# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO DIVISIÓN DE AGRONOMÍA DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Desarrollo Micelial de *Agaricus bisporus* Lange con Diferentes Medios de Cultivo y Condiciones de Luminosidad

Por:

#### **ROLANDO DURANTES RAMOS**

**TESIS** 

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

## INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México.

Septiembre, 2021

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO DIVISIÓN DE AGRONOMÍA DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Desarrollo Micelial De Agaricus bisporus Lange Con Diferentes Medios De Cultivo y Condiciones De Luminosidad

Por:

## **ROLANDO DURANTES RAMOS**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el titulo de:

# INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Aprobada por el Comité de Asesoría;

Dr. Atierso Mendez López Asesor Principal Interno Dra, Miriam Sánchez Vega Asesor Principal Externo

Dra. Aida Isabel Leal Robles Coasesor Laura Maria González Méndez Coasesor

Dr. José Antonio Ganzález Fuentes Coordinador de la División de Agronomía

> Saltillo, Coahuila, México. Septiembre, 2021

## Derechos de Autor y Declaración de no plagio

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, graficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo es original.

Pasante

Firma y Nombre

Firma y Nombre

Dr. Alonso A

#### **AGRADECIMIENTOS**

A Dios y a la Virgen de Guadalupe, por sus bendiciones, fuerzas, prestarme la vida y permitir terminar una meta más de mi vida, por ser mi guía y haberme acompañado durante toda mi vida profesional.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, mi Alma Terra Mater por haber permitido que me desarrollara académicamente dentro de sus instalaciones y poder terminar mi carrera profesional, sin duda me quedé con los recuerdos más agradables en mi estancia escolar.

Al Departamento de Botánica y sus maestros, por su apoyo incondicional y dedicación como profesores, que me apoyaron brindándome sus conocimientos semestres tras semestre, y así poder tener la dicha de terminar mi carrera como ingeniero en Agrobiología.

Al Dr. Alonso Méndez López, por el gran apoyo brindado para la realización de este trabajo, gracias a su paciencia, de compartir conmigo su entusiasmo y sus consejos. Al comité revisor Dra. Mirian Sánchez Vega, M.C. Felipa Morales Luna, muchas gracias por su tiempo brindado y dar sus valiosas opiniones, contribuciones y sugerencias al presente trabajo.

A todos mis compañeros de clases en especial a todos los de la generación CXXVII de Ingenieros en Agrobiología, en especial a Everardo Agüero, Omar Ucan, Mayeli Miralda Gurgua (la jamonuda, gorda etc), Norma Eleuterio (Normita), Raúl Morales, por convivir con ellos momentos inolvidables como compañeros universitarios en todos esos momentos que convivimos juntos durante la carrera.

#### **DEDICATORIAS**

A mis padres:

#### MARTHA PATRICIA RAMOS SANTIAGO

#### **ELIO DURANTES FIGUEROA**

Por haberme dado la vida, estar siempre en cada momento a mi lado demostrándome su cariño y dándome todo su amor, por sus consejos, confianza necesaria de creer en mí y por todos los momentos felices que he pasado a su lado. Este trabajo se los dedico agradeciéndoles su apoyo económico y esfuerzo realizado, para que yo pueda concluir mis estudios, este sacrificio no fue en vano fue suyo.

A mis hermanos Martin Romario, Rosibel, por estar presente en todos estos momentos.

A mi esposa Regina y a mi hijo Jose Elio, que son parte fundamental en mi vida les agradezco de todo corazón por estar presentes.

A mis abuelos:

## Ángel Ramos Carreño †

Inés francisca Santiago Lara †

Por su confianza y que siempre estuvieron al pendiente de mí.

A mis tíos, por su apoyo moral y los consejos que me brindaron en algún momento y a todas aquellas personas que contribuyeron en mi vida profesional.

A toda mi familia en general gracias por su apoyo.

## **INDICE GENERAL**

AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIAS	iv
INDICE DE CUADROS	V
INDICE DE FIGURAS	vii
INDICE DE TABLAS	vii
RESUMEN	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Justificación	3
1.2. Objetivos	4
1.2.1. Objetivo general	4
1.2.2. Objetivos específicos.	4
1.3 Hipótesis	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1. Los hongos.	5
2.2. Clasificación de los hongos.	5
2.3. Clasificación taxonómica y reproducción de Agaricus bisporus.	6
2.3.1. Genero Agaricus	7
2.3.2. Condiciones artificiales para la producción de champiñón	7
2.2. Historia del uso de los hongos comestibles	8
2.3. Producción mundial de hongos comestibles.	g
2.4. Principales hongos comestibles cultivados.	g
2.4.1. Producción de champiñón en América del norte.	11
2.4.2. Importancia de los hongos en México.	12
2.5.Medios de cultivo para la obtención de semilla y conservación.	14
2.6. Los sustratos en el cultivo de hongos comestibles	16
2.6.1. Características de los sustratos para el desarrollo de Agaricus bisporus	16
2.6.2. Compostaje de los sustratos	18
III. MATERIALES Y METODOS	20
3.1. Preparación de los medios de cultivo	20
3.2. Aislamiento de los hongos en medio de cultivo	21
3.3. Siembra y establecimiento del experimento	21
3.5. Análisis estadístico	23
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
V. CONCLUSIÓN	33
VI. LITERATURA CITADA	34

## **INDICE DE CUADROS**

Cuadro 1. Producción comercial estimada de A. bisporus, Pleurotus spp. y Lentinula edodes

(2002), en países de Iberoamérica (toneladas).	10
<b>Cuadro 2.</b> Cuadros medios del análisis de varianza de los métodos desarrollo del hongo <i>Agaricus bisporus</i> .	de crecimiento y días a 26
Cuadro 3. Prueba de comparación del rango múltiple de medias por para el factor ambiente.	r el método de Duncan 30
Cuadro 4. Comparación múltiple de medias	32

## **INDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Explantes de laminilla de champiñón en caja Petri.	22
INDICE DE TABLAS	
Tabla 1. Clasificación taxonómica del champiñon	6

#### RESUMEN

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Ecología del Departamento de Botánica ubicado en la UAAAN, Saltillo, Coahuila; con el objetivo de determinar el efecto de diferentes medios de cultivo, así como las condiciones de luminosidad, tipo de explante y la menor incidencia de agentes contaminantes para una adecuada incubación, desarrollo y crecimiento, del hongo Agaricus bisporus. El experimento consistió de tres tratamientos (sombrero, laminilla y pie), se analizó con un arreglo factorial, donde se definieron como factores A) Medios de cultivo (Papa-Dextrosa-Agar, Agar-Eosina-Azul de Metileno, Agar-Dextrosa-Sabouraud y Agar bacteriológico), B) zona del explante (sombrero, laminilla y pie) y C) la condición de luminosidad (Luz y Oscuridad). En total se establecieron 30 cajas Petri por cada medio de cultivo (10 de sombrero, 10 de lamilla y 10 de pie), para un total de 120 cajas Petri. Estas cajas Petri se utilizaron para establecer el experimento bajo dos condiciones de luminosidad para la incubación (Luz y Oscuridad), el 50% de cada medio de cultivo (15 cajas) se destinaron para cada condición. Se evaluaron las variables: crecimiento micelial de la cepa (porcentaje de crecimiento de micelio del explante), longitud del crecimiento (velocidad de cobertura total del micelio en días dentro de la caja Petri); así como, la presencia de contaminantes (hongos y bacterias). Los resultados obtenidos en la prueba de comparación múltiple de medias se encontró que al establecer el aislamiento bajo obscuridad en los primeros días hay mayor desarrollo del hongo con un 55.84%, lo que expresa el 11.25% más de crecimiento con respecto al desarrollo que se da con la presencia de luz, mientras que la presencia de hongos contaminantes se presentan en los primeros días de crecimiento bajo la incidencia de luz con un 18.75% lo que resulta en un 5.42% menos de crecimiento de hongos contaminantes bajo condiciones de oscuridad. Sin embargo, para las condiciones de longitud y presencia de bacterias no hubo diferencia significativa entre las variables por lo que se puede decir que la incidencia de luz y/o oscuridad no afecta en las etapas de desarrollo.

Palabras claves: champiñón, pie, píleo, laminilla, medios de cultivo, condiciones de luz/oscuridad.

## I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de hongos comestibles ha significado una fuente de alimentos, desarrollo agrícola y formación de agroindustrias en muchos lugares del mundo. En países asiáticos, las producciones de estas especies son manejadas por pequeños agricultores mediante el reciclaje de sus residuos vegetales, para así aprovechar la alta demanda de mano de obra que requiere esta actividad (Silva *et al.*, 2010).

La producción de hongos comestibles de las especies "orejas de ratón" (Auricularia spp.) y del "shiitake" (Lentinula edodes), se inició de manera empírica, basada en técnicas sencillas de propagación, hace aproximadamente 1,000 a 1,400 años D.C, en China (Chang & Miles, 2004). De la misma forma, Francia empezó con un proceso independiente hace más o menos 350 años con el cultivo del champiñón (Agaricus spp) (Chang & Miles, 2004; Martínez-Carrera, 2002). Sin embargo, Europa y el Sureste de Asia son considerados los centros de origen del cultivo de hongos.

A nivel mundial, el consumo de champiñón (*Agaricus bisporus*) ha tenido un crecimiento muy importante, debido a que es la especie más cultivada, se estimó que en el año 2009 se obtuvo una producción cercana a los 4 millones de toneladas (Sonnenberg *et al.*,2011). México aporta alrededor de 40,000 toneladas de este producto anualmente, lo que representa un valor de la producción de 200 millones de dólares, y por lo cual se ubica como el mayor productor de champiñones en América Latina y décimo sexto a nivel mundial (Martínez-Carrera *et al.*, 2007).

México es un país importante en el consumo de diversos tipos de hongos, actualmente se citan poco más de 450 especies, superada sólo por China, donde la ingesta es de unas 600 especies. Los hongos comestibles silvestres representan una mina de fuente nutrimental, ya que son bajos en carbohidratos y grasas, y tienen un alto contenido en

vitaminas y minerales; algunos, además, tienen propiedades para combatir la diabetes y la hipertensión (Pérez-Moreno 2017).

El proceso de producción semilla o inoculante del champiñón es una de las etapas más importantes en el cultivo del hongo, puesto que para realizar el incremento se utilizan técnicas y sustratos de laboratorio con estricto cuidado higiénico hasta obtener el inoculo conocido técnicamente como "semilla", "micelio", "blanco", "spawn", etc. El término se refiere al desarrollo masivo y exponencial del micelio del hongo que se va a cultivar sobre un sustrato compuesto (Sánchez *et al.*, 2007).

Conocer las características del medio y el periodo de tiempo en el que crece y se desarrolla el micelio de las diferentes especies fúngicas es de gran importancia, ya que permite conocer el potencial que tiene cada cepa, lo que su estudio es muy importante, sobre todo en hongos basidiomicetes que han adquirido gran importancia como alimento (Lechner, 2002). Por ello, es necesario determinar el explante (pie, laminilla y sombrero) en medios de cultivos que sean óptimos para el crecimiento, desarrollo y posteriormente la fructificación del hongo en los sustratos orgánicos.

#### 1.1. Justificación

El uso de los hongos comestibles ha tenido un auge importante en los últimos años, pero se sabe que estas especies han sido consumidas desde hace miles de años. Los hongos no solo se han utilizado para consumo sino también han sido empleados para aliviar algunas enfermedades. En México se consumen más de 450 especies de hongos, mientras que en China la ingesta es de unas 600 especies.

En la actualidad la demanda creciente de alimentos sanos y con ciclo de producción relativamente cortos representa una gran oportunidad de negocio. Para la producción de hongos comestibles existen metodologías desarrolladas en las cuales se incluye el aislamiento, incremento y desarrollo del hongo. La semilla o micelio es una parte fundamental para la producción de dicho cultivo, generalmente se produce en laboratorios especializados donde se busca que la semilla o micelio (spawn) se desarrolle en medios de cultivos que provean los nutrientes necesarios para poder desarrollarse.

El micelio se puede adquirir por medio de casas comerciales; el presente trabajo contribuye en obtener un micelio puro en medios de cultivos y que este sea adecuado para la obtención de primordios y posteriormente puedan ser comercializados.

#### 1.2. Objetivos

#### 1.2.1. Objetivo general

Evaluar el crecimiento del hongo en diferentes medios de cultivos orgánicos y definir la condición de luminosidad en laboratorio más adecuada para la incubación y crecimiento del champiñón (*Agaricus bisporus*).

## 1.2.2. Objetivos específicos.

- Realizar el aislamiento del hongo Agaricus bisporus mediante el uso de medios nutritivos en laboratorio.
- Determinar cuál es la parte del cuerpo fructífero (sombrero, laminilla o pié) más adecuada para extraer los explantes para la siembra y aislamiento del hongo.
- Definir la condición de luminosidad apropiada para la incubación y crecimiento de Agaricus bisporus.
- Conocer los agentes contaminantes que se presentan durante el periodo de incubación del hongo y determinar cuál medio es el de mayor presencia.

#### 1.3 Hipótesis

El medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA) está compuesto por la infusión de papa deshidratada y dextrosa que fomentan el crecimiento exuberante de los hongos, por lo que sus características nutrimentales propiciarán el crecimiento rápido y adecuado del hongo comestible del tipo champiñón (*Agaricus bisporus*).

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. Los hongos.

Los hongos pertenecen al reino Fungi, un grupo muy diferente al de las plantas y animales. Este tipo de organismos, contrario de las plantas no son capaces de producir su propio alimento, sino que dependen de otros compuestos y su descomposición para alimentarse; estos pueden ser saprófitos, simbióticos o parásitos (Oei, 2003).

El hongo está formado por el micelio, mientras que los primordios o cuerpos fructíferos son las estructuras que se pueden apreciar a simple vista sobre los sustratos. La función principal es producir esporas para poder dispersarse en el medio ambiente. La vida de los cuerpos fructíferos es muy corta, mientras que el micelio puede permanecer sobre el sustrato por muchos años (Mata, 2005).

A diferencia de los hongos macroscópicos hay hongos que no desarrollan cuerpos fructíferos como por ejemplo *Rhizopus spp, Penicillium spp, Aspergillus spp, Monilia spp,* etc. estos organismos se desarrollan de manera distinta ya sea creando solo masas algodonosas blanquecinas, verdes o anaranjadas que crecen sobre los alimentos (Guzmán, 2000).

#### 2.2. Clasificación de los hongos.

Los hongos se dividen en cuatro categorías, empezando por aquellos que adquieren estructura carnosa y son comestibles (*Agaricus bisporus, Pleourotus ostreatus*), así mismo están aquellos que son considerados como medicinales, tóxicos y aquellos cuyas propiedades no están definidas por lo que entran en la categoría de "otros hongos" (Chang & Miles, 2004).

## 2.3. Clasificación taxonómica y reproducción de Agaricus bisporus.

De acuerdo a la clasificación de los hongos comestibles, estos presentan características diferenciales con respecto a la taxonomía que se aplica al resto de los hongos clasificados en el Reino, se incluye la diferencia por el tamaño de sus órganos de reproducción sexual; es decir, si estos pueden ser observados a simple vista y pueden ser colectados con la mano; de acuerdo con esto son divididos en micromicetos y macromicetos (Suarez *et al.*, 2011).

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica del champiñón

Reino	Fungi
División	Eumycota
Subdivisión	Basidiomycotina
Clase	Hymenomycetes
Orden	Agaricales
Familia	Agaricaceae
Genero	Agaricus
Especie	bisporus

Fuente: Agrios (1995)

En este reino se sitúan los Phyllum Chytridiomycota, Zygomycota, Glomeromycota, Ascomycota y Basidiomycota como los principales, así como el grupo de Fungi imperfecto u hongos amorfos (Ainsworth *et al.*, 2001).

El Reino Fungi comprende un grandioso grupo de organismos muy variados, con diferentes morfologías, fisiologías, ciclos de vida, entre otros; estos organismos son descritos como, unicelulares o pluricelulares, eucarióticos, productores de esporas, que carecen de clorofila, heterótrofos, que se reproducen tanto sexual como

asexualmente y que usualmente son filamentosos, ramificados con estructuras somáticas llamadas hifas y típicamente rodeados de paredes celulares (Alexopolus *et al.*, 1996).

La forma de reproducción de los hongos se da por la formación de hifas, estas son diminutas protuberancias en forma de hilos que se originan de las esporas. Una vez que las hifas se expanden y aumentan su desarrollo, se forma una masa blanca y algodonosa llamada micelio, este dará cabida a las estructuras reproductivas (Oei, 2003 b.)

#### 2.3.1. Genero *Agaricus*

El género macromicetos fue descrito por Humfeld en 1948 y describió a *Agaricus campestris*. Sin embargo, la especie más conocida de este género es *Agaricus bisporus*, comúnmente nombrado champiñón de París, este es el macromiceto comestible más cultivado a nivel mundial. *A. bisporus*, es una especie de hongo basidiomiceto de la familia Agaricaceae (Leiva *et al.*, 2015c) ha sido cultivado desde hace décadas por más de setenta países (Foulongne-Orion *et al.*, 2014; Tautorus, 1985).

## 2.3.2. Condiciones artificiales para la producción de champiñón

Este tipo de hongos se pueden producir por técnicas tradicionales en sustratos composteados, las cuales consisten de desechos agroindustriales, el empleo de la fermentación en estado sumergido se ha realizado en su mayoría para procesos de biorremediación (Akar *et al.*, 2010; Ahlawat *et al.*, 2009; Ertugay *et al.*, 2010). El champiñón es un hongo cultivado en instalaciones especialmente adaptadas, aunque también se puede encontrar de manera silvestre en todos los lugares del mundo y por

lo general en áreas de elevada humedad, generalmente después de épocas de lluvia a finales de la primavera hasta el otoño (Akinyele *et al.*, 2012). El cultivo de hongos de forma general y del champiñón en particular es un proceso complejo en comparación con otros cultivos, ya que es muy eficiente si se realiza correctamente, logrando a tener cultivos anuales de 8-9 ciclos (Sonnenberg *et al.*, 2011).

#### 2.2. Historia del uso de los hongos comestibles

Los hongos han sido empleados por el hombre desde hace milenios tanto para la alimentación, como para el tratamiento de diferentes enfermedades, siendo los países del lejano oriente, como Japón, China y Corea, los consumidores más habituales (Smith *et al.*, 2002).

El cultivo comercial de hongos comestibles representa una agroindustria de gran importancia socioeconómica, debido a que no solo es un alimento de aceptable valor nutrimental y medicinal para consumo humano, sino que también es una industria generadora de empleos. El principal productor de hongos cultivados en el mundo es China, se estima que 25 millones de personas están involucradas en esta actividad (Li, 2012).

Los hongos han sido parte importante de la dieta mexicana desde tiempos prehispánicos. Han sido utilizados como comida apreciada, y a menudo se les consideraba como un elemento importante para sus rituales religiosos (Guzmán, 2000).

#### 2.3. Producción mundial de hongos comestibles.

El número de especies de hongos en el mundo se estima en 140 000, de los cuales son conocidos el 10% y de ellos aproximadamente el 50% se consideran comestibles, alrededor de 700 especies son reconocidas por tener importancia farmacológica (Lull *et al.*, 2005).

México está ubicado en la décima tercera posición, y tiene el primer lugar en producción en América latina con el 80.8% (FAOSTAT, 2009; Martínez-Carrera *et al.*, 2010). Dentro de los cinco géneros con mayor producción en el mundo se encuentran *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach con un 30% del total de cultivo, la seta *Pleurotus* spp., con una producción de 27%, mientras que el hongo orejas de ratón *Lentinula edodes* contribuye con 17%. Oreja de judas *Auricularia spp.*, y la seta aguja de oro *Flammulina spp.*, aportan el 6 y 5%, respectivamente y un porcentaje mínimo de otros hongos (Royse, 2014).

Nuestro país aporta alrededor de 40,000 toneladas de este producto anualmente, lo que representa un valor de la producción de 200 millones de dólares, y por lo cual se ubica como mayor productor en América Latina y décimo sexto a nivel mundial (Martínez-Carrera *et al.*, 2007).

#### 2.4. Principales hongos comestibles cultivados.

Dentro de los hongos comestibles conocidos se encuentran *Agaricus bisporus*, *L. edodes, Pleurotus spp.*, y *Flammulina velutipes*. Prácticamente todas estas especies han sido encajadas en la cultura occidental desde países como China y Japón, debido a la gran inmigración de habitantes de esas zonas al hemisferio occidental, y su aceptación se dio gracias a sus agradables sabores y excelente textura, lo que permitió

la introducción de las mismas en la dieta de casi todos los países del mundo (Suarez et al., 2012).

La distribución de la producción por países en Iberoamérica (Cuadro 1) de los principales hongos comestibles es muy heterogénea. En este sentido, España es el país que más produce champiñones y setas, aunque en cuanto a producción de shiitake, es rebasado por Brasil. En México la producción de champiñón el año 2009, se estimó una producción de 43 595 t, (FAO, 2010; Martínez & López, 2010).

Con base a su volumen de producción, el segundo hongo comestible cultivado de importancia en Iberoamérica son las setas (nombre popular con el que se designa a las especies del género *Pleurotus* en México y algunos países de América Latina, a diferencia de España en donde se llama "seta" a cualquier hongo comestible). Su producción alcanza 7.5% de la producción regional de champiñón; sin embargo, hay países que comparativamente producen más, como Guatemala (37.5% de su producción de champiñones), Bolivia (20%) y México (11.5%). El país con la producción más alta de *Pleurotus* spp, en la región es España, que en el año 2002 produjo 10 mil toneladas (Martínez-Carrera *et al.*, 2007).

**Cuadro 1.** Producción comercial estimada de *A. bisporus, Pleurotus spp. y Lentinula edodes* (2002), en países de Iberoamérica (toneladas).

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

Fuente: Lahmann y Rinker (2004), <sup>1</sup>D. Martínez-Carrera et al. (2007), <sup>2</sup>Lahmann 2007, <sup>3</sup>FAO (2010).

## 2.4.1. Producción de champiñón en América del norte.

La producción de champiñón en estados unidos no tiene una demanda importante ya que solo participan 18 estados, caso contrario de las setas. La producción de champiñón no es estable en este país, ha tenido altas y bajas, en el año 2005 se produjeron 125 ton., para el año 2014 bajo a 103 ton., sin embargo, en el 2015 su producción aumento a 108 toneladas (USDA, 2015; USITC 2010).

El interés por los hongos exóticos en Canadá ha crecido en los últimos años, esto ha permitido una producción diversificada hacia otros hongos no cultivados tal es el caso de los hongos como el enoki (*Flammulina velutipes*), shimeji (*Lyophyllum shimeji*), nameko (*Pholiota microspora*), entre otros (Strauss, 2014; CBJ, 2016).

## 2.4.2. Importancia de los hongos en México.

México, conserva una importante tradición etnomicológica ya que, desde tiempos prehispánicos, los hongos fueron utilizados por los indígenas en su alimentación, en la medicina, en festividades y en ceremonias religiosas. Los españoles del siglo XVI, fueron los primeros en proporcionar informes sobre el uso de los hongos por los pueblos indígenas de México, principalmente en la región meridional. El padre Fray Bernardo de Sahagún en su "Historia general de las Cosas de la Nueva España" informo sobre la existencia del "Hongo Divino" o "Teonanacatl", empleado en ceremonias religiosas por sus propiedades alucinógenas, pero también hace mención de la utilidad en la medicina de estos hongos, indicando que son medicina para la calentura con frio y para la gota (Estrada *et al.*, 2001).

En México la diversidad de hongos es muy alta, se estima que en el país hay más de 200 000 especies, pero solo el 4% son reconocidas (Guzmán, 1998). Con respecto a los hongos comestibles, se tiene en cuenta que 300 especies silvestres del reino Fungí son aprovechadas por las personas para su consumo (Garibay-Orijel *et al.*, 2006). México consume alrededor de 371 especies de forma tradicional (Garibay-Orijel *et al.*, 2014).

En la actualidad, la mayoría de las cepas utilizadas en los cultivos comerciales de hongos provienen de regiones de América del Norte, Europa y el sur de Asia. Las cepas son mantenidas bajo métodos convencionales o depositadas en colecciones para su preservación, y son empleadas en investigaciones orientadas al cultivo de

especies comestibles, incremento de la colección de cepas, mejoramiento de los sistemas de cultivo, producción de enzimas y adaptación fisiológica de los hongos (Mata *et al.*,2010).

El hongo del genero *Agaricus* en México ha sido empleado desde tiempos prehispánicos, ya sea para fines comestibles o medicinales. Son conocidos popularmente como, "hongo de San juan", "Sanjuanero de llano", "llanero", "champiñón de campo", "hongo blanco", "pípila" y "mazayel" por mencionar algunos (Estrada-Martínez *et al.*, 2009, Herrera y Guzmán, 1961; Galván *et al.*, 1998; Guzmán, 1981, 1984, 1994, 1995, 1997; Pérez-Moreno *et al.*, 2008; Velandia *et al.*, 2008). En el mundo esta especie de hongo es la más cultivada y comercializada (Salmones *et al.*, 2011; Sonnenberg *et al.*, 2011). Este género comprende alrededor de 200 especies (Kirk *et al.*, 2008).

#### 2.4.3. Hongos silvestres en México.

Las zonas boscosas representan una fuente importante para la recolección de hongos nativos para las comunidades rurales que se encuentran aledañas y que generalmente son localidades de subsistencia; esta actividad es una fuente de ingresos y alimentación durante la temporada de lluvias (Alvarado-Castillo & Benítez, 2009; Boa, 2005).

El conocimiento de la micología tradicional es la base de todo aprovechamiento de los hongos silvestres, debido a que permite determinar y conocer las especies que pueden ser potencialmente susceptibles de cultivo, con fines de consumo y comercialización, especialmente aquellas que son valoradas regionalmente. Los pobladores juegan un papel importante debido al consumo y conocimiento tradicional, debido a esto es posible seleccionar especies adaptadas a las condiciones ambientales de la región, brindar elementos para definir sustratos y mejorar la tecnología de la industria del

cultivo de hongos, lo cual permite mayor y mejor aprovechamiento del germoplasma propio, reduciendo así su dependencia genética y tecnológica (Garibay-Orijel, *et al.*, 2010).

La década de los setenta, marco un paso significativo en investigaciones científicas en organismos del Reino Fungi, debido a sus propiedades medicinales y al legado cultural que se tienen de ellos, en especial en el Lejano Oriente (Suarez *et al.*, 2011).

#### 2.5. Medios de cultivo para la obtención de semilla y conservación.

Para el cultivo, desarrollo y crecimiento de hongos comestibles en laboratorio, es decir el incremento del micelio en cajas petri o tubos de ensaye, se utilizan diferentes medios de cultivo, estos proporcionan al hongo los nutrientes requeridos para su crecimiento. Por lo general se utilizan medios de cultivos solidos con agar que funcionan como sustrato al solidificarse como una gelatina. Cada especie de hongo tiene sus propios requerimientos nutricionales por lo que se utilizan diferentes tipos de medios de cultivo (Guzmán *et al.*, 1993). Los medios de cultivo son generalmente vendidos por casas comerciales en diferentes presentaciones.

Se han realizado inmensidad de trabajos donde citan medios de cultivos empleados para el crecimiento de especies de hongos, por lo regular las especies de *Pleurotus* son los más utilizados, entre los medios de cultivo destacan agar extracto de malta con levadura, agar papa glucosado (APG), agar enriquecido con avena, malta y levadura (Stamets, 1993). Así mismo para el mantenimiento de las cepas se utiliza agar extracto de malta (EMA), agar cereza, agar malta al 2 y 4%. Medios realizados con extracto de cereza, avena y PEGS (peptona, glucosa, sacarosa y sales minerales) (Lechner, 2002).

La conservación de las cepas de hongos comestibles por periodos prolongados de tiempo es el objetivo principal de los coleccionistas de hongos o ceparios. Las resiembras continuas en medios de cultivo es un método tradicional efectivo para la conservación a corto plazo. Sin embargo, este método aumenta el riesgo de contaminación ya sea accidental o de cambios en las características morfológicas y fisiológicas de los organismos (Chvostova *et al.*, 1995).

La preservación de cepas en nitrógeno líquido es la alternativa más recomendable para los hongos que no esporulan en el micelio, ya que disminuye los riesgos de contaminación o envejecimiento lo que permite un manejo adecuado en colecciones con gran número de cepas. Sin embargo, se debe tener conocimiento sobre el proceso para realizar la congelación de los micelios y así obtener una recuperación adecuada de los mismos. Todo esto depende de la viabilidad de las muestras congeladas, es decir, se debe tener en cuenta la especie de hongo, la edad y condiciones de crecimiento de los micelios, presencia y tipo de crio-protector, velocidad de penetración del crio-protector, la velocidad y método de congelación, temperatura y el tiempo de descongelación (Chvostová et al., 1995; Mata et al. 1994; Mata y Pérez-Merlo, 2003).

Para que el método de la congelación sea efectivo y las células no se vean afectadas, debido a que la temperatura del nitrógeno líquido es de -196°C, se utilizan soluciones protectoras (crio-protector), estos evitan que se formen grandes cristales en el interior de las células congeladas. El uso de las soluciones crio-protectoras generalmente se considera como indispensable en el proceso de conservación de las cepas (Mata *et al.*, 2000).

## 2.6. Los sustratos en el cultivo de hongos comestibles

El *Agaricus bisporus* se desarrolla especialmente sobre aquellos materiales que se encuentran descompuestos lo que permite un crecimiento más rápido (Kerrigan *et al.,* 2013). Para la producción de los hongos comestibles se utilizan un gran número de sustratos, tal es el caso para el hongo seta (*Pleurotus ostreatus*), los materiales más utilizados para este tipo de hongo son los que cuentan con mayor disponibilidad de carbono como lo es la paja de trigo, avena, sorgo, y algodón, también se emplean virutas de madera y cortezas, tallos de plantas de maíz, desperdicios de café, residuos de la industria papelera, fibra de coco, entre otros (Stamets, 1993).

## 2.6.1. Características de los sustratos para el desarrollo de Agaricus bisporus

El material en donde el micelio se desarrollará se le conoce como sustrato, en este medio especial de cultivo hay diferentes microorganismos que también requieren de alimentarse, en este caso el champiñón tendrá que competir selectivamente por los nutrientes, ya que en el medio hay bacterias, actinomicetos y otros tipos de hongos que no dejaran que el hongo en cuestión se desarrolle (García-Mendoza, 2002).

Los macromicetos tienen una gran capacidad de crecer en diferentes sustratos, así como en condiciones medioambientales (altas temperaturas), la FEL (fermentación en estado líquido), es una técnica utilizada como herramienta para obtener el mayor provecho en un cultivo, es decir se mide, temperatura, el pH, la agitación y los medios de cultivo.(Suarez et al., 2012).

El carbono es la fuente directa que provee de energía al hongo para su metabolismo asimismo este le ayuda a formar las diferentes partes fructíferas, y es de vital

importancia porque este elemento es el que los hongos requieren en mayores cantidades (Sánchez, 2002).

Los hongos pertenecientes a la familia agaricales son saprofitos ya que obtienen los nutrientes necesarios del material en donde se desarrollan (Gaitán-Hernández et al., 2002). La lignocelulosa es el principal componente de la biomasa, comprende alrededor de la mitad de la materia vegetal producida por la fotosíntesis (también llamada fotomasa) y simboliza la fuente renovable más abundante como recurso orgánico en el suelo (Pérez et al., 2002). El principal componente de los materiales lignocelulósicos es la celulosa, seguida por la hemicelulosa y la lignina. Precisamente la lignina es un complejo químico aromático fenólico situado entre las moléculas de celulosa de la pared vegetal, lo que hace muy difícil su degradación. Los hongos conocidos como pudrición blanca están considerados como agentes primarios de descomposición de compuestos lignocelulósicos ya que emplean los desechos agrícolas en su forma original sin que antes hayan sido sujetos previamente a algún proceso de degradación bioquímico o microbiológico (Ten et al., 2001, Howard et al., 2003, Sánchez, 2010). La celulosa y la hemicelulosa son macromoléculas constituidas a partir de diferentes azúcares; mientras que la lignina es un polímero aromático sintetizado a partir de fenilpropanoides precursores (Prassad et al., 2007).

Los sustratos que son degradados por los hongos contienen gran variedad de enzimas extracelulares y substancias nutritivas, esto es de gran ayuda para el medio ambiente ya que al mezclarse en zonas contaminadas permiten la degradación de compuestos tóxicos y favorecen el desarrollo de otros microorganismos (Chang y Miles, 2004).

## 2.6.2. Compostaje de los sustratos

Para que la producción del champiñón sea buena y rentable es necesario tener en cuenta como se realiza el proceso del compostaje. El compostaje es el resultado que se obtiene de compuestos que forman o formaron parte de seres vivos en un conjunto de productos de origen animal y vegetal. Se denomina "compostaje" al ciclo aeróbico (con alta presencia de oxígeno) de descomposición de la materia orgánica (Griensven, 1988).

Los materiales que conforman una composta pueden variar dependiendo de las zonas de producción. Para la preparación de composta pueden utilizarse diferentes tipos de materiales agrícolas, que pueden variar en bajos costos y fácil adquisición (Fernández, 2005).

Para la producción comercial del champiñón en cuestión del compostaje de los materiales es muy utilizada la metodología tradicional que consiste en mezclar estiércol de caballo o de aves de corral con paja, heno mazorcas, etc. La descomposición de la composta se presenta en dos fases, la primera consiste en una digestión aeróbica y microbiana de la materia orgánica. Este proceso se efectúa al aire libre, bajo techo o en bunkers aireados y puede tardar de 5-15 días dependiendo de los cambios climáticos (Beyer, 2005). La segunda fase se realiza en interiores que puede durar de 5-7 días en donde pueden alcanzar temperaturas de 45-60° C, en esta fase el compost se pasteuriza y el amoniaco se reduce a niveles que no son tóxicos para el hongo (Laborde *et al.*, 1993).

La realización de la composta suele ser un proceso un poco tardado, para ello los productores buscan la manera de hacer el proceso más rápido, sin generar inconvenientes por ejemplo el mal olor generado por la composta. Existen métodos alternativos de cultivo en sustratos no composteados, con estos procedimientos se

obtienen eficiencias biológicas aceptables de un 90 a 200%, que en las fases tradicionales. Por otro lado, los inconvenientes al utilizar estos métodos son el uso de materiales de alto costo, como los granos, el uso de altas temperaturas para pasteurizar y esterilizar el sustrato (Sanchez & Royse, 2001; Sanchez *et al.*, 2002; García *et al.*, 2005; Bechara *et al.*, 2005, 2006).

#### **III. MATERIALES Y METODOS**

La investigación se llevó a cabo en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicada en las coordenadas 25°21′13″N 101°01′56″O y a una altitud de 1763 msnm, en Saltillo, Coahuila México, y se realizó en el Laboratorio de Ecología del Departamento de Botánica.

## 3.1. Preparación de los medios de cultivo

Para esta investigación se determinó utilizar cuatro diferentes medios de cultivo, estos fueron: PDA (papa-dextrosa-agar), Agar-Eosina-Azul de Metileno, Agar-Dextrosa-Sabouraud y agar bacteriológico. Para la preparación de los medios de cultivo se siguió la metodología descrita por Villegas *et al.* (2007) y Stamets (1993). Los medios de cultivo fueron reconstituidos de acuerdo con las indicaciones del fabricante. Para esto se siguió el procedimiento siguiente: una vez pesado cada medio, se colocaron en vasos de Erlenmeyer y se aforó a 1 L con agua destilada, cada uno de los recipientes se situaron en una parrilla con agitadores esto con el fin de no formar grumos, después se introdujeron en la autoclave durante 15 minutos a una presión de 15 PSI y 120° C, terminado este proceso se dejaron reposar hasta que se pudieran manipular, se le agregó antibiótico (gentamicina de uso veterinario), antes de que el medio gelificara por último se vacío en las cajas Petri, se dejó solidificar para ser utilizado, en el aislamiento de las cepas.

## 3.2. Aislamiento de los hongos en medio de cultivo

Para el aislamiento de los hongos, estos se desinfectaron previamente en inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 6% durante un periodo de 3 minutos, posteriormente se enjuagaron perfectamente hasta eliminar excedente de la solución desinfectante. Después de un periodo de secado, con la ayuda de un bisturí y aguja de disección se cortaron explantes (pequeños trozos en cuadro de 1cm X 1cm aproximadamente) de diferentes partes del champiñón (Píleo o sombrero, laminilla y estipe o pie), estos fueron utilizados para la siembra en los diferentes medios de cultivos previamente preparados.

## 3.3. Siembra y establecimiento del experimento

La siembra se hizo en presencia de mecheros encendidos con el propósito de evitar cualquier agente contaminante, se utilizaron los explantes cortados previamente y se depositaron en el interior de la caja Petri con el medio de cultivo. En total se establecieron 30 cajas Petri por cada medio de cultivo (10 de sombrero, 10 de lamilla y 10 de pie), para un total de 120 cajas Petri. Estas cajas Petri se utilizaron para establecer el experimento bajo dos condiciones de luminosidad para la incubación (luz y oscuridad), por lo que, el 50% de cada medio de cultivo (15 cajas) se destinaron para cada condición. El diseño factorial, la unidad experimental consistió de una caja Petri con cuatro explantes (Figura 1) y cinco repeticiones para un total 20 explantes por tratamiento. Las cajas Petri previo a la incubación se sellaron con plástico adherible (parafilm®), con el propósito de evitar que se abrieran y/o contaminaran durante el monitoreo.



Figura 1. Explantes de laminilla de champiñón en caja Petri.

## 3.4. Condiciones de incubación del experimento

Se colocaron cinco cajas Petri de cada explante y medio de cultivo bajo oscuridad dentro de una bolsa de plástico color negro, y otro grupo igual de cajas Petri se colocaron en condiciones de luz blanca y se establecieron bajo las mismas condiciones de temperatura (25-27° C) en la cámara de incubación.

El experimento para esta etapa consistió de tres tratamientos, considerando los explantes del hongo (sombrero, laminilla y pie), sin embargo, se consideraron otros, efectos en el desarrollo del hongo, por lo que se analizaron con un arreglo factorial, donde se definieron como factores: A) La condición de luminosidad (luz y oscuridad), B) zona del explante (sombrero, laminilla y pie) y C) medios de cultivo (PDA, Mb, Sabouraud y Agar B). En todos los casos las variables, se evaluaron a los 9, 11 y 13, dentro de las variables a considerar, fueron: el crecimiento micelial en porcentaje (CD), la velocidad de cobertura total del micelio en días, dentro de la caja Petri (LD); así

como la presencia de microorganismos contaminantes sobre el medio de cultivo, por bacterias (BACD) y hongos (HOND). En todos los casos se evaluó el crecimiento micelial en porcentaje de crecimiento de micelio del explante y la velocidad de cobertura total del micelio en días, dentro de la caja Petri (Figura 1).

#### 3.5. Análisis estadístico

Los datos se analizaron bajo un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial de 4 x 3 x 2, por medio de un análisis de varianza y una comparación de medias por el método de Rangos de Duncan con una confiabilidad del 99% (α≤0.01), mediante el programa estadístico de SAS (SAS Institute, 2002).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la evaluación del crecimiento micelial del hongo comestible del tipo champiñón (A. bisporus) aislado de explantes de sombrero, laminilla y pie de cuerpos fructíferos y sembrado en los diferentes medios de cultivo y sometidos a condiciones de luz y obscuridad, los resultados de crecimiento micelial, velocidad de cobertura con micelio de la caja Petri, y presencia de contaminantes en el medio de cultivo, después del análisis de varianza todas las variables presentaron diferencias altamente significativas con una confiabilidad del 90% ( $\alpha$ <0.10) entre tratamientos por lo que con estos datos se aprueba la hipótesis indicando que al menos un tratamiento aplicado tuvo el efecto positivo sobre las variables evaluadas (Cuadro 2).

En el análisis factorial sobre el comportamiento del aislamiento de *Agaricus*, se consideraron tres factores: la condición en la que crecieron las cepas referida a oscuridad y/o luz (Factor A); el tejido del cual provenía el explante que se sembró en el medio, por lo que se empleó sombrero, pie y laminilla (Factor B) y los medios de cultivo en los que se realizó el aislamiento, fueron: PDA, Mb, Sabouraud y Agar B (Factor C); en este sentido se encontró que el modelo aplicado al análisis estadístico, arrojó diferencias significativas con una confiabilidad del 90% (α≤0.10), para las variables relacionadas al crecimiento de la cepa y a las que se registraron relacionadas a la presencia de microorganismos contaminantes (Cuadro 2).

Al descomponer el modelo se pudo apreciar que el Factor A, relacionado a la condición en la que crecieron las cepas y la presencia de bacterias contaminantes en el medio de cultivo mostró diferencias altamente significativas en las variables CD9 y BACD9, lo indica que la influencia de la luz en los primeros días presenta un efecto en el desarrollo del hongo *Agaricus*, en comparación con las etapas posteriores (Cuadro 2). Leal (1981) y Singer (1964) mencionan que el micelio se desarrolla mejor en condiciones de oscuridad, siendo su comportamiento similar a su condición natural, donde el hongo coloniza primero en un ambiente poco iluminado. Igual a esto Vargas & Kazue (2008) reportan que el crecimiento micelial de *Lentinus strigosus* tiene un

mejor desarrollo en condiciones de oscuridad en un medio de Agar Sabouraud Dextrosa en condiciones de agitación.

Sin embargo, esta condición de iluminación (Factor A) para la presencia de hongos contaminantes presentó diferencias altamente significativas en la variable HOND13, lo cual demuestra que la incidencia de luz tiene efecto en las etapas de desarrollo y la susceptibilidad a contaminantes, opuesto a esto la longitud de la cepa no mostró diferencia significativa en ninguna de las variables evaluadas por lo que la luminosidad no tiene efecto en el desarrollo del hongo.

Mientras que los factores B y C al relacionarlos con el crecimiento de las cepas (CD9, CD11 y CD13) y la presencia de bacterias contaminantes (BACD9, BACD11, BACD13) mostro diferencias altamente significativas para todas las variables evaluadas por lo que el medio de cultivo y el explante si influye en todas las etapas de desarrollo del hongo pero para el crecimiento de hongos contaminantes solo mostro diferencias significativas en la variable HOND9 y HOND11; y para el factor C solo afecto en la variable HOND9; por lo que posteriormente a este tiempo el desarrollo del hongo *Agaricus* no se verá afectado por presencia de contaminantes de tipo fúngico en el medio de cultivo. Para estos factores (B y C) la longitud de la cepa no mostro ninguna diferencia significativa en las variables evaluadas por lo que el medio de cultivo y explante no afecta la longitud del hongo (Cuadro 2).

En el caso de la interacción que se genera al realizar el análisis con un arreglo factorial, se encontraron diferencia significativas con una confiabilidad del 90 y 95% ( $\alpha \le 0.10$  y  $\alpha \le 0.05$ ) para todas las variables en estudio excepto HOND11 y HOND13, donde no se reflejaron diferencias estadísticas (Cuadro 2)

Fuente de variación	GI	Crecimiento de la cepa (días)		Longitud de la cepa (mm)		Presencia de bacterias contaminantes en el medio de cultivo (días)			Presencia de hongos contaminantes en el medio de cultivo (días)				
		9	11	13	9	11	13	9	11	13	9	11	13
Modelo	23	0.567**	0.921**	0.88**	26.444	42.416	66.58 <sup>NS</sup>	1.173**	1.282**	1.093*	0.061**	0.109 <sup>NS</sup>	0.236 <sup>NS</sup>
A)Condición (oscuridad y/o luz)	1	0.958**	0.359 <sup>NS</sup>	0.325 NS	3.191	34.572	72.587 <sup>NS</sup>	0.028**	0.192 <sup>NS</sup>	0.000 <sup>NS</sup>	0.185 NS	0.101 <sup>NS</sup>	0.029**
B) Medio de cultivo	3	0.457*	0.615*	0.622*	34.175	57.504	86.16 <sup>NS</sup>	2.146**	1.628**	1.256**	0.004**	0.079**	0.303 <sup>NS</sup>
C) Explante	2	2.867**	4.643**	3.142**	2.609	14.512	19.465	4.900**	4.815**	4.888**	0.022**	0.106 <sup>NS</sup>	0.140 <sup>NS</sup>
Interacción (A*B*C)	17	0.293**	0.570**	0.692**	29.25 <sup>NS</sup>	43.49 <sup>NS</sup>	68.32 <sup>NS</sup>	0.631**	0.869**	0.682**	0.068	0.115 <sup>NS</sup>	0.247 <sup>NS</sup>
Error	96	0.162	0.177	0.174	20.77	32.37	45.64	0.078	0.119	0.133	0.029	0.031	0.070
Total	119												
C.V. (%)		63.982	55.522	57.534	113.146	99.043	98.531	84.269	76.68	84.269	132.63	106.28	115.28
$R^2$		0.456	0.554	0.547	0.233	0.238	0.259	0.662	0.719	0.662	0.330	0.452	0.445
Media		50.22	57.72	55.85	4.03	5.74	6.86	29.82	12.53	33.77	16.07	33.15	20.65

**Cuadro 2.** Cuadros medios del análisis de varianza de los métodos de crecimiento y días a desarrollo del hongo *Agaricus bisporus*.

gl: grados de libertad; CD: crecimiento de *A. bisporum* en días; LD: longitud del crecimiento de *A. bisporum* en días; BACD: días a la presencia de bacterias, en el aislamiento; HOND: días a la presencia de hongos, en el aislamiento; A\*B\*C: representa la interacción de los tres factores; C.V.: Porcentaje del coeficiente de variación R²: Coeficiente de determinación; NS: no significativa; \*\* y \*: diferencias significativas con una confiabilidad del 90 y 95%, respectivamente.

En la comparación múltiple de medias (Cuadro 3) se encontró que al establecer el aislamiento bajo obscuridad en los primeros días hay mayor desarrollo del hongo con un 55.84%, lo que resulta en un 11.25% más de crecimiento con respecto al desarrollo que se da con la presencia de luz, mientras que la presencia de hongos contaminantes se presentan en los primeros días de crecimiento bajo la incidencia de luz, con un 18.75% lo que se expresa un 5.42% menor incidencia de hongos contaminantes bajo condiciones de oscuridad (Cuadro 3). Sin embargo, para las condiciones de longitud y presencia de bacterias no hubo diferencia significativa entre las variables por lo que podemos decir que la incidencia de luz y/o oscuridad no afecta en las etapas de desarrollo, para esas variables.

En el caso del uso de diferentes medios de cultivo utilizados para el aislamiento de *Agaricus*, se encontró que, al utilizar el medio de PDA, Agar B y Sabouraud el comportamiento de las variables es el mismo, ya que fueron en los que se expresó el mayor crecimiento de la cepa; mientras que al utilizar un medio Mb se genera un menor crecimiento (Cuadro 3), por lo que no se sugiere ser empleado para el aislamiento de cepas de *A. bisporus*.

En lo que respecta a longitud de la cepa el medio Agar B fue el que presento los valores más altos, con respecto a todas las variables; mientras que el PDA no presento respuesta favorable en *A. bisporus*; sin embargo, en el medio de cultivo Mb el comportamiento de las variables no presento diferencias en la longitud de la cepa con respecto a los valores obtenidos en con el empleo de los otros medios de cultivo (PDA, Agar B y Sabouraud). Ahora bien, el medio de cultivo que presento mayor incidencia de bacterias contaminantes fue el Mb opuesto a esto el medio de Agar B presento menor incidencia de bacterias, mientras que los medios de PDA y Sabouraud produjeron la misma cantidad de bacterias para todas las variables evaluadas, lo que indica que los componentes de cada uno son determinantes para el desarrollo de patógenos bacterianos que afecten el aislamiento puro *A. bisporus*. Con respecto a la incidencia de hongos contaminantes en el medio de cultivos, éstos se vieron afectados después de los 11 días de establecida la siembra de la cepa, el medio de PDA presenta

el menor porcentaje de incidencia de hongos contaminantes (HOND11), sin embargo, conforme pasan los días este dato se invierte y puede que debido al manejo o a la concentración de nutrientes que tienen este medio de cultivo, se obtuvo mayor número de hongos contaminantes en el aislamiento. Al final de la evaluación (HOND13) el resto de los medios de cultivo, tuvieron menor presencia de contaminantes fúngicos, con respecto al PDA (Cuadro 3).

En lo que respecta al último factor el mejor explante para el crecimiento de la cepa para todas las variables fue el sombrero mientras que el menos recomendable para realizar aislamientos es el tejido del pie, lo que se expresa principalmente en las variables CD9 y CD11. Un tejido que puede ser empleado es el de laminilla, debido a que presento valores intermedios en todas las variables en estudio; sin embargo, el explante no afecto la condición de longitud de la cepa en ninguna de las variables, opuesto a esto, el tipo de explante si afecto de manera significativa la producción de bacterias, ya que en explantes obtenidos del pie del hongo, presentó mayor incidencia de bacterias, mientras que el tejido con menor cantidad de este contaminante se obtuvo en explantes de sombrero y encontrando un valor intermedio en laminilla para todas las variables evaluadas. En lo que respecta a la condición de hongos contaminantes, se obtuvo para la variable CD9, todos los explantes son potencialmente propicios para la producción de otro tipo de hongos, aunque los explantes de pie presentan mayor contaminación por hongos, al realizar aislamientos de *A. bisporus* principalmente para las variables CD11 y CD13 (Cuadro 3).

Suarez et al. (2011), mencionan que el PDA tuvo excelentes resultados para el crecimiento de las cepas de *L. edodes y Pleourotus pulmonaris*, debido a que el micelio mostro un buen desarrolló; además, mencionan que el medio de cultivo Sabouraud no fue el más apto, en todos los casos el crecimiento micelial se detuvo sin embargo este medio se deshidrato. Opuesto a esto Nasim *et al.* (2002), reporta que el PDA en la condición del crecimiento micelial en hongos ostras fue el que el reportó el crecimiento más lento, mientras que el agar extracto de malta (EMA), fue el mejor para obtener un

crecimiento mayor en este tipo de hongos. Igual a esto Hernández *et al.* (1995) en un trabajo realizado con medios de cultivo (EMA, PDA y Sabouraud), en especies del hongo *Pleourotus* reporto que de los tres medios utilizados el EMA obtuvo un mejor valor en comparación al PDA y Sabouraud.

Cuadro 3. Prueba de comparación del rango múltiple de medias por el método de Duncan para el factor ambiente.

							BACD	BACD1	BACD1	HOND	HOND1	HOND1
<b>Ambiente</b>	CD9	CD11	CD13	LD9	LD11	LD13	9	1	3	9	1	3
Luz	44.58	54.17	52.08									_
	b	а	а	3.86 <sup>a</sup>	5.20a	6.07a	30.84 <sup>a</sup>	16.25a	35.83a	18.75a	32.50a	21.67a
Oscuridad	55.83	61.25	59.59									
	a	а	а	4.19 <sup>a</sup>	6.28a	7.63a	28.75 <sup>a</sup>	8.75a	31.67a	13.33b	33.75b	19.58a
Medio												
PDA	55.00	64.17	63.33									
	а	а	а	3.19b	4.32b	5.33b	17.52c	14.17c	25.00c	21.67a	20.00a	30.83a
Agar B	56.67	62.50	57.52									
	а	а	а	5.34 <sup>a</sup>	7.43a	9.04a	36.67b	12.50b	39.17b	16.67a	38.33ab	20.00b
Mb	38.33	44.17	42.50	4.44a	6.26a	7.33a						
	b	b	b	b	b	b	51.67 <sup>a</sup>	11.67a	53.33a	15.83a	50.00ab	19.17b
Sabourau	50.83	60.00	60.00		4.96a							
d	а	а	а	3.12b	b	5.71b	13.33c	11.67c	17.50c	10.00a	24.17b	12.50b
Explante												
Pie	31.25	35.63	38.76									
	С	С	b	3.75 <sup>a</sup>	5.05a	6.23a	50.01 <sup>a</sup>	15.00a	51.88a	21.25a	54.38a	26.25a
Laminilla	50.63	57.50	52.50									
	b	b	b	4.06 <sup>a</sup>	6.00a	6.69a	39.38b	10.63b	45.00b	11.88a	41.88b	15.63b
Sombrero	68.75	80.00	76.25									
	a	а	a	4.26 <sup>a</sup>	6.17a	7.62a	0.00c	11.88c	4.38c	15.00a	3.13b	20.00ab

Medias con la misma letra con estadísticamente iguales; PDA= Papa-Dextrosa-Agar; Agar B=Agar-Bacteriológico; Mb= Agar-Eosina-Y Azul-De Metileno; Sabouraud= Agar-Dextrosa-Sabouraud; CD9=crecimiento día nueve; CD11=Crecimiento día once; CD13= Crecimiento día trece; LD9= Longitud día nueve (mm); LD11= Longitud día once (mm); LD13= Longitud día trece (mm); BACD9= Bacteria crecimiento día nueve; BACD1= Bacteria crecimiento día once; BACD13= Bacteria crecimiento día trece; HOND9= Hongo crecimiento día nueve; HOND11= Hongo crecimiento día once; HOND13= Hongo crecimiento día trece.

La comparación múltiple de medias (Cuadro 4) entre las interacciones indicó que al finalizar la prueba al día 13, las variables de crecimiento, longitud de la cepa y la presencia de patógenos (bacteria y hongos), se comportaron de forma diferencial; sin embargo, la interacción que mostro mayor crecimiento se mostró en la interacción luz, medio Agar B y explante de laminilla, lo que indica que estas condiciones puede ser las óptimas para desarrollar inoculo factible y en más rápido tiempo de Agaricus lo mismo ocurre en condiciones de oscuridad utilizando el mismo medio de cultivo y tipo de explante. En este sentido Cedano (1989), en un estudio realizado sobre el comportamiento en laboratorio sobre cinco cepas de P. ostreatus y cuatro medios de cultivo (EMA, PDA, Sabouraud y agar con extracto de trigo, paja y malta, bajo condiciones de oscuridad total y a temperaturas de 28-30°C, concluyo que el medio de cultivo más adecuado fue el agar con extracto de trigo, paja y malta. Por su parte, Acosta et al. (1994) reportan el comportamiento de una cepa silvestre de México P. ostreatus en agar con extracto de malta bajo incubación a 29-30°C en oscuridad, donde indica que la velocidad de crecimiento fue de 8.5 mm/día y con requerimiento de 11 días para cubrir la caja Petri.

Es importante mencionar que dependiendo del tipo de objetivo de producción también se podría utilizar un medio de cultivo PDA con un explante de sombrero ya que igual al anterior tanto en condiciones de luz y/u oscuridad no se presentarán patógenos contaminantes y aunque no supera el crecimiento que se presentó en el Agar B permite obtener un buen crecimiento y desarrollo del hongo comestible. Sin embargo, al cambiar el medio de cultivo y el tipo de explante en condiciones de luz afecta de manera significativa el crecimiento y desarrollo del hongo. Al respecto, Suarez (2010) reporta que el carpóforo (sombrero) es una amplia fuente de contaminación de bacterias y hongos debido a la exposición que este presenta con el ambiente, por lo cual recomienda se realice una desinfección del explante para evitar dicho problema.

Cuadro 4. Comparación múltiple de medias

No.	Interacción	CD13	LD13	BACD13	HOND13
1	L*M1*E1	50cdef	9.73abcd	35fghij	65a
2	L*M2*E2	35efg	1.96de	75cdef	15cde
3	L*M3*E3	85abc	6.58abcde	Oj	25cde
4	L*M4*E1	45def	4.45cde	5hij	5e
5	L*M1*E2	85abc	4.43cde	Oj	0e
6	L*M2*E3	100a	14.92 <sup>a</sup>	Oj	0e
7	L*M3*E1	0g	0.00e	100a	10de
8	L*M4*E2	35efg	2.86cde	60defg	15cde
9	L*M1*E3	60bcde	1.89de	25j	55ab
10	L*M2*E1	45efg	9.55abcd	40efghij	30cde
11	L*M3*E2	25efg	6.70abcde	85bcd	15cde
12	L*M4*E3	60bcde	9.73abcd	5ghij	25cde
13	O*M1*E1	15ef	4.28cde	90bc	25cde
14	O*M2*E2	45efg	13.23ab	60cde	30bcd
15	O*M3*E3	45efg	10.10abcd	5j	10de
16	O*M4*E1	80ab	5.36bcde	0hij	0e
17	O*M1*E2	85abc	7.61abcde	Oj	0e
18	O*M2*E3	95a	7.68abcde	Oj	0e
19	O*M3*E1	50cdef	9.63abcd	85ab	30cde
20	O*M4*E2	60bcde	5.84bcde	35defgh	25cde
21	O*M1*E3	85abc	4.04cde	Oj	40bcd
22	O*M2*E1	25efg	6.86abcde	60cdefg	45bc
23	O*M3*E2	50ef	10.89abc	45defghi	25cde
24	O*M4*E3	80abcd	6.01bcde	Oij	5e

Medias con la misma letra con estadísticamente iguales; CD13: media del crecimiento de la cepa a los 13 días; LD13: Longitud de la cepa a los 13 días: BACD13: presencia de bacterias en el aislamiento a los 13 días; HOND13: incidencia de hongos a los 13 días; L: luz; O: oscuridad; M1-M4: los diferentes medios de cultivo empleados (M1= PDA, M2= Agar B, M3= Mb, M4= Sabouraud); E1-E3: se refiere al explante de tejido, obtenido del cual se hizo el aislamiento (E1= pie, E2= laminilla, E3= sombrero).

## V. CONCLUSIÓN

Las interacciones entre el medio de cultivo Agar B en conjunto con explante de laminilla o un medio PDA en combinación con explante de sombrero ya sea en condiciones de luz u oscuridad demostraron ser las combinaciones más eficientes para la producción de crecimiento de micelio de champiñón, mientras que las interacciones que mostraron el peor desarrollo de champiñones fueron los medios PDA en condiciones de oscuridad y Mb en condición de luz en combinación con el explante de pie en ambos casos.

Para todas las condiciones evaluadas (luz/oscuridad, medio de cultivo y tipo de explante) en crecimiento, longitud de la cepa y menor incidencia de patógenos contaminantes se presentó a los 11 días de incubación.

Para obtener micelio de las diferentes especies de hongos comestibles que existen en el mundo, hay diversos medios de cultivo, cada uno proporcionará en diferentes concentraciones elementos esenciales que el hongo necesita para desarrollarse, por lo que, es importante continuar realizando pruebas con diferentes medios a fin de identificar el mejor para el aislamiento del hongo *Agaricus bisporus*.

## **VI. LITERATURA CITADA**

- Acosta, U. L, N Bautista, V. M. Mora, L. López, D. Portugal y V. M. Bustos, 1994. Primer cultivo de una cepa silvestre de *Pleurotus ostreatus* e México. V Congreso Nacional de Micología. Universidad de Guanajuato. Guanajuato, Guanajuato. Memoria, P.64.
- Aguilar M. 2003. Aprovechamiento de cáscaras de pitaya para el crecimiento de setas (*Pleurotus ostreatus*) en condiciones de laboratorio. Tesis para Ingeniero en Alimentos. Universidad Tecnológica de la Mixteca, Huajuapan de León, Oaxaca, México.
- Ahlawat O.P, Rajender S. 2009. Influence of pH, temperature and cultural media on decolorization of synthetic dyes through spent substrate of different mushrooms. *J Sci Ind Res India*.;69:1068–74.
- Ainsworth, G.C., P.M. Kirk, G.R. Bisby, P.F. Cannon, J.C. David y J.A. Stalpers. 2001. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi. 9th ed. Cabi Publishing, Cambridge, UK.
- Akar T, Dicriklioglu M.2010. Biosorption applications of modified fungal biomass for decolorization of reactive red 2 contaminated solutions: batch and dynamic flow mode studies. Bioresour Technol.;101:7271–7
- Akinyele, J.B., Fakoya, S., Adetuyi, C.F. 2002. Anti-growth factors associated with Pleourotus ostreatus in a submerged liquid fermentation. Malaysian Journal of Microbiology, 8(3):p.135-140.
- Alexopolus, C.J., C.W. Mimsy y M. Blackwell. 1996. Introductory mycology. 4th ed. John Wiley & Sons, NewYork, NY. (Libro consultado en: <a href="http://www.worldcat.org/title/introductorymycology/oclc/647694345">http://www.worldcat.org/title/introductorymycology/oclc/647694345</a>. 01/04/2018)

- Alvarado-Castillo, G., & Benítez, G. (2009). El enfoque de agroecosistemas como una forma de intervención científica en la recolección de hongos silvestres comestibles. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 10, 531–539
- Bechara, M.A., Heinemann, P., Walker, P.N., Romaine, C.P., 2005. Agaricus bisporus grain spawn substrate with S41 and S44 nutrient supplements. ASAE Section Meeting Paper No. 057008. St. Joseph, Mich.: ASABE.
- Bechara, M.A., Heinemann, P., Walker, P.N., Romaine, C.P., 2006. Non-composted grain-based substrates for mushroom production (Agaricus bisporus). Am. Soc. Agric. Biol. Engineers 49 (3), 819–824.
- Beyer, D.M., 2005. Best management practices of mushroom susbtrate preparation. Mush News 53 (11), 30-34.
- Boa, E. 2005. Los hongos silvestres: Perspectiva global de su uso e importancia para la población. Serie Productos forestales no madereros No. 17. Roma. Italia: FAO.
- Boyle, D. 1998. Nutritional factors limiting the growth of Lentinula edodes and other whiterot fungi in wood. Soil Biol. Biochem, 30: 817- 823.
- CBJ. 2016. Mushrooms Canada. *Canadian Business Journal.* http://www.cbj.ca/mushrooms-canada/ (28 de junio de 2016) (consultado el 26 de mayo de 2018)
- Cedano, M, M. 1989. Caracterización del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* Sing, en cultivos solidos de laboratorio y determinación del patrón de sexualidad. Universidad de Guadalajara. Tesis Profesional. Guadalajara, Jalisco. México.
- Chang S. T., Miles P. G., 2004. Mushrooms: Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. Second edition. CRC Press. Washington DC. USA. 451 p.
- Chvostová V, Nerud F, Homolka L. 1995. Viability of wood-inhabiting basidiomycetes following cryogenic preservation. Folia Microbiologica 40: 193-197.

- Dávila, G., Vázquez, R. 2006. Enzimas ligninolíticas fúngicas para fines ambientales. Instituto de Biotecnología; Universidad Nacional Autónoma de México. Ed. Continental. México. 470p.
- Ertugay N, Bayhan Y. K. 2010. The removal of copper (ii) ion by using mushrooms biomass (Agaricus bisporus) and kinetic modeling. Desalination. 255:137–42.
- Estrada M. E., J. A. Tovar, R. Garivay, A. Montoya y A. Moreno. 2001. ¿Que es etnomicologia?. Nanacatl. Vol. 1: 2932
- Estrada-Martínez, E., G. Guzmán, D. Cibrián, R. Ortega, 2009. Contribución al conocimiento etnomicológico de los hongos comestibles silvestres de mercados regionales y comunidades de la Sierra Nevada (México). Interciencia 34: 25-33.
- FAO. 2010. Food and Agriculture Organization. Faostat. http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor. Mayo, 2018.
- Fernández M., F. 2005. Manual práctico de producción comercial de champiñón, Mexico.
- Foulongne-Oriol M, Navarro P, Spataro C, Ferrer N, Savoie JM. 2014. Deciphering the ability of Agaricus bisporus var. Burnettii to produce mushrooms at high temperatura (25°C). Fungal Genet Biol 73:1-11.
- Gaitán-Hernández R, Salmones D, Pérez MR, Mata G. 2002. Manual Práctico de Cultivo de Setas: Aislamiento, Siembra y Producción. Instituto de Ecología. Xalapa, Veracruz, México.
- Galván, E., L. Pérez-Ramírez, J. Cifuentes, 1998. El uso de los hongos macroscópicos en la medicina tradicional en México. Memorias del 3er. Congreso Mexicano de Etnobiología, México. p 62.
- García Mendoza C.J. 2002 .Estructura del pleuroma de Pleurotus. México. http://www.uv.mx/institutos/ forest/hongos/estruc.html.

- García, B.S., Royse, D.J., Sanchez, J.E., 2005. Vermicompost in substrate and casing formulas for the production of brown Agaricus bisporus. In: Tan, D. et al. (Eds.),
  In: Proceedings of the 5th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, vol. 12. China. Acta Edulis Fungi, Shanghai, pp. 243–248,
  Supplement.
- Garibay-Orijel R, Caballero J, Estrada-Torres A, Cifuentes J. 2006. People using macrofungal diversity in Oaxaca, México, DF, México. Fungal Div. 21: 41-67
- Garibay-Orijel, R, Ruan-Soto, F. 2014. Listado de los hongos silvestres consumidos como alimento tradicional en México. In A. Moreno-Fuentes, & R. Garibay-Orijel (Eds.), La etnomicología en México, estado del arte. México: CONACYT-UAEH-UNAM.
- Garibay-Orijel, R., Ruan-Soto, F., & Estrada-Martínez, E. 2010. El conocimiento micológico tradicional, motor para el aprovechamiento de los hongos comestibles y medicinales. In D. Martínez-Carrera, N. Curvetto, M. Sobal, P. Morales, & V. M. Mora (Eds.), Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y perspectivas en el siglo XXI (pp. 243–270). México: Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNSCONA- CYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAP
- Griensven, L. J. (1988). The Cultivation of mushrooms. Rustington, Sussex, England:

  Darlington Mushroom Laboratories.
- Guzmán G, Tapia F 1998. The known morels in Mexico, a description a new blushing species, Morchella rufobrunnea and new data on M. guatemalensis. Mycologia 90: 705-714.
- Guzmán, G. 2000. Genus Pleourotus (Jacq.:Fr) P. Kumm. (Agaricomycetideae): diversity, taxonomic problems and cultural and traditional medicinal uses. International Journal of Medicinal Mushrooms 2:95-123.
- Guzmán, G., 1981. Hongos. Limusa, México, D.F. 194 pp.

- Guzmán, G., 1984. El uso de los hongos en Mesoamérica. Ciencia y Desarrollo 59 (10): 17-26.
- Guzmán, G., 1994. Los hongos en la medicina tradicional de Mesoamérica y de México. Revista Iberoamericana de Micología 11: 81-85.
- Guzmán, G., 1995. La diversidad de los Hongos en México. Revista Ciencias 39: 52-57.
- Guzmán, G., 1997. Los nombres de los hongos y lo relacionado con ellos en América Latina. Instituto de Ecología, A. C., Xalapa. 356 pp.
- Guzmán, G., G Mata, D Salmones. C Soto-Velazco y L. Guzmán. Davalos. 1993. El cultivo de los hongos comestibles. Con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales. Instituto Politécnico Nacional. México.
- Herrera, T., G. Guzmán, 1961. Taxonomía y ecología de los principales hongos comestibles de diversos lugares de México. Anales del Instituto de Biología UNAM, Serie Botánica 32: 33-135.
- Howard RL, Abotsi E, Jansen van Rensburg EL & Howard S. 2003. Lignocellulose biotechnology: Issues of bioconversión and enzyme production (Review). African Journal of Biotechnology 2 (12): 602- 619.
- Kirk, P.M., P.F. Cannon, D.W. Minter, J.A. Stalpers, 2008. Dictionary of the Fungi, 10th edition. CABI, Wallingford. 771 pp.
- Kurtzman Jr R.H. 1979. Metabolism and culture of Pleurotus the oyster mushroom. Taiwan Mushrooms. 3(1):1-13.
- Laborde, J., Lanzi, G., Francescutti, B., Giordani, E., 1993. Indoor composting: general principles and large scale development in Italy. In: Chang, K. et al. (Eds.), Proceedings of the 1st International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products. The Chinese University Press, Hong Kong, pp. 93–113.

- Lahmann O. 2007. Evolución de la industria del champiñón Agaricus bisporus en Latinoamérica. En: Sánchez J.E., Royse D.J. y Leal Lara H. (eds) Cultivo, Mercadotecnia e inocuidad alimenticia de Agaricus bisporus. ECOSUR, Tapachula. 161-167.
- LEAL, L.H. 1981. "Producción de hongos comestibles". ROY y VINIEGRA,
- Lechner, B. E, 2002. Estudio de la biodiversidad, fisiología y cultivo de las especies silvestres del género Pleurotus (Basidiomycetes, Agaricales) en la República Argentina. Universidad de Buenos Aires. P.14.
- Leiva FJ, Saenz-Diez JC, Martinez, E., Jimenez, E., and Blanco J. 2015c.

  Environmental imapet of Agaricuus bisporus mycelium produtcion. Agric Syst 138:38-45.
- Leiva FJ, Saenz-Diez JC, Martinez, E., Jimenez, E., and Blanco J. 2015b.

  Environmental imapet of Agaricuus bisporus cultivation process. European

  Journal of Agronomy 71:141-148
- Li, Y. 2012. Present, development situation and tendency of edible mushroom industry in China. In: Zhang, J., H. Wang, M. Chen, (eds.), Mushroom Science 18, China Agriculture Press, pp. 3-9. (cosultado en <a href="https://www.tib.eu/en/search/id/BLCP%3ACN086134753/Present-Development-Situation-and-Tendency-of-Edible/">https://www.tib.eu/en/search/id/BLCP%3ACN086134753/Present-Development-Situation-and-Tendency-of-Edible/</a>. 08/04/2018)
- Lull C., Wichers H., Savelkoul H. 2005. Antiinflammatory and immunomodulating properties of fungal metabolites. Mediators of Inflammation 63-80.
- Martínez-Carrera D., López-Martínez de Alva L. 2010. Historia del cultivo comercial de hongos comestibles en México II: éxitos y fracasos durante el período 1991-2009. In: Martínez-Carrera D, Curvetto N, Sobal M, Morales P, Mora, VM (eds), Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI. Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNSCONACYT-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla. pp. 513-551.

- Martínez-Carrera D., Morales P., Sobal M., Bonilla M., Martínez W. 2007. México ante la globalización en el siglo XXI: el sistema de producción consumo de los hongos comestibles. Capítulo 6.1, 20 pp. En: El Cultivo de Setas Pleurotus spp. en México. Sánchez JE, Martínez-Carrera D, Mata G, Leal H (eds). ECOSUR-CONACYT, México, D.F. ISBN 978-970-9712-40-7.
- Martínez-Carrera, D., P. Morales, M. Sobal, M. Bonilla, W. Martínez, 2007. La cadena de valor de los hongos comestibles de México. In: Zulueta R., R., D. Trejo A.,
  A. Trigos L. (eds.), El maravilloso mundo de los hongos. Universidad Veracruzana. Xalapa, pp. 7190
- Mata G, Pérez R, Salmones D, Guzmán G. 1994. Behavior of some strains of the genus Pleurotus under freezing conditions in liquid nitrogen. Revista de Microbiología 25: 197-200.
- Mata G, Pérez-Merlo R (2003) Spawn viability in edible mushrooms alter freezing in liquid nitrogen without a cryoprotectant. Cryobiology 47: 14-20.
- Mata G, Salmones D, Ortega PM. 2000. Viability and Mushroom production of Lentinula edodes and L. boryana strains (Fungi: Basidiomycetes) after cryogenic storage of spawn stocks. World Journal of Microbiology and Biotechnology 16: 283-287.
- Mata, G., Salmones, D., & Gaitán-Hernández. 2010. Basic and applied research on mushroom cultivation at the Institute of Ecology, Xalapa, México. In D. Martínez-Carrera, N. Curvetto, M. Sobal, P. Morales, & V. M. Mora (Eds.), Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producciónconsumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y perspectivas en el siglo XXI (pp. 243–270). México: Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNSCONACYT-AMC-UAEMUPAEP-IMINAP.
- Morales R. V. 2006. medios de cultivo líquidos para el desarrollo de inóculos de hongos de pudrición blanca aplicables en biopulpaje kraft Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Forestales. Santiago-Chile.
- Oei, P. 2003. Mushroom cultivation: appropriate technology for mushrooms growers.

  3a ed. Leiden (NL): Backhuys Publishers, 2003. 429 p. 90-57, 82-137-0.

- ostretatus.(EnLínea:http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/ 12726/biorremediaci%C3%B3n.pdf?sequence=1, documento, Oct. 2014)
- Pérez J, Muñoz-Dorado J, De-la-Rubia T, Martínez J. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. Int Microbiol;5:53–63
- Pérez-Moreno J., 2017. México, segundo reservorio de hongos comestibles más grande del mundo. Sección Ciencias. Periódico La Jornada en línea. P. 2.
- Pérez-Moreno, J., M. Martínez, A. Yescas, A. Delgado, B. Xoconostle, 2008. Wild mushroom markets in Central Mexico and a case study at Ozumba. Economic Botany 62: 425-436.
- Prassad S, Singh A, Joshi HC., 2007. Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues. Resour Conserv Recycl ;50:1–39
- Rosales L. M. 2010. Biorremediacion de hidrocarburos con Pleurotus
- Salmones, D., R. Medel, R. Gaitán-Hernández, G. Mata, 2011. Hongos comestibles: Una alternativa sustentable de aprovechamiento de los recursos genéticos y agroforestales. In: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), La biodiversidad en Veracruz: Estudio de estado. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Gobierno del estado de Veracruz, Universidad Veracruzana, Instituto de Ecología, A.C., México, D.F. p. 439-449.
- Samorini G. 2001. Fungi hallucinogeni. Studi etnomicologici. Telesterion. Dozza Ed., Bologna, Italy, Shen (Guo J, Cheng HY, Wei X. eds.), pp. 250
- Sánchez .J.E., Royse D.J. 2002. El cultivo de Pleurotus spp. En: Sánchez JE y Royse D (eds), La Biología y el Cultivo de Pleurotus spp. Ecosur, Limusa. México. 187-203.
- Sánchez C. 2009. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms (Mini-Review). Applied Microbiology and Biotechnology 85 (5): 1321-1337.

- Sánchez J.E., Royse D.J., Leal L.H., 2007. Cultivo mercadotecnia e inocuidad alimenticia de agaricus bisporus. 1ª. Edición, EcoSur. Tapachula, Chis. pp 37-48.
- Sanchez, J.E., Royse, D.J., 2001. Adapting substrate formulas used for shiitake for production of brown Agaricus bisporus. Biores. Technol. 77, 65–69.
- Sanchez, J.E., Royse, D.J., Hernandez, G., 2002. Development of noncomposted substrates for production of Agaricus bisporus. In: Sanchez et al. (Eds.), Proceedings 4th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, 20–23 February. Cuernavaca, Me´xico, pp. 265–270.
- Silva S. R., Fritz F. C., Cubillos A. P., Díaz C. M., 2010. Manual para la producción de hongos comestibles (Shiitake). Proyecto CONAMA-FPA RM-027-2010, en línea. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 38 p.
- SINGER, L. 1964. Las setas y las trufas, la botánica, el cultivo y la utilización.
- Smith J, Rowan N, Sullivan R. 2002. Medicinal mushrooms: their therapeuticproperties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. Reino Unido: University of Strathclyde. 49,2:159-70.
- Sonnenberg, A.S.M., J.J.P. Baars, P.M. Hendrickx, B. Lavrijssen, W. Gao, A. Weijn, J.J. Mes.,2011. Breeding and strains protection in the buttom mushroom Agaricus bisporus, In: Savoie, J.M., M. Foulongme-Oriol, M. Largeteau, G, Barroso (eds.) Proceeding of he 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushrooms Products, Arcachon. pp 7-15.( Artículo consultado en <a href="https://www.researchgate.net/publication/254833267">https://www.researchgate.net/publication/254833267</a> Breeding and strain pr otection in the button mushroom Agaricus bisporus. 02/03/2018)
- Staments, P. 1993. Growing Gourmet and Medici-nal Mushrooms. Ten Speed Press, pp. 85-86, 259-275.
  - Statistical Analysis Systems (SAS), 2002. Versión 9.1. SAS Institute Inc., Cary.

- Straatsma, G., Gerrits, J.P.G., Thissen, J.T.N.M., Amsing, J.G.M., Loeffen, H., Van Griensven, L.J.L.D. 2000. Adjustment of the composting process for mushroom cultivation base don initial substrate composition. Bioresour Technol 72:67-74.
- Strauss M 2014. Canada's grocers embrace the magic of mushrooms. Retailing Reporter. http://www. theglobeandmail.com/report-on-business/lab-grown-mushrooms-driving-sales-for-strugglinggrocers/article18898809/ (28 de junio de 2016) (consultado el 26 de mayo de 2018).
- Suárez A. C., Holguin M., 2011. Evaluación de medios de cultivo sintéticos y cereales para la producción de semilla de setas comestibles. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas. vol: 5 (1) pp: 130-140
- Suarez A. C.; Nieto I. J., 2012. Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: una alternativa en la obtención de nutracéuticos. Revista Iberoamericana de Micología. doi:10.1016/j.riam.2012.03.011
- Suarez, A. C. 2010. Obtención in vitro de micelio de hongos comestibles, Shiitake (Lentinula edodes) y orellana (*Pleurotus ostreatus* y Pleurotus pulmonaris) a partir de aislamientos de cuerpos fructíferos para la producción de semilla. pp 43.
- Tautorus, T.E., 1985. Mushroom fermentation. Advances in Biotechnological Processes.5:p. 227-273.
- Ten Have R & Teunissen PJ. 2001. Oxidation mechanisms involved in lignin degradation by white rot fungi. Chemical Reviews 101: 3397–3413.
- United States Department of Agriculture (USDA) 2015. Mushrooms. National Agricultural Statistics Service, Agricultural Statistics Board. http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/current/Mush/Mush-0820-2014.pdf
- United States International Trade Commission (USITC) 2010. Mushrooms Industry & Trade Summary. Office of Industries, Publication ITS.

  http://www.usitc.gov/publications/332/ITS\_7.pdf

- Velandia, C., L. Galindo, K. Mateus, 2008. Micolatría en la iconografía prehispánica de América del Sur. International Journal of South American Archaeology 3: 6-13.
- Villegas E.V. Pérez A.M. Arredondo C. 2007. Evaluación del crecimiento de *Lentinula* edodes en medios de cultivos sólidos para la producción de micelio como inoculo. Revista colombiana de Biotecnología. Vol. IX. Número 2.