

ESTABLECIMIENTO DE DOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE *Ganoderma lucidum* K. CON FINES MEDICINALES

Rodríguez Arteaga Neri^a, López Sánchez Claudia^a, Palma Cruz Felipe De Jesús^b, León Enríquez Bernardino Leonardo^b

Estudiante del ITVO^a, M.C. Catedrático del ITVO^a, M.C. Catedrático del ITO^b, Dr. Catedrático del ITVO^b

Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca

RESUMEN. Reishi (*Ganoderma lucidum* K.) ocupa los primeros lugares como hongo medicinal en China. El objetivo de la presente investigación fue estandarizar las condiciones de los sistemas de producción *Ganoderma lucidum* K. El estudio se realizó en dos etapas (primera etapa: producción de micelio, experimento en diferentes medios de cultivo y dos especies diferentes de taquetes; segunda etapa: sistema de producción en troncos y en bolsas), usando un DCA. En la primera etapa, se evaluaron diferentes medios de cultivo (PDA, PMA, MA, HTIA, ZA, PBA) para la propagación micelial de reishi. Se encontró que los tratamientos HTIA y PMA fueron los que presentaron un crecimiento óptimo ($\alpha=0.05$, $m= 2.2$ cm/día). La propagación en taquetes consistió en pasar el micelio secundario a taquetes de encino blanco y pino, de 3 cm de longitud y 0.95 cm de diámetro, en donde el mejor tratamiento fue taquetes de encino blanco. Segunda etapa se evaluaron 12 tratamientos con los siguientes factores: especies de encino chaparro negro, pino y capulín, longitudes 25 cm y 20 cm. y 10 cm y técnica de esterilizado. El tratamiento de troncos de capulín, 25 cm de longitud no esterilizados tuvo 64 % de invasión micelial y el tratamiento de troncos de encino chaparro negro, 20 cm de longitud y estéril, tuvo 60 % de invasión micelial, fueron los mejores en cuanto al porcentaje de invasión (octavo mes de inoculación). En lo que se refiere al sistema de producción en bolsas, se evaluaron 12 tratamientos con los siguientes factores: diferentes sustratos; bagazo de maguey, paja de trigo, viruta de encino chaparro negro, bolsa de manta y de plástico, sembrada en capas, tres capas, cuatro taquetes/capa. Se observó que los tratamientos 12 (paja al 100% en bolsa de manta) y 6 (bagazo de maguey y de viruta de encino 1:1) con valores de 80 % y 72 % resultaron ser los mejores en el desarrollo micelial.

INTRODUCCIÓN. Los hongos son organismos que se encuentran en todos los biomas y sobre los más variados sustratos (1). Se estima que se conoce 5% del total de los hongos existentes en el planeta (2), Los hongos están involucrados en la desintegración de la materia orgánica, procesos industriales de fermentación, producción comercial de medicamentos en la industria farmacéutica, alimentación humana y los sistemas de producción agroforestales (3). Dentro de los hongos medicinales se encuentra, *Ganoderma lucidum* o Reishi que ocupa los primeros lugares en China. Este hongo presenta demanda y no existe un sistema de cultivo, que brinde las condiciones óptimas para su producción. El objetivo del presente trabajo fue “Estandarizar las condiciones de los sistemas de producción de *Ganoderma lucidum* con fines medicinales”.

MATERIALES Y MÉTODOS. El establecimiento de dos sistemas de producción de *Ganoderma* y la estandarización de las condiciones de producción, se llevó a cabo mediante dos etapas; la primera fue la producción de micelio, la cual consistió en la propagación de micelio del hongo, para ser inoculado en campo en la cual se realizaron dos experimentos, propagación micelial en medios de cultivo y propagación de micelio a taquetes, la segunda etapa consistió en la inoculación del hongo a sustratos; en dos diferentes sistemas de producción, en sustrato en bolsas y producción en troncos. Los experimentos fueron realizados bajo un diseño experimental completamente al azar (DCA)

El estudio se desarrolló en Santa Cruz Xoxocotlán que se ubica entre los paralelos 16°57' y 17°04' de latitud norte; los meridianos 96°42' y 96°49' de longitud oeste; altitud entre 1 500 y 2 000 msnm.

Primera etapa: producción de micelio

La compra del material biológico utilizado (cepa) del hongo fue realizado en Mushroom de Washington. Utilizando la técnica descrita por Gaitán et al. (2006), se realizó la propagación de micelio de la cepa madre a micelio primario en cajas Petri con medio de cultivo PDA, incubando a temperatura ambiente de 17 °C a 27 °C durante 12 días. En esta etapa se realizaron dos experimentos: propagación micelial en seis medios de cultivo y propagación micelial en dos especies de taquetes.

Experimento en seis medios de cultivo. Se realizó un experimento para evaluar diferentes medios de cultivo aptos para la propagación micelial de *Ganoderma lucidum*, buscando el mejor para su desarrollo micelial.

El medio de cultivo se esterilizó a 121 °C por 45 minutos, se dejó enfriar en medio de cultivo y se vació a las cajas petri estériles depositando a cada caja 20 ml de solución cada una. La siembra fue realizada con fragmentos de agar de 1 cm² invadido previamente con micelio.

Se incubaron a temperatura ambiente (de 17°C a 25 °C), en la obscuridad, tomando datos diarios para medir su crecimiento por siete días.

Este experimento consistió en la preparación de diferentes medios de cultivo para el crecimiento micelial de Reishi en cajas petri, cada tratamiento contó con cinco repeticiones

A continuación se mencionan los seis tratamientos y su composición por cada 1000 ml. de solución (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tratamientos del experimento en laboratorio

Tratamientos	Composición de cada tratamiento (gr)
PDA	200 de papa
	20 de sacarosa
	20 de agar bacteriológico
PMA	200 infusión de papa morada
	20 dextrosa
	20 agar bacteriológico
MA	33.6 de extracto de malta comercial
HTIA	20 de harina de trigo integral
	20 de dextrosa
	20 de agar bacteriológico
ZA	200 de zanahoria
	20 de dextrosa
	20 de agar bacteriológico
PBA	200 de papa blanca encerada
	20 de dextrosa
	20 de agar bacteriológico

Experimento siembra en taquetes La siembra en taquetes consistió en pasar el micelio secundario a taquetes, para ello se cortaron los taquetes de encino blanco y pino, de 3 cm de longitud y 0.95 cm de diámetro. Dentro de tratamientos las unidades experimentales fueron inoculadas con 36 gr de trigo invadido, en frascos de 150.

Segunda etapa: siembra en sustrato.

Para ello se sembró en dos sistemas de producción el sistema en troncos y el sistema tradicional en bolsas.

Sistema en troncos naturales. Se realizó el corte de los troncos, el cual se llevó acabo tres días antes de la inoculación, con diferentes factores los cuales fueron: tres especies, encino, pino, y capulín. Longitud de 20 cm y 25 cm, técnica de siembra en troncos estériles.

Por cada especie se esterizaron 5 troncos a 121° C por 50 minutos y 5 sin esterilizar, posteriormente se hicieron perforaciones, de profundidad de 3 cm y 0.95 cm de diámetro en forma

lineal de tal manera que cada tronco tuviera 9 perforaciones para poder ser inoculado con el taquete invadido de micelio.

Realizando los arreglos factoriales correspondientes se obtuvieron los siguientes tratamientos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Tratamientos de sistema en troncos naturales.

T	Descripción
T1	Encino chaparro negro, con longitud de 25 cm., inoculación en tronco estéril
T2	Encino chaparro negro, longitud de 20 cm, inoculación en tronco no estéril
T3	Encino chaparro negro, con longitud de 20 cm., inoculación en tronco estéril
T4	Encino chaparro negro, con longitud de 20 cm., inoculación en tronco no estéril
T5	Pino, con longitud de 25 cm., inoculación en tronco estéril
T6	Pino, con longitud de 25 cm., inoculación en tronco no estéril
T7	Pino, con longitud de 20 cm., inoculación en tronco estéril
T8	Pino, con longitud de 20 cm., inoculación en tronco no estéril
T9	Capulín, con longitud de 25 cm., inoculación en tronco estéril
T10	Capulín, con longitud de 25 cm., inoculación en tronco no estéril
T11	Capulín, con longitud de 20 cm., inoculación en tronco estéril
T12	Capulín, con longitud de 20 cm., inoculación en tronco no estéril

Cada tratamiento con 5 repeticiones cada uno, dando un total de 60 unidades experimentales

Sistema de producción en bolsas. El sistema de producción en bolsas se realizó en bolsas de plástico y en costalitos de manta de capacidad de 2 kg.

Consistió en tres diferentes sustratos: bagazo de maguey, paja de trigo, viruta de encino.

Bajo el sistema de siembra en dos tipos diferentes de contenedores bolsas de plástico y bolsas de manta. (Inoculado con 12 taquetes por bolsa).

Los sustratos a utilizar, sustrato de viruta de encino chaparro negro; se cortó la madera dejando que perdiera un 1% de humedad, cortando la madera dos días antes de su utilización y se procedió a la elaboración de la viruta. Se elaboró labrando la madera con cepillo manual de madera de 1 cm a 2 cm de grosor. El bagazo fue comprado en un palenque ubicado en San Martín Lachila, Ejutla de Crespo Oaxaca, el bagazo ocupado fue de maguey espadín. La paja de trigo se compró en Nochixtlán, Oaxaca. Todos los sustratos se pusieron en un recipiente de agua por 24 horas.

Después de ser remojado los sustratos se embolsaron.

Este proceso de siembra fue realizado dentro de una campana de flujo laminar, la técnica utilizada fue en capas, poniendo después de cada capa tres taquetes en tres capas, con un total de 12 taquetes por unidad experimental.

Realizando los arreglos factoriales correspondientes se obtuvieron los tratamientos (Cuadro 3).

Cuadro 3. Tratamientos del sistema de producción en bolsas.

T	Descripción
T1	Paja de trigo y viruta de encino, en bolsa de manta(1:1)
T2	bagazo de maguey y paja de trigo, en bolsa de manta (1:1)
T3	paja y viruta de encino, en bolsa de plástico(1:1)
T4	bagazo de maguey y viruta de encino, en bolsa de plástico(1:1)
T5	viruta de encino en bolsa de plástico
T6	bagazo de maguey y viruta de encino, en bolsa de manta (1:1)
T7	paja de trigo en bolsa de plástico
T8	viruta de encino en bolsa de manta
T9	bagazo de maguey y paja de trigo, en bolsa de plástico(1:1)
T10	bagazo de maguey en bolsa de plástico
T11	bagazo de maguey en bolsa de manta
T12	paja de trigo en bolsa de manta

Con 5 repeticiones cada uno dando un total de 60 unidades experimentales

Las variables evaluadas fueron las siguientes:

Primera etapa: producción de micelio

Tiempo expresado en días del crecimiento del micelio

Zona periférica de crecimiento expresado en mm.

Segunda etapa: siembra en sustratos

El tiempo de colonización micelial: esta variable se tomó en cuenta desde el día de la inoculación hasta la completa colonización del micelio

El porcentaje de invasión en un determinado tiempo

RESULTADOS Y DISCUSIÓN. Los datos fueron analizados usando paquete estadístico SAS.

Primeramente se muestran los resultados de la primera etapa, prosiguiendo la segunda etapa.

Primera etapa:

Experimento en diferentes medios de cultivo. En la (Figura 1). Se muestran los resultados obtenidos para crecimiento micelial en cm/día, se puede observar los efectos de los diferentes medios de cultivo sobre el crecimiento del micelio. En los medios HTIA y PMA se aprecia un desarrollo más acelerado con una tasa específica de crecimiento micelial (TECM) de 2.2 mm/día y 1.2 mm/día respectivamente, en comparación del medio EMA y PDA que presentó un crecimiento más tardío y más lento.

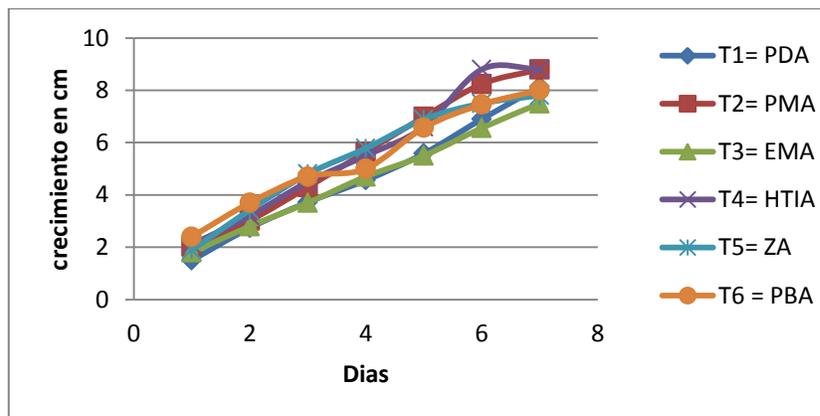


Figura 1. Gráfico del crecimiento micelial de reishi en medios de cultivo

Prueba de medias Tukey experimento en medios de cultivo

Se observó que el tratamiento 4 (HTIA) y 2 (PMA) fueron los mejores presentaron un crecimiento micelial de reishi, más rápido en menor cantidad de tiempo con un alfa ($\alpha=0.05$), mientras los tratamientos 1 (PDA) y 3 (EMA) presentaron un crecimiento muy lento en comparación con T4 y T2. Lo que implica que el medio de cultivo preparado base de harina de trigo integral, dextrosa y agar bacteriológico, proporciona los nutrientes y condiciones que requiere reishi para su desarrollo micelial.

Lo que difiere con lo encontrado por Domínguez (2012), encontró como óptimo el EMA como óptimo mientras en el experimento realizado se encontró como el menos eficiente para el crecimiento micelial de reishi y el óptimo el T4 (HTIA).

Inoculación en taquetes Los resultados del crecimiento de cada especie de taquetes tomados hasta el día 13, nos arrojaron resultados altamente con diferencia significativa. (Figura 2)

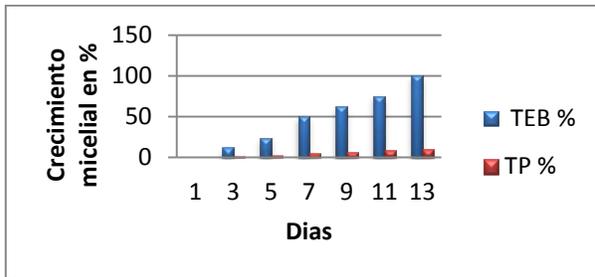


Figura 2. Crecimiento micelial de reishi en dos tipos de taquetes. TEB = taquetes de encino blanco, TP = taquetes de pino.

El grafico muestra los taquetes evaluados para el crecimiento micelial de *Ganoderma lucidum*, el mejor tratamiento es TEB (Taquetes de encino blanco). Mostrando un porcentaje de crecimiento altamente significante en comparación con el TP (Taquetes de pino).

Segunda etapa

Sistema de producción en troncos En el sistema de producción en troncos el crecimiento micelial se tomó en porcentaje en relación al número de meses que estuvo en incubación (Figura 3).

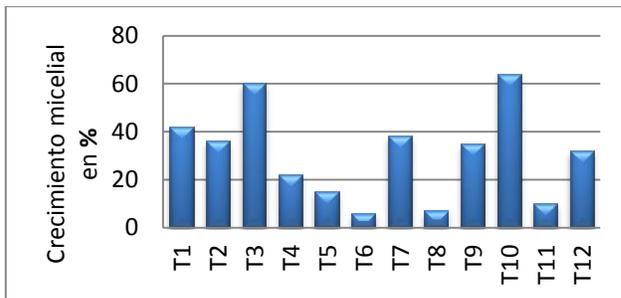


Figura 3. Porcentaje de crecimiento micelial del hongo reishi en troncos pino, encino y capulín

Prueba de medias Tukey

Se observa que los tratamientos 10 (los troncos de capulín de longitud de 25 cm no esterilizados) con 64 % de invasión micelial y 3 (troncos de encino chaparro negro con longitud de 20 cm estéril) con 60 % de invasión micelial, fueron los mejores en cuanto al porcentaje de invasión presente hasta el octavo mes de inoculación, siendo los más tardados invadieron T8 (tronco de pino de 20 cm, no estéril) con el 6% de invasión y T6 (pino con 25 cm de longitud, no estéril) con 7% de invasión micelial, esto es debido a que el pino tiene resina que no permite el crecimiento de microorganismos, este resultado de menor crecimiento micelial se observa solo en troncos de pino no estériles, y los estériles si presentan un crecimiento poco observables debido a que la esterilización rompe algunas las cadenas de fenoles presentes en el pino y permite así el crecimiento. Resultados obtenidos con $\alpha = 0.05$.

La misma afirmación se realiza con respecto a lo mencionado con Chen (2005) que menciona que reishi se desarrolla en maderas duras y de hoja ancha. Se desarrolló mejor el micelio en troncos de encino y de capulín.

Sistema de producción en bolsas. Después de 50 días han demostrado ser los mejores tratamientos en porcentaje de invasión micelial los tratamientos 6 y 12 (Figura 4)

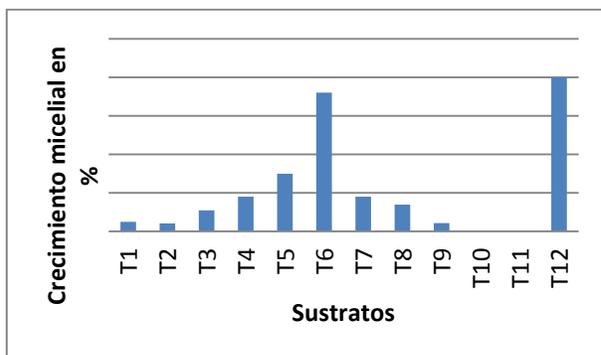


Figura 4. Grafica de crecimiento micelial del hongo reishi en sustratos de bagazo de maguey, viruta de encino y paja de trigo.

Prueba de medias Tukey para el sistema de producción en bolsas

Se observó que los tratamientos 12 (paja en bolsa de manta) y 6 (bagazo de maguey y viruta de encino 1:1) con valores de 80 % y 72 % resultaron ser los mejores respecto al desarrollo micelial de reishi, siendo que los que presentaron un crecimiento nulo de micelio T11 (bagazo de maguey en manta) y T10 (bagazo de maguey en bolsa de plástico) con un valor de 0% de crecimiento.

Esto se debió a la concentración de azúcares presentes en el bagazo de maguey, la cual no permitió el crecimiento de micelio, este tratamiento difirió al mencionado por Perumal (2009), el cual utilizo Bagazo de caña de azúcar, debidamente suplementada. Mientras acá se utilizó bagazo de maguey sin suplemento alguno.

CONCLUSIONES. Para desarrollo micelial óptimo de *Ganoderma lucidum* fue en T4 (HITA) preparado con 5 gr de harina integral marca Xilou All Natural, 5 gr de dextrosa y 5 gr de agar bacteriológico.

Para la propagación de micelio terciario se observa que el mejor tratamiento utilizado en cuanto al tiempo de invasión micelial es usar taquetes de encino blanco

Para el tiempo en invasión micelial en troncos, el mejor el tratamiento es T10 (los troncos de capulín de longitud de 25 cm no esterilizados) con 64 % de colonización y T3 (troncos de encino chaparro negro con longitud de 20 cm estéril) con 60%.

Del sistema en bolsas se concluye que el T12 (paja al 100% en bolsa de manta) y T6 (50% bagazo de maguey y 50 % de viruta de encino) con valores de 80 % y 72 % resultaron ser estadística y numéricamente los mejores.

Para la producción de *Ganoderma lucidum* K. es mejor utilizar el sistema en bolsas, debido a que el tiempo que tarda para la producción es menor respecto al sistema en troncos.

BIBLIOGRAFIA

1. Tello, S. I. 2010. Diversidad de los recursos genéticos mexicanos de hongo funcional ganoderma (fungi, ganodermatacea), conocido como reishi en los mercados internacionales, y su relevancia para el desarrollo regional. Tesis que presenta como requisito para obtener el grado de doctor en ciencias en Puebla Puebla
2. Honrubia, M. 2001. Manual para la gestión de recursos micológicos forestal en Costilla y León. Edita. SUMACYL-junta de Castilla y León pp.298-299
3. Chen, W. A. 2005. Manual del cultivador de hongos1, hongos alrededor del mundo.copyright by mushroomword All rights reserved.
- 4 Domínguez, L. D. R. 2012. Obtención de cepas silvestres de *Ganoderma lucidum* y la caracterización de una para la cuantificación de expolisacaridos en cultivo de células en suspensión. Tesis, para la obtención del grado en licenciatura en biología, Zapopan Jalisco.

