



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
División Académica de Ciencias Biológicas



**“EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE *Ganoderma* (FUNGI:
Basidiomycota) EN MEDIOS DE CULTIVO Y SUSTRATOS
LIGNOCELULÓSICOS *IN VITRO*”**

Trabajo recepcional, en la modalidad de:

Tesis

Para obtener el título de:

Licenciatura en Biología

Presenta:

Sarai Torres López

Directores:

Dra. Silvia Cappello García
Dr. Joaquín Cifuentes Blanco

Villahermosa, Tabasco, México

Noviembre, 2020

Universidad Veracruzana
México

EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE Ganoderma (FUNGI: Basidiomycota) EN MEDIOS DE CULTIVO Y SUSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS IN VITRO

Por Sarai Torres López

CANTIDAD DE PALABRAS 11574

HORA DE ENTREGA

02-JUL-2025 11:00A. M.

NÚMERO DE
IDENTIFICACIÓN DEL
TRABAJO

117036581

Autónoma de Tabasco.

EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE Ganoderma (FUNGI: Basidiomycota) EN MEDIOS DE CULTIVO Y SUSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS IN VITRO

INFORME DE ORIGINALIDAD

19%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	cienciasagricolas.inifap.gob.mx Internet	306 palabras — 3%
2	archivos.ujat.mx Internet	131 palabras — 1%
3	dokumen.pub Internet	115 palabras — 1%
4	mail.revista-agroproductividad.org Internet	114 palabras — 1%
5	www.scielo.org.mx Internet	98 palabras — 1%
6	docplayer.es Internet	79 palabras — 1%
7	www.biomicel.com Internet	69 palabras — 1%
8	doku.pub Internet	49 palabras — 1%
9	riaa.uaem.mx:8080 Internet	43 palabras — < 1%

10	www.elsevier.es Internet	42 palabras — < 1%
11	www.archivos.ujat.mx Internet	41 palabras — < 1%
12	cdigital.uv.mx Internet	38 palabras — < 1%
13	amyd.quimica.unam.mx Internet	31 palabras — < 1%
14	tesis.ipn.mx Internet	30 palabras — < 1%
15	www.somas.org.mx Internet	25 palabras — < 1%
16	repositorio.uo.edu.cu Internet	24 palabras — < 1%
17	southfloridapublishing.com Internet	24 palabras — < 1%
18	cybertesis.unmsm.edu.pe Internet	22 palabras — < 1%
19	intellectum.unisabana.edu.co Internet	19 palabras — < 1%
20	ciad.repositorioinstitucional.mx Internet	17 palabras — < 1%
21	doczz.es Internet	17 palabras — < 1%
22	es.scribd.com Internet	17 palabras — < 1%

23	literatura.ciidiroaxaca.ipn.mx:8080 Internet	17 palabras — < 1%
24	revistas.ujat.mx Internet	17 palabras — < 1%
25	gredos.usal.es Internet	16 palabras — < 1%
26	public.pensoft.net Internet	16 palabras — < 1%
27	repositorio.lamolina.edu.pe Internet	16 palabras — < 1%
28	revistas.unicauca.edu.co Internet	16 palabras — < 1%
29	cmas.siu.buap.mx Internet	15 palabras — < 1%
30	repositorio.utp.edu.co Internet	15 palabras — < 1%
31	ri.ujat.mx Internet	13 palabras — < 1%
32	eprints.uanl.mx Internet	12 palabras — < 1%
33	revista-agroproductividad.org Internet	12 palabras — < 1%
34	www.yumpu.com Internet	12 palabras — < 1%
35	doaj.org Internet	11 palabras — < 1%

36	hdl.handle.net Internet	11 palabras — < 1%
37	pesquisa.bvsalud.org Internet	11 palabras — < 1%
38	revistamexicanademicologia.org Internet	11 palabras — < 1%
39	tci-thaijo.org Internet	11 palabras — < 1%
40	J. A. Ramírez, I. A. Santos, J. M. Cruz, M. Vázquez. " OPTIMISATION OF CULTURE MEDIA FOR NRRL Y-2315 OPTIMIZACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO PARA NRRL Y-2315 OPTIMIZACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO PARA NRRL Y-2315 ", Ciencia y Tecnología Alimentaria, 2003 Crossref	10 palabras — < 1%
41	dspace.utalca.cl Internet	10 palabras — < 1%
42	ediciones.inca.edu.cu Internet	10 palabras — < 1%
43	red.uao.edu.co Internet	10 palabras — < 1%
44	www.coursehero.com Internet	10 palabras — < 1%
45	Alfredo Carbonell Verdú. "Utilización de aceite de semilla de algodón como materia base renovable para la optimización de formulaciones de polímeros de alto rendimiento medioambiental", Universitat Politecnica de Valencia, 2018 Crossref Posted Content	9 palabras — < 1%

- 46 Madison M Hollis, Sarah L Quigley, Caitlin E Conn. " The molecular evolution of the haustorium formation genes and in parasitic Orobanchaceae ", Biological Journal of the Linnean Society, 2024
Crossref 9 palabras — < 1%
- 47 dspace.ups.edu.ec
Internet 9 palabras — < 1%
- 48 italianmycology.unibo.it
Internet 9 palabras — < 1%
- 49 repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080
Internet 9 palabras — < 1%
- 50 repositorio.uta.edu.ec
Internet 9 palabras — < 1%
- 51 www.botany.kiev.ua
Internet 9 palabras — < 1%
- 52 www.sabiia.cnptia.embrapa.br
Internet 9 palabras — < 1%
- 53 www.smf.org.mx
Internet 9 palabras — < 1%
- 54 1library.co
Internet 8 palabras — < 1%
- 55 Oscar H. López-Balladares, David de la Lama-Calvente, Francisco J. Flores-Flor, Rafael Borja. "Mycelial vigor, growth, physicochemical and sensory characteristics of Lentinula edodes produced from agroindustrial residues and their anaerobic digestates", Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2025
Crossref 8 palabras — < 1%

56	es.slideshare.net Internet	8 palabras — < 1%
57	mycokeys.pensoft.net Internet	8 palabras — < 1%
58	pacific-mall.com Internet	8 palabras — < 1%
59	repositorio.chapingo.edu.mx Internet	8 palabras — < 1%
60	repositoriodigital.uns.edu.ar Internet	8 palabras — < 1%
61	repositorioinstitucional.unison.mx Internet	8 palabras — < 1%
62	sedici.unlp.edu.ar Internet	8 palabras — < 1%
63	www.oalib.com Internet	8 palabras — < 1%
64	www.theinsightpartners.com Internet	8 palabras — < 1%

EXCLUIR CITAS

ACTIVADO

EXCLUIR FUENTES

DESACTIVADO

EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA

ACTIVADO

EXCLUIR COINCIDENCIAS

< 8 PALABRAS



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN**



NOVIEMBRE 19 DE 2020

**C. SARAI TORRES LÓPEZ
PAS. DE LA LIC. EN BIOLOGIA
PRESENTE**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis denominado: **"EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE *Ganoderma* (FUNGI: Basidiomycota) EN MEDIOS DE CULTIVO Y SUSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS *IN VITRO*"**, asesorado por la Dra. Silvia Cappello García y Dr. Joaquín Cifuentes Blanco sobre el cual sustentará su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado por la M. en C. Santa Dolores Carreño Ruiz, Dr. José Edmundo Rosique Gil, M. en C. Manuel Antonio García García, Dra. Nelly del Carmen Jiménez Pérez y Dr. Magdiel Torres de la Cruz.

**ATENTAMENTE
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCION EN LA FE**


**DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR**

C.c.p.- Expediente del Alumno.
Archivo.

UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

CARTA AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis de Licenciatura denominado: **“EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE *Ganoderma* (FUNGI: Basidiomycota) EN MEDIOS DE CULTIVO Y SUSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS *IN VITRO*”**, de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco el Trabajo Recepcional antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco el Día 19 de Noviembre de Dos Mil Veinte.

AUTORIZO



SARAI TORRES LÓPEZ

CONTENIDO

Pág.

1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	4
2.1. Biología de la especie.....	4
2.2. Estudios previos sobre la evaluación del crecimiento micelial de las cepas de <i>Ganoderma</i> <i>in vitro</i>	5
2.3. Estudios previos sobre la producción de cuerpos fructíferos de <i>Ganoderma</i>	7
3. Justificación.....	11
4. Objetivo general.....	13
4.1. Objetivos específicos.....	13
5. Metodología.....	14
5.1. Material de estudio.....	14
5.2. Evaluación y caracterización del crecimiento micelial de las cepas en medios de cultivo <i>in vitro</i>	14
5.3. Evaluación del crecimiento micelial de las cepas en sustratos lignocelulósicos <i>in vitro</i>	15
5.3.1. Elaboración del inóculo o semilla activada.....	15
5.3.2. Evaluación del crecimiento micelial de las cepas en sustratos lignocelulósicos.....	16
5.4. Ensayo de fructificación de las cepas a escala del laboratorio.....	17
5.5. Análisis estadísticos.....	18
6. Resultados y discusión.....	19
6.1. Crecimiento micelial de las cepas en medios de cultivo <i>in vitro</i>	19
6.1.1. Velocidad de crecimiento o tasa diaria.....	21
6.2. Caracterización morfológica.....	24

6.3. Crecimiento micelial de las cepas en diferentes sustratos lignocelulósicos <i>in vitro</i>	30
6.4. Fructificación <i>in vitro</i> de cepas de <i>Ganoderma</i>	36
7. Conclusión.....	37
8. Literatura citada.....	40

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

DEDICATORIA

Especialmente a mis padres.

A mi padre porque me ha enseñado que trabajar arduamente es la forma más satisfactoria de obtener lo que se desea, por esforzarse tanto y darme la oportunidad de estudiar, para obtener un logro más en la vida.

A mi madre por su amor y paciencia, por su apoyo incondicional, por su forma de ver la vida y por qué me alentó siempre.

A mis sobrinas, Amanda Sofía y Hanna Ester, por llenarme de alegría y amor.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Santa Dolores Carreño Ruiz.

Por regalarme su tiempo, incluso en los momentos más ocupados de su Doctorado, por el apoyo que me ha brindado, los ánimos, consejos, paciencia y por impulsarme a llegar más lejos.

A la Dra. Silvia Cappello García

Por ser una inspiración para emprender en la Micología, por los sabios consejos que me ha dado, por ser solidaria y brindarme ayuda en momentos difíciles.

Al Mtro. Manuel Antonio García García

Por la amistad que me ha brindado, el apoyo, pláticas y consejos que me compartió durante este proceso.

Al Dr. Joaquín Cifuentes Blanco, por sus valiosas aportaciones.

A los alumnos prestadores de servicio social y práctica profesional que ayudaron en mis actividades.

1.- INTRODUCCIÓN

Los hongos del género *Ganoderma* P. Karst., son ampliamente reconocidos debido a sus características nutricionales, medicinales y comerciales (Chiu *et al.*, 2000; Gao *et al.*, 2003; Zhou *et al.*, 2012; Nahata 2013; Roy *et al.*, 2015a; Islas *et al.*, 2017; Hapuarachchi *et al.*, 2018). Esto ha propiciado que exista un amplio interés por estas especies en la industria farmacéutica, que basan la elaboración de sus productos en metabolitos bioactivos que son producidos por estos hongos; además, de ser utilizados como suplemento alimentario (Martínez *et al.*, 2010).

Ganoderma es uno de los géneros de hongos empleados en la medicina tradicional de China, Japón y Corea durante milenios, para mejorar la longevidad y la salud; en dichos países se ha utilizado como alimento funcional para prevenir y tratar muchas enfermedades inmunológicas. Así mismo, en esta región geográfica, su investigación y desarrollo se considera un tema de tendencia por su alto potencial de uso en la biotecnología (Hapuarachchi *et al.*, 2018).

Estudios en Japón y China (Mshigeni y Chang, 2017) han mostrado el incremento del periodo de vida en pacientes con cáncer, atribuidos al consumo de hongos del género *Ganoderma*. Estos hongos destacan por sus compuestos, tales como: tetero-glucanos, lectinas, terpenoides esteroides, ácidos nucleicos y proteínas inmunomoduladoras, que contribuyen a las propiedades anticancerígenas, antitumorales, antivirales e inmunomoduladoras. Los productos derivados de estos compuestos se clasifican como nutraceuticos. Así mismo, se han realizado pruebas clínicas para determinar los beneficios de *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. 1881 para mejorar la salud de pacientes con VIH-SIDA, en quienes se ha evidenciado un incremento del peso corporal, aumento del nivel de hemoglobina y el conteo celular CD4 (Mshigeni y Chang, 2017).

Una de las especies con mayor venta en el mundo es *G. lucidum*, cuyos productos comerciales se basan en cuerpos fructíferos, micelios y polvo de esporas (Wasser, 2011). Se estima que al menos 100 marcas y más de 780 productos se venden en los mercados mundiales (Lai *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2016). Estados Unidos es el mercado más grande para estos productos; sin embargo, China es el mayor productor y exportador con capacidad de más de 110,000 t/año de cuerpos fructíferos, rodajas y esporas en polvo, como los productos más populares entre los consumidores. Las ventas anuales alcanzan \$ 2.5 mil millones de dólares (Li *et al.*, 2016).

Lo anterior ha generado el incremento del cultivo de *Ganoderma* en diversos países, especialmente en Asia tropical, para fines comerciales y ante la demanda creciente como alternativa a la medicina natural. A pesar de la relevancia que tienen estas especies para las industrias, su identidad taxonómica, su manejo biotecnológico y la producción de los cuerpos fructíferos, ha presentado algunas problemáticas y a su vez, su desarrollo está restringido a los países asiáticos, convirtiendo a las demás regiones geográficas dependientes de su importación, con lo cual se desvalorizan las especies nativas de este género (Hapuarachchi *et al.*, 2018).

La taxonomía de *Ganoderma*, es compleja debido a la gran similitud de las características macro y micromorfológicas presentes en los basidiocarpos, así como la ausencia de claves taxonómicas confiables, la alta tasa de clasificación de sinónimos y asignaciones taxonómicas incorrectas (Jargalmaa *et al.*, 2017). No obstante, en años recientes, se ha logrado identificar y corroborar a las especies del género *Ganoderma* en algunas regiones de México (Torres *et al.*, 2015; López *et al.*, 2016), lo cual contribuye a valorar los recursos existentes que podrían sugerirse para un aprovechamiento en este país.

En cuanto a la preservación de las cepas y su cultivo, existe un número reducido de publicaciones y destacan principalmente las contribuciones realizadas en lugares como Corea (Jayasinghe *et al.*, 2008; Jo *et al.*, 2009), Irán (Shahtahmasebi *et al.*, 2018), la India (Thakur y Sharma, 2015), Bangladesh (Roy *et al.*, 2015b) y Brasil (Valginhak y Santa, 2018). En México, se han generado publicaciones referentes a la caracterización de cepas y su cultivo, desarrolladas en Puebla (Sobal *et al.*, 2007; González *et al.*, 2002); sin embargo, aún se desconoce información importante referente a las características morfológicas que presentan las cepas nativas.

Adicionalmente, en algunos estudios se ha planteado que los hongos comestibles y medicinales no han sido utilizados en todo su potencial, particularmente en México, y los beneficios económicos son limitados por falta de organización, procesamiento, conocimiento científico y tecnológico; además, las investigaciones sobre el cultivo de hongos son relativamente recientes (Sánchez y Mata, 2012). Por lo anterior, se considera importante continuar con las investigaciones respecto al cultivo de hongos y buscar alternativas para emplear diversos sustratos lignocelulósicos en la producción de basidiomas con diversos fines.

En el estado de Tabasco, se genera una gran cantidad de residuos lignocelulósicos provenientes de la materia vegetal de cultivos como el cacao, plátano, coco, maíz y la caña de azúcar, así como aserrín y viruta provenientes de maderas como la caoba y el cedro (CONABIO, 2019). Hasta la fecha, con respecto al género *Ganoderma*, no se han realizado investigaciones relacionadas con la preservación de las cepas y su cultivo con fines de aprovechamiento. Por lo anterior, el presente estudio consistió en evaluar el crecimiento micelar y morfología de diferentes cepas de *Ganoderma* en medios de cultivo *in vitro* y en sustratos lignocelulósicos para su cultivo a escala de laboratorio, con la finalidad de generar conocimientos básicos que puedan emplearse a futuro para el aprovechamiento de estas especies a una mayor escala.

2.- ANTECEDENTES

2.1 Biología de la especie

El género *Ganoderma*, pertenece a la división Basidiomycota, a la clase, Agaricomycetes, orden Polyporales, familia Ganodermataceae (Cepero *et al.*, 2012). Las especies del género *Ganoderma* presentan basidiomas resupinados, estipitados a sésiles, son anuales o perennes y generalmente nacen sobre madera muerta. La superficie del píleo está formada por una cutícula engrosada opaca o brillante y lacada (Figura 1), formada por un himenodermo de células terminales claviformes (Cepero *et al.*, 2012).

El contexto es de color crema a marrón oscuro, de consistencia suave o corchosa a fibrosa. Causan pudrición blanca en la madera viva o muerta; además, su distribución es cosmopolita, con más de 144 especies de árboles hospedadores, convirtiendo a las especies del género *Ganoderma* en uno de los patógenos más destructivos ya que se adapta a condiciones climáticas amplias. El número estimado de estas especies varía de 250 a 400 (Cepero *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2014; Jargalmaa *et al.*, 2017).



Figura 1. Cuerpo fructífero de *Ganoderma* colectado en Cárdenas, Tabasco (Cappello GS, 3423 Herbario UJAT. Fotografía: Manuel García).

2.2 Estudios previos sobre la evaluación del crecimiento micelial de las cepas de *Ganoderma in vitro*.

La correcta identificación de parámetros como temperatura, medio de cultivo, condiciones ambientales y pH que favorecen el cultivo de *Ganoderma*, a escala de laboratorio, es crucial para lograr su posterior desarrollo a escala industrial, por lo tanto, es un requisito previo evaluar y seleccionar un método de producción bajo condiciones óptimas (Magday *et al.*, 2014).

Dentro de este ámbito de investigación, se han realizado pocos estudios en relación a la evaluación del crecimiento micelial y caracterización de cepas del género *Ganoderma* a nivel mundial tanto en medios de cultivo y en sustratos lignocelulósicos; gran parte de estos trabajos se ha desarrollado en las regiones templadas.

Jo *et al.* (2009) en Corea evaluaron el crecimiento micelial de siete cepas de *G. applanatum* (Pers.) Pat. 1887 y una cepa de *G. lucidum*, utilizando 12 medios de cultivo a 25 °C. El crecimiento micelial de *G. applanatum* fue superior en PDA (64.3 mm/5 d) y en YMA (Agar extracto de levadura y malta) (66.0 mm/5 d). En cuanto a la densidad del micelio se presentó como compacta. Los valores más bajos fueron reportados en el medio Czapek Dox (50.0 mm/5 d) con micelio delgado, y colonias de color blanco. De igual manera, para *G. lucidum* el mayor crecimiento se obtuvo en PDA (63.7 mm/5 d), las colonias se describieron medianamente compactas, y se registró el valor más bajo, en el medio Hennerberg (31.3 mm/5 d) con micelio delgado.

Por otra parte, Magday *et al.* (2014) en Filipinas, estimaron el crecimiento de una cepa de *G. lucidum* en cinco medios de cultivo naturales: *Cocos nucifera* L., 1753 *Ipomoea batatas* (L.) Lam. 1793, *Oryza sativa* L., 1753 *Sorghum bicolor* (L.) Moench 1794 y *Zea mays* L., 1753 incubada a temperatura ambiente. El valor más alto de crecimiento micelial (42.76 mm/5 d) fue alcanzado en el medio *C. nucifera*;

además, se observó un crecimiento micelial muy denso y abundante, mientras que el menor crecimiento (37.10 mm/5 d) se produjo en el medio *O. sativa*. Este estudio señaló que las cajas incubadas en condiciones de luz obtuvieron un mayor crecimiento; asimismo, la velocidad de crecimiento micelial fue mayor a 32 °C.

En Irán, Shahtahmasebi *et al.* (2018) evaluaron siete cepas de *Ganoderma* spp., utilizando PDA y extracto de compost (CEA), incubadas a 25 ± 2 °C durante dos semanas. Se midió la tasa diaria de crecimiento micelial, calculada después de 14 d. Dos cepas (GPS 37 y 52) obtuvieron los valores más altos de crecimiento micelial en PDA y en CEA (4.77 y 3.91 mm/día) y una cepa (GPS 17) registro los valores más bajos (1.63 y 1.43 mm/día) en ambos medios.

Ozcariz *et al.* (2018) en España, evaluaron el crecimiento micelial de *G. lucidum* sobre seis combinaciones de desechos de pacana (*Carya illinoensis* Wangenh K. Koch 1869): cáscaras, pericarpio y astillas de madera. Dicho estudio se realizó en tubos de ensaye de 20 x 1.6 cm a 25 °C. El mayor crecimiento micelial (5.54 mm/día) se presentó a los 23 d en tratamiento de 50% de astillas y cáscaras de pacana. El menor crecimiento (3.28 mm/día) se registró a los 43 d, en el tratamiento de 50 % astillas y pericarpio. Adicionalmente, en este estudio se contempló la fructificación dentro de los tubos, a través de los cuales se evidenció la mayor eficiencia biológica (EB) en el tratamiento de 100% astillas de pacana (55.42%) y el menor valor (4.36%) en 100 % pericarpio.

En Puebla, México, González *et al.* (2002) determinaron el crecimiento micelial de *G. lucidum* en tubos de ensaye de 200 x 16 mm los cuales contenían cáscaras de semilla de girasol (MSH), suplementados con salvado de trigo y malta e incubados a 25 °C durante 12 días. En cuanto a la tasa de crecimiento micelial, el tratamiento compuesto por MSH y 2.5% de salvado de trigo presentó el valor más alto (5.88

mm/día); en cambio, el valor más bajo (5.33 mm/día) se obtuvo en el tratamiento compuesto por MSH y 2.5% de malta.

2.3 Estudios previos sobre la producción de cuerpos fructíferos de *Ganoderma*.

La evaluación de la factibilidad de un cultivo se basa en determinar los índices de producción: Eficiencia Biológica [EB= Peso fresco de los hongos cosechados (g)/Peso seco del substrato (g) x100], Rendimiento [R=Peso fresco de los hongos cosechados (g)/Peso húmedo del substrato (g) x100] y la Tasa de Producción (TP=EB/tiempo transcurrido desde la inoculación hasta la última cosecha) (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006). Los estudios generados al respecto se han realizado en su mayoría en las zonas templadas.

Singh *et al.* (2014) en la India, cultivaron *G. lucidum* en trozos de álamo (*Populus deltoides* W. Bartram ex Marshall, 1785), en bolsas de polipropileno a 25±1°C. Después de 15-17 d, los trozos de álamo fueron colonizados por completo con humedad relativa de 70-80% obse

çrvándose un crecimiento lento. Posteriormente, en un segundo periodo de 15-17 d emergieron los primordios, y para cosechar el primer cultivo maduro el proceso tomó 70-80 d, registrándose una EB de 22 % (peso fresco).

De modo similar Thakur y Sharma (2015) en la India, cultivaron *G. lucidum* empleando diferentes combinaciones de aserrín *Mangifera indica* L., 1753, *Jacaranda mimosifolia* D.Don, 1822 y *Dalbergia sissoo* Roxb. ex DC., 1825 suplementados con salvado de trigo e incubados en bolsas de polipropileno a 28 ± 2°C durante 12 d. Los primordios emergieron de 2 a 3 d después de abrir las bolsas. Los mayores porcentajes de EB y R (27.9% y 195.0 g/kg) se registraron en

80 % de aserrín *J. mimosifolia*, con 20 % de salvado de trigo; mientras que los valores más bajos (7.1% y 49.4 g/ kg) se obtuvieron en 80% aserrín *D. sissoo* y 20 % salvado de trigo.

Shahtahmasebi *et al.* (2018) en Irán, evaluaron la fructificación de siete cepas de *Ganoderma* spp. en granos de trigo y astillas de madera (*Populus alba* Lineo 1753), en bolsas de polipropileno durante dos meses e incubadas a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$. De las cepas evaluadas, *G. tsugae* Murrill 1902, fructificó en granos de trigo a los 14 d y en astillas a los 25 d; los demás cultivos no presentaron fructificación.

Peksen y Yakupoglu (2009) en Turquía, cultivaron dos cepas de *G. lucidum* en residuos de té y mezclas de aserrín de carpe (*Carpinus betulus* L. 1753), utilizando bolsas de polipropileno a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$. La EB y R más altos (34.90% y 87.98 g/kg) se obtuvieron en tratamiento de 80% aserrín y 20% residuos de té. Los valores más bajos (16.67% y 49.03g/kg) fueron para el tratamiento de 80 % de aserrín y 18 % de residuos de té con un período de cosecha de 90 d.

Atila (2018) en Turquía cultivó *G. lucidum* en siete sustratos (paja de trigo, harina de girasol y de semilla de algodón, paja de soja y de frijol, aserrín de roble y álamo). La evaluación se realizó en bolsas de polipropileno a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$. El mayor valor de EB y R (24.7% y 86.1 g/kg) se obtuvo en aserrín de roble y el menor valor (8.9% y 28.6 g/kg) en harina de semilla de algodón. El tiempo de desarrollo del micelio fue de 14 a 18 d. Los sustratos a base de desechos agrícolas exhibieron menor valor que los sustratos a base de aserrín.

Por otro lado, Čilerdžić *et al.* (2018) en Serbia, cultivaron *G. lucidum* en paja de trigo, en bolsas de polipropileno. La colonización del sustrato se realizó de 15 a 20 d a 25°C . Los primordios se formaron de 3 a 5 d después de abrir las bolsas y los

cuerpos fructíferos de 25-29 d. Se obtuvo de 8 a 12 basidiocarpos con un rendimiento total fresco de 43.8 g/kg y rendimiento total seco de 14.0 g/kg con la mayor EB de 13% y la menor de 6.0%, con lo cual se evidenció que la paja de trigo tiene potencial para el cultivo.

López *et al.* (2019) en Sonora México, cultivaron *G. subincrustatum* Murrill 1908, utilizando astillas de madera de poda de viñedo en bolsas de polipropileno, incubadas a 25 ± 1 °C, los sustratos fueron colonizados de 15-17 d. El desarrollo de basidiomas se realizó a 25-27 °C., con humedad relativa de 85-100%. Posteriormente se describieron las características morfológicas de los ejemplares.

En Puebla, México, González *et al.* (2002) cultivaron *G. lucidum* en cáscara de semillas de girasol (MSH) suplementado con malta y salvado de trigo. Esto se realizó en bolsas de polipropileno a 24 ± 1 °C e incubadas durante 10-13 d. El desarrollo de los cuerpos fructíferos ocurrió a los 20-25 d con 24 ± 3 °C. El sustrato que presentó el valor más alto de EB (10%) y producción (3.9 %) fue la MSH con 5% de salvado de trigo en cambio y la mezcla con 2.5% de malta obtuvo valores bajos (7.6 y 3.0%).

En las zonas tropicales se han realizado estudios. Rolim *et al.* (2014) en Brasil, cultivaron *G. lucidum* en diferentes sustratos, en bolsas de polipropileno a 28 ° C. La mayor EB (72%) y peso promedio (360 g/kg); se presentó en la mezcla de pasto elefante (*Pennisetum purpureum* Schumacher 1827) con aserrín de mango (*M. indica*), suplementados con salvado de trigo y bagazo de caña de azúcar,

Así también Valginhak y Santa (2018) en Brasil evaluaron los residuos de la industria del papel para la producción de *G. lucidum*. Utilizaron 11 tratamientos en bolsas de polipropileno a 25 ± 2 °C. El mayor crecimiento micelial se presentó en

el aserrín de pino (SER) (*Pinus* sp. L., 1753) y en la fibra de la planta de tratamiento de efluentes (ETE). El SER fue colonizado a los 48 d y la aparición de primordios ocurrió a los 26 d, con tres fructificaciones. En ETE, la colonización micelial ocurrió a los 65 d y la aparición de primordios 65 d después.

En Bangladesh, Roy *et al.* (2015b) cultivaron *G. lucidum* en aserrín de las especies: *Swietenia mahagoni*, (L.) Jacq. 1760, *Dipterocarpus turbinatus* C.F.Gaertn 1805, *Tectona grandis*, (L.f.) 1782 Lam, *Gmelina arborea* Roxb 1814 y *Mechelina champaca* (L. 1753), en bolsas de polipropileno a 25-32°C, suplementados con salvado de arroz y de trigo. El sustrato *S. mahagoni* presentó los valores más altos de EB y R (7.6% y 235.2 g/kg). El sustrato *D. turbinatus* con salvado de arroz presentó los valores más bajos (3.6% y 110.4 g/kg).

En Malasia, Tan *et al.* (2015) cultivaron *G. neo-japonicum* Imazeki 1939, en aserrín y hojas de la palma de aceite, residuos de bambú y de algodón, y paja de arroz. Esto se realizó en bolsas de plástico a 27±2°C. La mayor tasa de crecimiento se presentó en aserrín, por lo que se tomaron 39.8 d para colonizarlo. La aparición y maduración del basidiocarpo en la primera cosecha fue de 59 a 98 d.

Magday *et al.* (2014) en Filipinas, cultivaron *G. lucidum* en bolsas de polipropileno en diferentes sustratos a base de paja de arroz y aserrín, incubados a temperatura ambiente. El sustrato compuesto por 70% de paja de arroz y 30% de aserrín obtuvo el período más corto (17.33 d) para la fructificación y la mayor EB y R (6.26% y 17.76 g). El sustrato compuesto por 30% paja de arroz y 70% aserrín obtuvo los valores más bajos (4.84 % y 13.62 g) alcanzando 39 d para fructificación.

Mediante la revisión de la literatura anteriormente descrita, se puede constatar que *G. lucidum* es la especie más empleada en la experimentación, con fines de obtención de cuerpos fructíferos y dentro de los sustratos se encuentra aserrín de diversas especies vegetales.

3.- JUSTIFICACIÓN

La importancia de las especies del género *Ganoderma* radica en su valor medicinal, ya que contienen componentes químicos con valores nutricionales y terapéuticos; además, producen agentes antioxidantes con propiedades antitumorales y anticancerígenas, haciendo de estos hongos un complemento alimenticio para el mantenimiento de la salud, con gran desarrollo en la industria.

La mayor cantidad de estudios relacionados a la producción de especies de *Ganoderma* se han realizado en zonas templadas; sin embargo, en las zonas tropicales las investigaciones al respecto son escasas. En el sureste de México no se han realizado investigaciones referentes al cultivo de especies del hongo *Ganoderma* y no se ha evaluado el uso de sustratos generados por la actividad agrícola de la región. No obstante, en el estado de Tabasco se cuenta con una colección de especies nativas de *Ganoderma*.

En esta región el consumo y uso medicinal de hongos es escaso, lo cual se atribuye al desconocimiento de las propiedades de dichos hongos y de su calidad nutricional, además de que las técnicas de cultivos están poco desarrolladas. El cultivo de hongos ayuda a convertir los desechos agrícolas y forestales en materia útil y reducir la contaminación en el medio ambiente. Por lo tanto, tiene contribuciones importantes: la producción de alimentos saludables, la fabricación de nutracéuticos y la reducción de la contaminación ambiental (Zhou *et al.*, 2012).

Los sustratos usados y registrados para el cultivo de estos hongos han sido aserrín de diversas especies vegetales, sustratos suplementados y diferentes combinaciones de residuos agrícolas, propios de lugares en los que se realizan las investigaciones. En el estado de Tabasco se produce como desecho aserrín y viruta de diferentes especies maderables con importancia económica como la caoba y el cedro (CONABIO, 2019), la cáscara de cacao, al igual que los residuos de la palma de aceite, un subproducto que puede ser evaluado.

Algunas especies de *Ganoderma* no están disponibles en la naturaleza debido al ciclo de crecimiento anual. La producción de micelio y de cuerpos fructíferos proporcionan una alternativa del suministro para la conservación de este género (Tan *et al.*, 2015). Se deben conocer los parámetros y métodos de preservación adecuados de las cepas de *Ganoderma* en laboratorio y de manera similar para su producción, buscar nuevos sustratos que permitan obtener los basidiocarpos en menor tiempo y desarrollar técnicas que reduzcan costos.

4.- OBJETIVO GENERAL

Evaluar y caracterizar *Ganoderma* spp. en medios de cultivo y sustratos lignocelulósicos *in vitro*.

4.1 Objetivos específicos

- Evaluar y caracterizar el crecimiento micelial de tres cepas de *Ganoderma* en dos medios de cultivo *in vitro*, a temperatura de 26 y 30 °C.
- Evaluar el crecimiento de las cepas sobre diferentes sustratos lignocelulósicos *in vitro* a temperatura ambiente.
- Realizar pruebas de fructificación *in vitro* de las tres cepas en condiciones de temperatura semicontroladas.

5.- METODOLOGÍA

5.1 Material de estudio

Las cepas empleadas en este estudio pertenecen al cepario de hongos comestibles y medicinales “Cappello García” de la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Las cepas utilizadas se encuentran registradas con los códigos CCG025 (*G. multipileum*, Capello-García 3423), CCG026 (*G. stipitatum*, García-García 10) CCG0027 (*G. sessiliforme*, García- García 8).

5.2 Evaluación y caracterización del crecimiento micelial de las cepas en medios de cultivo *in vitro*.

La evaluación *in vitro* del crecimiento micelial de las cepas se realizó en cajas de Petri de 90 mm de diámetro x 15 mm de altura. Se les colocó 32 ml de medio de cultivo en cada caja y se evaluaron los medios Papa Dextrosa Agar (PDA) y Extracto de Malta Agar (EMA). A cada caja con medio de cultivo se le colocó un inóculo del micelio de 1 cm² en el centro de las mismas, y se incubaron a dos temperaturas, 26 y 30±2 °C durante 18 d. Por cada tratamiento se emplearon 5 repeticiones. En total se evaluaron 12 tratamientos con un total de 60 muestras (3 cepas x 2 medios x 2 temperaturas x 5 réplicas=60).

Las cajas se rotularon en la parte del anverso con dos ejes perpendiculares “x” y “y”, sobre los cuales se midió el diámetro de crecimiento micelial cada tercer día y se calculó el promedio de crecimiento, sumando el valor de los dos ejes y dividiendo el resultado entre dos, de acuerdo con la metodología de Zervakis *et al.* (2001). La tasa de crecimiento (Kr) se obtuvo con la función de crecimiento lineal y =kr x + c (donde y es la distancia, x es el tiempo y c el factor constante) y se expresó en milímetros por día (mm d⁻¹).

Al final del periodo de incubación se anotaron las características de textura y la densidad de los micelios de acuerdo a las claves de Stalpers (1978) y Gaitán-Hernández (2000); además, se registró el color de la cepa, color del anverso y del reverso del medio de cultivo y la presencia de exudados con ayuda de la Guía de Colores de Koppers (1996).

5.3 Evaluación del crecimiento micelial de las cepas en sustratos lignocelulósicos *in vitro*.

5.3.1 Elaboración del inóculo o semilla activada. Se prepararon semillas activas o inóculo de cada una de las cepas en semillas de maíz palomero (*Z. mays*). Las semillas se lavaron e hidrataron de 8 a 12 h, se enjuagaron y se pusieron a escurrir en un cernidor. Posteriormente se les paso un lienzo seco para quitarles el exceso de humedad. Se les agrego una proporción de cal $[Ca(OH)_2]$ al 0.1% y de yeso ($CaSO_4$) al 0.1% (con base en el peso seco de las semillas para evitar que los granos se peguen). Una vez preparadas las semillas, se colocaron 60 gr en frascos de vidrio previamente lavados, secados y éstos se esterilizaron en autoclave a 121 °C durante 40 minutos. Posteriormente, los frascos se dejaron enfriar en la campana de flujo laminar y se destaparon para colocarles fragmentos de aproximadamente 1cm² de medio de cultivo con micelio de cada una de las cepas. Dichos frascos se incubaron en condiciones de completa oscuridad a 28 °C, hasta que el micelio cubrió totalmente las semillas. Durante el periodo de incubación (20-25 d) los frascos con sustrato e inóculo se revisaron diariamente para detectar contaminación.

5.3.2 Evaluación del crecimiento micelial de las cepas en sustratos lignocelulósicos. Los sustratos empleados fueron seleccionados de acuerdo a su disponibilidad, localización de fácil acceso y facilidad de transporte y manejo:

- 1) Madera caída de palo de tinto (*Haematoxylum campechianum* L. 1753) (sustrato testigo)
- 2) Viruta de cedro (*Cedrela odorata* L. 1753)
- 3) Cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.1753)
- 4) Viruta de cedro y caoba (*C. odorata* y *Swietenia macrophylla* King 1886)
- 5) Fibra y rastrojos de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq 1897).

Los sustratos se secaron al sol durante 3 d, se fragmentaron en tamaños de partícula de aproximadamente 1cm² (con excepción de las virutas). Todos los sustratos se hidrataron durante 12 horas y se escurrieron una hora. Posteriormente se les agregó cal [Ca (OH)₂] (0.1%) y yeso (CaSO₄) (0.1%). La mezcla se colocó en tubos de ensayo de 25 x 150 mm a 12 cm del volumen del tubo a partir de su base. Se prepararon cinco tubos por tratamiento, haciendo un total de 75 muestras (3 cepas x 5 sustratos x 5 réplicas = 75). Los tubos se esterilizaron durante 40 min a 121 °C, posteriormente en condiciones de asepsia, cada tubo se inoculó con 1.0 g de semilla activa y se les colocó un tapón de algodón estéril para permitir el intercambio gaseoso. La incubación se realizó a temperatura ambiente en completa oscuridad, durante 32 d.

A cada tubo se le marcaron dos líneas longitudinales opuestas “A” y “B”. Sobre las líneas se midió el crecimiento del micelio cada cuatro días. Los datos se concentraron en una matriz y se estimó el crecimiento del micelio promedio por día (Gaitán y Salmones, 2015). La tasa de crecimiento (Kr) se evaluó como se mencionó previamente en el apartado de medios de cultivo.

5.4 Ensayo de fructificación de las cepas a escala del laboratorio.

Al final del periodo de evaluación del crecimiento micelial, se seleccionaron tres tubos de ensayo con mayor crecimiento por cada tratamiento, y en condiciones de asepsia se les retiro el tapón de algodón y el inculo empleado, a fin de realizar pruebas de fructificación.

Cada tubo se forró con un plástico obscuro y se expusieron a ciclos naturales de luz. Con un atomizador se regaron dos veces al día durante 32 días (Ozcariz *et al.*, 2018). Los cuerpos fructíferos que se obtuvieron se pesaron y se midieron a fin de registrar la biomasa obtenida en los tubos y constatar la capacidad que tendría la cepa para fructificar en los sustratos evaluados en estudios posteriores.

5.5. Análisis estadísticos

Para validar estadísticamente los resultados de la evaluación del crecimiento micelial de las cepas en medios de cultivo *in vitro* en dos diferentes temperaturas, se realizó un análisis de Kolmogorov-Smirnov a fin de evaluar la normalidad de los datos obtenidos. Posteriormente, se realizó un análisis multifactorial (ANOVA) y la prueba *a posteriori* de Tukey. De la misma manera se analizaron los datos de tasa de crecimiento micelial. El diseño experimental fue de 3 cepas x 2 medios x 2 temperaturas x 5 réplicas con un total de 60 unidades experimentales. El valor de la significancia de la prueba fue $\alpha=0.05$ en el paquete estadístico Statistica Versión 7.0.

De manera similar para la evaluación del crecimiento del micelio de las cepas en los sustratos lignocelulosicos *in vitro*, se verificó la normalidad de los datos obtenidos y se realizó un análisis multifactorial (ANOVA) y la prueba *a posteriori* de Tukey. El diseño fue de 3 cepas x 5 sustratos x 5 réplicas=75. El valor de la significancia de la prueba fue $\alpha=0.05$ en el paquete estadístico Statistica Versión 7.0.

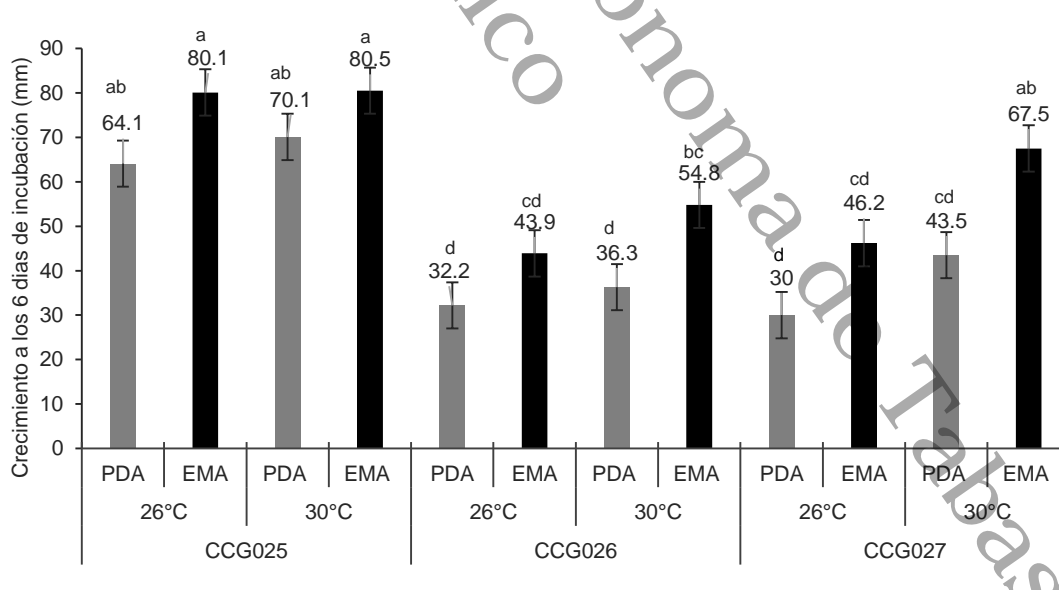
6.- Resultados y discusión

6.1 Crecimiento micelial de las cepas en medios de cultivo *in vitro*.

El crecimiento micelial de cada una de las cepas presentó variaciones estadísticamente significativas ($P < 0.05$) con respecto a los medios de cultivo y temperaturas evaluadas.

A los seis días de incubación, la cepa CCG025 (*G. multipileum*) presentó los valores más altos de crecimiento micelial promedio (80.1 y 80.5 mm) en el medio EMA en ambas temperaturas evaluadas (26 y 30±2°C), sin diferencias estadísticas con la misma cepa crecida en el medio PDA en ambas temperaturas (Gráfica 1). El crecimiento mostrado por esta cepa tampoco tuvo diferencias con la cepa CCG027 crecida con el medio EMA, a 30 °C.

El menor crecimiento micelial fue obtenido por la cepa CCG026 en los dos medios y temperaturas evaluadas. Así también, la cepa CCG2027 mostró menor crecimiento en el medio PDA a 26 y 30 °C, y en EMA a 26°C. (Gráfica 1).



Gráfica 1. Comparación del crecimiento micelial de las cepas: CCG025 (*G. multipileum*), CCG026 (*G. stipitatum*) y CCG027 (*G. sessiliforme*) a los 6 días de incubación, en medios de cultivo *in vitro* 26 y 30(±2) °C. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey $p < 0.05$).

Aunque no existen estudios previos respecto al crecimiento micelial de las especies aquí evaluadas, los resultados varían dependiendo de la especie y las temperaturas de la región geográfica donde se desarrollan, sin embargo, en algunos casos, aunque no se trató de las mismas especies, se presentan tendencias semejantes. Los valores de crecimiento micelial obtenidos en este estudio, son similares a los de Jo *et al.* (2009) en Corea, quienes señalaron un buen desarrollo de *G. applanatum* a temperatura de incubación de 30 °C en los medios YMA y PDA.

Así mismos estudios realizados en la India, Corea, Filipinas y Vietnam citaron una temperatura de 30-35 °C° como la óptima para el crecimiento de *G. lucidum* en los medios EMA, Hamada, YMA, *C. nucifera* y PGA (papa glucosa agar) suplementado con salvado de arroz (Kapoor y Sharma 2014; Jayasinghe *et al.*,2008; Magday *et al.*, 2014; Nguyen *et al.*, 2019).

Esto es apoyado con lo reportado por Luangharn *et al.* (2017) en Tailandia, quienes observaron un buen desarrollo de micelio de *G. australe* (Fr.) Pat. 1889 a temperatura de 30 °C en los medios PDA y YEA (extracto de levadura agar) frente a otros medios de agar evaluados (extracto de levadura, harina de maíz, agar de avena, extracto de levadura peptona dextrosa) a los 10 días de incubación.

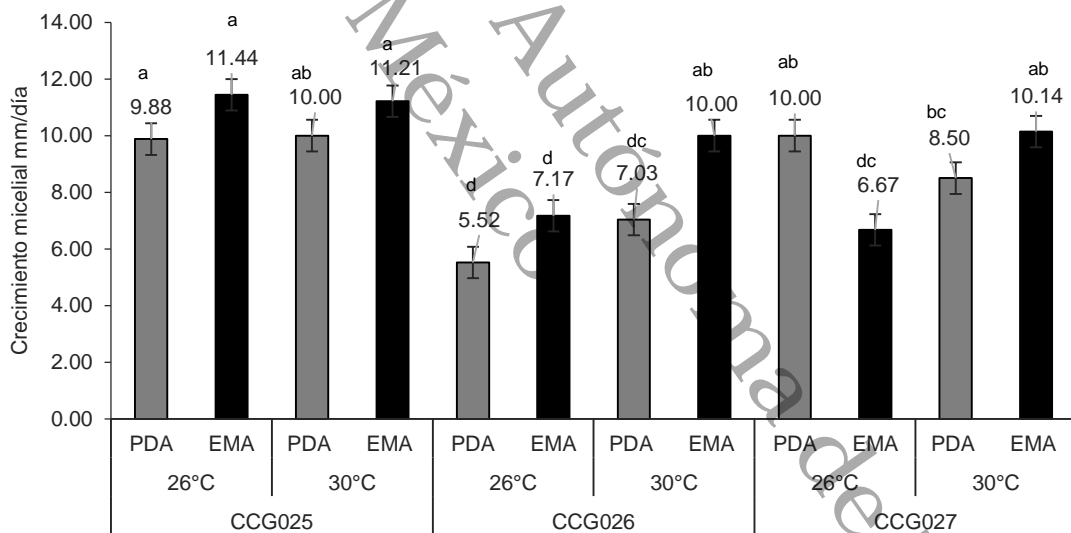
El medio de cultivo EMA ha sido utilizado para la producción de *G. tropicum* (Jungh.) Bres. 1910 (Luangharn *et al.*, 2019) en Tailandia, señalándose como favorable respecto a otros medios de cultivo (Czapek, rosa de Bengala, extracto de levadura, extracto de malta de levadura y peptona dextrosa de extracto de levadura) pero a temperaturas de 25-28° C.

6.1.1 Velocidad de crecimiento o tasa diaria

Con respecto a la tasa de crecimiento micelial promedio diario, la cepa CCG025 presentó los valores más altos de 11.44 y 11.21 mm^{-1d} en EMA a 26 y 30±2°C, respectivamente, sin diferencias estadísticas significativas con los valores registrados en PDA (9.88 y 10.00 mm^{-1d}) (Gráfica 2).

En contraste, la cepa CCG026 registró los valores más altos de crecimiento micelial promedio diario de 10.00 y 7.17 mm^{-1d} en EMA en ambas temperaturas, con diferencias estadísticas respecto a los valores registrados en PDA (5.52 y 7.03 mm^{-1d}) (Gráfica 2).

La cepa CCG027 presentó los valores más altos en EMA (10.14 mm^{-1d}) a 30±2°C y en PDA (10.00 mm^{-1d}) a 26°C, y con diferencias estadísticas significativas respecto al resto de los tratamientos de la cepa (Gráfica 2).



Gráfica 2. Tasa de crecimiento micelial promedio por día de las cepas CCG025 (*G. multipileum*), CCG026 (*G. stipitatum*) y CCG027 (*G. sessiliforme*), en Papa Dextrosa Agar (PDA) y Extracto de Malta Agar (EMA) a 26 y 30±2°C. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey, p<0.05).

Estos resultados son similares a los de Luangharn *et al.* (2017), desarrollados en Tailandia con diferentes especies evaluadas, se reportó que las cepas de *G. australe* muestran un crecimiento micelial promedio diario de $8.83 \pm 0.12 \text{ mm}^{-1\text{d}}$, de igual manera dependiente de la temperatura (30°C). Además, el mayor crecimiento se presenta en PDA ($8.80 \text{ mm}^{-1\text{d}}$) y en YEA (Agar extracto de levadura) ($8.40 \text{ mm}^{-1\text{d}}$). Esto es apoyado con lo reportado por Nguyen *et al.* (2019) en Vietnam, quienes reportaron una tasa de crecimiento micelial promedio de $9.29 \pm 0.11 \text{ mm}^{-1\text{d}}$ para de *G. lucidum* a temperatura de 30°C en el medio PGA suplementado con extracto de salvado de arroz. Así mismo, Luangharn *et al.* (2019) en Tailandia reportaron que los valores más altos de crecimiento micelial promedio de *G. tropicum* se presentaron en los medios EMA ($8.40 \text{ mm}^{-1\text{d}}$) y en PDA ($8.50 \text{ mm}^{-1\text{d}}$) con temperaturas de $25\text{-}28^{\circ}\text{C}$.

De manera general, es importante resaltar que la tendencia de crecimiento micelial que muestran las cepas de *Ganoderma* evaluadas en este estudio, pudiera deberse a que los medios de cultivo EMA y PDA contienen nutrientes favorables para el micelio de estos hongos, como se ha constatado en diversos estudios sobre la preferencia nutricional (Jo *et al.*, 2009; Shahtahmasebi *et al.*, 2018; Kapoor y Sharma 2014; Luangharn *et al.*, 2019). Por su parte, el medio EMA contiene una alta concentración de maltosa y otros sacáridos como fuente de energía. La dextrina y la glicerina son las fuentes de carbono y la peptona es una fuente de nitrógeno (Condalab, 2019). Así mismo el medio PDA contiene infusión de papa deshidratada y dextrosa que fomentan el crecimiento exuberante de los hongos.

Se ha constatado que los medios en los que se ha encontrado el mayor crecimiento micelial de las cepas de *Ganoderma* están compuestos de altas concentraciones de dextrosa como fuente de carbono (Luangharn *et al.*, 2019).

Las especies de hongos poliporales típicamente se desarrollan en madera de árboles y arbustos vivos o muertos, arriba o dentro del suelo. Las hifas dentro de la madera muerta se alimentan de ella, descomponiéndola. De esta manera las sustancias orgánicas fijadas a la madera se liberan, lo que es muy importante para el equilibrio de los ecosistemas naturales. Cuando el hongo es capaz de degradar la pectina, la celulosa, la hemicelulosa y la lignina, se trata de un hongo lignocelulolítico, y debido a procesos exclusivamente enzimáticos resulta una podredumbre blanca.

Los hongos poliporales, son los únicos organismos capaces de degradar la lignina que es un compuesto químico policíclico que une y protege a las fibras de celulosa como un pegamento siendo muy resistente contra la acción de muchas enzimas (Piepenbring, 2015). Los resultados observados en el presente estudio constituyen una referencia importante para preservar, conservar y poder aprovechar las cepas del género *Ganoderma* en Tabasco, con fines alimenticios o biotecnológicos. Aunque las cepas mostraron una tendencia óptima para su incubación en EMA a temperatura ambiente, en ausencia de este puede emplearse el medio PDA como alternativa viable.

6.2 Caracterización morfológica.

Con respecto a las características morfológicas de las cepas, se observaron diferencias dependientes del medio del cultivo y temperaturas en los cuales se evaluaron. La cepa CCG025 (*G. multipileum*), presenta un crecimiento de tipo rastrero, con textura algodonosa a aterciopelada con zonaciones amarillas (N₀₀, A₄₀, M₀₀) de alta densidad en PDA a 26 °C. Estas características se presentan de manera similar en el medio EMA en la misma temperatura, pero con pigmentaciones de color amarillo claro (N₀₀, A₃₀, M₀₀) de regular densidad. La misma tendencia es observada a 30±2°C, pero el micelio puede o no presentar zonaciones de color amarillo en ambos medios, además en el medio PDA la densidad es alta y en el medio EMA es muy alta.

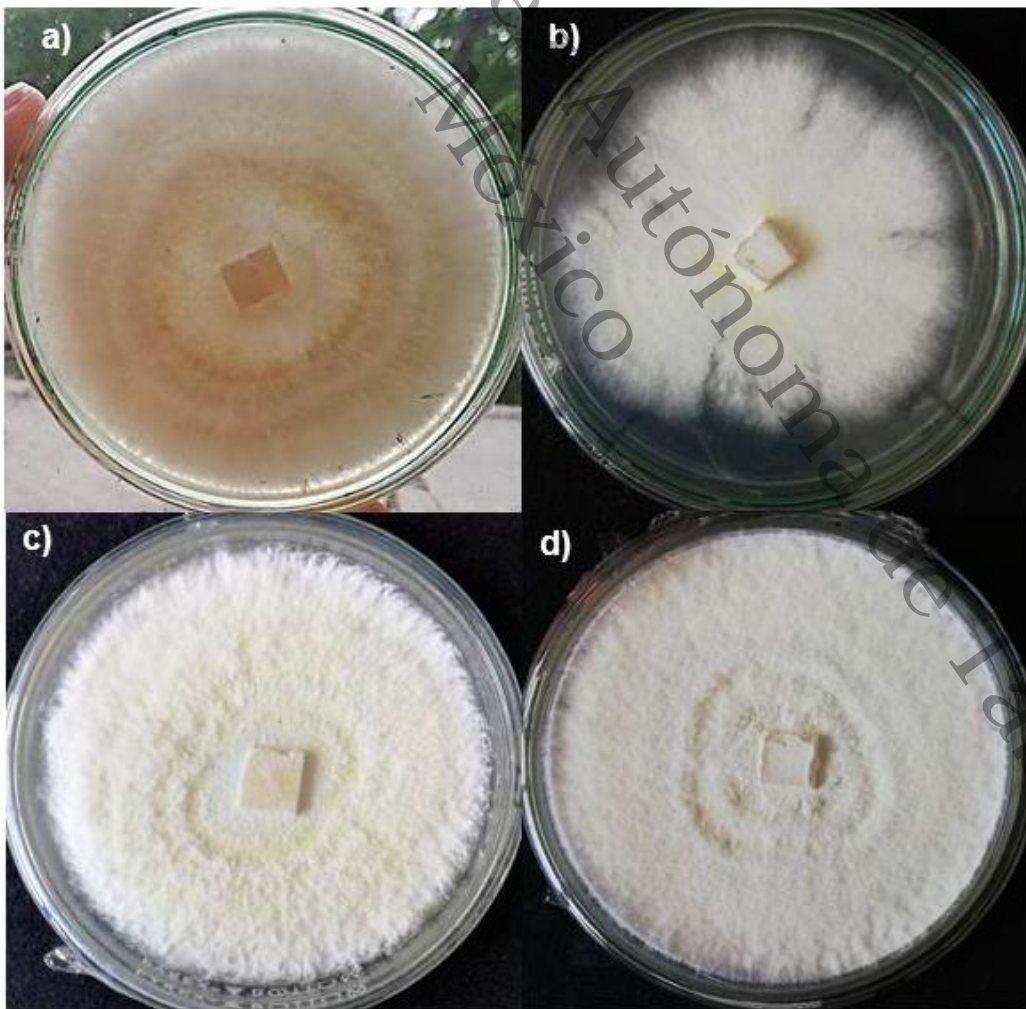


Figura 2. Características macroscópicas de CCG025 (*G. multipileum*): a) 26°C PDA; b) 26°C EMA; c) 30°C PDA; d) 30°C EMA.

La cepa CCG026 incubada a 26 °C en PDA presentó crecimiento rastrero con textura de farinácea a rala, presentó pequeñas pigmentaciones amarillas (N₀₀, A₆₀, M₀₀) de baja densidad. En el medio EMA mostró la misma tendencia, de farinácea a fieltada, pero en el centro es algodonosa con zonaciones amarillas y escaso crecimiento, de regular densidad.

A 30±2 °C en el medio PDA la textura de la cepa CCG026 fue plumosa, con penachos de micelio, también se presenta como farinácea, además el micelio crece dejando huecos, de baja densidad. Puede o no presentar pigmentaciones (N₀₀, A₅₀, M₀₀) en los penachos de hifas. Y en el medio EMA, puede o no presentar crecimiento en relieves de color naranja a café oscuro (A₄₀, M₉₀, C₇₀), con textura granular a zonada. Presenta pequeñas costras color crema (N₀₀, A₁₀, M₀₀), de alta densidad (figura 3).

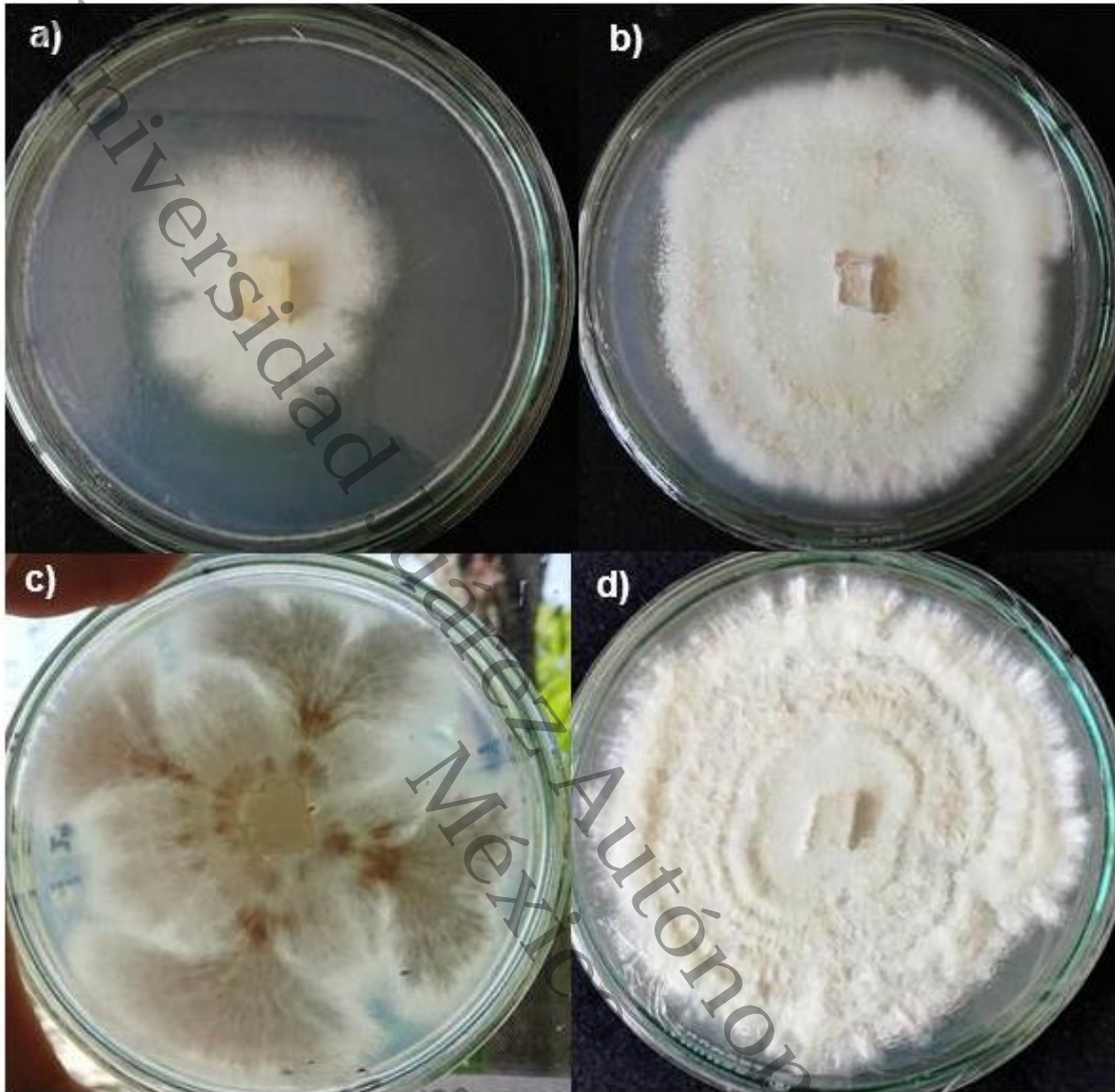


Figura 3. Características macroscópicas de CCG026 (*G. stipitatum*): a) 26°C PDA; b) 26°C EMA; c) 30°C PDA; d) 30°C EMA.

La cepa CCG027 en PDA a 26°C presentó crecimiento rastrero, con textura farinácea a rala de baja densidad. Puede o no presentar pigmentación de color naranja rojizo (A₈₀, M₉₀, C₃₀). En el medio EMA presenta crecimiento en relieves con pigmentaciones de color café rojizo (A₆₀, M₈₀, C₅₀) con textura granular a afieltrada, de alta densidad. A 30± 2°C en PDA se observó la misma tendencia, con textura granular de color marrón (A₄₀, M₇₀, C₃₀) y de rala a plumosa de baja densidad. En el medio EMA la textura fue de algodonosa a aterciopelada, y zonaciones color naranja oscuro, de alta densidad (Figura 4; Tabla 1).

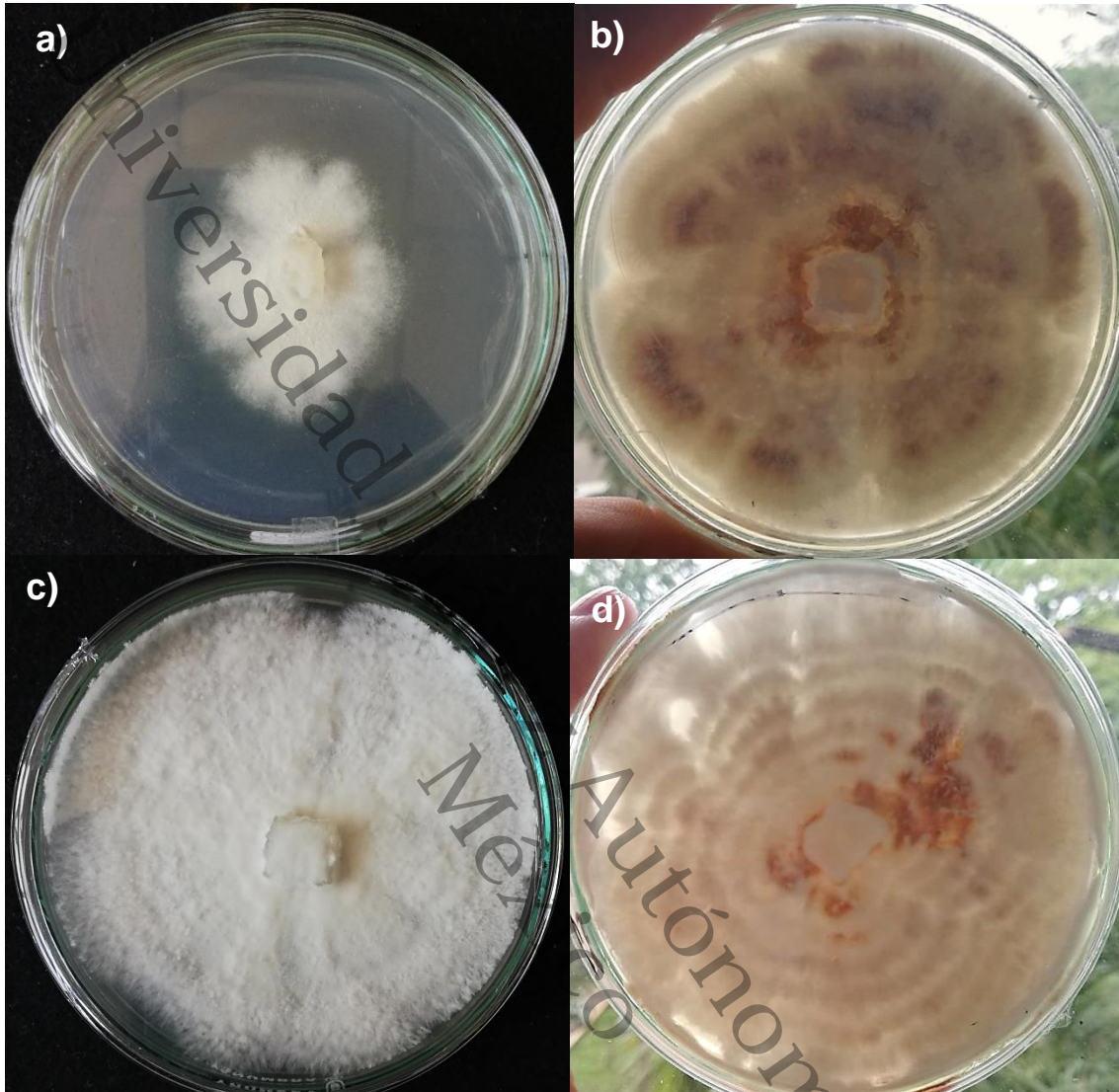


Figura 4. Características macroscópicas de CCG027 (*G. sessiliforme*): a) 26°C PDA; b) 26°C EMA; c) 30°C PDA; d) 30°C EMA a los 9 días.

Tabla 1. Características macroscópicas del micelio de las cepas CCG025 (*G. multipileum*), CCG026 (*G. stipitatum*) CCG027 (*G. sessiliforme*).

CEPA	T*	M	COLOR		TE	D	E	PI	
			CM	R					
CCG 025	26°C	PDA	Blanco	Blanco	amarillento (N ₀₀ ,A ₁₀ ,M ₀₀)	Algodonoso	Alta	Ausente	9
		EMA	Blanco	Crema (N ₀₀ ,A ₁₀ ,M ₁₀)	Algodonoso	Regu lar	Ausente	7	
	30±2° C	PDA	Blanco	Blanco	amarillento (N ₀₀ ,A ₆₀ ,M ₃₀)	Lanoso	Muy alta	Ausente	9
		EMA	Blanco	Crema (N ₀₀ ,A ₃₀ ,M ₀₀)	Lanoso	Muy alta	Ausente	8	
CCG 026	26°C	PDA	Blanco	Blanco	Crema (N ₀₀ A ₂₀ M ₀₀)	Farináceo	Baja	Ausente	15
		EMA	Crema	Crema (N ₀₀ A ₃₀ M ₁₀)	Afieltrado	Regu lar	Ausente	12	
	30±2° C	PDA	Crema	Crema	Amarillo claro (N ₀₀ A ₄₀ M ₄₀)	Farináceo	Baja	Ausente	12
		EMA	Blanco	Blanco	Amarillo claro (N ₀₀ A ₁₀ M ₀₀)	Algodonoso	Alta	Ausente	9
CCG 027	26°C	PDA	Blanco	Blanco	Crema (N ₀₀ A ₃₀ M ₁₀)	Farináceo	Baja	Ausente	16
		EMA	Crema	Crema	Amarillo claro (N ₀₀ A ₃₀ M ₁₀)	Algodonoso	Alta	Marrón (A ₆₀ M ₈₀ C ₅₀)	13
	30±2° C	PDA	Blanco	Blanco	Amarillo claro (N ₀₀ A ₁₀ M ₀₀)	Algodonoso	Baja	Café (A ₄₀ M ₇₀ C ₃₀)	11
		EMA	Crema	Crema	Amarillo claro (N ₀₀ A ₃₀ M ₁₀)	Algodonoso	Alta	Ausente	9

*T=Temperatura, M=Medio de cultivo, CM=Color de micelio, R=Color del reverso de la caja de Petri,

TE=Textura, D=Densidad, E=Exudado, PI=Periodo de Incubación. Los colores de referencia de acuerdo a la clave de Koppers (1996).

En estudios previos, se ha dado a conocer que las características morfológicas del micelio de las diferentes especies de *Ganoderma*, se pueden expresar de manera diferente dependiendo de los medios de cultivo y las temperaturas evaluadas (Sobal *et al.*, 2007; Jayasinghe *et al.*, 2008; Jo *et al.*, 2009; Magday *et al.*, 2014; Luangharn *et al.*, 2019) por lo tanto, cada ingrediente en los medios puede afectar las características morfológicas de las cepas como se constata en el presente estudio.

En estudios realizados en Corea, México, Filipinas y Tailandia se ha encontrado que el crecimiento micelial de *G. lucidum*, puede presentar densidad del micelio muy alta, alta, regular y baja. La textura se puede mostrar como densa, villosa, algodonosa, y flocosa; además, el color va de blanco a naranja pálido (6A1-6A3) y amarilla dorado (5A7), usando claves de densidad micelial de Kadiri (1998) y guía de colores de Ridgeway (1912). Algunas cepas presentan crecimiento irregular y regular e hifas aéreas escasas, esto en los medios Hamada, YMA, PDA, *C. nucifera*, EMA y PGA con arroz, a temperaturas de 25 a 32°C (Jayasinghe *et al.*, 2008; Sobal *et al.*, 2007; Magday *et al.*, 2014; Luangharn *et al.*, 2019; Nguyen *et al.*, 2019).

Luangharn *et al.* (2017) encontraron que *G. australe* presentó alta y también media densidad micelial en PDA y en EMA a 30°C. En México, Sobal *et al.* (2007) encontraron que las colonias de *G. curtisii* presentaron alta densidad micelial de color blanco, hifas aéreas escasas y crecimiento regular, sin presencia de exudados, con textura aterciopelada en PDA a 25°C. Jo *et al.* (2009) en Corea, mostraron que la densidad del micelio de *G. applanatum* se presentó como compacta a algo compacta y las colonias fueron blancas en PDA y en YMA a 25°C.

Es importante conocer las características del desarrollo del micelio, ya que las cepas de *Ganoderma* pueden crecer en diferentes medios de agar, y las características morfológicas de los micelios se pueden expresar de manera diferente, por lo tanto, cada ingrediente en los medios de cultivo y temperaturas aplicadas afectan las características morfológicas del cultivo resultante (Luangharn *et al.*, 2019).

Para mantener la viabilidad y la pérdida de las características propias de las cepas, es necesario preservarlas adecuadamente; por esto, es necesario encontrar condiciones nutricionales y ambientales óptimas para el cultivo de micelio en medios de cultivo, así como también los métodos de preservación más favorables para su conservación y mantenimiento en el tiempo. Principalmente la conservación de cepas tiene como objetivo el mantenimiento de la pureza, la viabilidad y estabilidad morfológica y genética de manera que se pueda disponer de un cultivo puro de las cepas (Gutiérrez *et al.*, 2017).

6.3 Crecimiento micelial de las cepas en diferentes sustratos lignocelulósicos *in vitro*.

El crecimiento micelial de las cepas en los diferentes sustratos lignocelulósicos, mostró diferencias significativas ($P > 0.05$). La cepa con el mayor crecimiento fue CCG027 (*G. sessiliforme*) en el sustrato CA (103.10 ± 4.57 mm), sin diferencias con la cepa CCG026 (*G. stipitatum*) en el mismo sustrato. A estas cepas le sigue la cepa CCG025 en CA. En general, las tres especies de *Ganoderma* evaluadas en la presente investigación, mostraron su mejor crecimiento micelial en la cáscara de cacao como sustrato.

Por otra parte, para las tres especies evaluadas, el menor crecimiento se obtuvo en la viruta de cedro como sustrato.

El crecimiento micelial de cada una de las cepas estudiadas presentó variaciones estadísticamente significativas ($P < 0.05$) con respecto a los sustratos utilizados. A los doce días de incubación, la cepa CCG025 (*G. multipileum*) registró el mayor valor de crecimiento micelial (81.30 ± 2.41 mm) en la cáscara de cacao con diferencias estadísticas significativas con respecto al resto de los tratamientos (Tabla 2).

De manera similar, la cepa CCG026 (*G. stipitatum*) presentó los mayores valores de crecimiento micelial en la cáscara de cacao (101.50 ± 7.15 mm) con diferencias estadísticamente significativas al resto de los tratamientos.

La cepa CCG027 (*G. sessiliforme*) presentó el mayor valor de crecimiento micelial en la cáscara de cacao (103.10 ± 4.57 mm) diferente al resto de los tratamientos (Tabla 2).

Tabla 2. Crecimiento micelial promedio de las cepas de *Ganoderma in vitro* después de 12 días de incubación en tubos de ensaye.

Sustratos	Cepas		
	CCG025	CCG026	CCG027
CC	29.70 \pm 3.95 ^{hi}	45.20 \pm 2.95 ^{fg}	53.40 \pm 7.64 ^{ef}
CA	81.30 \pm 2.41^b	101.50\pm7.15^a	103.10 \pm4.57^a
CE	25.60 \pm 5.89 ⁱ	41.20 \pm 5.82 ^{gh}	24.40 \pm 5.69 ⁱ
PA	64.80 \pm 6.20 ^{de}	77.10 \pm 6.49 ^{bc}	56.20 \pm 4.15 ^{def}
TN	50.04 \pm 4.05 ^{fg}	66.50 \pm 1.50 ^{cd}	45.50 \pm 5.51 ^{fg}

Los valores son promedios (\pm DS) CC: cedro y caoba, CA: cáscara de cacao, CE: cedro, PA: palma de aceite, TN: tinto. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey; $P < 0.05$).

Con respecto al crecimiento micelial promedio diario, se observó que la cepa CCG025 presentó una tasa de crecimiento promedio de 7.36 mm d⁻¹ en la cáscara de cacao con diferencias estadísticas significativas (P<0.05) con el resto de los tratamientos. Por su parte, la cepa CCG026 presentó un crecimiento promedio de 7.90 mm d⁻¹ en la cáscara de cacao y de 7.35 mm d⁻¹ en la palma de aceite, con diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y la cepa CCG027, se vio favorecida en la palma de aceite y en el tinto, ambos con valor de 6.00 mm d⁻¹. Con diferencias estadísticas con el resto de los tratamientos (Tabla 3).

Tabla 3. Crecimiento micelial por día (mm d⁻¹) de las cepas de *Ganoderma in vitro* en tubos de ensaye.

Sustratos	Cepas		
	CCG025	CCG026	CCG027
CC	3.04±0.16 ^g	5.00 ± 0.0 ^{def}	5.00±0.00 ^{def}
CA	7.36± 0.13^a	7.90± 0.89^a	5.60 ±0.55 ^{bcd}
CE	2.81±0.18 ^g	4.71± 0.39 ^{ef}	4.43±0.32 ^f
PA	6.25 ±0.61 ^b	7.35 ± 0.21^a	6.00 ±0.00^{bc}
TN	5.38 ±0.38 ^{cde}	6.0 ± 0.00 ^{bc}	6.00 ±0.00^{bc}

Valores promedio (±SD) del crecimiento micelial a los 12 días de incubación. CC: cedro y caoba, CA: cáscara de cacao, CE: cedro, PA: palma de aceite, TN: tinto. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey;P<0.05).

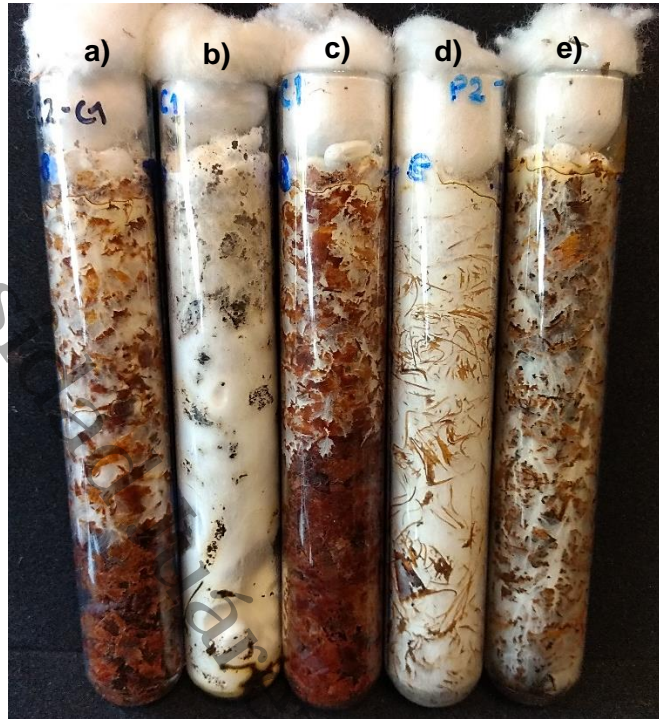


Figura 5. Crecimiento de la cepa CCG025 (*G. multipileum*) en los sustratos a) viruta de cedro-caoba; b) cáscara de cacao; c) viruta de cedro; d) palma de aceite; e) tinto.

En estudios previos realizados con otras especies, como los de González *et al.* (2002) en Puebla, se ha reportado que el crecimiento micelial promedio diario de *G. lucidum* fue de 5.88 mm d^{-1} en la mezcla de cáscara de semillas de girasol molido (MSH) y 2.5% de salvado de trigo, y el valor más bajo (5.33 mm d^{-1}) se presentó en la mezcla de MSH y 2.5% de malta. Ozcariz *et al.* (2018) en España, encontraron que, el alto valor (5.54 mm d^{-1}) de crecimiento micelial de *G. lucidum* en tubos de ensayo, se presentó en el sustrato con la mezcla de 50% de astillas de madera y cáscaras de pacana, el valor bajo (3.28 mm d^{-1}) se registró, en el sustrato compuesto por 50% astillas de madera y pericarpio.

Se determinó que la cáscara de cacao y la palma de aceite son los sustratos que favorecen el crecimiento de todas las cepas. Por lo que puede ser utilizados como sustratos viables a mayor escala en el cultivo de hongos. Aunque los estudios muestran que las cepas de *Ganoderma* crecen mayormente en sustratos a base de maderas (Atila, 2018; Peksen y Yakupoglu, 2009; Roy *et al.*, 2015b), es este

estudio se demostró que los sustratos a base de desechos agrícolas han superado a la madera. Además de las especies de *Ganoderma* han sido evaluadas mayormente en sustratos a base de madera (Singh *et al.*, 2014; Thakur y Sharma 2015; López *et al.*, 2019; Rolim *et al.*, 2014).

La cáscara de cacao es adecuada para el crecimiento de especies de *Ganoderma* ya que es un sustrato lignocelulósico de composición en lignina semejante, y propio de la región. Además, tiene poca probabilidad de presencia de microorganismos, a pesar de exponerlo al medio ambiente durante el proceso de secado (García *et al.*, 2011). Por su parte, los residuos de la palma de aceite (racimos de frutos vacíos y fibra), poseen en su composición química gran cantidad de celulosa y hemicelulosa (Van, 2016). Cabe mencionar que son varias las especies de *Ganoderma* registradas como huésped y consideradas como patógenas en palma de aceite (Zuñiga *et al.*, 2013).

Las especies de *Ganoderma* evaluadas en este estudio no se han reportado en la literatura como colonizadoras de los sustratos evaluados, con excepción de la palma aceitera. Sin embargo *G. lucidum* ha sido cultivado en el cacao (Ávila y Yánes 2020) y *G. neo-japonicum* en palma de aceite (Tan *et al.*, 2015).

Respecto a la abundancia de sustratos, México ha contribuido con 1.2% de la producción mundial de cacao (Córdova *et al.*, 2001), Tabasco ocupa el 70% de esta producción. En 2016, aportó 68.2% de la superficie sembrada en México, ocupando el primer lugar nacional (Córdova *et al.*, 2018). También el cultivo de palma de aceite se ha establecido esencialmente en la región sureste, siendo Tabasco el tercer productor a nivel nacional, con 324 976 hectáreas para cultivar palma de aceite. (SAGARPA, 2003b; Linares *et al.*, 2018).

En la explotación cacaotera sólo es utilizada la semilla, esto genera problemas ambientales como deterioro del paisaje, contaminación de suelos y cuerpos de agua. Estos desechos, están principalmente constituidos por la cáscara, por lo que se considera un foco para la propagación de patógenos, causa principal de pérdidas económicas de la actividad cacaotera (Franco *et al.*, 2010). Por otro lado, la industrialización de la palma de aceite, genera una gran cantidad de subproductos y derivados, para los cuales no siempre existen alternativas de aprovechamiento (Velázquez *et al.*, 2010). Los racimos de fruto vacíos son los principales residuos que se liberan en la obtención del aceite, se producen aproximadamente 20 millones de toneladas al año en el mundo (Van, 2016). Por lo anterior en este estudio se ha dado a conocer que estos residuos, al ser abundantes en la región, pueden ser utilizados para el cultivo de *Ganoderma* spp.

Los estudios respecto a la evaluación y cultivo de cepas *Ganoderma* son escasamente desarrollados a pesar de que la variedad de estudios de fructificación es amplia. En las zonas tropicales esto puede ser de gran utilidad ya que son zonas en las que el cultivo de *Ganoderma* no se ha desarrollado ampliamente y con las pruebas *in vitro* se pretende ahorrar recursos y tener conocimientos previos respecto a la dinámica del crecimiento de las cepas.

6.4 Fructificación *in vitro* de cepas de *Ganoderma*.

Únicamente la cepa CCG027 (*G. sessiliforme*), mostro fructificación y este proceso sólo se presentó en la fibra de palma de aceite como sustrato. La formación de primordios de color blanco y pigmentaciones amarillas, inició a los 13 d después de iniciado el riego y la exposición a la luz

A los 13 días de riego y exposición a la luz, en los tubos de ensaye seleccionados para esta prueba comenzaron a emerger los primordios de color blanco únicamente en la palma de aceite de la cepa CCG027 (*G. sessiliforme*).

Los poros empezaron a notarse después de 60 días y los cuerpos fructíferos fueron cosechados 29 días después. El ensayo de fructificación tuvo un periodo de 102 días desde el riego, hasta la cosecha de los basidiomas maduros.

Se obtuvieron tres fructificaciones de 4.43 gr y 22.7 mm de ancho por 16.27 mm de alto de la cepa CCG027 de *G. sessiliforme* en la palma de aceite (figura 6), los demás sustratos no presentaron fructificaciones.

Ozcariz *et al.* (2018) realizaron un ensayo semejante con *G. lucidum* en desechos de pacana (*C. illinoensis*) y reportaron que las mezclas de sustratos que utilizaron en los tubos fueron capaces de producir dos cosechas durante el periodo del experimento.



Figura 6. Fructificaciones de la cepa CCG027 (*G. sessiliforme*) en fibra de palma de aceite, Herbario UJAT, Tabasco, México (Fotografía: Sarai Torres López).

7.- CONCLUSIÓN

El medio EMA y la temperatura $30(\pm 2)$ °C, fueron los factores en los que mejor se desarrollaron cada uno de las cepas evaluadas, la cepa que presento el mayor crecimiento micelial fue la cepa CCG025 (*G. multipileum*) en el medio y temperatura mencionados.

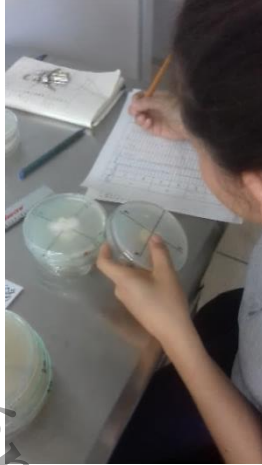
La morfología de dichas cepas es cambiante dependiendo de las condiciones de nutrientes y temperatura en las que se desarrollen. Estos datos serán de gran utilidad para la preservación futura y manejo biotecnológico de las cepas de *Ganoderma* en laboratorio, que han sido estudiadas en este trabajo. Este estudio reveló condiciones similares de crecimiento micelial con otras especies de *Ganoderma* que se han sido evaluadas previamente.

En cuanto a los sustratos que son viables para el desarrollo de las cepas se constató que la cáscara de cacao y la palma de aceite favorecen el crecimiento micelial de todas las cepas y podrían ser objeto de aprovechamiento a futuro en Tabasco o en las regiones tropicales en donde se encuentren disponibles estos sustratos. Por lo que se recomienda utilizarlos para futuros estudios. Se obtuvieron tres fructificaciones en los tubos de ensaye de la cepa CCG027 (*G. sessiliforme*) en la palma de aceite, los demás sustratos no presentaron fructificaciones. Este es el primer estudio que se desarrolla en la región para conocer la dinámica de crecimiento de las cepas nativas de *Ganoderma* tropicales, con importancia para incentivar su preservación y futuras aplicaciones biotecnológicas.

ANEXOS



Micelio de CCG025 creciendo en el medio EMA.



Medición del crecimiento micelial.



Caracterización morfológica de las cepas



Ilustración de la Cepa CCG027.



Preparación de materiales para el estudio.



Preparación de los sustratos



Inoculación de los sustratos con semillas activadas.



Mantenimiento de los tubos de ensayo para la fructificación de las cepas.



Surgimiento de los primordios



Observación del crecimiento de los basidiomas

8.- LITERATURA CITADA

- Atila, F. (2018). Comparative study on the mycelial growth and yield of *Ganoderma lucidum* (Curt. Fr.) Karst. on different lignocellulosic wastes. *Acta Ecológica Sínica*. doi: 10.1016/j.chnaes.2018.11.007
- Ávila L.A. y Yáñez P. (2020). Evaluación de la eficiencia del crecimiento del micelio de *Ganoderma lucidum* (Ganodermataceae), un hongo con alto potencial de uso textil en Ecuador, en tres sustratos orgánicos. *Ciencia Digital*, 4, 210-228.
- Cepero, M. C., Restrepo, S., y Franco, A. E. (2012). Biología de hongos. Bogotá: Universidad de los Andes. 522pp. Recuperado de: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/ujatsp/reader.action?docID=3211681&query=Biologia%2Bde%2Bhongos>
- Chiu, S.W., Wang, Z.M., Leung, T.M., y Moore, D. (2000). Nutritional Value of *Ganoderma* Extract and Assessment of its Genotoxicity and Antigenotoxicity using Comet Assays of Mouse Lymphocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 38, 173-178.
- Ćilerdžić, J. L., Vukojević, J.B., Klaus, A.S., Ivanović, Ž.S., Blagojević, J.D., y Stajić M.M. (2018). Wheat straw a promising substrate for *Ganoderma lucidum* cultivation. *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*, 17 (1), 13–22. doi: 10.24326/asphc.2018.1.2
- Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) y Gobierno del estado de Tabasco. (2019). La biodiversidad en Tabasco, estudio de estado. MEXICO. Volumen II URL: https://www.biodiversidad.gob.mx/region/EEB/pdf/Tabasco/TAB_EE_2019_vol%203_CLOSE.pdf
- Condalab (2019) Agar extracto de malta para el cultivo, aislamiento y enumeración de hongos y levaduras. Recuperado de: www.condalab.com > int

- Córdova Á.V., Sánchez H. M., Estrella C. N., Macías L.A., Sandoval C. E. y Ortiz G. C. (2001). Factores que afectan la producción de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el ejido Francisco I. Madero de Plan Chontalpa, Tabasco, México. *Universidad y Ciencia*, 17, 93-100.
- Córdova L. C. Jaramillo V. J., Córdova Á.V., Carranza C. I., Morales J.J. (2018) Chocolate casero tradicional en la región de la Chontalpa Tabasco, México: actores y saberes locales. *Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo regional*, 28 (52).
- Franco C. M., Ramírez H. M., García G.R., Bernal G. M., Espinosa A.B., Solís F.J., Durán de Bazúa. (2010). Reaprovechamiento integral de residuos agroindustriales: cáscara y pulpa de cacao para la producción de pectinas. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias*, 1 (2):45-66.
- Gaitán H. R. (2000). Obtención de cepas de *Neolentinus suffrutescens* por entrecruzamiento, su caracterización *in vitro* y producción de cuerpos fructíferos a nivel planta piloto. *Revista Iberoamericana de Micología*, 17, 20-24.
- Gaitán H. R., Esqueda, M. Gutiérrez, A. Sánchez, A. Beltrán G. M., y Mata, G., (2006). Bioconversion of agrowastes by *Lentinula edodes* the high potential of viticulture residues. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71, 432-439.
- Gaitán, H. R., y Salmenes, D. (2015). Uso de residuos lignocelulósicos para optimizar la producción de inóculo y la formación de carpóforos del hongo comestible *Lentinula Boryana*, *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6 (7), 1639-1652.
- Gaitán-Hernández, R., Salmenes, D., Pérez Merlo, R. & Mata, G. (2006). Manual práctico del cultivo de setas: aislamiento, siembra y producción. 1era. ed., 1a. reimp. México: Instituto de Ecología, A. C. Xalapa, Veracruz
- Gao Y., Zhou S., Huang M., y Xu A. (2003). Antibacterial and Antiviral Value of the Genus *Ganoderma* P. Karst. Species (Aphyllorphomycetidae) A Review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 5 (3), 235-246. doi: 10.1615/InterJMedicMush.v5.i3.20

- García O. N., Bermúdez S. R. C., y Serrano A. M. (2011). Formulaciones de sustratos en la producción de setas comestibles *Pleurotus*. *Tecnología Química*, 31 (3), 272-282. Recuperado en 05 de septiembre de 2020, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852011000300002&lng=es&tlng=es.
- González M., Figlas D., Devalis R., Delmastro S., y Curvetto N. (2002). Sunflower seed hulls as a main nutrient source for cultivating *Ganoderma lucidum*. *Micología aplicada Internacional*, 14 (2), 19-24.
- Gutiérrez A., Tornesello J., Manfrino R., Hipperdinger M., Falvo M., D'Alessandro C. y López C., (2017). Organización y conservación de la colección de hongos patógenos y simbioses de insectos y otros artrópodos del CEPAVE (CONICET-UNLP), La Plata, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 49 (2), 183-188.
- Hapuarachchi K.K., Elkhateeb W.A., Karunarathna S.C., Cheng C.R., Bandara A.R., Kakumyan P., Hyde K.D., Daba G.M., y Wen T.C. (2018). Current status of global *Ganoderma* cultivation, products, industry and market. *Mycosphere*, 9 (5), 1025–1052. doi 10.5943/mycosphere/9/5/6.
- Islas S.M., Castañeda O.A., Álvarez D.A., Valenzuela G.R., Romero B.L., y Torres V. (2017). Estudio preliminar de la actividad antioxidante de tres especies del género *Ganoderma* (Polyporaceae) nativas del estado de Hidalgo, México. *Scientia Fungorum*, 46, 37-45.
- Jargalmaa S., Eimes J.A., Soo Park M., Young P., Yoon Oh S. y Woon L.Y. (2017). Taxonomic evaluation of selected *Ganoderma* species and database sequence validation. *Peerj*, 5 (7), 1-16. doi: 10.7717/peerj.3596
- Jayasinghe C., Imtiaj A., Hur H., Lee G.W., Lee T.S. y Lee U.Y. (2008). Favorable Culture Conditions for Mycelial Growth of Korean Wild Strains in *Ganoderma lucidum*. *Mycobiology*, 36 (1), 28-33.
- Jo W.S., Cho Y.J., Cho D.H., Park S.D., Yoo Y.B, y Seok S.J. (2009). Culture Conditions for the Mycelial Growth of *Ganoderma applanatum*. *Mycobiology*, 37 (2), 94-102. •

- Kapoor P. y Sharma B.M. (2014). Estudios on different growth parameters of *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Science, Environment and Technology*. 3, (4): 1515 – 1524.
- Küppers, H. (1996). Atlas de los colores. España. Editorial Blume.
- Lai T., Gao Y., y Zhou S.F. (2004). Global marketing of medicinal Ling Zhi mushroom *Ganoderma lucidum* (W.Curt:Fr.) Lloyd (Aphyllophoromycetideae) products and safety concerns. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 6 (2), 189–194.
- Li S., Dong C., Wen H. y Liu X. (2016). Development of Ling-zhi industry in China emanated from the artificial cultivation in the Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences (IMCAS) *Mycology*, 7 (2), 74–80.
- Linares B.B., Zapata M.E., Nazar B. A., y Suárez S.B. (2018). Reconversión productiva a palma de aceite en el Valle del Tulijá, Chiapas, México. Impacto diferenciado por género. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 15 (4), 487-506.
- López P.D., Gutiérrez A., Hernández N. E., Valenzuela R. y Esqueda M. (2016). Diversidad y distribución de *Ganoderma* (Polyporaes: Ganodermataceae) en Sonora, México. *Botanical Sciences*, 94 (2), 431-439.
- López P.D., Samaniego R.C, Morales E.I., Gutiérrez A., Gaitán H.R., y Esqueda M. (2019). Características morfológicas de *Ganoderma subincrustatum* silvestre y cultivada de Sonora, México. *Scientia Fungorum*, 49. e1213. doi: 10.33885/sf.2019.49.1213
- Luangharn T., Karunarathna SC., Khan S, Xu JC, Mortimer PE, Hyde KD (2017). Antibacterial activity, optimal culture conditions and cultivation of the medicinal *Ganoderma australe*, new to Thailand. *Mycosphere*, 8 (8): 1108–1123, Doi 10.5943/mycosphere/8/8/11.
- Luangharn T., Karunarathna SC., Mortimer P. E. (2019) A new record of *Ganoderma tropicum* (Basidiomycota, Polyporales) for Thailand and first assessment of optimum conditions for mycelia production. *MycKeys* 51: 65–83. doi: 10.3897/mycokeys.51.33513.

- Magday J. C., Bungihan M.E., y Dulay R.M.R. (2014). Optimization of mycelial growth and cultivation of fruiting body of Philippine wild strain of *Ganoderma lucidum*. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*, 4 (2), 162–172. doi 10.5943/cream/4/2/4.
- Martínez C. D., Curvetto N., Sobal P.M., Morales P. Y Mora V.M. (2010). Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y perspectivas del siglo XXI. Red Latinoamericana de hongos comestibles y medicinales-COLPOS-UNS-CONACYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla. 648 pp.
- Mshigeni K. E. y Chang S. (2017). Hongos Medio ambiente y salud humana. Tesoros de la tierra para la salud, la felicidad y la longevidad. VILE. Guatemala. 151 pp.
- Nahata, A. (2013) *Ganoderma lucidum*: A Potent Medicinal Mushroom with Numerous Health Benefits. *Pharmaceut Anal Acta*, 4: e159. doi: 10.4172/2153-2435.1000e159
- Nguyen B.T.T., Ngo N.X., Le V.V., Nguyen L.T., Kana R. y Nguyen H.D. (2019) Optimal culture conditions for mycelial growth and fruiting body formation of Ling Zhi mushroom *Ganoderma lucidum* strain GA3. *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, 61 (1), 62-67. doi: 10.31276/VJSTE.
- Ozcariz, F. M., Fraile F.R., Girbés J.T., Arce C.O., Oria de Rueda S., Marisa A.A. (2018). Use of lignocellulosic wastes of pecan (*Carya illinoensis*) in the cultivation of *Ganoderma lucidum*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 35 (2), 103-109. doi: 10.1016/j.riam.2017.09.005.
- Peksen, A., y Yakupoglu, G. (2009). Tea waste as a supplement for the cultivation of *Ganoderma lucidum*. *World J Microbiol Biotechnol*, 25, 611–618. doi :10.1007/s11274-008-9931-z
- Piepenbring M. (2015). *Introducción a la Micología en los Trópicos*. Alemania: Amer Phytopathological Society.

- Rolim, L. N., Sales C. C., Auxiliadora C. M. y Fontes U.A. (2014). Application of Chinese Jun-Cao Technique for the Production of Brazilian *Ganoderma lucidum* Strains. *Brazilian archives of Biology and technology an international Journal*, 57 (3), 367-373. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132014005000015>
- Roy D. N., Azad A. K., Sultana F., Anisuzzaman A.S. y Khondkar P. (2015a). Nutritional profile and mineral composition of two edible mushroom varieties consumed and cultivated in Bangladesh. *The Journal of Phytopharmacology*, 4 (4), 217-220.
- Roy S., Jahan M. A., Das K. K., Munshi S. K., y Noor R. (2015b). Artificial Cultivation of *Ganoderma lucidum* (Reishi Medicinal Mushroom), using Different Sawdusts as Substrates. *American Journal of BioScience*3, (5), 178-182. doi: 10.11648/j.ajbio.20150305.13
- SAGARPA. 2003b. Síntesis ejecutiva del cultivo de la palma de aceite en el estado de Chiapas. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. Gobierno federal. www.chp.sagarpa.gob.mx-/SectorAgropecuario/agricultura/palma.htm (consulta: 03 de septiembre 2020).
- Sánchez V. J., y Mata G. (2012). Hongos comestibles y medicinales en Iberoamérica, investigación y desarrollo en un entorno multicultural. INECOL. ECOSUR. 393 pp.
- Shahtahmasebi S. H., Pourianfar H. R., Mahdizadeh, V., Shahzadeh F. S. A., Amoozegar M. A., Nasr S. H., Zabihi S. S., Rezaeian S. H., Malekzadeh K. H., y Janpoor J. (2018). A preliminary study on domestication of wild-growing medicinal mushrooms collected from Northern Iran. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*, 8 (6), 606–623.
- Singh S., Harsh N. S. K. y Gupta P. K. (2014). A novel method of economical cultivation of medicinally important mushroom, *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5 (5), 2033-2037.
- Sobal M., Martínez C. D., Morales P., y Roussos S. (2007). Classical characterization of mushroom genetic resources from temperate and tropical regions of México. *Micología Aplicada Internacional*, 19 (1), 15-23.

- Stalpers, J. A. (1978). Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture. *Studies in Mycology*, 16: 1-248
- Tan W.C., Kuppusamy U.R., Phan C.W., Tan Y. S., Raman J., Anuar A.M y Sabaratnam V. (2015). *Ganoderma neo-japonicum* Imazeki revisited: Domestication study and antioxidant properties of its basidiocarps and mycelia. *Scientific Reports*, 5:12515. doi: 10.1038/srep12515
- Thakur R. y Sharma M.B. (2015). Deployment of indigenous wild *Ganoderma lucidum* for better yield on different substrates. *African Journal of Agricultural*, 10 (33), 3338-3341. doi: 10.5897/AJAR2015.9866
- Torres T. M., Ryvardeen L., y Dávalos G.L. (2015). *Ganoderma* subgenus *Ganoderma* in México. *Revista Mexicana de Micología*, 41: 27-45.
- Valginhak, D. A. y Santa, H. S. D. (2018). Potencial de utilização de resíduos da indústria papeleira como substratos para cultivo de *Ganoderma lucidum* (Reishi). *Revista Agrogeoambiental*, 10 (3), 9-23. doi: <http://dx.doi.org/10.18406/2316-1817v10n320181146>
- Van D. J. (2016). Subproductos de la palma de aceite como materias primas de biomasa. *Palmas*, 37 (2), 149-156.
- Velázquez M.J.R y Gómez V.A. (2010) Palma Africana en Tabasco: Resultados de investigación, Villahermosa, Tabasco: UJAT. 228 p
- Wasser S.P. (2011). Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89, 1323–1332. doi: 10.1007/s00253010-3067-4.
- Zervaskis, G., Philippoussis, A., Loannidou, S., Diamantopoulou, P. (2001). Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. *Folia Microbiologica*, 46, 231-234.
- Zhou X.W., Su Q.K., y Ming Z.Y. (2012). Applied modern biotechnology for cultivation of *Ganoderma* and development of their products. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93, 941–963. doi: 10.1007/s00253-011-3780-7.

Zuñiga L.F. y Pineda B., Mestizo Y., Sarria G. Varón F. y Martínez G. (2013). Aislamientos de *Ganoderma sp.* Y pruebas de patogenicidad en plántulas de palma de aceite en Colombia. *Fitopatología Colombiana*, 37, 31-35.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México