotes sólo se obtuvieron a 180 segundos de homogeneizado, nunca a menor velocidad ni en concentraciones de glicina menores a 5 g/l. Tal parece que con cortos tiempos de homogeneización no se pudieron obtener fragmentos suficientemente pequeños de micelio para lograr que, tanto la glicina o la peptona pudieran propiciar la desdicariorización. Esto coincide con lo que mencionan Ramírez y Leal-Lara (2000b), para un experimento de desdicariorización de cepas de *Lentinus* spp., donde reportan que para lograr la recuperación de los 2 componentes monocarióticos, de las cepas estudiadas, el tiempo de homogeneización fue el parámetro que más influyó en la desdicariorización. Esto nos indica que sí es importante un tiempo de homogeneización adecuado para obtener fracciones pequeñas de micelio.

Los resultados obtenidos sugieren, que la concentración adecuada de glicina es de 5 g/l y de Peptona 10 g/l, aunque la proporción de recuperación de micelio neohaplonte no es alta, sólo de un 33%, tanto para glicina como peptona. Además, se observó una situación particular: en ninguno de los matraces, con las diferentes concentraciones de glicina o peptona, se obtuvo una combinación de colonias monocarióticas y dicarióticas.

En la tabla 19 se observa que sí fue posible la recuperación de los 2 componentes monocariotes para la cepa Pfl. Habrá que hacer notar en que los neohaplonte tipo I se obtuvieron en el medio de cultivo con glicina, mientras que los neohaplontes de tipo II se obtuvieron en el medio con peptona.

Con respecto a la cepa IA es importante hacer notar que, aunque se obtuvieron micelios neohaplontes, tanto en glicina como en peptona (tabla 20), esta cepa no se comportó como la cepa Pfl, donde un tipo de componente se obtuvo en glicina y el otro componente se obtuvo en peptona. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Valencia-Del Toro y Leal-Lara (2000), para un trabajo de mejoramiento genético de *Pleurotus*; que de 7 cepas estudiadas sólo en 3 de éstas se recuperaron los 2 tipos de componentes monocarióticos y para las 4 cepas restantes únicamente se recuperó un componente. Esto, tal vez, se pueda explicar con lo que reportan Kerruish y Da Costa (1963), que a baja velocidad no se obtenía ningún efecto desdicarizante, mientras que a altas velocidades los micelios menos resistentes, a las fuerzas de corte, eran selectivamente eliminados, por lo que sólo se lograba la recuperación de un núcleo. Tal parece que la interacción del tiempo de homogeneización, como el medio desdicarizante es más específica para una especie en particular, aunque ésta pertenezca al mismo género.

En las tablas 21, 22, 23, 24 y 25 podemos observar que mediante el uso de las cepas monocariotes de una colección de cepas de *Pleurotus ostreatus* y cepas de referencia (pmIA) y (pmPO), fue posible identificar las compatibilidades de los neohaplontes obtenidos. De esta forma se confirmó que la cepa Pfl pertenece a la especie *P. ostreatus* mientras que la cepa IA pertenece a la especie *Pleurotus pulmonarius* y no a *P. ostreatus*. Esta caracterización errónea posiblemente se debió a lo que mencionan Eger-Hummel (1980); Li (1980); Vilgalys *et al.* (1993) y Petersen y Hughes (1999), que este género muestra una gran plasticidad fenotípica; que los colores se podrían considerar una característica muy variable que depende, muchas veces, de las condiciones ambientales en las que se desarrollan o cultivan; en diferentes condiciones de crecimiento los esporóforos de *P. ostreatus* pueden desarrollar el píleo de color blanco, crema, café o gris (en diferentes tonalidades), a pesar de pertenecer a la misma especie.

Esto difiere con lo que se pudo observar en las pruebas realizadas: aun cuando las cepas IA y Pfl se cultivaron en el mismo sustrato y bajo las mismas condiciones

presentaron algunas diferencias; la cepa IA presentó esporóforos individuales o en grupo y píleo café claro, mientras que los esporóforos de la cepa Pfl crecieron en racimos y el píleo presentó un color blanco cremoso. Estos resultados más bien pueden concordar con la definición de especie morfológica de Petersen y Hughes (1999), que consideran que las diferencias en las características morfológicas (fenotipo) reflejan las diferencias genéticas fundamentales (genotipo), similar a lo que menciona Eger (1978), que especies como *P. salignus*, *P. pulmonarius* Fr. y *P. columbinus* Quel. Ap. Bres., difieren de la especie *P. ostreatus* en el color del píleo. También concuerda en parte con lo que reporta Vilgalys (1993): la existencia de un complejo integrado por 3 diferentes especies inter-estériles de *Pleurotus*: *P. ostreatus*, *P. populinus* y *P. pulmonarius*. Ya que, en el caso de estas cepas de *P. ostreatus* y *P. pulmonarius*, aunque las diferencias morfológicas no son tan marcadas sí existen diferencias genéticas entre ellas. En el género *Pleurotus* las diferencias fenotípicas en el esporóforo, muchas veces son sutiles, lo que provoca muchos problemas para lograr definir claramente especies diferentes o grupos con algunas diferencias morfológicas, pero con apareamiento fértil dentro del grupo.

Estas pruebas permitieron reconocer a que especies pertenecen las cepas IA y Pfl. El haber logrado identificarlas permitirá realizar futuros trabajos de mejoramiento, ahora sí con cepas de la misma especie. Este tipo de trabajos han permitido reconocer la gran importancia de incorporar estudios de compatibilidad sexual, para la correcta diferenciación de especies.

Posteriormente será importante probarlas bajo condiciones rústicas, de esta manera se podrá evaluar el potencial de cultivo en ambientes no tan controlados, acordes a las instalaciones de que se dispone en la sierra oaxaqueña.

6.5 Cultivo sobre sustratos tratados térmicamente por inmersión en agua caliente y por vapor, en condiciones rústicas

Para este tipo de siembra se buscó que el área de cultivo no requiriera de fuertes inversiones en infraestructura, ni altos costos de operación, por lo que la adaptación de casas de adobe con techos de teja funcionó bien. Esto resultó una buena opción, ya que el tipo de construcción favorece que la temperatura interna permanezca fresca y estable, además que la adaptación resultó ser económica.

6.5.1 Cultivo sobre sustratos tratados térmicamente por inmersión en agua caliente

Para continuar con el desarrollo del taller de capacitación, se decidió utilizar la técnica de cultivo referidas por Stamets y Chilton (1983); Herrera-Figueroa (1992) y Guzmán *et al.* (1993). Debido a que los resultados de la hibridación de las cepas IA y Pfl resultaron negativos se decidió llevar a cultivo ambas cepas para comparar su comportamiento en condiciones rústicas. Para esta prueba se tomaron lotes de 10 bolsas (con un peso de 8 Kg) por cepa.

Durante los primeros días de incubación algunas bolsas presentaron un rápido crecimiento micelial, de apariencia translúcida, no tan blanco, ni tan compacto, como el de *Pleurotus*; este micelio cubrió en pocos días el interior de las bolsas. A los 7 días de incubación la contaminación por mohos fue muy evidente. En todas las bolsas inoculadas fue muy notorio un exceso de agua libre, el cual no permitió un buen desarrollo del micelio de *Pleurotus*. Para drenar el agua se efectuó un ligero corte en la base de las bolsas, esto propició que la superficie de las bolsas que se encontraban en la parte baja del estante se cubriera de una gran cantidad de líquido, el cual atrajo muchas mosquitas; éstas se introdujeron rápidamente en las bolsas restantes (que habían sido abiertas con navaja previamente para el intercambio de gases), lo que incrementó la contaminación por bacterias y mohos, y al cabo de 15 días todas las bolsas estaban completamente contaminadas. Para evitar que la contaminación se propagara, las bolsas se retiraron y destruyeron. Posteriormente se procedió a limpiar y desinfectar el cuarto de incubación con detergente, formaldehído al 2% y un fungicida de contacto.

Esta primera prueba de cultivo permitió reconsiderar su funcionalidad para aplicarla con los niños. A continuación se enumeran las desventajas que se observaron

en este método y que limitan su uso en el taller de capacitación en el internado de Zoogocho:

- El hecho de trabajar con niñas y niños no permitió sacar el sustrato fácilmente, ya que fue necesario desarrollar un gran esfuerzo físico para sacar el contenedor del tambo, después de calentarlo en agua. Por no contar con recursos, no fue posible fabricar soportes para un sistema de poleas que permitiera el manejo de los contenedores.
- Un tambo de agua caliente sólo alcanza para tratar térmicamente máximo 3 lotes de sustrato y como este tratamiento térmico se realizó con gas, (debido a que una de las intenciones de este trabajo era reducir el consumo leña y agua), el gasto de gas para calentar cerca de 200 l de agua hasta 80°C fue muy alto. Por otra parte, en esta zona el precio de la carga del cilindro de gas L. P., es más caro que en la ciudad.
- El sustrato absorbió demasiada agua, esto implicó tener que dejar más tiempo el contenedor escurriendo para disminuir al máximo el exceso de agua. Sin embargo, no se logró disminuir sustancialmente el exceso de agua. Además, en ese lapso de tiempo, se pudieron adherir al sustrato organismos contaminantes que se encontraban presentes en el aire.
- Para evitar que el sustrato permaneciera demasiado tiempo drenándose, por el peligro de contaminación, se enfrió y embolsó con un alto contenido de humedad. Este exceso de humedad provocó que la presencia de agua libre fuera alta, lo que aunado a que el sustrato contenía aún azúcares solubles (por no haberlo fermentado previamente), favoreció la proliferación de organismos contaminantes durante la incubación.
- El no fermentar previamente el sustrato permitió que muchas bacterias y esporas de hongos contaminantes, que estaban presentes en los desechos agrícolas, no se destruyeran durante el proceso térmico; propiciando contaminación en el interior de las bolsas inoculadas.
- Otro problema que produjo este exceso de humedad (agua libre), fue que limitó el buen desarrollo del micelio de *Pleurotus* impidiéndole una buena respiración.

- El método de inoculación requiere depositar el sustrato y el inóculo en capas, lo que propicia que el proceso de embolsado sea muy lento. Por otro lado, la cantidad sugerida de inóculo, de 210 a 350 g para una bolsa de 7 a 8 Kg (entre el 3 y 5% en peso húmedo de sustrato), era una cantidad alta y esto encarecía mucho el cultivo; este porcentaje de inóculo no representa un costo alto en dinero cuando se realiza con pocas bolsas en el laboratorio, pero al desarrollarlo en mayores volúmenes implica que los costos se incrementen sustancialmente.
- El rendimiento obtenido por cada contenedor fue de máximo 5 bolsas, con aproximadamente 7 o 8 Kg de sustrato muy húmedo. Hipotéticamente cada bolsa daría como máximo 1.5 Kg de hongo fresco, de no ser porque todo se contaminó.
- El perforar las bolsas con aberturas de 2 cm, provocó que mosquitas y otros insectos penetraran fácilmente al interior de las bolsas. Estos insectos son vectores de esporas de otros hongos y bacterias, lo que propició un incremento en la contaminación.

Con las primeras pruebas de cultivo, mediante el tratamiento térmico de sustratos con agua caliente, se observaron muchas desventajas que limitan su aplicación en el taller de capacitación.

6.5.2 Cultivo sobre sustratos tratados térmicamente con vapor

Para continuar con el trabajo se implementó una técnica de cultivo, basado en el manejo de sustratos fermentados previamente, un tratamiento térmico mediante vapor, el manejo de bolsas durante la etapa de incubación y fructificación (estas bolsas deberán permanecer en un solo lugar, para evitar el daño al sustrato y el riesgo de contaminaciones cruzadas), además de un programa de higiene, prevención y control de plagas, y manejo adecuado de desechos. La técnica se implementó debido a las necesidades que se tienen en el internado de Zoogocho, donde no se cuenta con muchos recursos, espacio suficiente, además de que el trabajo se realiza con niños y niñas principalmente.

6.5.2.1 Cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Pfl) y *P. pulmonarius* (IA)

En este experimento se inocularon 200 bolsas, 100 para cada cepa (IA y Pfl). De aquí se tomaron 10 bolsas por cepa (con un peso de 8 Kg aproximadamente) para formar lotes que sirvieron para evaluar la productividad de cada cepa. Los resultados de la eficiencia biológica de la producción obtenida en esta prueba se puede observar en la tabla 26.

Tabla 26. Producción obtenida, en condiciones rústicas, de las cepas IA y Pfl de *Pleurotus*

Cepa	Eficiencia Biológica (E B)				
	E B	\bar{X}	\pm	σ	C V (*)
IA	69.0	\pm	11.8		4.9
Pfl	83.0	\pm	23.7		5.8

(E B) Eficiencia biológica:

(g de hongo fresco/g de sustrato seco)*100

(*) Coeficiente de Variación

Los resultados indican que la cepa Pfl presentó una mayor eficiencia biológica que la cepa IA. En esta prueba se observó que del total de bolsas inoculadas 10 presentaron mucha contaminación, por lo que fueron desechadas y quemadas, 22 bolsas presentaron contaminaciones leves, las cuales fueron tratadas con una solución de cal al 5%. Las contaminaciones se debieron a mohos como *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp., y *Penicillium* sp., entre otros, mosquitas como *Drosophyla* sp., *Lycorella* sp., y escarabajos rojos parecidos a catarinas (no identificadas). También se presentaron algunas contaminaciones por bacterias sobre esporóforos ya maduros, esto debido principalmente a que algunos esporóforos recibieron agua directamente durante los riegos, lo que facilitó que se desarrollaran bacterias sobre el púleo. Todos estos detalles han permitido que los alumnos estén aprendiendo a reconocer los diferentes organismos que pueden atacar el cultivo, así como su posible control.

Con los datos obtenidos previamente en el ensayo de tratamiento térmico con agua caliente (sección 6.5.1) y los que se obtuvieron en esta prueba con vapor se elaboró una tabla comparativa (tabla 27).

Tabla 27. Comparación entre las 2 técnicas utilizadas para el tratamiento térmico de sustratos en el cultivo de *Pleurotus*.

Características	Con agua caliente	Con vapor
Medidas del contenedor	45 cm de diámetro por 70 cm de alto	56 cm de diámetro por 65 cm de alto
Fermentación previa del sustrato	No	Si
Compactación del sustrato	Sin compactar	Compactado
Cantidad de sustrato por contenedor, en costales de azúcar comerciales	1.5 costales de sustrato seco, (aproximadamente 30 Kg de sustrato húmedo)	4.5 costales de sustrato fermentado (aproximadamente 50 Kg de sustrato húmedo)
Tiempo de precalentado	2.5 horas a fuego alto	1.5 horas a fuego alto
Tiempo utilizado para mantener la Temperatura de Trabajo	45 minutos, a fuego alto (80°C)	2 horas a fuego medio (entre 85 y 90°C)
Tiempo de enfriado	1.5 horas	12 horas
Numero de bolsas por contenedor	De 4 a 5 bolsas de 50 x 70 cm	De 8 a 9 bolsas de 50 x 70 cm
Humedad del sustrato	De 80 a 90% de humedad aproximadamente	67.2% de humedad
Gramos de inóculo por bolsa	200 g aproximadamente	55 g aproximadamente
Porcentaje de contaminación durante la incubación	100%	16%
Rendimiento de hongo fresco por contenedor	Teóricamente produciría de 7.5 a 8 Kg de hongo fresco	Aproximadamente 13.5 Kg de hongo fresco

Esta comparación permitió observar que el tratamiento térmico mediante vapor ha permitido:

- Reducir la humedad del sustrato y el agua libre en el interior de las bolsas.
- Reducir el consumo de agua y combustible.
- Reducir considerablemente la contaminación.

- Incrementar la cantidad de bolsas por contenedor.
- Facilitar el manejo del sustrato durante el embolsado.
- Reducir sustancialmente la cantidad de inóculo utilizado.
- Incrementar la producción de hongos, por contenedor.

Un pequeño excedente de la producción se comercializó con algunos habitantes de poblados cercanos, con muy buena aceptación, y la mayoría se envió a la cocina del internado, la cual se utilizó para incrementar la dieta de los niños (figuras 85, 86 y 87).



Figura 85. Cosecha



Figura 86. Cocina internado



Figura 87. Comedor internado

Ambas cepas han mostrado un buen desarrollo en esta zona de la sierra oaxaqueña. Sin embargo, sólo la cosecha de Pfl ha tenido buena aceptación para el consumo por parte de los alumnos del internado de Zoogocho, no así la cosecha de la cepa IA; la aceptación del hongo Pfl está dada por su color blanco, lo que no sucede con la cepa IA, cuya variedad es muy similar a la cepa de *Pleurotus pulmonarius* (PO), endémica de la sierra, que es de color café, además de tener una consistencia muy fibrosa.

La técnica empleada ha facilitado el trabajo y favorecido la producción, lo que la hace muy adecuada para esta actividad con los niños. Pero aún con los logros obtenidos se continúa presentando un serio problema; no obstante todas las adecuaciones realizadas para adaptar el cuarto de cultivo y evitar la entrada de insectos, éstos continuaron entrando. Debido a que las bolsas se tienen que perforar para permitir el intercambio de gases, estas perforaciones permitieron que los insectos se introdujeran y reprodujeran con facilidad, lo que ocasionó pérdidas de producción. Es muy importante evitar que los insectos y sus larvas se desarrollen en el interior de las bosas inoculadas, por lo que se recomienda desarrollar alguna estrategia que facilite el intercambio de gases, pero no permita el paso de insectos. Con esto se limitaría, aún más, la contaminación y pérdida de producción durante la incubación.

6.5.2.2 Cultivo de *Neolentinus lepideus* (NL 21)

Debido a que durante la incubación el micelio requiere de oxígeno para su buen desarrollo, es necesario perforar las bolsas que contienen el sustrato para permitir que el micelio respire y se desarrolle bien. Sin embargo, las perforaciones realizadas a las bolsas algunas veces permiten que cierto tipo de insectos puedan entrar y contaminarlas. Una forma de detener a estos insectos, sin limitar el intercambio de gases, era colocar un filtro de una fibra sintética comercial (guata) en la boca de la bolsa (sección 5.15.3.2). Por tal motivo se amplió la siguiente investigación, considerando que un filtro lograría limitar la contaminación que pudiera presentarse en presencia de insectos, sin limitar el intercambio de gases. Además, la cepa silvestre de *Neolentinus lepideus* (NL 21), endémica de la zona, prometía desarrollarse bien en sustratos lignocelulósicos. Si lográbamos un buen desarrollo en condiciones rústicas, en un futuro, esta cepa se podría cultivar utilizando el gran volumen de residuos forestales, que abundan en esta zona, y

que sólo quedan como basura, debido a que hasta el momento no tenían ningún uso y “No había un lugar lejano donde tirarlos”.

Con las pruebas realizadas se obtuvieron los siguientes resultados: la invasión total del medio de cultivo EMA se obtuvo a los 10 días, mientras que la semilla de trigo se invadió al 100% en 17 días, lo que indica que la cepa se desarrolló vigorosamente. En cuanto al desarrollo en bolsas, con y sin tapón de fibra sintética, los resultados se pueden observar en la tabla 28.

Tabla 28. Evaluación de desarrollo de la cepa NL 21 de *Neolentinus lepideus* en bolsas con y sin tapón de fibra sintética.

Numero de Bolsas	Invasión de sustratos al 100% (días)	Intercambio de gases	Tipo de contaminación	Bolsas afectadas	Bolsas perdidas
Experimentales (10)	30 0 40	Filtro de fibra sintética	Ausente	0	0
Testigo (10)	30 0 40	Perforaciones con agujas	Mosquitas, <i>Trichoderma</i> , <i>Penicillum</i>	6	2

Los resultados obtenidos en esta prueba nos muestran que para el intercambio de gases y evitar la contaminación por insectos el tapón de fibra sintética tuvo una eficiencia del 100%, ya que las bolsas con tapón, durante la etapa de incubación, no presentaron evidencias de contaminación por insectos o mohos, a diferencia de las bolsas testigo en donde sí se presentaron algunas contaminaciones. En cuanto a la invasión total del sustrato ésta se dio entre los 30 a 40 días, no habiendo diferencia notoria con las bolsas testigo. En la tabla 29 se puede observar la eficiencia biológica de la producción obtenida.

Tabla 29. Producción obtenida de la cepa NL 21 de *Neolentinus lepideus* sobre *Pinus* sp.

Cepa	Eficiencia Biológica (E B)			C V (*)
	E B	$\bar{X} \pm \sigma$		
NL 21	15.27	± 0.04		1.38

(*) Coeficiente de Variación
Eficiencia biológica (g de hongo fresco/g de sustrato seco) *100

En esta tabla se puede observar que la Eficiencia Biológica obtenida para la cepa NL 21 fue del 15.27 % en 3 cosechas, en un período de 120 días.

No obstante los cuidados que se tuvieron para evitar la entrada de insectos al cuarto de cultivo y de que las bolsas no se rasgaran al perforarlas, 6 de las 10 bolsas testigo presentaron diversas contaminaciones arrastradas por insectos, entre ellas bacterias y mohos como *Trichoderma* y *Penicillium*. De estas bolsas 4 presentaron contaminación ligera, la cual se controló mediante el uso de una solución de cal al 5% y únicamente 2 bolsas, que se encontraban muy infestadas por mosquitas, fueron retiradas y destruidas. En las bolsas experimentales el filtro funcionó muy bien ya que permitió que el micelio respirara, se desarrollara y, no obstante la presencia de mosquitas, ninguna de las bolsas presentó larvas ni insectos adultos, mohos o bacterias.

Para inducir la fructificación se requirió una humedad relativa de aproximadamente 70%. Como ya se había observado en la sección 6.4.4.2 esta variedad de *N. lepideus* requiere menor cantidad de humedad para fructificar, los registros que se tienen de la recolecta refieren que este hongo aparece durante los meses de febrero a mayo, con las primeras lluvias ligeras. Este comportamiento de fructificar con baja humedad favorece el control de posibles contaminaciones en condiciones de cultivo que se llegan a presentar cuando los niveles de humedad relativa se encuentran por arriba del 85%. Durante la fructificación continuó la presencia de algunos insectos, pero ya no causaron tanto daño como en la etapa de incubación. Para el control de estos insectos se utilizaron trampas de papel con aceite, las cuales ayudaron a disminuir la población de mosquitas en el cuarto de cultivo.

En la bibliografía consultada Gaitán-Hernández *et al.* (1993) refieren que: la cepa de *Lentinus lepideus* (Fr.:Fr) Fr. (= *Neolentinus*, Redhead & Ginns) que probaron invade al 100% aserrines de *Abies hickelii*, *Pinus montezumae* y *P. teocote* entre los 30 a 35 días; que los primordios aparecieron entre los 50 a 70 días con una humedad relativa del 90%; que obtuvieron una eficiencia biológica de 9.33 para *Abies hickelii*, 27.55 para *Pinus montezumae* y 7.90% para *P. teocote*. Estos resultados son similares para la cepa NL 21 que tardó en invadir la viruta de *Pinus* sp., entre 30 a 40 días (tabla 28). El tiempo de aparición de primordios también fue similar, a excepción de la humedad que en este caso fue del 70% aproximadamente. Estos primeros resultados sugieren que esta cepa de *Neolentinus* no requiere de tanta humedad como es el caso de *L. edodes* o *Pleurotus*. En cuanto a la eficiencia biológica la cepa NL 21 obtuvo un 15.2% en *Pinus* sp., producción que se encuentra dentro del rango que Gaitán-Hernández *et al.* (1993) obtuvieron.

Por todo lo anterior, el uso del filtro de guata probó ser: eficiente en el intercambio de gases; un buen control de contaminaciones (propiciadas por insectos durante la etapa de incubación), un recurso económico y reciclable que permitió un buen desarrollo de *N. lepideus*.

6.5.2.3 Cultivo de *Lentinula edodes* (L 5)

Para el cultivo de *Lentinula edodes* actualmente se utilizan sustratos esterilizados, lo que ha facilitado su producción, sin embargo, para este tipo de tratamiento térmico se requiere de grandes autoclaves e infraestructura con la que no cuentan las instalaciones de nuestro taller de cultivo, lo que limita esterilizar el sustrato. Así que, gracias a los resultados obtenidos con el uso de un filtro de fibra sintética para el intercambio de gases, se consideró que esta técnica podría ayudar a desarrollar el cultivo de *L. edodes*, en condiciones rústicas, con un sustrato tratado térmicamente con vapor, en menor tiempo que en troncos. Además, que en la zona existen muchos aserraderos en donde la viruta de pino es un desecho que bien se podría utilizar para el cultivo.

Debido a que el desarrollo micelial de *L. edodes* es muy lento, aunado a que no se esterilizaría la viruta, se consideró utilizar, además del filtro, un fungicida sistémico de baja toxicidad; el Benlate (sección 5.15.3.2). El uso de este fungicida tuvo la intención de disminuir la probabilidad de contaminación del sustrato, durante la etapa de incubación.

Para esta prueba no se consideró suplementar la viruta de *Pinus* sp., debido a que en esta zona estos suplementos no se consiguen fácilmente. La principal intención fue evaluar el filtro de guata y la producción con viruta sin utilizar suplementos.

En este caso, el uso del filtro resultó funcional, como en el experimento anterior con *Neolentinus*. El tratamiento térmico por vapor, el fungicida Benlate y el filtro de guata permitieron que, durante el tiempo de incubación, las bolsas inoculadas no presentaran exceso de agua en el sustrato, mantuvieran un adecuado intercambio de gases (lo que favoreció un buen desarrollo del micelio) además, que ninguna de las bolsas presentó, aparentemente, indicios de insectos y sus larvas, mohos u otros contaminantes.

Cuando el sustrato fue cubierto completamente por el micelio y la superficie cambió de blanco a café oscuro, aproximadamente a los 90 días, se procedió a inducir la fructificación. Entre los 5 y 10 días posteriores dio inicio la aparición de primordios. El

primer corte se realizó a los 20 días, posteriormente se obtuvieron 2 cosechas más, aproximadamente cada 30 o 35 días (figura 88).



Figura 88. Esporóforos de *Lentinula* sobre viruta de pino

En la tabla 30 se puede observar la eficiencia biológica de la cepa L 5 de *Lentinula edodes* que se obtuvo en viruta de *Pinus* sp.

Tabla 30. Eficiencia biológica obtenida de la cepa L 5 de *Lentinula edodes* sobre *Pinus* sp.

Cepa	Eficiencia Biológica (E B)				
	E B	\bar{X}	\pm	σ	CV (*)
L 5		14.2	\pm	2.5	11.2

(*) Coeficiente de Variación
Eficiencia biológica (g de hongo fresco/g de sustrato seco)*100

Debido a que en esta prueba no fue posible tener bolsas testigo, por obvias razones, no se contó con un referente para realizar una evaluación comparativa, por esta razón se decidió comparar estos resultados con los obtenidos en las pruebas realizadas en laboratorio (sección 6.4.4.2), los resultados se pueden observar en la tabla 31.

Tabla 31. Comparación de resultados de cultivo obtenidos en laboratorio y en condiciones rústicas, sobre viruta de *Pinus* sp., para la cepa L 5.

Condiciones experimentales	Tratamiento térmico	Cantidad de sustrato por bolsa	Suplemento	Humedad del sustrato	Tiempo de incubación	Eficiencia biológica
Laboratorio	Esterilizado 121° C	1 Kg	6% de salvado de trigo	65.2%	A 25°C 90 días	25.2%
Rústico	Con vapor 85-90°C	5 Kg aprox.	Sin suplemento	65.8%	A Temp. ambiente 90 días	14.2%

Al comparar estas pruebas se observó que la humedad de los sustratos fue muy similar, lo mismo que el tiempo de incubación y la obtención de 3 cortes con una diferencia de aproximadamente 30 días entre corte. Con respecto a la Eficiencia Biológica (E B) se observó que existió una marcada diferencia en la producción; en condiciones de laboratorio, con sustrato suplementado, se obtuvo una E B de 25.2%, mientras que para condiciones rústicas y con sustrato sin suplementar se obtuvo una E B de 14.2%. Esto nos indica que aunque no existieron grandes diferencias en cuanto al tiempo de incubación y de cosecha, sí existe una marcada reducción en la producción en condiciones rústicas, sobre viruta de *Pinus* sp., sin suplementos. Tal vez la diferencia pudo ser ocasionada por la suplementación de sustratos, por lo que se recomienda continuar con estos experimentos suplementando la viruta para incrementar la producción, así como comparar con otras cepas que puedan presentar una mayor E B.

7.0 Taller de Capacitación, avances y resultados

La implementación de este taller de capacitación está dirigida al desarrollo de habilidades y aprendizaje de los niños, fundamentado en la práctica y sustentado en la teoría. Así que a los niños del taller de cultivo de hongos se les capacitó en los siguientes temas:

- La selección, cuidados y manejo de los sustratos adecuados para el cultivo, que sean de fácil acceso en la comunidad como son: rastrojo de maíz, cascarilla de café, olotes, viruta de pino, vaina de frijol, bagazo de caña de azúcar y de maguey, entre otros.
- La adaptación de espacios disponibles como cuartos de cultivo.

- La importancia de una fermentación previa de los sustratos.
- Tratamiento térmico de los sustratos mediante vapor.
- Inoculación y embolsado.
- Incubación, manejo, cuidado de las bolsas y posibles problemas a enfrentar.
- Inducción de fructificaciones.
- Cosecha y manejo del producto.
- Limpieza de cuartos de cultivo.
- Técnicas para evitar y prevenir contaminaciones, manejo de plagas y contaminaciones presentes.
- Importancia de las condiciones de higiene personal.
- La gran importancia de cuidar y convivir con la naturaleza.

Con base en los temas mencionados se desarrolló un plan anual de capacitación (anexo).

Parte de los resultados obtenidos de 1994 al 2000 es que han egresado de este taller más de 90 alumnos con un promedio de capacitación de 3 a 4 ciclos escolares. Dentro de los egresados se encuentran varios ex-alumnos que continúan su capacitación como especialistas. Natalio Carrillo, gracias al empeño que ha puesto en aprender y desarrollar estos conocimientos, ahora es el profesor que se encarga de manejar los cursos de capacitación de los diferentes grupos de niños en el Internado de Zoogocho.

Actualmente el taller de capacitación cuenta en promedio con 75 alumnos por ciclo escolar, cuyas edades fluctúan entre los 7 y 14 años y podrían ser más pero las instalaciones con las que se cuenta ya no dan cabida a más niños y se encuentran en franco deterioro. Debido a que este trabajo no recibe mucha ayuda de instancias estatales o federales, la mayoría de los gastos los cubre el autor con recursos propios y realmente no son suficientes para mantener este trabajo tan importante. Todo esto, aunado a la desventaja de no contar con más espacio e instalaciones, limita que más ex-alumnos, que se encuentran estudiando la secundaria en la comunidad de Zoogocho, puedan continuar especializándose en esta actividad.

Aún con obstáculos y desventajas a las que nos hemos enfrentado para desarrollar este taller de capacitación, en estos momentos estamos beneficiando indirectamente a más de 23 comunidades de 17 municipios de esta sierra oaxaqueña.

Este número se podrá incrementar cuando logremos que egresen más alumnos y podamos brindarles el seguimiento adecuado para que incrementen sus conocimientos y especialización sobre esta alternativa de producción.

Aunado al trabajo de investigación se han realizado diferentes actividades con la intención dar mayor difusión a la importancia del aprovechamiento de los hongos.

- Entrevista en la estación de Radio Guelatao, “La Voz de la Sierra”, con el tema “La importancia de los hongos comestibles”, junio de 1995.
- Ponencia “Los Riesgos en la Sobre-explotación de los Hongos Silvestres, en Especial el hongo *Tricholoma magnivelare* (Matsutake)”, en la 1ª Reunión Nacional de Productores y Recolectores de Hongos, convocada por El Instituto Nacional de Solidaridad, México, D. F.
- Entrevista en la estación de Radio UNAM, en el programa “Plaza Pública”, dirigido por el periodista Miguel Ángel Granados Chapa, con el tema “El cultivo de hongos comestibles en la Sierra Norte del Estado de Oaxaca”, abril de 1996.
- Ponencia “Ventajas de un Buen Manejo de los Recursos Micológicos”. En la 1ª Reunión Estatal de Recolectores y Comercializadores del Hongo Blanco *Tricholoma magnivelare*, convocada por la Secretaria de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca de Oaxaca, abril de 1996.
- Ponencia “Alternativas de Producción de Hongos Comestibles en la Región de la Sierra Juárez, Oaxaca”. En: memorias de las reuniones de presidentes municipales, pertenecientes al sector Villa Alta-Cajonos, convocado por el Gobierno de Oaxaca, octubre 1996.
- Exposición “Cultivo de Hongos Comestibles en Troncos de Encino”, en la 1º exposición de productos comerciales no convencionales, convocada por el Instituto Nacional de Solidaridad, México, D. F., del 11 al 13 de diciembre de 1997.
- Ponencia “Capacitación para niños indígenas en la producción del hongo *Lentinula edodes* en troncos de encino”. En: memorias de la 2ª Reunión de productores de hongos comestibles, convocada por la Secretaria de Desarrollo Agropecuario, Conjunto SEDAGRO, Metepec, Edo. de México. Octubre de 1997.

- Entrevista en la estación de Radio “La Voz de la Sierra”, Guelatao, Oaxaca, con el tema “Los riesgos en el uso y abuso del fungicida Benlate en el cultivo de los hongos comestibles”. 29 de mayo del 2002.
- Reportaje “Enseñan a niños a cultivar hongos” en la sección cultural “Con-Tacto” del periódico Reforma. 11 de febrero del 2003. p 2 C.
- Cada fin de cursos se realiza una exposición para los padres de familia y público en general de los logros y metas alcanzadas, en donde se ofrece una degustación de platillos, elaborados con hongos, esto con la intención de darle difusión a esta alternativa de producción.

No obstante todas estas buenas intenciones, el arduo trabajo realizado y los logros alcanzados, la falta de recursos no ha permitido concretar todo lo que en principio se había considerado. De conseguir apoyo económico estaremos en la posibilidad de adecuar las instalaciones (para contar con un mejor centro de capacitación y experimentación que facilite darles seguimiento a los ex-alumnos, sus familiares y demás personas interesadas en desarrollar este tipo de cultivo). Además de editar algunos videos con parte del material recabado y realizar la traducción del material didáctico al zapoteco, mixe y chinanteco, con la ayuda de los niños y profesores bilingües.

Labarère y Menini (2000), mencionan que es muy importante la formación de recursos humanos, con un buen nivel científico y técnico, para el desarrollo de investigación básica y aplicada, debido a que la producción exitosa de hongos requiere experiencia práctica y un buen conocimiento científico, por lo que es importante el establecimiento de centros de instrucción especializados en el cultivo de hongos. Los técnicos egresados, de estos centros de capacitación, deberán manejar conceptos básicos en morfología de los hongos, preparación de sustratos, manejo de cosechas, así como control de plagas y enfermedades, para poder transmitirlos a los potenciales cultivadores.

Por su parte, León *et al.* (2000) se encuentran realizando una serie de trabajos con el fin de indagar y proponer una estrategia para la enseñanza-aprendizaje bajo el modelo de empresa juvenil. En dicho proyecto se propone implementar una propuesta distinta al método tradicional del proceso enseñanza-aprendizaje a partir de involucrar a los estudiantes como agentes activos de su aprendizaje. Con esta estrategia se intenta

que los estudiantes ya no únicamente se apropien de conocimientos teóricos y después, si es posible, de la práctica.

Tanto Labarère y Menini (2000) como León *et al.* (2000) proponen estas alternativas a nivel de estudios técnicos o de licenciatura, en tanto nosotros lo estamos abordando a nivel de educación básica, con el enfoque de que los niños poseen una gran capacidad de aprendizaje, que les permite entender, comprender y manejar la información recibida, siempre y cuando dicha información se les haga llegar en un lenguaje sencillo y puedan poner en práctica estos conocimientos para reforzar dicho aprendizaje. Sobre la base de este esquema el centro de capacitación ya está dando frutos; los niños se tornan muy hábiles y diestros en la aplicación de los conocimientos recibidos, y algunos de los egresados ya lo han puesto en práctica en sus comunidades con sus familiares.

De darles seguimiento y mayor instrucción se podría lograr la implementación de pequeñas unidades de producción familiar. Esto puede ayudar a la expansión y el fortalecimiento de pequeñas organizaciones de productores, que fomente el desarrollo de fondos rotativos y capital semilla para proyectos auto-sostenibles, que no alteren substancialmente su entorno.

Consideramos que, a mediano y largo plazo, insertado en un programa regional, podrá beneficiar a más comunidades de la Sierra Norte de Oaxaca y, a futuro, se podrá extender a otras regiones y estados del país. Tenemos la certeza que esta alternativa de producción permitirá reducir el gasto social; ya que ayuda a generar empleos, esto es una oportunidad y no una limosna, que apoyará y fortalecerá a las familias indígenas.

Este tipo de trabajo considera la participación de toda la familia, en donde las mujeres tendrán una participación relevante. En muchas comunidades las mujeres son las que están a cargo de la familia, por la gran emigración de los hombres hacia los Estados Unidos de Norteamérica.

8.0 Discusión

Oaxaca se distingue por su asombrosa diversidad étnica, cultural y ambiental; en donde coexisten gran cantidad de especies vegetales y animales endémicos. El gradiente altitudinal de su Sierra Norte o Sierra Juárez, permite que la vegetación (que en otras partes del mundo se encuentran separadas por miles de kilómetros), aquí se ubican en la misma ladera: selvas tropicales en el fondo de sus cañadas, bosques mixtos, bosques de coníferas y en las partes altas pastizales subalpinos.

No obstante esta riqueza natural, Oaxaca se distingue también por la enorme pobreza de sus comunidades, principalmente indígenas. Por siglos los indígenas han sufrido el saqueo de sus recursos naturales y la imposición de patrones culturales ajenos y degradantes. Uno de los aspectos que más preocupa en esa entidad es la acelerada destrucción de la naturaleza. Es alarmante la pérdida de bosques, selvas y la incalculable diversidad biológica que en ellos existe; esto se debe, entre otras cosas, a la pobreza e ignorancia de las poblaciones, la tala ilegal, la ganadería extensiva y, no pocas veces, a erróneos programas gubernamentales; los esfuerzos oficiales para evitar lo que ocurre son escasos y con frecuencia se pierden en la maraña burocrática.

Actualmente dentro de los programas de “erradicación de la pobreza” autoridades estatales y federales contratan a “técnicos” que poseen una preparación incipiente para “desarrollar proyectos productivos de cultivo de hongos”; muchos de estos proyectos están destinados al fracaso, con la consecuente pérdida de cuantiosos recursos económicos y el desánimo de los involucrados. Todo esto propiciado por una mala preparación por parte de los “especialistas” que imparten los cursos de capacitación a los nuevos “técnicos” (40 horas, repartidas en una semana, de las cuales la mayoría son clases teóricas) y muchas veces “los especialistas” ¡también son sólo teóricos y nunca se han enfrentado a desarrollar un cultivo que sea rentable!

Esta situación ha provocado un círculo vicioso, en donde los más afectados son las personas que esperan que el desarrollo de este cultivo les brinde los resultados esperados. En tanto que la capacitación tecnológica no se difunda adecuadamente a todas las poblaciones del país muchos de los conocimientos científicos y tecnológicos, generados en las universidades e institutos de investigación, no tienen sentido si no trascienden fuera de los laboratorios hacia la comunidad que tanto requieren de esta información.

El panorama en relación con el cultivo de hongos es muy prometedor, siempre y cuando se cuente con técnicos validados, comprometidos con la eficiencia en los procesos de cultivo. Actualmente estos niños indígenas se están capacitando para que en un mediano plazo puedan desarrollar los conocimientos que hoy están adquiriendo y esto les permita ayudar, por mucho, al desarrollo de sus comunidades con nuevos conocimientos y oportunidades; esto podrá redundar en la conservación de los recursos naturales para generaciones futuras y lograr una mejor calidad de vida para ellos y sus familias. Este sueño, de llevar a algunas zonas indígenas una alternativa de producción de alimentos, que no afecte sustancialmente su entorno y que ayude a tener una producción sostenible ya está tomando forma, pero aún falta mucho por hacer.

En México no ha habido un adecuado desarrollo en la enseñanza de la micología en las universidades e institutos de investigación, principalmente en lo referente al cultivo de hongos. La carencia de recursos financieros, personal calificado, metas tangibles a alcanzar, ceguera política, entre otras tantas cosas, ha propiciado que nos encontremos muy rezagados con respecto a otros países. En tanto que algunos investigadores continúan evaluando cepas, muchas veces ya probadas, sobre diferentes sustratos o intentando aislar cepas de hongos silvestres con potencial económico, investigadores de otros países ya se encuentran trabajando en el mejoramiento genético, transgénico y aislamientos de principios activos para la industria, algunas veces con cepas silvestres mexicanas que ya se encuentran patentadas, ¡Y nosotros, ni enterados!

Todo esto está ocurriendo en un momento en que la importancia del volumen de producción y el valor económico de la industria del cultivo de hongos se están extendiendo firmemente. Con sorpresa podemos ver que en pocos años ha aumentado la demanda del mercado nacional y mundial, mientras que nuestra producción aún es muy limitada, por lo que nos vemos en la necesidad de importar hongos de los E. U. A., España, China y, tal vez, en un futuro lo tengamos que hacer de algún país latinoamericano.

La creciente industria del cultivo de hongos y prestadores de servicios (que intentan apoyar el desarrollo de esta industria), tienen la necesidad de personal especializado, la cual se incrementará rápidamente. Nosotros, con este pequeño taller de capacitación estamos colocando nuestro grano de arena para que, en un tiempo

razonable, ayudemos a preparar a los técnicos e investigadores que tanto necesitan las comunidades indígenas, los pequeños, medianos y grandes productores de hongos.

Por otro lado, la potencialidad de los recursos fúngicos de la sierra Norte de Oaxaca aún es grande, y qué decir de otras partes de la república. Es importante recalcar la conveniencia de ampliar el estudio de especies silvestre en el país y evitar a toda costa la bio-piratería de estos recursos naturales. Habrá que realizar más investigaciones, entre ellas la recuperación del conocimiento que sobre los hongos aún conservan algunas comunidades indígenas en el país, antes de que sea demasiado tarde. También habrá que realizar un trabajo multidisciplinario de recolecta, identificación y obtención de germoplasma para futuras investigaciones que permita la generación de paquetes tecnológicos que también se puedan implementar en comunidades indígenas y rurales. Esto podrá generar beneficios económicos y un aprovechamiento sostenible de estos recursos bajo un esquema de comercio justo, que no afecte sustancialmente su entorno y que permita su aprovechamiento a futuras generaciones.

En tanto el estudio de los hongos no sea considerado como una estrategia que puede brindar buenas alternativas económicas al país, y las políticas de apoyo a la ciencia continúen con su histórica ceguera política, los resultados que tal vez obtengamos será que; en un corto plazo vamos a tener que adquirir, a empresas extranjeras, productos con principios activos derivados del germoplasma de especies mexicanas, y de querer cultivar estas especies vamos a tener que pagar regalías por concepto de patente.

No obstante todos los logros obtenidos hasta ahora, es necesario contar con una estrategia más integral para lograr que este conocimiento que han adquirido los niños lo puedan desarrollar en sus comunidades y además les sea reconocida su capacidad técnica. Sobre esta base, a mediados del 2004 (a título personal del autor) se dio inicio con algunos ex-alumnos, pertenecientes a varias comunidades del distrito de Villa Alta, la puesta en marcha de módulos demostrativos sobre el cultivo de *Pleurotus* en desechos agrícolas; esto se realizó con la intención de sensibilizar a más personas en los beneficios que puede generar para las comunidades esta alternativa de producción. Y que éstas, a su vez, busquen el apoyo de Instituciones Gubernamentales y ONG's; que faciliten la implementación de pequeñas unidades de producción familiar.

Hasta hace algunos años el único uso que le daba al bosque era la extracción de madera de pino y los encinos sólo se utilizaban para producir carbón o leña, pero esta

actitud ya está cambiando; ahora, gracias a las recomendaciones que se han realizado sobre las posibilidades de la utilización de los bosques como recursos no maderables, varias comunidades han iniciado algunos proyectos de explotación de hongos silvestres: cultivo de *Lentinula edodes* en troncos, cultivo de *Pleurotus* en desechos agrícolas, recolección, deshidratación, empaquetado y comercialización de hongos silvestres, que junto con la tendencia al desarrollo del “turismo ecológico” está favoreciendo una mejor explotación y conservación de algunas zonas de la Sierra Norte. Si logramos preparar más personal calificado esto puede ayudar a la economía de pueblos indígenas pobres, ya que ellos también podrán producir y colocar sus productos en un mercado de productos orgánicos a precio justo.

Los niños y jóvenes indígenas tienen hoy una enorme responsabilidad frente a sus culturas, pues son ellos quienes pueden fortalecer las estrategias para conservar su identidad, costumbres y recursos naturales, siempre y cuando no emigren por falta de alternativas económicas y educativas. Ellos formarán parte de la primera generación de adultos con mayor grado de escolaridad que generaciones anteriores; de aquí a que sean mayores, su interés individual a vivir en otros lugares, o su compromiso colectivo con su comunidad definirá el futuro que buscarán para sí y por ende para su pueblo.

Este trabajo no ha sido nada fácil, pero los logros obtenidos nos muestran que todo este esfuerzo no ha sido en vano y ha valido la pena, esperamos continuar haciéndolo crecer y que esto sirva como ejemplo de que sí es posible tener un mejor desarrollo con mejor educación.

9.0 Conclusiones

1.- Como resultado de las recolectas:

a) Se obtuvieron 46 especies de 33 géneros pertenecientes a 23 familias, siendo las familias Tricholomataceae y Boletaceae las mejor representadas.

b) Se logró obtener los nombres comunes en español para 20 especies, de las cuales 19 fueron identificadas con un nombre zapoteco y de éstas únicamente 10 fueron reconocidas como comestibles y ninguna con uso medicinal.

c) De 74 personas que ayudaron en la recolecta e identificación de ejemplares, el 12% no los recolectan, ni los comen; el 88% consumen únicamente los que saben identificar plenamente; el 81% los recolectan y utilizan para autoconsumo; un 7% vende o intercambia (en trueque) parte de lo que recolectan; un 11% compran hongos silvestres; el 100% manifestaron no saber del uso medicinal de algún hongo en particular. Las especies más consumidas por estos pobladores, en orden de importancia fueron las referidas como: Bi'a b̄hecw yag y Bi'a yech (*Amanita grupo caesarea*); Bi'a ze (*Cantharellus* sp.); Bi'a chsaz (*Boletus* sp.); Bi'a xben (*Clavaria* sp.); Bi'a bel (*Agaricus* sp.) y Bi'a beech (*Neolentinus lepideus*).

d) Quienes más conservaban sus conocimientos tradicionales, lenguaje y tenían más apego y respeto a sus recursos naturales eran las poblaciones más aisladas, no así las que se encontraban más cercanas a la ciudad de Oaxaca, que tenían más vías de comunicación o una cierta población mestiza. La problemática social era muy compleja; la emigración y retorno de pobladores que tuvieron contacto con la cultura de los E. U. A. "Un país industrializado", la llegada de la señal de televisión vía satélite, entre otras cosas, continúa propiciando la erosión de la cultura indígena y pérdida del idioma zapoteco. La posible solución a esta serie de problemas se ve un tanto difícil.

2.- Se logró obtener tejido micelial de 23 especies pertenecientes a los géneros: *Agaricus*, *Amanita*, *Calvatia*, *Cantharellus*, *Ganoderma*, *Helvella*, *Lycoperdon*, *Lyophyllum*, *Morchella*, *Neolentinus*, *Pycnoporus*, *Pleurotus*, *Suillus* y *Tricholoma*, de las cuales sólo se pudieron conservar 13. Estas cepas servirán como base para iniciar un banco de germoplasma de hongos silvestres, para futuros proyectos de micorrización, inóculo para cultivo de hongos comestibles y estudios de principios activos.

3.- Se avanzó en la enseñanza de la técnica de cultivo de *Lentinula edodes* en troncos de encino a los alumnos; se logró reducir los tiempos y movimientos para el manejo e inoculación de troncos en un 33% con respecto a la técnica referida por Rae (1980); los alumnos identificaron y aprendieron el manejo y control de las plagas y contaminantes que se presentaron durante el cultivo; aprendieron como inducir la fructificación y el manejo de cosecha y pos-cosecha, esto dio como resultado la obtención de 70 Kg de hongo fresco. Cada tronco de 90 cm de largo y de 12 a 15 cm de diámetro puede producir aproximadamente, de 200 a 300 gramos de hongo fresco en una cosecha el primer año.

4.- En las pruebas de evaluación de desarrollo micelial y cuantificación de biomasa los resultados obtenidos sugieren que:

a) Para las cepas de *Ganoderma*: G 1 en medio HITA, G 7 en EMA y G 10 en los medios EMA y PDA existió una concordancia entre el diámetro micelial obtenido y la producción de biomasa, mientras que para las cepas G 7 y G 10 en el medio HITA se observó una mayor producción de biomasa micelial y menor diámetro de la colonia. Por lo tanto para G 7 y G 10 los diámetros de las colonias miceliales no necesariamente son un buen indicador del desarrollo de tejido micelial, siendo el análisis de producción de biomasa una buena alternativa para la adecuada evaluación de cepas.

Para las cepas G 7 y G 10 el mayor diámetro micelial se obtuvo en el medio EMA, existiendo diferencia significativa con el medio PDA para todas las cepas y EMA para la cepa G 1.

b) Para las cepas de *Neolentinus* (NL 18) y (NL 21) y *Lentinula* (L 5): para la cepa L 5 los medios EMA y PDA favorecieron el desarrollo de diámetro micelial, mientras que el medio PDA fue en donde se obtuvo mayor biomasa micelial. Para la cepa NL 18 el mayor diámetro micelial se obtuvo en PDA, mientras que la producción de biomasa fue similar en todos los medios de cultivo. Para la cepa NL 21 no existió diferencia en el diámetro micelial en todos los medios de cultivo, mientras que el medio que favoreció la mayor producción de biomasa micelial fue EMA.

Sólo en las interacciones L 5 y NL 21 con EMA y NL 18 con PDA existió una concordancia entre el diámetro de la colonia y la producción de biomasa, no así para otras interacciones donde no existieron coincidencias. Estas variaciones no permiten recomendar un medio de cultivo específico para todas las cepas, aunque éstas

pertenezcan al mismo género o especie. El uso de los parámetros diámetro y biomasa podría dar mejores resultados al evaluar y decidir sobre los medios de cultivo más adecuados, así como las mejores condiciones de cultivo, tanto para cepas silvestres como comerciales.

5.- Desarrollo micelial en semillas de diferentes cepas. Para las cepas G 7 y G 10 de *Ganoderma*, NL 18 y NL 21 de *Neolentinus* y L 5 de *Lentinula*, el inóculo de trigo presentó mejores características que el de mijo.

6.- En las pruebas de evaluación de desarrollo en sustratos lignocelulósicos los resultados obtenidos sugieren que:

a) Las cepas G 7 y G 10 de *Ganoderma* presentaron una mayor Eficiencia Biológica (E B) en paja y pino (entre el 19 y 20%) que en aserrines de encino (del 8 al 17%), no existiendo diferencia significativa en la E B entre ambas cepas. No hubo un desarrollo normal de las cepas, estas no se diferenciaron en píleo y estípite.

b) Las cepas *Neolentinus ponderosus* (NL 18) y *N. lepideus* (NL 21) durante la incubación invadieron los sustratos (pino y encino) al 100% en 26 días, pero no lograron un buen desarrollo posterior debido a que se contaminaron totalmente. La cepa L 5 de *Lentinula* invadió los sustratos (pino y encino) al 100% a los 90 días y se obtuvieron 3 cortes. La mayor Eficiencia Biológica (E B) se obtuvo en encinos (85.7 a 87.4%), la menor se obtuvo en pino (25.2%). Ninguna de las cepas se desarrolló en paja.

c) con respecto a *Pleurotus*, para la cepa Pfl se obtuvo una E B 88.9%, mientras que para la cepa IA se obtuvo una E B del 73.9% y de tan sólo el 51.2% para la cepa PO. Estos resultados sugieren que la cepa Pfl posee mejores características para la producción, seguida de la cepa IA, la que presenta menor producción es la cepa PO. Existen diferencias morfológicas entre los esporóforos obtenidos: IA presenta esporóforos individuales y píleo café claro; Pfl presenta esporóforos en racimos, píleo color blanco cremoso; PO presenta esporóforos individuales o en racimos y píleo café.

7.- En las pruebas de descicariotización y obtención de híbridos de *Pleurotus* los resultados obtenidos sugieren que:

- a) El micelio monocariote sólo se obtuvo a 180 segundos de homogeneizado, nunca a menor velocidad ni en concentraciones de glicina menores a 5 g/l.
- b) El tiempo de homogeneización fue el parámetro que más influyó en la desdicariorización.
- c) La concentración adecuada de glicina es de 5 g/l y de Peptona 10 g/l, aunque la proporción de recuperación de micelio neohaplonte no es alta, sólo de un 33%.
- d) En ninguna de las concentraciones de glicina o peptona se obtuvo una combinación de colonias monocarióticas y dicarióticas.
- e) Para la cepa Pfl se recuperaron los 2 componentes monocariotes; sólo que los neohaplonte tipo I se obtuvieron con glicina, mientras que los neohaplontes de tipo II se obtuvieron con peptona. Para la cepa IA sólo se logró recuperar un componente monocariótico, tanto en glicina como en peptona, el otro componente se obtuvo mediante esporas.
- f) Mediante el uso de cepas monocariotes de una colección de cepas de *Pleurotus ostreatus* y cepas de referencia (pmIA) y (pmPO) fue posible identificar las compatibilidades de los neohaplontes obtenidos. De esta forma se identificó la cepa Pfl como perteneciente a la especie *Pleurotus ostreatus*, mientras que la cepa IA pertenece a la especie *P. pulmonarius*.

10.- En las pruebas de tratamiento térmico de sustratos los resultados obtenidos sugieren que:

- a) El tratamiento térmico con agua caliente presentó muchas desventajas: se requería desarrollar un gran esfuerzo físico para sacar el contenedor del tambo después de calentarlo en agua, calentar cerca de 200 l de agua hasta los 80°C requería quemar mucho gas (era caro), el sustrato absorbió demasiada agua lo que limitó el desarrollo micelial de *Pleurotus* y facilitó la presencia de contaminaciones.
- b) El tratamiento térmico con vapor facilitó el trabajo y favoreció la producción, lo que lo hizo muy adecuado para esta actividad con los niños. Esta técnica ha permitido: reducir la humedad del sustrato y el agua libre en el interior de las bolsas, reducir el consumo de agua y combustible, facilitar el manejo de sustratos, reducir la cantidad de inóculo utilizado e incrementar la producción.

11.- En las pruebas de evaluación de las cepas en sustratos tratados con vapor los resultados obtenidos sugieren que:

a) Para *Pleurotus* la cepa Pfl presentó una mayor eficiencia biológica (83%) que la cepa IA (69%), siendo la cepa Pfl la que tuvo más aceptación para el consumo por parte de los alumnos.

b) Para *Neolentinus* a la cepa NL 21, el tapón de fibra sintética tuvo una eficiencia del 100%, ya que las bolsas con tapón, durante la etapa de incubación, no presentaron evidencias de contaminación por insectos o mohos. La invasión total del sustrato se dio entre los 30 a 40 días, no habiendo diferencia notoria con las bolsas testigo. Para la fructificación se requirió una humedad relativa de aproximadamente 70% y se obtuvo una E B del 15.27%.

Con los resultados obtenidos del uso de un filtro de fibra sintética, se consideró que este filtro podría facilitar el cultivo de *Lentinula edodes* en desechos lignocelulósicos tratados térmicamente con vapor.

c) Para *Lentinula edodes* (L 5), el filtro de guata funcionó bien, no habiendo mucha diferencia al comparar el desarrollo micelial en condiciones de laboratorio y rústicas: la humedad de los sustratos, el tiempo de incubación y la obtención de 3 cortes con una diferencia de aproximadamente 30 días entre corte fue muy similar. En condiciones rústicas y utilizando sustratos sin suplementar se obtuvo una E B del 14.2% lo que es un resultado muy bajo.

12.- En la implementación del taller de capacitación los resultados obtenidos fueron:

a) Se construyeron instalaciones y se fabricaron herramientas que han facilitado el trabajo con los alumnos.

b) Se recabó información que ayudó a conformar un plan anual de capacitación que se utiliza como base para las diversas actividades del taller.

b) Se recabó una serie de fotografías y videos (aún no editados) para conformar el material didáctico en formato digital.

c) Actualmente el taller de capacitación se encuentra formalmente dentro de las actividades de los talleres para formación en el trabajo y ha sido asignado como responsable el profesor Natalio Carrillo Mendoza; un exalumno que decidió especializarse

en esta alternativa de producción y con el cual se han obtenido muy buenos resultados por todo el empeño que ha puesto en su formación técnica y académica.

10.0 Anexos

TALLER DE CAPACITACIÓN EN EL CULTIVO DE HONGOS COMESTIBLES.

PLAN ANUAL

PLAN ANUAL DE CAPACITACIÓN

AUTOR: ADRIÁN RAFAEL PALACIOS HERNÁNDEZ

TALLER DE CAPACITACIÓN EN EL CULTIVO DE HONGOS COMESTIBLES

NOMBRE DEL PLANTEL: **Centro de Integración Social No. 8**

DOMICILIO: **Conocido**

MUNICIPIO: **San Bartolomé, Zoogocho, Villa Alta, Oaxaca**

REGIÓN: **Sierra Norte**

OBJETIVO GENERAL:

Capacitar a los alumnos en diferentes técnicas de cultivo de hongos comestibles en condiciones rústicas.

La intención es que los alumnos participantes en este taller de capacitación al terminar su educación primaria, al ser capaces de implementar las técnicas de cultivo de hongos en condiciones rústicas, tomen este conocimiento como una herramienta que les permita producir alimentos, ya sea en sus pueblos de origen o dónde se encuentren. Y que éste conocimiento les lleve a pensar en la responsabilidad y compromiso que adquieren para cuidar su medio ambiente, su pueblo, su casa y cultura.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Conocerán que existen organismos en la naturaleza que se conocen como hongos.
- Conocerán que existen en la naturaleza diferentes tipos de hongos.
- Conocerán que existen hongos que son benéficos para consumo humano.
- Conocerán que existe la posibilidad de cultivar algunas variedades de hongos.
- Conocerán en teoría y que existen varias técnicas industriales para el cultivo de hongos comestibles.
- Conocerán y desarrollarán 2 técnicas de cultivo de hongos comestibles en condiciones rústicas.

ACTIVIDADES	MATERIALES Y MÉTODOS	EVALUACION
1. Conocer qué tipo de organismos son los hongos.	Se apoyará en diapositivas, videos o dibujos de los hongos comestibles, medicinales y/o tóxicos, que crecen en la comunidad (a partir de los resultados de las recolectas realizadas en la región y el nombre científico y común de cada una de las partes que los componen, proporcionándoles los datos generales del grupo taxonómico al que pertenecen, esto con el fin de brindarles una mejor comprensión de cómo se clasifican los hongos.	Evaluar con cuestionario y/o referir de manera verbal los aspectos más representativos del tema. Identifiquen de manera individual o por equipos algunos hongos superiores que se desarrollan en sus comunidades. Los nombres comunes y científicos con que se reconocen las partes que conforman a los esporóforos de hongos superiores, apoyados en diapositivas o dibujos hechos por ellos mismos.
2. Forma general de alimentación de los hongos.	Se apoyará en esquemas, diapositivas o videos que describen la forma en que estos organismos se alimentan, a diferencia de las plantas y animales. Para ejemplificar, se preparará una tortilla y/o un pan con mohos para apoyar la descripción. Si es tiempo de lluvia, se puede preparar también alguna hojarasca o trozo de madera, a la cual se le agregaran esporas y se incubará. Se revisará posteriormente, para observar el desarrollo micelial. También se podrá tomar un trozo de madera ya invadido por micelio y se partirá para mostrar el interior y poder observar el micelio	Identifiquen, de manera individual o por equipos: de qué se alimentan algunos hongos; que existe gran variedad de hongos con las que estamos en contacto cotidianamente y que los puntos naranjas y verdes, que presentan el pan y las tortillas en descomposición, son evidencia de la presencia de hongos microscópicos. Estas observaciones las extrapolaran a los hongos superiores
3. Formas de reproducción de los hongos.	Se apoyará en láminas monográficas, diapositivas, video o dibujos sobre el pizarrón, que describan la forma general en que se reproducen y propagan algunos hongos superiores (macromicetos)	Los alumnos, individualmente, de manera verbal, o por equipos, describirán una manera de propagación, apoyados en diapositivas o dibujos hechos por ellos mismos.
4. Historia del cultivo de hongos.	Se apoyará en diapositivas y/o videos donde se refiere, de manera general, el proceso por el que ha pasado el cultivo de hongos, desde su inicio, con la cultura china, hasta la industrialización.	Evaluar con cuestionario y/o referir de manera verbal los aspectos más representativos del antecedente histórico del cultivo de hongos, en diferentes partes del mundo, incluido México.
5. Obtención de cepas de hongos comestibles, su propagación y la obtención de inóculo de semilla.	Se apoyará en láminas descriptivas, diapositivas o video que refieren las diferentes actividades de investigación sobre hongos comestibles que se desarrollan en los laboratorios especializados. Se hablará de la "equivalencia" o similitud que se da en el proceso de selección de las mejores semillas de cultivo, para los sembradíos familiares.	Los alumnos describirán, de manera general, las actividades que se realizan en los laboratorios de investigación. Los alumnos, por equipos, discutirán sobre su propia experiencia en la selección de las mejores semillas que se utilizan en el cultivo familiar. Esto lo extrapolarán a la actividad descrita en la obtención de cepas.

ACTIVIDADES	MATERIALES Y MÉTODOS	EVALUACION
<p>6. Selección e identificación de los diferentes sustratos que pueden ser utilizados para el cultivo de hongos.</p>	<p>Basados en diapositivas o video, que refieran y muestren diferentes tipos de troncos de encino, desechos agrícolas y forestales que pueden utilizarse en la producción de hongos.</p>	<p>Evaluar con cuestionario y/o referir de manera verbal cuales de los desechos que se encuentran en las comunidades de los alumnos, que pueden servir como sustrato para el cultivo.</p>
<p>7. Preparación de sustratos. Se describirán las técnicas de preparación para los diferentes tipos de residuos agrícolas. La importancia de la fermentación previa de los sustratos, así como los cuidados y limpieza a observarse.</p>	<p>Basados en diapositivas o video, se refiere la forma de preparación del sustrato. Se recomendará tener especial cuidado en el manejo de las herramientas, por parte de los alumnos, para prevenir algún accidente.</p>	<p>Evaluar con cuestionario y/o referir de manera verbal los aspectos más importantes de la fermentación previa de sustratos, así como limpieza, cuidados y mantenimiento de los diferentes materiales y herramientas. Se evalúa la participación en la práctica</p>
<p>8. Preparación de sustratos. Basados en la información previa, se recordará y llevará a la práctica la manera de preparar el sustrato. Se deberá tener especial cuidado con el manejo de las herramientas por parte de los alumnos, para que no ocurran accidentes.</p>	<p>Se recordaran y aplicaran las técnicas de preparación para los diferentes tipos de residuos agrícolas; se picaran los sustratos, se humedecerán y fermentaran. Se tendrá especial cuidado en la limpieza y cuidados que deberá observarse para obtener un buen sustrato.</p>	<p>Evaluar con cuestionario y/o referir de manera verbal los aspectos más importantes de los cuidados durante la preparación del sustrato, la fermentación, cuestiones de limpieza y los cuidados a observar con el manejo de herramientas, así como su mantenimiento. Evaluar la participación en la práctica.</p>
<p>9. Limpieza de instalaciones y preparación para realizar la siembra.</p>	<p>Se apoyará en las láminas monográficas, diapositivas o video que refieren la importancia de mantener muy limpias las instalaciones, implementos y herramientas para evitar contaminaciones cruzadas. Hacer énfasis en la importancia de la prevención y cuidados necesarios que ayudaran a mantener una producción constante.</p>	<p>Evaluar con cuestionario y/o referir de manera verbal los aspectos más representativos del tema. Se cuestionará a los alumnos acerca de las normas de limpieza de: las instalaciones, los diferentes materiales y herramientas, ¿Qué pasaría de no tomarlas en cuenta?, Además de sus ideas y propuestas para hacer más eficiente el proceso. Se plantearan situaciones hipotéticas (pensando que cultivan hongos en su casa) donde se prevea algún tipo de problema y su solución Se evalúa la participación en la práctica.</p>
<p>10. Tratamiento térmico. Descripción de tratamientos térmicos y aplicación de conocimientos adquiridos en la teoría en el taller práctico.</p>	<p>Basados en diapositivas, esquemas o video se refiere la forma de tratar térmicamente el sustrato, previamente fermentado. Se deberá tener especial cuidado con el manejo de los quemadores, el gas y las diferentes herramientas por parte de los alumnos para que no ocurran accidentes. Se hará hincapié sobre la importancia de evitar fugas de gas y qué medidas tomar en caso de que se presente una fuga o un incendio.</p>	<p>Evaluar con cuestionario y/o referir de manera verbal los aspectos más importantes de los cuidados durante el tratamiento térmico del sustrato, haciendo énfasis en la prevención de accidentes por fugas de gas y quemaduras. Los cuidados a observar con las cuestiones de limpieza y el manejo de herramientas, así como su mantenimiento. Se evalúa la participación en la práctica.</p>

ACTIVIDADES	MATERIALES Y MÉTODOS	EVALUACIÓN
<p>11. Enfriamiento del sustrato e inoculación. Aplicación de la teoría en la práctica en el taller.</p>	<p>Basados en diapositivas, esquemas o video se refiere el cuidado y manejo del inóculo, la forma de enfriar, inocular y embolsar el sustrato, así como las normas de limpieza a observar. Para la parte práctica será indispensable contar con ropa limpia y/o el equipo adecuado: bata, cofia y cubre-bocas. Estos implementos, después de usarlos, deberán guardarse en bolsas para llevarlos a la lavandería. Nunca deberán utilizar una bata o cubre-bocas sucio.</p>	<p>Se cuestionará a los alumnos acerca de: las normas de limpieza y que pasaría de no tomarlas en cuenta, además de sus ideas y propuestas para hacer más eficiente el proceso. Se plantearán situaciones hipotéticas (pensando que cultivan hongos en su casa) donde se prevea algún tipo de problema y su solución. Se evalúa la participación en la práctica</p>
<p>12. Incubación. Aplicación de la teoría en la práctica en el taller.</p>	<p>Se apoyará en láminas descriptivas, diapositivas o video que refiere las diferentes actividades del proceso de incubación: revisión previa de las instalaciones para mantener en buen estado los filtros de ventanas, el plástico que cubre las paredes, los estantes limpios y cubiertos de aceite, el piso bien limpio, etc. Al revisar las bolsas cuidar de no rasgarlas, las que se encuentren con alguna rotura taparlas inmediatamente con cinta plástica. Para esta fase del cultivo es indispensable que los alumnos observen cuidado al entrar y salir de los cuartos de cultivo, para evitar entrada de insectos.</p>	<p>Evaluar con cuestionario y/o referir de manera verbal los aspectos más representativos del tema. Se cuestionará a los alumnos acerca de sus ideas para hacer más eficiente el proceso. Se plantearán situaciones hipotéticas (pensando que cultivan hongos en su casa) donde se prevea algún tipo de problema y su solución)</p>
<p>13. Concientizar a los alumnos de la importancia de la revisión y control de cuartos de cultivo.</p>	<p>Se apoyará en láminas descriptivas, diapositivas o video que refiere las diferentes actividades que deben realizarse para un buen funcionamiento del cuarto de cultivo. Se explicará teóricamente y se realizará la práctica en el taller, con especial cuidado en el mantenimiento, tanto de las condiciones de higiene, aislamiento, posible presencia de contaminantes o plagas y su control. Así como el mantenimiento de un adecuado nivel de humedad y oxígeno.</p>	<p>Evaluar con cuestionario y/o referir de manera verbal los aspectos más representativos del tema. Se plantearían situaciones hipotéticas (pensando que cultivan hongos en su casa) donde se prevea algún tipo de problema y su solución. Se cuestionará a los alumnos acerca de sus ideas para hacer más eficiente el proceso. Se evalúa la participación en la práctica.</p>

ACTIVIDADES	MATERIALES Y MÉTODOS	EVALUACIÓN
<p>14. Fructificación. Aplicación de la teoría en la práctica en el taller. Concientizar a los alumnos de la importancia de un adecuado manejo de alimentos para consumo humano.</p>	<p>Se apoyará en láminas descriptivas, diapositivas o video que refiere la forma de inducir la fructificación, las medidas de seguridad y cuidados a seguir cuando los hongos estén esporulando, para evitar infecciones respiratorias. Se explicará con destalle los cuidados posteriores para el buen desarrollo de los esporóforos. Se hará énfasis en las alteraciones de los esporóforos cuando las condiciones del cuarto de cultivo no son adecuadas. Por ej.; cuando los primordios no desarrollan y se mueren; cuando el estípite se alarga mucho; cuando el píleo presenta mucha humedad, manchas y mal olor; cuando el esporóforo presenta gusanitos, etc. Se enlistaran los problemas y en equipos se tratarán las posibles soluciones.</p>	<p>Evaluar con cuestionario y/o referir de manera verbal los aspectos más representativos del tema. Se evaluará la participación en la práctica. Se cuestionará a los alumnos acerca de las causas y, por equipos, buscaran las posibles soluciones sobre problemas particulares, (pensando que cultivan hongos en su casa) donde se prevea algún tipo de problema y su solución. También se les preguntará sobre sus ideas para hacer más eficiente el proceso.</p>
<p>15. Cosecha. Aplicación de la teoría en la práctica en el taller. Concientizar a los alumnos de la importancia de un adecuado manejo de alimentos para obtener un producto de calidad.</p>	<p>Se apoyará en láminas descriptivas, diapositivas o video que refiere el manejo y cuidado de la cosecha hasta que llega a la mesa del consumidor. Se mostrará a los alumnos el estado de madurez más conveniente para realizar el corte de los hongos. Se realizará la práctica en el taller haciendo énfasis en las condiciones de higiene, posible presencia de contaminantes y los problemas que éstos provocan en la salud del consumidor.</p>	<p>Evaluar con cuestionario y/o referir de manera verbal los aspectos más representativos del tema. Se cuestionará a los alumnos acerca de los problemas por consumir alimentos en mal estado Se plantearían situaciones hipotéticas (pensando que cultivan hongos en su casa) donde se prevea algún tipo de problema y su solución. Se evalúa la participación en la práctica.</p>
<p>16. Limpieza de instalaciones y preparación del siguiente cultivo.</p>	<p>Se apoyará en las láminas monográficas, diapositivas o video que refieren la importancia de mantener limpias las instalaciones, implementos y herramientas para evitar contaminaciones cruzadas. La importancia de la prevención y cuidados necesarios para mantener una producción constante.</p>	<p>Evaluar con cuestionario y/o referir de manera verbal los aspectos más representativos del tema. Se cuestionará a los alumnos acerca de las normas de limpieza de: las instalaciones, los diferentes materiales y herramientas. Qué pasaría de no tomarlas en cuenta, además de sus ideas y propuestas para hacer más eficiente el proceso. Se plantearan situaciones hipotéticas (pensando que cultivan hongos en su casa) donde se prevea algún tipo de problema y su solución Se evalúa la participación en la práctica</p>

11.0 Bibliografía

- Arita, I., 1974. Genetic study of white fruit-bodies of *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer. *Rep. Tottori Mycol. Inst.* 11: 58-68.
- Arita, I., 1979. The mechanism of spontaneous dikaryotization in hyphae of *Pholiota nameko*. *Mycol.* 71: 603-611.
- Banco Mundial, 1995. Estudio de Revisión del Sector Forestal y Conservación de Recursos. México: p. 83.
- Bock, W. J., 1986. Species concepts, speciation, and macroevolution. *En: Iwatsuki, K., P. H. Raven y W. J. Bock (eds.), Modern aspects of species.* University of Tokyo Press. Tokyo: pp. 31-57.
- Burnett, H. J., 1975. Mycogenetics. Jhon Wiley & Sons. London: p. 100.
- Burnett, H. J., 1986. Fundamental of mycology. Edawars Arnold (Publidhers) Ltd. London: 314.
- Casselton, A. L., N. S. Olesnick, 1998. Molecular genetics of mating recognition in basidiomycete fungus. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62: 55-70.
- Cifuentes, J., M. Villegas, L. Pérez-Ramírez y M. A. Muñoz, 1984. Guía de campo para Macromicetos. Recolecta y Preservación. Herbario de la Facultad de Ciencias, UNAM. México D. F., México.
- Cifuentes, J., M. Villegas y L. Pérez-Ramírez, 1986. Hongos. *En: Manual de Herbario* (eds. A. Lot y F. Chiang). Consejo Nacional de la Flora de México A.C., México: pp. 55-64.
- Corner, E. J. H., 1981. The agaric genera *Lentinus*, *Panus* and *Pleurotus*. *Men. Shiga. Univ.* 23:37-43.
- Córdova, J., R. Garibay-Orijel, R. Valenzuela y J. Cifuentes, 2002. Inventario de las especies de hongos comestibles del bosque de Pino-Encino de Ixtlán de Juárez, Oaxaca (México). *En: Nanacatepec: Studies on the Latin American Fungi* (eds. G. Guzmán y G. Mata). Universidad Veracruzana, México: p. 540.
- Chang, S.T., 1982. Sexuality and strain improvement in edible mushrooms. *Mush. New. for Trop.* 3(1): 2-6.
- Chang, S.T. y P. G. Miles, 1989. Edible Mushrooms and their Cultivation. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida: pp. 317-336.
- Chow-Chin, T. y C. Zuei-Ching, 1990. Cultivation of *Ganoderma lucidum* in Malaysia. *Mush. J. Tropics.* 10: 27-30.
- Dávila, P., L. Torres y R. Torres, 1997. Sierra de Juárez, Oaxaca, México. *En: Davis, S. D., V. H. Heywood, O. Herrera- Mc Bride, J. Villalobos y A. C. Hamilton. (eds.) Centers of plant diversity. A guide and strategy for their conservation.* WWW & IUCN, Newbury.
- Donoghue, M. J., 1985. A critique of the biological species concept and recommendation for a phylogenetic alternative. *Biol.* 88: 172-181.
- Eger, H. G., 1978. Biology and breeding of *Pleurotus*. *En: S. T. Chang y W. A. Hayes (eds.), The biology and cultivation of edible mushrooms.* Academic Press N. Y.: pp. 497-519.
- Eger-Hummel, G., 1980. Blue-light photomorphogenesis in Mushrooms (Basidiomycetes). *En: Reproduction in fungi.* C.G. Elliot (Ed.). Chapman and Hall, London.
- Estrada-Martínez, E., G. Guzmán, D. Cibrián y R. Ortega, 2009. Contribución al conocimiento etnomicológico de los hongos comestibles silvestres de mercados regionales y comunidades de la sierra nevada (México). *INCI*, 34 (1). pp. 025-033.

- Fries, N. y K. Aschan, 1952. The physiological heterogeneity of the dicaryotic mycelium of *Poliporus abietinus* investigated with the aid of microsurgical technique. *Sven. Bot. Tidskr.* 46: 429-445.
- Gaitán-Hernández, R., G. Mata y G. Guzmán, 1993. Cultivation of *Lentinus lepideus* in Mexico. "Production of fruiting bodies on coniferous wood shavings". *Mush. Res.* 2: 79-82.
- Gaitán-Hernández, R. G. Mata, y G. Guzmán, 1995. Comportamiento de una cepa mexicana de *Lentinus lepideus* en 3 medios sólidos. *Rev. Mex. Mic.* 11: 23-27.
- Gaitán-Hernández, R., 2000. Estudio de *Neolentinus suffrutescens*, alternativa viable para su cultivo en México. *En: Memorias del I Simposio latinoamericano de cultivo de hongos comestibles.* Xalapa, Ver. México: p. 10.
- Galván, E., L. Pérez-Ramírez y J. Cifuentes, 1998. "El uso de los hongos macroscópicos en la medicina tradicional en México". *En: Resúmenes III Congreso Mexicano de Etnobiología.* Oaxaca, Oax. México: p. 62
- Garibay-Orijel, R., J. Cifuentes, A. Estrada-Torres y J. Caballero, 2006. People using macro-fungal diversity in Oaxaca, Mexico. *Fung. Divers.* 21: 41-67.
- Garnweidner, E., 1992. Setas. Ed. Everest S. A. León, España.
- Guzmán, G., 1984. Perspectivas sobre el cultivo de hongos comestibles en residuos agroindustriales en México. *Biol. Soc. Mex. Mic.* 19:207-219.
- Guzmán, G., G. Mata, D. Salmones, C. Soto-Velasco y L. Guzmán-Dávalos, 1993. El cultivo de los hongos comestibles. Con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos agrícolas y residuos agro-industriales. I. P. N. México: pp. 42-140
- Guzmán, G., 1994. Los hongos y líquenes en la medicina tradicional. *En: Argueta, A., L. M. Xano y M. E. Rodarte (eds.) Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana (Vol. III).* Inst. Nac. Indig., México, D. F.
- Herrera, T., y M. Ulloa, 1990. El Reino de los hongos. UNAM, Fondo de Cultura Económica. México.
- Herrera-Figueroa, S., 1992. Cultivo de *Pleurotus* comestibles. Apoyos didácticos 1. Instituto Tecnológico Agropecuario de Oaxaca, Nazareno Xoxocotlán, Oaxaca, México.
- Herrera, S., M. A. Vázquez-Dávila y H. León, 1995. Hongos, un recurso alimentario y medicinal potencial para Oaxaca. *En: Recursos vegetales de Oaxaca* (coord. M.A. Vázquez-Dávila) CONACYT-ITAO/CIGA, México: pp. 81-93.
- Hobbs, C., 1996. Medicinal Mushrooms. An exploration of Tradition Healing & Culture. Botanical Press, Sta. Cruz, California.
- Kalberer, P., 1989. The cultivation of shiitake (*L. edodes*) on supplemented sawdust. *En: Proc. 12th Int. Cong. Sci. Cultivation of Edible Fungi. Mushroom Sci.* XII (Part. II): pp. 317-325
- Kalberer, P., 1995. An investigation of the incubation phase of a shiitake (*Lentinus edodes*) culture. *Mush. Sci.* 14: 375-383.
- Kerruish, R., y W. E. Da Costa, 1963. Monokariontization of cultures of *Lenzites trabea* (pers.) Fr., and other wood destroying basidiomycetes by chemical agents. *Ann. Bot.* 27: 653-669.
- Kues, U., 2000. Life history and developmental processes in the basidiomycete *Coprinus cinereus*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64: 316-353.
- Kues, U. y Liu, 2000. Fruiting body production in basidiomycetes. *Appl. Microbiol. Biotech.* 54: 141-152.
- Labarère, J., 1998. First international meeting on conservation and utilization of genetic resource of mushrooms for food and agriculture. Inst. Nat. Recher. Agro. Burdeos, France.

- Labarère, J. y G. Menini, 2000. Characterization, conservation, evaluation and utilization of mushroom genetic resources for food agriculture. Edited by Jacques E. Labarère and Umberto G. Menini. Bordeaux, France.
- Leal-Lara, H., 1980. Sporelessness in basidiomycete *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fr.) Kummer. A genetical study by means of a new dikaryotization method. Ph. D. Dissertation. Marburg University, Marburg/Lahn.
- Leal-Lara, H. y G. Eger-Hummel, 1982. A monokaryotization method its use for genetic studies in wood-rotting basidiomycetes. *Theor. Appl. Genet.* 61: 65-68.
- Leal-Lara, H., 1985. La utilización Microbiológica de Desperdicios Lignocelulósicos. Potencialidades y Perspectivas. *En: Quintero Ramírez (comp.) Prospectiva de la Biotecnología en México.* UNAM y CONACYT, México.
- León, A. H., 1995. Aprovechamiento y perspectivas del cultivo de hongos comestibles silvestres de la Sierra Juárez de Oaxaca. *En: La Tecnología Agrícola Tradicional* (ed. M. A. Vázquez-Dávila). Sociedad y Naturaleza en Oaxaca 1, México: pp. 119-138.
- León, H., R. Martínez, M. Zúñiga, C. Sánchez, 2000. Estrategia pedagógica en una microempresa juvenil rural industrializadora de hongos comestibles. Memorias del I Simposio latinoamericano de cultivo de hongos comestibles. Xalapa, Ver., México.
- Li, S. T., 1980. Studies on the tolerance to elevated temperatures. *En: Pleurotus* (Jack. Ex Fr.) Kummer. *Bibl. Mycol.* 76: 81-86.
- Martínez, D., M. Quirarte, C. Soto, D. Salmones y G. Guzmán, 1984. Perspectivas sobre el cultivo de hongos comestibles en residuos agroindustriales en México. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 19: 207-219.
- Mata, G., 1987. Comportamiento de una cepa extranjera de *Flammulina velutipes* en 3 medios de cultivo. *Rev. Mex. Mic.* 3:39-46.
- Mata, G. y G. Guzmán, 1989. Caracterización de cepas mexicanas del hongo comestible *Lentinus boryanus* y determinación de su patrón de sexualidad. *Rev. Mex. Mic.* 5:81-95
- Mayden, R. L., 1997. A hierarchy of species concepts: The denouement in the saga of the species problem. *En: M. F. Claridge, H. A. Dawah y M. R. Wilson (Eds.) Species: The Units of Biodiversity.* Chapman & Hall. London. pp. 381-424.
- Miles, P. G. y J. R. Raper, 1956. Recovery of the component strain from dikaryotic mycelia. *Mycol.* 48: 484-494.
- Miyazaki, T. y M. Nishijina, 1981. Studies on Fungi Polysaccharides. XXVI. Structural examination of a water-soluble, antitumor polysaccharide of *G. lucidum*. *Chem. Pharm. Bull.* 29: 3611-3616.
- Mizuno T., 1991. Anti-tumor Active Substances of Mushroom Fungi Based Science and Latest Technology on Mushroom. Nohson Bunka Sha, Tokyo. pp 121-135.
- Moore-Landecker, E., 1996. Fundamentals of the Fungi. Prentice Hall International Inc., New Jersey. 574 pp.
- Moreno-Fuentes, A., J. Cifuentes, R. Bye y R. Valenzuela, 1996. Kuté-mo'kó-a: un hongo comestible de los indios rarámuri de México. *Rev. Mex. Micol.* 12: 31-39.
- Moreno-Fuentes, A. y J. Cifuentes, 2000. La investigación etnomicológica como elemento central en la propuesta de nuevos cultivos de hongos comestibles y medicinales en México. Memorias del I Simposio latinoamericano de cultivo de hongos comestibles. Xalapa, Ver., México: p. 10.
- Neda, H., H. Furakawa y T. Miyagy, 1988. Two *Pleurotus* species from Okinawa. *Proc. Ann. Meet. Mycol. Soc. Jap.* p. 51.

- NOM-010-RECNAT-1996, Procedimientos, criterios y especificaciones para realizar el aprovechamiento, transporte y almacenamiento de hongos. Diario Oficial de la Federación, 23 de octubre 1995.
- Pegler, D., 1982. Guía de las setas. Ediciones folio, Barcelona, España.
- Pérez-Silva, E., 1979. Les champignons comestibles du Mexique. *Mush. Sci.* 10: 589-596.
- Pérez-Silva, E., E. Aguirre-Acosta y C. Pérez Amador, 1988. "Aspectos sobre el uso y la distribución de *Pycnoporus sanguineus* (Polyporaceae) en México". *Rev. Mex. Mic.* 4: 137-144.
- Petersen, H. R., 1995. Contributions of mating studies to mushrooms systematic. *Can. Jour. of Bot.* 73 (suppl.). pp. 831-842.
- Petersen, R., y K. Hughes, 1999. Species and speciation in mushrooms. *Bioscience.* 49(6): 440-452.
- Rae, E., 1980. Manual of Oak Mushroom Cultivation. Korea National Federation Of Forestry Association. Seoul, Korea.
- Ramírez, R. y H. Leal-Lara, 2000a. Cuantificación de la producción de biomasa de hongos comestibles en medio sólido. *En: Memorias del I Simposio latinoamericano de cultivo de hongos comestibles.* Xalapa, Ver. México. p. 7
- Ramírez, R. y H. Leal-Lara, 2000b. Desdicariorización de cepas de *Lentinus* spp. *En: Memorias del I Simposio latinoamericano de cultivo de hongos comestibles.* Xalapa, Ver. México. pp. 16-17
- Ramírez-Carrillo, R. y H. Leal-Lara, 2002. Culture conditions for increasing yields of *Lentinula edodes*. *En: Mushroom Biology and Mushroom Products.* Sanchez *et al.* (eds.). Morelos, México. pp. 289-294.
- Raper R. J., 1966. Life cycles, basic patterns of sexuality, and sexual mechanisms. *En: C. G. Anisworth y S. A. Sussman (Ed.). The fungi. Vol. II Academic press.* N. Y. pp. 481-484
- Reyes-Castillo, P., 1970. Folia Entomológica Mexicana. Departamento de Zoología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. IPN. pp. 20-22.
- Royce, D., 1985. Effect of spawn run time and substrate nutrition on yield and size of the shiitake mushroom. *Mycol.* 77(5). 756-762.
- Salmones, D., V. Álvarez, G. Mata y G. Guzmán, 1990. Estudio de una cepa mexicana de *Laetiporus sulphureus* (Polyporaceae) bajo diferentes condiciones de cultivo en el laboratorio. *Rev. Mex. Mic.* 6: 253-257.
- SEMARNAP, 1995. Relación de predios que cuentan con notificación para el aprovechamiento del hongo blanco (*Tricholoma magnivelare*). Subdelegación de Recursos Naturales, Oaxaca.
- SEMARNAP, 1996. Informes finales de la producción de hongo blanco en Oaxaca. Subdelegación de Recursos Naturales, Oaxaca.
- Stamets, P. y J. S. Chilton, 1983. The mushroom cultivator. A practical guide to growing mushroom at home. Agarikon Press, Olimpia, Washington. pp. 117-120.
- Taylor, J. W., D. J. Jacobson, S. Kroken, T. Kasuga, D. M. Geiser, D. S. Hibbett y M. C. Fisher, 2000. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. *Fung. Gen. Biol.* 31: 21-32.
- Templeton, A. R., 1989. The meaning of species and speciation. *En: Otte, D. y J. A. Endler, Sunderland (eds.). Speciation and its Consequences.* Sinauer Associates. pp. 3-27.
- Triratana, S., S. Thaitatgoon y M. Gawgla, 1991. Cultivation of *Ganoderma lucidum* in sawdust bags. Science and cultivation of edible fungi. Maher (ed.). Balkema, Rotterdam. pp. 567-571.
- Ulloa, M. y T. Herrera, 1994. Etimología e iconografía de géneros de hongos. *Cuadernos IBUNAM* 21:147

- Valencia-Del Toro, G. y H. Leal-Lara, 2000. Compatibilidad entre cepas de *Pleurotus* spp., con cuerpos fructíferos de diversos colores. *En* Memorias del I Simposio latinoamericano de cultivo de hongos comestibles. Xalapa, Ver. México. p. 18
- Vilgalys, R., 1991. Speciation and species concepts in the *Collybia dryophila* complex. *Mycol.* 83(6): 758-773.
- Vilgalys, R., A. Smith, B. L. Sun y O.K. Miller, 1993. Intersterility groups in *Pleurotus ostreatus* complex from the continental United States and adjacent Canada. *Can: J. Bot.* 71: 113-128.
- Villarreal, L. y J. Pérez-Moreno, 1989. Aprovechamiento y conservación del "matsutake americano" (*Tricholoma magnivelare*) en los bosques de México. *Micol. Neo. Apl.* 2: 131-144
- Villarreal, L., 1995a. Los hongos silvestres, una alternativa para el manejo integral de los bosques. *En: Alternativas al manejo de laderas en Veracruz.* SEMARNAP-Friedrich Ebert Stiftung. pp. 197-201.
- Villarreal, L., 1995b. El hongo de pino, un recurso genético para el desarrollo sustentable en México. *En: XI Exposición de Hongos biodiversidad y desarrollo sustentable.* Laboratorio de Micología CICB-UAT. Departamento de Agrobiología. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala, México. pp. 46-48.

Consultas en internet:

1. <http://www.e-local.gob.mx/wb/ELOCAL/ELOC> Enciclopedia