Biorrefinería













El Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA), es una institución de Investigación, Desarrollo e Innovación (I+D+i), constituida bajo la forma de Fundación, sin fines de lucro y de utilidad común. Es una persona jurídica de derecho privado, reconocida por Estado el ecuatoriano mediante acuerdo número 026 del 17 de marzo de 2009 del Ministerio del Ambiente y publicado en el Registro Oficial número 579 del 28 de abril de 2009. El CEBA mantiene un enfoque científicoempresarial, con una filosofía de trabajo por resultados fundamentada competitividad. Promueve y apoya toda actividad encaminada a conseguir equilibrio adecuado para el desarrollo económico, crecimiento de la población, uso

racional de los recursos, protección y conservación del ambiente.

Los resultados científicos se difunden a través de su revista científica Bionatura (www.revistabionatura.com).

La **misión** del CEBA es proveer el soporte científico, tecnológico y empresarial a la BIOECONOMÍA Ecuatoriana, mediante el desarrollo de la **Estrategia ecuatoriana de Bioeconomía** (EEB), que permitan el máximo aprovechamiento de la biodiversidad en el marco del desarrollo global y sustentable.

La **visión** del CEBA es poner al alcance de todas las personas del mundo la cooperación científica, técnica y empresarial en el campo de la BIOECONOMÍA.

El CEBA se alinea a los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la ONU y al Plan Nacional del Buen Vivir:

- Mejorar la calidad de vida de la población.
- Garantizar los derechos de la naturaleza y promover la sostenibilidad ambiental territorial y global.
- Impulsar la transformación de la matriz productiva.
- Asegurar la soberanía y eficiencia de los sectores estratégicos para la transformación industrial y tecnológica.

Dr. C. Julio Pineda Insuasti, PhD

Director Ejecutivo
Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente
Periférico Sur s/n, Fincas San Agustín (San Antonio)
Cel: (+593) 99 5797813, cebaecuador@gmail.com, www.ceba.org.ec
Ibarra-Ecuador

Biorrefinería

La Revista Biorrefinería publica trimestralmente en español o inglés trabajos inéditos de investigaciones básicas y aplicadas en los campos de la Bioeconomía, Bioagricultura, Bioalimentación, Biosalud, Bioambiente, Bioenergía, Bioindustria y otras disciplinas afines a las Ciencias de la Vida, dirigidas a la generación de nuevos conocimientos, evaluación y desarrollo de nuevas tecnologías, productos y procedimientos de trabajo con impacto a nivel mundial.

Consejo Editorial / Editorial Board		Co	Comité Científico / Scientific Comittee		
1.	Dr. C. Julio Pineda Insuasti, PhD.	1.	Dr. Rubén Del Toro, PhD. PUCE, Ecuador		
	Director Ejecutivo / Executive Director.	2.	Dr. José País, PhD, UTN. Ecuador		
2.	Lcda. M. Vanessa Rocha Cabuyales	3.	MSc. Jimmy Núñez, UTN. Ecuador		
	Editora de Sección / Section Editor	4.	MSc. Elsa Sulay Mora Muñoz. UTN, Ecuador		
3.	Dr. C. Gualberto León Revelo, PhD.	5.	MSc. Edwin Ortiz Rodríguez. GAD Antonio Ante, Ecuador		
	Editor Técnico / Technical Editor.	6.	MSc. Gustavo Reyes Lara. CEBA, Ecuador		
4.	Ing. Astrid Stefanía Duarte Trujillo.	7.	Ing. Carlos Alfonso Santillán. CEBA, Ecuador		
	Editor Académico / Academic Editor.	8.	Dr. C. Fidel Domenech PhD. ONUDI, Cuba		
		9.	Dr. César Zuleta, PhD. PUCE, Ibarra, Ecuador		
		10.	MSc. Claudia Soto Arroyave. UCO, Colombia		
		11.	MSc. Napoleón Benavides. MAE, Ecuador		
Е	quipo Técnico / Technical Team	12.	Ing. Rubén Darío Guzmán. IANCEM, Ecuador		
		13.	Abg. César Augusto Ponce. CEBA, Ecuador		
1.	Msc. Tatyana Saltos Echeverría,	14.	MSc. William Gómez Andrade. Aglomerados SA, Ecuador		
	Asistente de publicación / Publication	15.	MSc. Klever Ayala Pastaz. CEBA, Ecuador		
	assistant.	16.	MSc. Juan Carlos Fiallos. ESPOCH, Ecuador		
2.	Camilo Alejandro Pineda Soto.	17.	Ing. Mario Cujilema. U de Camagüey, Cuba		
	Diagramador y Diseñador /	18.	Dr. C. Ernesto Rosero Delgado, PhD. UTM, Ecuador		
	Diagrammer and Designer	19.	Dra. Gabriela Cifuentes Guerra, PhD. Qualiphar, Ecuador		
		20.	MSc. Javier Jiménez Forero. UNILLANOS, Colombia.		
		21.	MSc. Estefanía Andrade. FLACSO, Ecuador		
		22.	Msc. José Huaca. UTN, Ecuador.		
		23.	Dr. C. Ernesto Osejos, PhD. UTN, Ecuador		
		24.	Dr. C. Luis Enrique Trujillo Toledo, PhD. ESPE, Ecuador		

ISSN digital: 2602-8530

URL: http://www.ceba.org.ec/publicaciones/revista-biorrefineria/

Contacto: biorrefinería.ceba@gmail.com

Tabla de contenido

Biocontroladores: una alternativa para el agro	5
Obtención de cepas puras de Pleurotus djamor	17
Influencia del tamaño de partícula, la agitación y el tiempo en la extracción de sustano de la seta ostra (Pleurotus ostreatus)	
Banco de recursos genéticos para Pycnoporus spp	37
Obtención de cepas puras de Psilocybe spp	47
Caracterización físico química de residuos sólidos urbanos del mercado Amazonas ciu	
Instrucciones a los autores	65

Biocontroladores: una alternativa para el agro

Biocontrollers: an alternative for agriculture

Pablo Roberto Vela Núñez¹, Julio Amilcar Pineda Insuasti², Astrid Stefanía Duarte Trujillo³

- ¹ Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra, Ecuador.
- ² Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.
- ³ CasOrellana, Andalucía, Colombia.

Autor para correspondencia: velapablo1981@gmail.com

Recibido: octubre 21 de 2019 Aceptado: diciembre 23 de 2019

RESUMEN

La demanda mundial de alimentos está creciendo continuamente y los patrones de consumo se están inclinando hacia lo ecológico, inocuo y orgánico; por lo que la agricultura sostenible está en auge. El objetivo de este trabajo es describir cómo los biocontroladores permiten responder sosteniblemente a la demanda mundial de alimentos, destacando su importancia en el crecimiento agrícola del Ecuador. Una revisión exhaustiva de la literatura permitió concluir que el control biológico constituye una alternativa viable en el Ecuador ya que el marco legislativo le promueve, el país es altamente biodiverso y la economía agrícola está en crecimiento.

PALABRAS CLAVE: bioinsumos, sostenibilidad, agricultura, biotecnología aplicada.

ABSTRACT

The world demand for food is growing continuously and consumption patterns are leaning towards the ecological, innocuous and organic; so sustainable agriculture is booming. The objective of this paper is to describe how biocontrollers can sustainably respond to the global demand for food, highlighting its importance in the agricultural growth of Ecuador. An exhaustive review of the literature allowed to conclude that biological control constitutes a viable alternative in Ecuador since the legislative framework promotes it, the country is highly biodiverse and the agricultural economy is growing.

KEYWORDS: bioinsumers, sustainability, agriculture, applied biotechnology.

INTRODUCCIÓN

El ensayo sobre el Principio de la Población (Malthus, 1846) que afirma que la población aumenta exponencialmente mientras los alimentos se producen linealmente, alarmó a la comunidad internacional, al igual que la obra de Ehrlich (1968) denominada la Explosión Demográfica o la Bomba P, que predecía una hambruna masiva a causa del aumento

poblacional. A partir de allí los gobiernos implementaron políticas demográficas para frenar el aumento explosivo de la población, dado durante la primera mitad del siglo XX. Además, el auge de la revolución verde, que consistía en la siembra de variedades mejoradas de plantas y el uso de agroquímicos, permitió el aumento de los rendimientos de los cultivos (Sumpsi, 2012). No obstante, polémicas se desataron sobre la pertinencia de

emplear agroquímicos para obtener estos resultados, ya que estudios afirmaron que la mala gestión de los agro-insumos afecta negativamente el medio ambiente y la salud de los trabajadores.

El objetivo de este artículo es describir cómo los biocontroladores permiten responder sosteniblemente a la demanda mundial de alimentos, destacando su importancia en el crecimiento agrícola del Ecuador.

LA CRISIS DE LOS PLAGUICIDAS

Una plaga es cualquier planta, animal o microorganismo que aumenta su densidad de manera que perjudica directa indirectamente al ser humano; para el caso de la agricultura, la afección se traduce en pérdidas económicas (Brechelt, 2010). Un pesticida o plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias cuyo fin es prevenir, destruir o controlar cualquier plaga (WHO & FAO, 2010). El término plaguicida abarca una gama de compuestos insecticidas, fungicidas, herbicidas, raticidas, molusquicidas, nematicidas, reguladores del crecimiento de las plantas y otros (Aktar, Sengupta, & Chowdhury, 2009).

Los plaguicidas constituyen contaminantes persistentes porque pueden encontrarse volatilizados en el aire, la lluvia, las nubes y la neblina, representando un riesgo para los seres vivos no objetivo (Kommanet, 1998) (Aktar, Sengupta, y Chowdhury, 2009). Una forma de cuantificar el impacto de dichos químicos es mediante el método de evaluación del ciclo de vida medioambiental (Margni, Rossier, Crettaz, & Jolliet, 2002).

El desequilibrio en el ecosistema de los cultivos agrícolas incide negativamente en la calidad de vida de los agricultores y la salud de los consumidores (Duarte, 2012). La alimentación es la fuente de mayor nivel de exposición a residuos de pesticidas para los humanos; se reporta que es alrededor de 10³ a 10⁵ veces

mayor que a la exposición en el aire y el agua (Margni, Rossier, Crettaz, y Jolliet, 2002). Está reportado que muchas de las llamadas "nuevas enfermedades" son generadas por la inadecuada calidad de los alimentos (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2002) y que los factores ambientales son responsables de más del 24 % de la carga mundial de enfermedad y de alrededor del 36 % de las muertes de los niños (Prüss-Üstün y Corvalán, 2005).

En los animales no diana, los plaguicidas inducen efectos adversos en las funciones reproductivas e inmunológicas; en plantas no provocan disminución de rendimientos y mayor susceptibilidad enfermedades; y en el suelo ocasionan pérdida de fertilidad, al resultar mortales para los microorganismos benéficos que participan en los ciclos de carbono y nitrógeno. Los plaguicidas constituyen contaminantes persistentes, exposición prolongada a estos químicos puede ocasionar en el ser humano trastornos cardiopulmonares, neurológicos y hematológicos, enfermedades de la piel (Pingali, Marquez, Palis, y Rola, 1995), alteraciones endocrinas (Campos y Freire, 2016), hiperlipidemia en fetos (Monteagudo et al., 2016), entre otros malestares.

Con el paso del tiempo, las plagas se han hecho resistentes a los pesticidas, haciendo necesario el empleo de dosis de más grandes para lograr el mismo efecto, lo que genera mayores costos de producción por concepto de aumento de los requerimientos de agroinsumos y mayor liberación de estos compuestos contaminantes al ambiente (Laxminarayan, 2003).

Los pesticidas de mayor impacto son endosulfán, clorpirifós, cipermetrina (Ronco *et al.*, 2008), lambdacialotrina, carbofurano y fipronil (Vieira, Noldin, Deschamps, y Resgalla, 2016).

SITUACIÓN GLOBAL

En vista del disímil crecimiento poblacional con respecto a la producción de los alimentos y su inequitativa distribución, se creó el Programa Especial para la Seguridad Alimentaria (PESA) en 1994, con el objetivo de reducir la incidencia del hambre y la malnutrición en países en desarrollo (FAO, 2003). Este fue el abrebocas para que en noviembre de 1996 se realizara en Italia la primera Cumbre Mundial sobre la Alimentación, donde representantes de 185 países y de la Comunidad Europea se reunieron en torno a un tema principal: la erradicación del hambre. Bajo el marco de este evento se firmó la Declaración de Roma sobre la seguridad alimentaria mundial, donde los países se comprometieron a consagrar su voluntad política y a realizar un esfuerzo común y constante para erradicar el hambre de todos los países, con el objetivo inmediato de reducirla a la mitad para el 2015 (FAO, 1996). Estas intenciones se reafirmaron años más tarde durante la Declaración del milenio, donde se establecieron los ocho objetivos del milenio, entre los cuales se destaca la erradicación del hambre y la garantía de la sostenibilidad ambiental (ONU, 2000). En la Cumbre Mundial sobre la Alimentación del año 2009 se reconoció la importancia de la agricultura sostenible como una forma de aumentar la producción sin afectar el medio ambiente, y se manifestó el compromiso de los países para gestionar políticas que permitan a pequeños agricultores acceder tecnologías agrícolas sostenibles mediante créditos, subvenciones, capacitaciones, entre otras estrategias. Lo anterior para lograr un mejor aprovechamiento de los recursos naturales, y a la vez se proteja y se conserve el medio ambiente (FAO, 2009a). La agricultura sostenible es la consolidación de tres objetivos principales: la salud ambiental, la rentabilidad económica y la equidad social. Puede lograrse mediante la aplicación de diversas prácticas agrícolas como la diversificación de los cultivos, la diversidad genética, la gestión integrada de los nutrientes, la gestión integrada de plagas, la gestión sostenible del agua, la tecnología poscosecha y programas de extensión de sonido (Verma, Jaiswal, Meena, Kumar, y Meena, 2015).

A pesar del enorme esfuerzo hecho durante el primer quindenio del siglo XXI, todavía existen 800 millones de personas en situación de desnutrición crónica a nivel mundial (ONU, 2015); sumado a esto, la población mundial ha aumentado el 29% en los últimos 30 años (Banco Mundial [BM], 2016), mientras que el consumo de alimentos por persona, en términos calóricos, lo ha hecho el 17% (Alexandratos y Bruinsma, 2012). Es paradójico que aumente el consumo calórico por persona, pero todavía persista la desnutrición en países en desarrollo, lo que se debe principalmente a la inequitativa distribución de los alimentos. A escala mundial, hay comunidades donde el alimento insuficiente y provoca estados de desnutrición severa, mientras en otras las dietas son hipercalóricas, conduciendo a su población a la obesidad (van Mil, Foegeding, Windhab, Perrot, y van der Linden, 2014).

Se estima que para el año 2050 la población mundial aumentará un 35%, y que la población urbana pasará del 49 % al 70 %; por lo cual la producción mundial de alimentos debe aumentar un 70 % y duplicarse en los países en desarrollo, teniendo en cuenta que cada vez es menos la población rural (Sumpsi, 2012). Además, el consumo de alimentos por persona aumentará un 11 % para 2050 (Alexandratos y Bruinsma, 2012), lo que enfatiza en la necesidad de aumentar la producción agrícola para responder a la demanda mundial de alimentos. Según previsiones de FAO (2009), el 90 % del aumento de la producción para el año 2050 procederá del aumento del rendimiento de los cultivos, mientras el porcentaje restante corresponderá a un aumento de la superficie cultivada, lo que resulta en una disminución de la superficie agraria por habitante en un contexto de escasez de recursos (agua, tierra...) y cambio climático (Karunasagar y Karunasagar, 2016).

Retos mundiales como la seguridad alimentaria, los cambios ambientales a nivel mundial y la desnutrición necesitan un enfoque multidisciplinario para abordar los problemas asociados con ellos (Karunasagar y Karunasagar, 2016). Sumpsi (2011) menciona que los progresos para afrontar dichos retos se verán obstaculizados por los impactos del cambio climático en la productividad agraria, la resistencia de las plagas a los plaguicidas y el aumento de la utilización de materias primas agrarias como insumos para la producción de biocombustibles. Además, el crecimiento de la productividad para el 2050 será de alrededor del 0,8 % anual, en contraste con el 2,1 % anual reportado durante la primera década del siglo XXI (FAO, 2009; OCDE/FAO, 2013; Montealegre y Pérez, 2015).

La FAO estima que las pérdidas en producción a causa de diferentes plagas oscila entre el 20 y 40 %, siendo predominantes en Asia, África y Sudamérica, cuyo participación en las pérdidas mundiales es del 43%, 42% y 33% respectivamente (UNAD, 2001). En los cultivos de arroz las pérdidas pueden llegar hasta el 51% (Oerke y Dehne, 2004).

Sumado a la necesidad de aumentar los rendimientos en la agricultura y a las restricciones referente a la superficie de cultivo; las nuevas exigencias del mercado en términos de inocuidad y ecología reflejan la necesidad de impulsar e implementar tecnologías sostenibles que permitan aumentar la producción agrícola mediante el aumento de la productividad y el Manejo Integrado de Plagas (MIP) y enfermedades, causantes de muchas pérdidas económicas a los productores de alimentos. El MIP se enfrenta a retos tanto externos como internos, en el primer grupo se encuentra el aumento de las necesidades para el control de plagas debido al cambio climático, el desarrollo de resistencia de estas plagas a los pesticidas, y la

complejidad para diseñar estrategias sostenibles eficaces para su control (Lamichhane *et al.*, 2016; FAO, 2009b).

La implementación de agentes de control prácticas agrícolas biológico en las incrementado los últimos en años, principalmente en los países desarrollados, mientras que en los países en desarrollo ha sido escasa (Murillo, Rueda, García, y Ruiz Espinoza, 2010). Se reporta que los países en desarrollo consumen el 70 % de los agroquímicos del mundo (Alexandratos y Bruinsma, 2012), y el aumento de consumo es del 5,4 % anual (Oerke y Dehne, 2004), lo cual es alarmante. Este comportamiento erróneo se debe principalmente a: la necesidad de asegurar su supervivencia económica; la ignorancia sobre la insostenibilidad del uso de plaguicidas; la falta de diagnóstico del estado de su salud por exposición a estos químicos, ya usualmente suele atribuir enfermedades a otras causas. Además, muchas variedades de plantas mejoradas están adaptadas al uso de estos guímicos para obtener altos rendimientos, por ejemplo, las variedades de plantas RR. Lo que desconocen los productores es que el retorno de inversión en tecnologías orgánicas (como el uso de biocontroladores) es constante mientras el de tecnologías convencionales (como el uso de pesticidas) presenta un aumento exponencial inicial del retorno de inversión y luego un declive abrupto, puesto que con el tiempo deteriora la calidad de los recursos naturales y habría que invertir más dinero en su recuperación (Wilson y Tisdell, 2001).

Es necesario implementar estrategias de promoción para su implementación, ya que todavía gran cantidad de productores agrícolas de países en desarrollo emplean pesticidas y fertilizantes, cuyo carácter tóxico y persistente ya ha sido comprobado en varios estudios (Alexandratos y Bruinsma, 2012).

AMÉRICA LATINA

América Latina y el Caribe (ALC) contribuyen al 11 % de la producción mundial de alimentos y poseen el 24 % de las tierras cultivables del mundo (IDB, 2016). La tasa de crecimiento anual del sector agrícola en los últimos tres años fue del 2,9 %, superior al crecimiento de economía (2,6%); lo que se debió principalmente al crecimiento de productividad, que correspondió a 2,2 puntos porcentuales del aumento reportado en la producción agrícola (3,2 %), mientras el punto porcentual restante se debió a la expansión de la superficie de cultivo. Dicho crecimiento fue notorio principalmente en Sudamérica, donde se presentaron elevados volúmenes de cereales y oleaginosas durante 2013-2014, que a diferencia de Centro América presentó condiciones climáticas favorables. En cuanto a comercio internacional. ALC presentó disminución de exportaciones sus agroalimentarias en un 2,5% mientras sus importaciones lo hicieron un 8% a causa de la fuerte competencia con países africanos y China, que han presentado un ritmo de crecimiento acelerado durante los últimos años. ALC es la región que ha presentado más pérdida de dinamismo; seguida de Asia, sin incluir China. (CEPAL, FAO, y IICA, 2015).

Pese a estos inconvenientes, los países de la región han realizado esfuerzos importantes para incrementar la productividad agrícola y el agregado de los productos. valor incremento de la productividad fue posible gracias a la adopción de tecnologías e innovaciones como la utilización de organismos genéticamente modificados (OGM),tecnologías de labranza cero, producción bajo ambientes protegidos, principalmente. También hubo un aumento de concientización de grado productores agrícolas sobre el cambio climático y la necesidad de producir utilizando métodos más ecológicos para lograr un crecimiento estable y sostenido del sector. Por tanto, se ha visto un aumento del uso de bioinsumos, que todavía no es generalizado, pero será tendencia durante los años venideros, logrando así responder a una creciente demanda de productos orgánicos y gourmet (CEPAL *et al.*, 2015).

ECUADOR

La agricultura es uno de los ejes principales sobre los que se desenvuelve la economía nacional (Monteros Guerrero, Sumba Lusero, y Salvador Sarauz, 2013), durante la última década ha representado el 8 % del Producto Interno Bruto (PIB) agropecuario con un crecimiento del 4 % al año. Se fundamenta principalmente en la producción de banano, café, cacao, flores y actividades pecuarias; donde más del 50 % es exportable. El valor de las exportaciones agropecuarias cuadriplica el de las importaciones y se ha visto sustentado por el aumento de la productividad en un 6 % durante el 2015 y el de la producción nacional en un 4 % durante 2015 y un 54 % durante los últimos diez años. Este posicionamiento del sector agropecuario en la economía nacional durante el año 2015 ha sido posible gracias a las políticas gubernamentales que permiten un mayor acceso a los agro insumos y crean un favorable mercado para el productor ecuatoriano. Para el año 2015 se reportó un crecimiento del 7,4 % en el Índice de Precios al Productor (IPP), que incentiva al productor ecuatoriano y garantiza la sostenibilidad de la producción; disminuciones del 11 % para el Índice de Fertilizantes (IPF) y del 0,3 % para el Índice de Agroquímicos (IPI), teniendo en cuenta que todos los pesticidas tendieron al alza con excepción de los herbicidas. Es necesario resaltar que la contribución promedio de los fertilizantes al costo de producción del agricultor es del 22 % mientras la de los agroquímicos es de tan sólo el 6,7 % (Monteros Guerrero y Salvador Sarauz, 2015).

Los pesticidas empezaron a emplearse durante la segunda mitad del siglo XX, muchos de los cuales provenían de subvenciones estatales en respuesta a la llamada "Revolución verde" que

pretendía aumentar la productividad del agro para poder responder a la creciente demanda mundial de alimentos. Con el tiempo se fueron comprobando los efectos nocivos de estos químicos en el ambiente y la salud de los quienes lo desconocían trabajadores, (Grieshop y Winter, 1989). Un estudio afirma que las principales causas de que se siga empleando estos químicos pese a que se conozca su impacto negativo en el medio ambiente y la salud son: falta conocimientos sobre el manejo de pesticidas, tecnología obsoleta y mayor prevalencia dada al ámbito económico sobre la salud humana (Love y Pollanis, 2015).

En vista de la necesidad de aumentar la productividad agrícola y de que el Plan Nacional Para el Buen Vivir plantea garantizar los derechos de la naturaleza y promover la sostenibilidad ambiental territorial y global, así como consolidar el sistema económico social y solidario, de forma sostenible (SENPLADES, 2013), es recomendable la Gestión Integrada de Plagas con agentes biológicos.

ZONA 1

Esta situación ha afectado principalmente a Carchi cuyos cultivos de papa han sido confiados a los pesticidas desde 1960. Entre los principales pesticidas empleados se el uso de fungicidas reportó ditiocarbamatos de metales e insecticidas como organofosforados y carbofuranos, que se aplicaban sin medidas de protección por diversas razones como la presión social en términos de masculinidad, y limitaciones de calidad, disponibilidad y costo, lo que desencadenaba en cuadros clínicos toxicidad. Adicionalmente, las prácticas de disposición de desechos contaminaban otros lugares no objetivo. Por tanto, el Instituto Autónomo de Investigaciones Nacional Agropecuarias (INIAP) realizó a finales de siglo talleres de capacitación a los campesinos; abarcando temas como la dosificación de los pesticidas, las buenas prácticas a la hora de manipular estos químicos y el control biológico, logrando mantener el mismo nivel de producción de papa con la mitad de los en pesticidas V fertilizantes. Posteriormente se realizó la reunión titulada "El impacto de los plaguicidas en la Salud, la Producción y el Medio Ambiente", donde participaron 105 representantes del gobierno, desarrollo. organizaciones de industria. comunidades y medios de comunicación; a partir de allí surgió la "Declaración para la Vida, Medio Ambiente y Producción en Carchi", que reglamenta la formulación de agroquímicos y prohibición de los altamente tóxicos por parte del Servicio Ecuatoriano de Salud Agrícola (SESA), la realización de actividades educativas sobre el uso de pesticidas, la inversión estatal en Gestión Integrada de Cultivos. Sin embargo, la presión de la industria de plaguicidas persuadió a funcionarios del gobierno para retirar el apoyo para la reducción y eventual eliminación de los pesticidas extremadamente tóxicos (Cole, Sherwood, Crissman, Barrera, y Espinosa, 2002; Crissman, Cole, y Carpio, 1994).

A inicios del siglo XXI, pese a que la mayor parte de trabajadores de la Amazonía y de la Sierra Norte ecuatoriana eran conscientes del impacto nocivo de los plaguicidas, se siguieron empleando estos químicos para no perjudicar los rendimientos de los cultivos y asegurar su estabilidad económica, a la vez que se continuaron realizando una serie de conductas inadecuadas que ponían en riesgo el medio ambiente y la salud de los trabajadores (Hurtig et al., 2003).

Con la financiación del Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo (IDRC), otros donantes, investigadores y juntas parroquiales se ha logrado con el tiempo encontrar formas de reducir el uso de pesticidas y la exposición de las familias de los agricultores, sin reducir los rendimientos. No obstante, la tasa de intoxicación por plaguicidas en Carchi se encuentra entre las más altas del mundo; pues 4 de cada 100 habitantes sufre intoxicación

mientras 4 de cada 10 000 mueren a raíz de estos químicos. Los riesgos se acentúan por el hecho de que los plaguicidas más comunes en esta zona están entre los más peligrosos del mundo, que adicionalmente son los más baratos (Stephen, 2003) y porque las soluciones para fumigar son usualmente preparadas en casa, involucrando a todos los miembros del hogar (Mera-Orcés, 2001). En el año 2006 un estudio demostró que estos químicos son causantes de crecimiento retrasado. anomalías neuroconductuales (Grandjean, Harari, Barr, y Debes, 2006), inhibición de la coliesterenasa, disrupción endocrinos y cáncer (Crissman et al., 1994; Srivastava y Singh, 2013).

ALTERATIVAS SOSTENIBLES

Sumpsi (2012) propone cuatro tecnologías sostenibles económica y ambientalmente, estas son: a) La agricultura de conservación, que se basa en el laboreo mínimo o nulo de la tierra, y la siembra de cultivos asociados o intercalados; b) la agricultura de precisión para el uso eficiente de fertilizantes y del agua de riego; c) la Gestión Integrada de Plagas y enfermedades, que combina el uso de variedades de plantas resistentes y el uso razonable de pesticidas; d) la conservación y el uso sostenible de la biodiversidad, mediante la mejora genética. No obstante, existen todavía preocupaciones por algunos riesgos hipotéticos de los organismos genéticamente modificados, en lo referente a la salud humana, la nutrición, el medio ambiente natural, la viabilidad económica y el desarrollo rural (Morales Estupiñán, 2001), principalmente en los países en desarrollo. Por su parte, la Gestión Integrada de Plagas (MIP) pretende el crecimiento de cultivos sanos con el menor impacto ambiental, haciendo uso de mecanismos naturales (Duarte, 2012).

El biocontrol constituye una estrategia biotecnológica ecológicamente limpia y compatible con la agricultura orgánica y el MIP (Monte y Llobell, 2003). El objetivo de usarlo es crear un equilibrio entre las plagas y los biocontroladores, de modo que la plaga llegue a un nivel donde ya no sea dañina. Además, el biocontrol presenta amplias ventajas sobre las prácticas convencionales de control de plagas, ya que es económico, no genera resistencia en las plagas, no pone en riesgo la salud de los fumigadores y no afecta el medio ambiente. Sin embargo, su uso es completamente preventivo, no retroactivo, ya que actuar cuando la plaga está en pleno auge no trae resultados (Hanke, 2012).

Los bioinsumos surgieron como respuesta a la demanda mundial de alimentos trazables, inocuos y ecológicos; ya que sin tener compuestos contaminantes en su formulación mejoran la productividad, la calidad y la salud de las plantas, o las características biológicas del suelo. Son productos elaborados a partir de microorganismos, los cuales son seleccionados por su capacidad de promover el crecimiento vegetal, directamente al facilitar la absorción de nutrientes por la planta o indirectamente al contribuir al control de enfermedades y plagas. Por tanto, los bioinsumos pueden dividirse en biofertilizantes biocontroladores, aunque a veces la misma cepa microbiana posee ambas funciones (Nora Altier, Elena Beyhaut, 2012); tal es el caso de Beauveria spp., que además de parasitar hongos patógenos de plantas induce el crecimiento de las plantas y su respuesta inmunitaria tanto localizada como sistémica (Dou et al., 2014). Algunos de los productos orgánicos utilizados en el biocontrol de enfermedades se incluyen hongos como Trichoderma harzianum y Gliocadium virens, actinomicetos como Streptomyces griseoviridis y bacterias como Bacillus subtilis. (Murillo et al., 2010).

El desarrollo de bioproductos constituye una forma de valorización de la biodiversidad a través de la biotecnología, permitiendo su aprovechamiento económico de forma sostenible con potencial industrial (Quezada,

Roca, Szauer, Gómez, y López, 2005; Ramón et al., 2005). Esto constituye una ventaja comparativa para los cinco países miembros de la Comunidad Andina de Naciones (CAN), entre los que se encuentra Ecuador; ya que poseen alrededor del 25 % de la biodiversidad mundial (Manosalvas, Estrella, Mariaca, y Ribadeneira, 2005).

El Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB), firmado en la década de los 90's (incluyendo a la CAN), declara la soberanía de los Estados sobre sus recursos genéticos y establece lineamientos para el acceso y uso de

dichos recursos. Para el caso específico del Ecuador, existe el Grupo Nacional de Trabajo sobre Biodiversidad (GNTB), y dentro de él varios subgrupos como el de Bioseguridad y Acceso a Recursos Genéticos (Manosalvas et al., 2005), alineados a la Estrategia Nacional de Biodiversidad 2015-2030 (Ministerio del Ambiente del Ecuador [MAE], 2015). Se evidencia la importancia de los Bancos de Genéticos (BRG) Recursos con potenciales para uso como como bioinsumos, lográndose identificar y conservar las especies para su estudio y/o posterior selección con fines industriales.

CONCLUSIÓN

El control biológico constituye una alternativa para aumentar la productividad del agro de forma sostenible, con el objetivo de responder a la creciente demanda mundial de alimentos, que a la vez presenta nuevas características de consumo, entre las que se destaca la ecología y la inocuidad. El Ecuador presenta ventajas comparativas frente a estos retos de la agricultura, principalmente: un marco legislativo que promueve el desarrollo sostenible, gran riqueza en biodiversidad y una economía agrícola creciente.

REFERENCIAS

- Aktar, W., Sengupta, D., & Chowdhury, A. (2009). Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, *2*(1), 1–12. https://doi.org/10.2478/v10102-009-0001-7
- Alexandratos, N., & Bruinsma, J. (2012). *World Agriculture: towards 2015-2030: the 2012 revision* (No. 12-03). Rome. Retrieved from http://large.stanford.edu/courses/2014/ph240/yuan2/docs/ap106e.pdf
- Banco Mundial [BM]. (2016). Población Mundial. Retrieved June 20, 2008, from http://datos.bancomundial.org/indicador/SP.POP.TOTL
- Brechelt, A. (2010). El manejo ecológico de plagas y enfermedades. Santiago de Chile: O'Reilly Media publishers. Retrieved from http://www.rap-al.org/articulos_files/Manejo_Ecologico_de_Plagas_A.Bretchel.pdf
- Campos, É., & Freire, C. (2016). Exposure to non-persistent pesticides and thyroid function: A systematic review of epidemiological evidence. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 219(6), 481–497. https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.05.006
- Cole, D. C., Sherwood, S., Crissman, C., Barrera, V., & Espinosa, P. (2002). Pesticides and Health in Highland Ecuadorian Potato Production: Assessing Impacts and Developing Responses. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 8(3), 182–190. Retrieved from http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Pesticedes.pdf
- Comisión Económica para América Latina y el Caribe [CEPAL], Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], & Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura [IICA]. (2015). Perspectivas de la agricultura y del desarrollo rural en las Américas: una mirada hacia

- América Latina y el Caribe 2015 2016 (Sexta). San José: CEPAL, FAO, IICA.
- Crissman, C., Cole, D. C., & Carpio, F. (1994). Pesticide Use and Farm Worker Health in Ecuadorian Potato Production. *American Journal of Agricultural Economics*, *76*(3), 593–597. Retrieved from http://www.jstor.org/stable/1243670
- Dou, K., Wang, Z., Zhang, R., Wang, N., Fan, H., Diao, G., & Liu, Z. (2014). Cloning and characteristic analysis of a novel aspartic protease gene Asp55 from Trichoderma asperellum ACCC30536. *Microbiol. Res.*, 169(12), 915–923. https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.04.006
- Duarte, F. (2012). El control biológico como estrategia para apoyar las exportaciones agrícolas no tradicionales en Perú: un análisis empírico. *Contabilidad y Negocios*, 7(14), 81–100.
- Ehrlich, P. R. (1968). *The Population Bomb*. New York: Ballantine Books. Retrieved from http://faculty.washington.edu/jhannah/geog270aut07/readings/population/Ehrlich Population Bomb Ch1.pdf
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (1996). *Declaración de Roma sobre la seguridad alimentaria mundial y plan de acción de la cumbre mundial de la alimentación* (No. 338.19 C969d). Roma. Retrieved from http://www.fao.org/docrep/003/w3613s/w3613s00.htm
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2003). EL Programa Especial para la Seguridad Alimentaria: Respuesta a los nuevos desafíos. Retrieved June 20, 2008, from http://www.fao.org/docrep/006/ac828s/ac828s00.htm
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2009a). *Cumbre Mundial sobre la Seguridad Alimentaria* (No. WSFS 2009/2). Italia.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2009b). How to Feed the World in 2050. High-level expert Forum 12-13 October. Rome. Retrieved from http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/Issues_papers/HLEF2050_Global_Agricult ure.pdf
- Grandjean, P., Harari, R., Barr, D. B., & Debes, F. (2006). Pesticide Exposure and Stunting as Independent Predictors of Neurobehavioral Deficits in Ecuadorian School Children. *Pediatrics*, 117(3), e546–e556. https://doi.org/10.1542/peds.2005-1781
- Grieshop, J. I., & Winter, D. M. (1989). Agricultural pesticide accidents and prevention in ecuador. Accident Analysis & Prevention, 21(4), 394–398. https://doi.org/10.1016/0001-4575(89)90033-X
- Hanke, G. (2012). El control biológico: base de la agricultura sostenible. *La Revista Agraria*, 144(13), 10–11. Retrieved from http://www.larevistaagraria.org/content/el-control-biológico-base-de-la-agricultura-sostenible
- Hurtig, A., San Sebastián, M., Soto, A., Shingre, A., Zambrano, D., & Guerrero, W. (2003). Pesticide use among farmers in the Amazon basin of Ecuador. *Arco Environ Health.*, *58*(4), 223–228. https://doi.org/10.3200 / AEOH.58.4.223-228
- Inter-American Development Bank [IDB]. (2016). Agriculture in Latin America by the numbers. Retrieved June 20, 2008, from http://www.iadb.org/en/about-us/about-the-inter-american-development-bank,5995.html
- Karunasagar, I., & Karunasagar, I. (2016). Challenges of Food Security Need for Interdisciplinary Collaboration. *Procedia Food Science*, *6*, 31–33. https://doi.org/10.1016/j.profoo.2016.02.005
- Kommanet, B. (1998). Eco Trade Manual: environmental challenges for exporting to the European Union. Rotter-dam: CBI. Retrieved from http://library.wur.nl/WebQuery/clc/980235
- Lamichhane, J. R., Aubertot, J.-N., Begg, G., Birch, A. N. E., Boonekamp, P., Dachbrodt-Saaydeh, S., ... Messéan, A. (2016). Networking of integrated pest management: A powerful approach to address common challenges in agriculture. *Crop Protection*, *89*, 139–151. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.07.011
- Laxminarayan, R. (2003). Battling Resistance to Antibiotics and Pesticides: An Economic Approach.

- Washington D. C.: Resources for the future.
- Love, I., & Pollanis, C. (2015). Health effects of pesticides on agricultural farmers in the developing countries of Fiji, Ecuador, the Philippines, and Costa Rica versus the United States. Atlanta: Department of Biology, Spelman College. Retrieved from http://www.isctjournal.com/wp-content/uploads/2015/07/Health-effects-of-pesticides-on-agricultural-farmers-in-the-developing-countries-of-Fiji-Ecuador-the-Philippines-and-Costa-Rica-versus-the-United-States.pdf
- Malthus, T. R. (1846). Ensayo sobre el principio de la población. Madrid: Est. Lit. y Tip. de Don Eusebio María del Valle y colaboradores. Retrieved from https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=2aOuxVUqw6YC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Ensa yo+sobre+el+principio+de+la+población+maltus&ots=7Fe1kZGWIs&sig=PDUPeiBrMFyLbPDPP D_rllJqw98&redir_esc=y#v=onepage&q=Ensayo sobre el principio de la población maltus
- Manosalvas, R., Estrella, J., Mariaca, J., & Ribadeneira, M. (2005). *Biodiversidad y recursos genéticos: Una guia para su uso y acceso en el Ecuador* (1st ed.). Quito: EcoCiencia, INIAP, MAE y Abya Yala.

 Retrieved from http://www.ecociencia.org/archivos/Biodiversidadyrecursosgeneticos110922.pdf
- Margni, M., Rossier, D., Crettaz, P., & Jolliet, O. (2002). Life cycle impact assessment of pesticides on human health and ecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment, 93*(1), 379–392. https://doi.org/10.1016/S0167-8809(01)00336-X
- Mera-Orcés, V. (2001). The sociological dimensions of pesticide use and health risks of potato production in carchi, ecuador. In *Open Meeting of the Human Dimensions of Global Environmental Change Research Community* (p. 21). Rio de Janeiro-Brazil. Retrieved from https://view.officeapps.live.com/op/view.aspx?src=http://sedac.ciesin.columbia.edu/openmee ting/downloads/1004629612_presentation_paperrio.doc
- Ministerio del Ambiente del Ecuador [MAE]. (2015). Estrategia Nacional de Biodiversidad 2015-2030. Quito, Ecuador. Retrieved from https://info.undp.org/docs/pdc/Documents/ECU/ENBPA 2015-2030 Versión final 21.07.2015.pdf
- Monte, E., & Llobell, A. (2003). Trichoderma in organic agriculture. In *V World Avocado Congress* (pp. 725–733). Retrieved from http://www.avocadosource.com/WAC5/Papers/WAC5 p725.pdf
- Monteagudo, C., Mariscal-Arcas, M., Heras-Gonzalez, L., Ibañez-Peinado, D., Rivas, A., & Olea-Serrano, F. (2016). Effects of maternal diet and environmental exposure to organochlorine pesticides on newborn weight in Southern Spain. *Chemosphere*, 156, 135–142. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.103
- Montealegre, J. R., & Pérez, L. M. (2015). *Control biologico de enfermendades de las plantas en Chile* (Vol. 1). Santiago de Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Retrieved from http://uchile.cl/u97145
- Monteros Guerrero, A., & Salvador Sarauz, S. (2015). Panorama agroeconómico del Ecuador: una visión del 2015. Quito: Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. Retrieved from http://sinagap.agricultura.gob.ec/pdf/estudios_agroeconomicos/panorama_agroeconomico_e cuador2015.pdf
- Monteros Guerrero, A., Sumba Lusero, E., & Salvador Sarauz, S. (2013). *Productividad Agrícola en el Ecuador*. Quito. Retrieved from http://sinagap.agricultura.gob.ec/pdf/estudios_agroeconomicos/indice_productividad.pdf
- Morales Estupiñán, C. (2001). Las nuevas fronteras tecnológicas: promesas, desafíos y amenazas de los transgénicos. Santiago de Chile. Retrieved from http://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/4490/S018664_es.pdf?sequence=1
- Murillo, B., Rueda, E. O., García, J. L., & Ruiz Espinoza, F. H. (2010). *Agricultura orgánica*. (Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Ed.). Ciudad de México, México: Plaza y Valdés S.A.

- Nora Altier, Elena Beyhaut, M. R. & F. R. (2012). Plataforma De Bioinsumos De Uso Agrícoka En Base a Microorganismos Benéficos. *INIA*, (29), 47–50. Retrieved from http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos compartidos/18429300612191129.pdf
- OCDE/FAO. (2013). *Perspectivas Agrícolas 2013-2022*. Paris. https://doi.org/10.1787/agr_outlook-2013-es
- Oerke, E.-C., & Dehne, H.-W. (2004). Safeguarding production—losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Protection*, *23*(4), 275–285. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2003.10.001
- Organización de las Naciones Unidas [ONU]. (2000). *Declaración del milenio. A/RES/55/2*. New York. Retrieved from http://www.un.org/spanish/milenio/ares552.pdf
- Organización de las Naciones Unidas [ONU]. (2015). Objetivos de Desarrollo del Milenio: informe de 2015. (C. Way, Ed.). Retrieved from http://www.un.org/es/millenniumgoals/pdf/2015/mdg-report-2015_spanish.pdf
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2002). Estrategia global de la OMS para la inocuidad de los alimentos: alimen-tos más sanos para una salud mejor. Ginebra: OMS. Retrieved from http://apps.who.int/iris/handle/10665/42705
- Pingali, P. L., Marquez, C. B., Palis, F. G., & Rola, A. C. (1995). The Impact of Pesticides on Farmer Health: A Medical and Economic Analysis in the Philippines. In P. L. Pingali & P. A. Roger (Eds.), Impact of Pesticides on Farmer Health and the Rice Environment (pp. 343–360). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0647-4_12
- Prüss-Üstün, A., & Corvalán, C. (2005). *Preventing Disease through Healthy Environments: Towards an Estimate of the Environmental Burden of Disease*. Ginebra. Retrieved from http://www.who.int/quantifying_ehimpacts/publications/preventingdisease.pdf
- Quezada, F., Roca, W., Szauer, M. T., Gómez, J. J., & López, R. (2005). *Biotecnología para el uso sostenible de la biodiversidad: Capacidades locales y mercados potenciales*. Caracas: CAF. Retrieved from http://publicaciones.caf.com/media/1275/99.pdf
- Ramón, D., Morán, M., Costa, J., López, F., Arriola, A., Martín, A., ... Rodríguez, F. (2005). Biotecnología en el Sector Alimentario. *Genoma España*, 5(2), 1–81. https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004
- Ronco, A. E., Carriquiriborde, P., Natale, G. S., Martín, M. L., Mugni, H., & C., B. (2008). Integrated approach for the assessment of biotech soybean pesticides impact on low order stream ecosystems of the pampasic region. In J. Chen & C. Guô (Eds.), *Ecosystem Ecology Research Trends* (pp. 209–239). New York: Nova Science Publishers. Retrieved from https://books.google.es/books?id=AH9JghsCN0gC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_g e_summary_r&cad=0#v=onepage&q=pampasic&f=false
- Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo [SENPLADES]. (2013). Plan Nacional para el Buen Vivir 2013-2017. Quito: Gobierno de la república del Ecuador. Retrieved from http://documentos.senplades.gob.ec/Plan Nacional Buen Vivir 2013-2017.pdf
- Srivastava, P., & Singh, A. (2013). In-vivo 13 study of effects of dithiocarbamates fungicide 14 (Mancozeb) and its metabolite ethylenethiourea 15 (ETU) on fresh water fish Clarius batrachu. *Journal of Biology and Earth Sciences*, *3*(2), B228–B235. Retrieved from http://www.journals.tmkarpinski.com/index.php/jbes/article/view/83
- Stephen, D. (2003). Preventing pesticide poisonings in Ecuador. Ottawa: IDRC/CRDI. Retrieved from https://www.idrc.ca/en/article/case-study-ecuador-preventing-pesticide-poisonings-ecuador
- Sumpsi, J. M. (2011). La volatilidad de los mercados agrarios y la crisis alimentaria. *Reivsta Española de Estudios Agrosociales y Pesqueros, 229,* 11–35.
- Sumpsi, J. M. (2012). Los retos de la agricultura para alimentar al mundo en 2050. *Tiempo de Paz,* 106, 37–48. Retrieved from http://www.iesa.csic.es/eventos/071120110.pdf
- Universidad Nacional Abierta y a Distancia [UNAD]. (2001). Lección 13: Importancia de las

- enfermedades de los cultivos en el sector económico. Retrieved June 20, 2008, from http://datateca.unad.edu.co/contenidos/30165/contenido_en_linea_exe/30165 FITOPATOLOGIA/exe
- fitopatologia/leccin__13_importancia_de_las_enfermedades_de_los_cultivos__en_el_sector_economico.html
- van Mil, H. G. J., Foegeding, E. A., Windhab, E. J., Perrot, N., & van der Linden, E. (2014). A complex system approach to address world challenges in food and agriculture. *Trends in Food Science & Technology*, 40(1), 20–32. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.07.005
- Verma, J. P., Jaiswal, D. K., Meena, V. S., Kumar, A., & Meena, R. S. (2015). Issues and challenges about sustainable agriculture production for management of natural resources to sustain soil fertility and health. *Journal of Cleaner Production*, 107, 793–794. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.04.130
- Vieira, D. C., Noldin, J. A., Deschamps, F. C., & Resgalla, C. (2016). Ecological risk analysis of pesticides used on irrigated rice crops in southern Brazil. *Chemosphere*, 162, 48–54. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.046
- Wilson, C., & Tisdell, C. (2001). Why farmers continue to use pesticides despite environmental, health and sustainability costs. *Ecological Economics*, *39*(3), 449–462. https://doi.org/10.1016/S0921-8009(01)00238-5
- World Health Organization (WHO), & Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2010). International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides: Guidelines for the Registration of Pesticides. Roma. Retrieved from http://apps.who.int/iris/handle/10665/70293

Obtención de cepas puras de Pleurotus djamor

Obtaining pure strains of *Pleurotus djamor*

Lucia Maricela Faz Caiza¹, Julio Pineda Insuasti², Astrid Stefanía Duarte Trujillo³, Claudia Patricia Soto Arroyave⁴, Camilo Alejandro Pineda Soto⁵

- ¹ Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra. Ecuador.
- ² Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.
- ³ Organización Micológica Internacional (OMI), Colombia.
- ⁴ Universidad Católica de Oriente (UCO), Rionegro, Colombia.
- ⁵ Escuela Politécnica Nacional (EPN), Quito, Ecuador

Autor para correspondencia: <u>lucia faz86@hotmail.com</u>

Recibido: octubre 15 de 2019 Aceptado: diciembre 25 de 2019

RESUMEN

P. djamor es un hongo comestible con potencial en la industria alimentaria, farmacéutica y biotecnológica. Sin embargo, existe limitado conocimiento acerca de su aislamiento. Por ello, el objetivo de este trabajo es describir el proceso de obtención de cepas puras de P. djamor, mediante una amplia revisión de la literatura que permita su aprovechamiento. Se encontró que la conservación es un Punto Crítico de Control. del cual que depende la viabilidad y estabilidad genética de las cepas, por lo que la criopreservación es el método a elección.

PALABRAS CLAVES: aislamiento, identificación, conservación, caracterización.

ABSTRACT

P. djamor is an edible fungus with potential in the food, pharmaceutical and biotechnology industry. However, there is limited knowledge about their isolation. Therefore, the objective of this work is to describe the process of obtaining pure strains of *P. djamor*, through a broad review of the literature that allows its use. It was found that conservation is a Critical Control Point, on which depends the viability and genetic stability of the strains, so cryopreservation is the preferred method.

KEYWORDS: isolation, identification, conservation, characterization.

INTRODUCCIÓN

Se estima que existen en la naturaleza más de 1,5 millones de especies de hongos, de las cuales sólo se han descrito alrededor de 69000 (Hawksworth, 1991). Tan sólo en el Ecuador se han estimado más de 100000 especies de hongos (Hawksworth, 2001), aunque sólo se han descrito 5 000 (Freire Fierro, 2004). Aproximadamente 14000 especies presentan basidiocarpo, de las cuáles más de 3000

pueden ser consideradas como comestibles y tan sólo 10 producidas a escala industrial (Chang y Miles, 2004).

P. djamor, también conocida como oreja de Patacán (Free Spore España, 2013), oreja de izote u oreja de cazahuate (G. Guzmán, 2000), es una especie pantropical del hongo ostra, apreciada por su brillante color rosado y su sabor único (Hu et al. 2016). Su carne es de color blanco a ligeramente amarillento,

higrófano, compacto, carnoso, con olor farináceo sabor que desaparece gradualmente al madurar (G. Guzmán et al., 1993; Sánchez y Royse, 2001). Existe tres variedades de la especie: var. djamor, var. cyathiformis y var. roseus; que pese a tener intercompatibilidad genética se diferencian entre sí en por sus características tanto macro como microscópicas (Corner, 1981; Murakami y Takemaru, 1990). Aunque Salmones, Valdéz y Gaitán (2004) mencionan una variedad adicional: P. djamor var. Salmoneostramineus.

P. djamor es una especie promisoria como hongo comestible (Vivero, 2002) restaurantes de hoteles, cocina gourmet y pizzerías, principalmente (Álvarez y Vega, 2010). En Ecuador sólo se han aislado dos especies nativas del Parque Nacional Galápagos (Fundación Charles Darwin, 2006, 2007) y ninguna de ellas corresponde la variedad rosada del hongo. Se evidencia limitado conocimiento acerca de variedades de la especie P. djamor, lo que ha limitado su aislamiento para posteriores estudios, teniendo en cuenta que esta es una especie que produce gran variedad de metabolitos con potencial industrial.

Bajo este contexto, el objetivo de este trabajo es describir la principal información para obtención de cepas puras de *P. djamor*, mediante una amplia revisión de la literatura, que permita el máximo aprovechamiento de la biodiversidad fúngica nacional.

AISLAMIENTO

P. djamor crece generalmente sobre madera en descomposición, aunque también pueden hacerlo sobre árboles vivos enfermos, por lo que puede ser considerado como un bioindicador. Prefiere maderas tropicales y subtropicales incluyendo además palmas, árboles de caucho y bambúes (Stamets, 1993). Sus cuerpos fructíferos aparecen a causa de las primeras lluvias y permanecen durante toda la temporada (Capello, 2006) con hábito solitario o gregario (Fundación Charles

Darwin, 2006, 2007). Puede crecer sobre una superficie horizontal o en forma de repisas a un costado del tronco o tocón de madera (G. Guzmán, 1977). Se desarrollan en zonas ubicadas a una altitud de entre 150 y 1820 msnm, por lo que las cepas son adaptables a varias temperaturas (Benitez, Huerta, & Sánchez, 1998).

Las únicas cepas ecuatorianas reportadas en la literatura, fueron aisladas a partir de madera en descomposición de *Scalesia pedunculata* en el parque Nacional Galápagos y se caracterizan morfológicamente por ser dimidiadas a flabeliformes, lisas y glabras de margen incurvado, con una coloración que varía del color crema a blanco-grisáceo o castañogrisáceo (Fundación Charles Darwin, 2006, 2007).

Para poder recolectar adecuadamente los basidiocarpos de P. djamor es necesario conocer sus características macroscópicas principales. Este hongo tiene un basidiocarpo sésil y carnoso, que crece en forma de estante, con un tamaño que oscila entre los 3 a 8 cm de ancho y una forma variable de flabeliforme a espatulada, petaloide, a veces algo lobulada, con una superficie lisa a finamente tomentosa o velutinosa hacia la base al madurar; su puede ir del rosa al blanco coloración amarillento, blanco grisáceo o gris claro dependiendo de la variedad, como se muestra en las figuras 1 y 2 (Capello, 2006; G. Guzmán et al., 1993; G. Guzmán, 1977). La variedad djamor es blanca, pero vira al marrón cuando se seca; la cyathiformis es blanca con manchas marrones que desaparecen al secarse, y la roseus es rosa cuando está fresca y blanca a amarillenta cuando está seca (Lechner, Wright, y Albertó, 2004).

Su estípite es corto sin presencia de velo, llegando a ser gradualmente delgado en la base, aunque a veces puede estar ausente; generalmente es excéntrico o lateral, de consistencia sólida a subcoriácea, del mismo color que el píleo y superficie fibrilosa a

finamente tomentosa. Los primordios son de color blanco o rosado, y forman a menudo racimos en el sustrato (Capello, 2006; G. Guzmán et al., 1993; G. Guzmán, 1977). Su himenio se ubica en la parte inferior del píleo, laminillas conformado por delgadas, decurrentes, adnadas, espaciadas unas de otras, dispuestas radialmente, a veces bifurcadas, de color blanco a amarillento. La esporada es blanca, grisácea o gris-amarillenta llegando a ser amarillo miel claro, en ocasiones gris oliváceo claro (G. Guzmán et al., 1993; Sánchez y Royse, 2001).



Figura 1. Carpóforo P. djamor Var. Roseus.

Fuente: (Free Spore España, 2013).



Figura 1. Carpóforo de P. djamor var. djamor.

Fuente: (Murrieta, 2002)

Para el aislamiento se reportan medios de cultivo como Agar Papa Dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés) (Hurtado, 2015) o medio Nobles a 25 °C (Nobles, 1948) que permiten purificar las cepa tras sucesivos repiques y disponerlas para estudios posteriores de identificación y caracterización.

IDENTIFICACIÓN

La identificación puede hacerse inicialmente mediante claves taxonómicas, sin embargo, los estudios moleculares permiten una mayor veracidad de la información.

Como se mencionó en el ítem anterior, las características macroscópicas se tienen en cuenta para la recolección de los cuerpos fructíferos, mientras que las características microscópicas permiten corroborar la especie cuando no se cuenta con los recursos económicos para pagar un estudio molecular.

En las figuras 3, 4 y 5 se representan las principales características morfológicas de las tres variedades, lo que permite diferenciarlas (Lechner *et al.*, 2004).

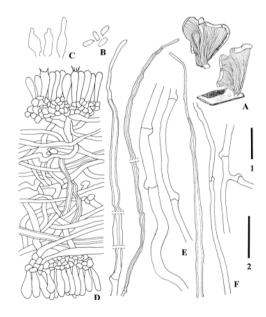


Figura 3. *P. djamor* var. *Roseus*. A. basidiocarpos; Esporas de B.; C. Cheilocystidia; Trama e himenio D. Hymenophoral; E. Las hifas del píleo; F. Las hifas del tallo. La barra de escala 1 = 5 cm para A; 2 barra de escala = 30 micras para B-F.

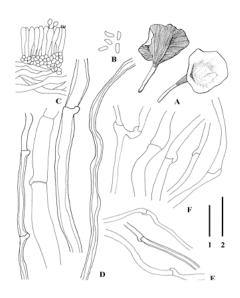


Figura 4. *P. djamor* var. *Cyathiformis*. A. basidiocarps; Esporas de B.; C. Porción de himenio, subhymenia y trama hymenophoral; D. Las hifas del vástago; E. Las hifas de la trama hymenophoral; F. Las hifas de la carne píleo. La barra de escala 1 = 3 cm para A; 2 barra de escala = 30 micras para B-F.

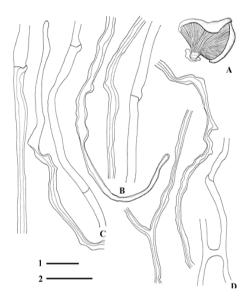


Figura 5. *Pleurotus djamor* var. *Djamor*. A. basidiocarpo; B. Las hifas de la trama hymenophoral; C. Las hifas del píleo; D. Las hifas del tallo. La barra de escala 1 = 5 cm para A; 2 barra de escala = 30 micras para B-D.

Las hifas de *P. djamor* son dimíticas, de esqueleto puntiagudo y en conjunto forman el micelio (Lechner *et al.*, 2004). El micelio es inicialmente blanco, longitudinal y flocoso, que

al ir madurando se torna algodonoso y de un color rosa intenso (G. Guzmán, 1977). Las esporas son pequeñas, de forma oblongo-elíptica o subcilíndrica, hialinas, no amiloides ni dextrinoides, con una apícula bien definida, pared delgada y en conjunto forman esporadas de color blanco a lila-grisáceo, dependiendo de la variedad. Los basidios son tetraespóricos, a veces bi o triespóricos, subpiriformes o claviformes, ventricosos, hialinos, frecuentemente con una fíbula basal, no presentan pleurocistidios (G. Guzmán et al., 1993; Lechner et al., 2004; Sánchez y Royse, 2001).

En términos moleculares, la estructura y diversidad genética de P. djamor ya ha sido estudiada, revelándose los factores transcripción del homeodominio receptores de feromonas (James, Liou, y Vilgalys, 2004). Un proteinograma detectó entre cinco a ocho bandas polimórficas agrupadas en tres zonas electroforéticas de movilidad aniónica, lo que es variable y manifiesta la utilidad de incluir a los marcadores bioquímicos para la identificación taxonómica y registro de las cepas comerciales de P. djamor (Murrieta, 2002). La variabilidad genética puede determinarse mediante la identificación de isoenzimas esterasas (Levanon et al., 1993). Un estudio mostró que P. djamor presenta entre una a tres isoformas y tiene similitud bioquímica con P. ostreatus (Murrieta, 2002). Menolli, Breternitz y Capelari (2014) afirman que P. djamor está más emparentado con P. cornucopiae, P. euosmus y P. citrinopileatus; mientras que Wu y colaboradores (2010) dicen que pertenece al mismo taxón que P. colombinus y P. eryngii.

GenBank es la base de datos de secuencias genéticas del NIH (National Institutes of Health de Estados Unidos) y es parte del International Nucleotide Sequence Database Collaboration; recopila 148 secuencias de ADN y ARN de *P. djamor*, 81 secuencias de proteínas y 2 estudios fijos de estudios filogenéticos (NCBI, 2016).

CARACTERIZACIÓN

El crecimiento lineal de las colonias de *P. djamor* se determina para evaluar su potencial industrial; sin embargo, hay que tener en cuenta que la velocidad de crecimiento lineal de las cepas no está directamente relacionada con su productividad. Para ello se siembran tacos de agar cubiertos de micelio en cajas de Petri con Agar Papa Dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés) y se mide diariamente el diámetro de las colonias. Se reportan velocidades de crecimiento de 7 a 20 mm por día, mostrando mejores resultados las cepas aisladas de ambientes ubicados a una altitud cercana a los 1 200 msnm (Benitez *et al.*, 1998; Salmones, Gaitán, Pérez, y Guzmán, 1997).

Por otro lado, el crecimiento de la biomasa puede medirse en medios líquidos mediante diferencial de peso seco en el tiempo (Hurtado, 2015); el micelio crece superficialmente si el medio es estático o en forma de pellets si se incorpora agitación (Sánchez y Royse, 2001).

El contenido nutricional de P. diamor variable, y se ve influenciado por parámetros como el grado de desarrollo y las condiciones pre y post-cosecha, que justifican la variabilidad de los datos en las investigaciones, así se trabaje con las mismas especies (Bano, Rajarathnam, y Steinkraus, 1988). Este hongo contiene minerales como potasio, fósforo, calcio, magnesio, hierro y zinc; azúcares solubles como glucosa, manitol y trehalosa; y aminoácidos, principalmente ácido aspártico, ácido glutámico, arginina, serina, valina, cisteína, alanina y glicina (Guo, Lin, y Lin, 2007). En general, contiene micronutrientes, vitaminas B9 y C en mayor proporción que Lentinula edodes y Agaricus bisporus (Álvarez y Vega-Ríos, 2010).

En la tabla 1 se lista el resultado de un análisis bromatológico para *P. djamor*.

Tabla 1. Composición nutricional de *P. djamor*.

Componente	nponente Porcentaje	
Agua	82.21	±
	1.35	
Materia seca	17.79	±
	1.35	
Carbohidratos	59.9 ± 1.	03
Polisacáridos	9.02 ± 1.	27
Fibra cruda	$17.2 \pm 0.$	72
Proteína total	15.6 ± 1.	52
Grasa total	1.65 ± 0.	32
Cenizas	5.83 ± 1.06	

Fuente: (Guo, Lin, y Lin, 2007).

Muchos de los compuestos contenidos en este presentan múltiples actividades biológicas: antioxidante (M. Guzmán et al., 2009; Sasidhara y Thirunalasundari, 2014), hepatoprotectora (Zhang et al., 2016), anticancerígena (Raman al., 2015), et antibacteriana (Valencia del Toro et al., 2008) e hipocolesterolémica (Jegadeesha et al., 2014). En la tabla 2 se listan algunos de los compuestos producidos por P. djamor.

Tabla 2. Compuestos producidos por *P. djamor*.

Tipo	Metabolito	Referencia
Enzimas	α-galactosidasa	(Hu <i>et al.,</i> 2016)
	Lipasas	(Velioglu y
		Ozturk, 2015)
	Celulasas	(Murrieta, 2002)
	Lacasas	(Murrieta, 2002;
		Salmones y Mata,
		2015)
	Manganeso-	(Murrieta, 2002)
	peroxidasas	
	Ribonucleasas	(Wu et al., 2010)
Polisacáridos		(Zhang et al.,
		2016)
Flavonoides	Quercetina	(Nattoh,
		Musieba, Gatebe,
		y Mathara, 2016;
		Sasidhara y
		Thirunalasundari,
		2014)
Terpenos	Sesquiterpen-	(Valencia del Toro
	lactonas	et al., 2008)

Tipo	Metabolito	Referencia	
	Saponinas	(Sasidhara y	
		Thirunalasundari,	
		2014)	
Fenoles	Ácido gálico	(Sasidhara y	
		Thirunalasundari,	
		2014)	
Taninos		(Sasidhara y	
		Thirunalasundari,	
		2014)	
Quinonas	Antraquinonas	(Sasidhara y	
		Thirunalasundari,	
		2014)	
Isoprenoides	Carotenoides	(Nattoh et al.,	
		2016)	
Vitaminas	Ácido ascórbico	(Sasidhara y	
		Thirunalasundari,	
		2014)	
Biosurfac-		(Velioglu y	
tantes		Ozturk, 2015)	
Reductor del	Esteroles	(Angarita <i>et al.,</i>	
colesterol		2013)	
	Ácido linoleico	(Angarita et al.,	
		2013)	
Compuestos		(M. Guzmán <i>et</i>	
esteroidales		al., 2009)	

Fuente: el autor.

P. djamor y P. ostreatus son las especies del género más eficientes en la degradación de colorantes sintéticos, gracias a su sistema enzimático (Kalmiş, 2008; Yildirim et al., 2012) de manganeso peroxidasas, lacasas y celulasas; siendo las primeras las producidas en mayor proporción (Murrieta, 2002).

CONSERVACIÓN

Las cepas se suelen conservar en PDA a 4 °C (Nattoh *et al.*, 2016), aunque es mejor congelar a -20 °C o liofilizar (Salmones, Mata, y

Waliszewski, 2005). El uso de crioprotectores durante la congelación en nitrógeno líquido no es necesario para garantizar la viabilidad de las cepas. Se reporta que cepas de P. djamor crecidas sobre semillas de sorgo posteriormente criopreservadas sin crioprotector durante una semana, presentan un porcentaje de recuperación del 100 %, aunque requiera más tiempo en contraste con cepas control que no hayan sido congeladas en nitrógeno líquido (Mata y Pérez-Merlo, 2003).

CONCLUSIONES

P. djamor es una especie de hongo comestible apreciado por sus propiedades organolépticas y medicinales, lo que evidencia su potencial en la industria alimentaria, farmacéutica y biotecnológica. Entre los principales metabolitos producidos por esta especie se destacan enzimas, polisacáridos, fenoles, flavonoides, quinonas, taninos, vitaminas, entre otros, que presentan múltiples actividades biológicas: antioxidante, anticancerígena, antibacteriana, hepatoprotectora e hipocolesterolémica.

Para obtener cepas puras, que permitan aprovechar el potencial industrial de esta especie, es necesario realizar una adecuada identificación de la variedad, lo que garantiza que las propiedades descritas sean otorgadas adecuadamente. Así mismo, la conservación es un punto crítico, del cual depende la viabilidad y estabilidad genética de las cepas, por lo que los métodos de criopreservación son los preferidos. No es necesario el uso de crioprotector.

REFERENCIAS

Álvarez, M. A., & Vega-Ríos, A. (2010). Aceptación y apreciación de hongos comestibles. *RIDTEC*, *9*(1), 43–49.

Angarita, C., Nieto-Ramirez, J. I., Diaz, G. J., Rojas L., J. R., Sepúlveda, L., & Atehortúa, L. (2013). Evaluation of a method using high performance liquid chromatography with ultraviolet detection for the determination of statins in macromycetes of the genus Pleurotus cultivated by fermentation processes. *Talanta*, *116*, 56–64. http://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.04.053

- Bano, Z., Rajarathnam, S., & Steinkraus, K. H. (1988). Pleurotus mushrooms. Part II. Chemical composition, nutritional value, post-harvest physiology, preservation, and role as human food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *27*(2), 87–158. http://doi.org/10.1080/10408398809527480
- Benitez, F. A., Huerta, G., & Sánchez, J. E. (1998). Producción de 18 cepas de Pleurotus djamor del Soconusco, Chiapas. *Quehacer Científico en Chiapas*, 1(2), 25–36.
- Capello, S. (2006). *Hongos del Yunka`: guía ilustrada* (1ª ed.). Tabasco, México: Universidad Juarez Autónoma de Tabasco. Recuperado a partir de https://books.google.com.co/books?id=gA4E8l5JMEkC&printsec=frontcover&hl=es&source=g bs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Chang, S.-T., & Miles, P. G. (2004). *Mushrooms: Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact* (2^a ed.). Florida: CRC Press.
- Corner, E. J. H. (1981). The agaric genera Lentinus, Panus, and Pleurotus with particular reference to Malaysian species. Mishawaka, U.S.A.: J. Cramer.
- Free Spore España. (2013). Pleurotus djamor. Recuperado a partir de http://freespore.com/pleurotus-djamor.html
- Freire Fierro, A. (2004). *Botánica Sistemática Ecuatoriana*. St. Louis: Missouri Botanical Garden Press ix.
- Fundación Charles Darwin. (2006). Pleurotus djamor (Rumph. ex Fr.) Boedijn. Numero de Accesíon: 32600. Recuperado a partir de http://www.darwinfoundation.org/datazone/collections/44368/
- Fundación Charles Darwin. (2007). Pleurotus djamor (Rumph. ex Fr.) Boedijn. Numero de Accesíon: 36589. Recuperado a partir de http://www.darwinfoundation.org/datazone/collections/46486/
- Guo, L. Q., Lin, J. Y., & Lin, J. F. (2007). Non-volatile components of several novel species of edible fungi in China. *Food Chemistry*, *100*(2), 643–649. http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.087
- Guzmán, G. (1977). *Identificación de los hongos: comestibles, venenosos y alucinantes*. México D.F: Limusa.
- Guzmán, G. (2000). Genus Pleurotus (Jacq.: Fr.) P. Kumm. (Agaricomycetideae): Diversity, taxonomic problems, cultural and traditional medicinal uses. *The International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2, 95–123.
- Guzmán, G., Montoya, L., Salmones, D., & Bandala, V. M. (1993). Studies of the genus Pleurotus (Basidiomycotina), II. P. djamour in Mexico and in other LatinAmerican countries, taxonomic confusions, distribution and semi-industrial culture. *Cryptogamic Botanic.*, 3, 213–220.
- Guzmán, M., Zúñiga, N., Santafé, G. G., Torres, O., & Angulo, A. (2009). Actividad antioxidante y estudio quimico del hongo Pleurotus djamor recolectado en Córdoba. *Facultad de ciencias agropecuarias*, 7(2), 1–7.
- Hawksworth, D. L. (1991). The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research*, *95*(6), 641–655. http://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80810-1
- Hawksworth, D. L. (2001). The magnitude of fungal diversity: the $1\cdot 5$ million species estimate revisited. *Mycological research*, 105(12), 1422-1432. http://doi.org/10.1017/S0953756201004725
- Hu, Y., Tian, G., Zhao, L., Wang, H., & Ng, T. B. (2016). A protease-resistant α -galactosidase from Pleurotus djamor with broad pH stability and good hydrolytic activity toward raffinose family oligosaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*. http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.005
- Hurtado, M. G. (2015). Establecimiento de condiciones de cultivo en laboratorio del hongo Pleurotus djamor para la producción de metabolitos con posible aplicación terapéutica. Universidad

- Técnica Particular de Loja.
- James, T. Y., Liou, S. R., & Vilgalys, R. (2004). The genetic structure and diversity of the A and B mating-type genes from the tropical oyster mushroom, Pleurotus djamor. *Fungal Genetics and Biology*, 41(8), 813–825. http://doi.org/10.1016/j.fgb.2004.04.005
- Jegadeesha, R., Raaman, N., Hariprasath, L., Ramesh, V., & Srikumar, R. (2014). Hypolipidemic Effect of Pleurotus djamor var . roseus in Experimentally Induced Hypercholesteromic Rats. *Research Journal of Pharmaceutical , Biological and Chemical Sciences*, 5(2), 581–588.
- Kalmiş E., A. N. K. F. (2008). Evaluation of two wild types of Pleurotus ostreatus (MCC07 and MCC20) isolated from nature for their ability to decolorize Benazol Black ZN textile dye in comparison to some commercial types of white rot fungi: Pleurotus ostreatus, Pleurotus djamor, and P. *Canadian Journal of Microbiology*, *54*(5), 366–370. http://doi.org/10.1139/W08-025
- Lechner, B. E., Wright, J. E., & Albertó, E. (2004). The genus Pleurotus in Argentina. *Mycologia*, *96*(4), 845–858. http://doi.org/10.2307/3762117
- Levanon, D., Rothschild, N., Danai, O., & Masaphy, S. (1993). Strain selection for cultivation of Shiitake mushrooms (Lentinus edodes) on straw. *Bioresource Technology*, 45(1), 9–12. http://doi.org/10.1016/0960-8524(93)90135-X
- Mata, G., & Pérez-Merlo, R. (2003). Spawn viability in edible mushrooms after freezing in liquid nitrogen without a cryoprotectant. *Cryobiology*, 47(1), 14–20. http://doi.org/10.1016/S0011-2240(03)00064-6
- Menolli, N., Breternitz, B. S., & Capelari, M. (2014). The genus Pleurotus in Brazil: A molecular and taxonomic overview. *Mycoscience*, 55(5), 378–389. http://doi.org/10.1016/j.myc.2013.12.001
- Murakami, S., & Takemaru, T. (1990). Genetic studies of Pleurotus salmoneostramineus forming albino basidiocarps. *Reports of the Tottori Mycological Institute*, *28*, 199e204. Recuperado a partir de http://jglobal.jst.go.jp/en/public/20090422/200902097991426804
- Murrieta, D. M. (2002). Cambios en la actividad enzimática de Pleurotus spp. cultivado en pulpa de café en confrontación con Trichoderma spp. Universidad Veracruzana.
- National Center for Biotechnology Information [NCBI]. (2016). GenBank. Recuperado a partir de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gquery/?term=djamor
- Nattoh, G., Musieba, F., Gatebe, E., & Mathara, J. (2016). Towards profiling differential distribution of bioactive molecules across four phenologies in Pleurotus djamor R22. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(6), 472–480. http://doi.org/10.1016/S2222-1808(16)61071-X
- Nobles, M. (1948). Studies in forest pathology VI. Identification of cultures of wood-rotting fungi. *Can J Res*, *26*, 281–431.
- Raman, J., Reddy, G. R., Lakshmanan, H., Selvaraj, V., Gajendran, B., Nanjian, R., ... Sabaratnam, V. (2015). Mycosynthesis and characterization of silver nanoparticles from Pleurotus djamor var. roseus and their in vitro cytotoxicity effect on PC3 cells. *Process Biochemistry*, *50*(1), 140–147. http://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.11.003
- Salmones, D., Gaitán-Hernández, R., Pérez, R., & Guzmán, G. (1997). Estudios sobre el género Pleurotus. VIII. Interacción entre crecimiento micelial y productividad. *Rev Iberoam Micol*, 14(Tabla 1), 173–176.
- Salmones, D., & Mata, G. (2015). Laccase production by Pleurotus djamor in agar media and during cultivation on wheat straw. *Revista Mexicana de Micologia*, 42, 17–23.
- Salmones, D., Mata, G., & Waliszewski, K. N. (2005). Comparative culturing of Pleurotus spp. on coffee pulp and wheat straw: Biomass production and substrate biodegradation. *Bioresource Technology*, *96*(5), 537–544. http://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.06.019
- Salmones, D., Valdéz, L. M., & Gaitán-Hernández, R. (2004). Entrecruzamiento y evaluación de la producción de las variedades de Pleurotus djamor (Fr.) Boedijn. *Revista Mexicana de Micologia*, 18, 21–26.

- Sánchez, J. E., & Royse, D. J. (2001). *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* (1ª ed.). México D.F: Noriega Editores. Recuperado a partir de https://www.researchgate.net/publication/256526787_Book_La_biologia_y_el_cultivo_de_Ple urotus spp
- Sasidhara, R., & Thirunalasundari, T. (2014). Phytochemicals and antioxidant potentials of pleurotus djamor. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(4), 950–953.
- Stamets, P. (1993). Growing gourmet & medical mushrooms. Berkeley, California: Ten Speed Press.
- Valencia del Toro, G., Garín Aguilar, M. E., Téllez Jaimes, M. Á., & Durán Páramo, E. (2008). Actividad antibacteriana de extractos hexánicos de cepas de Pleurotus djamor. *Revista mexicana de micología*, 28(SPE.), 119–123.
- Velioglu, Z., & Ozturk, R. (2015). Optimization of cultural conditions for biosurfactant production by Pleurotus djamor in solid state fermentation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 120(5), 526–531. http://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2015.03.007
- Vivero, T. (2002). El hongo nuestro de cada día. Desafío. Especial: investigación de alimentos, 49–51.
- Wu, X., Zheng, S., Cui, L., Wang, H., & Ng, T. B. (2010). Isolation and characterization of a novel ribonuclease from the pink oyster mushroom Pleurotus djamor. *The Journal of general and applied microbiology*, *56*, 231–239. http://doi.org/10.2323/jgam.56.231
- Yildirim, N., Tanyol, M., Dere, T., Cumurcu, A., & Yildiz, A. (2012). The investigation on physicochemical parameters of the textile effluents after treatment by white rot fungus Pleurotus djamor. En *Abstracts of the 15th European Congress on Biotechnology* (Vol. 29, p. S184). New Biotechnology.
- Zhang, J., Liu, M., Yang, Y., Lin, L., Xu, N., Zhao, H., & Jia, L. (2016). Purification, characterization and hepatoprotective activities of mycelia zinc polysaccharides by Pleurotus djamor. *Carbohydrate Polymers*, 136, 588–597. http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.075

Influencia del tamaño de partícula, la agitación y el tiempo en la extracción de sustancias bioactivas de la seta ostra (*Pleurotus ostreatus*).

Influence of particle size, agitation and time in the extraction of bioactive substances from the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*).

Astrid Stefanía Duarte Trujillo¹, Julio Amilcar Pineda Insuasti²

Autor para correspondencia: stefan-ing.agroind@hotmail.com

Recibido: octubre 15 de 2019 Aceptado: diciembre 26 de 2019

RESUMEN

sustancias bioactivas de Pleurotus Las ostreatus pueden ser extraídas mediante maceración en solventes hidroalcohólicos. Sin embargo, los parámetros de operación, no han sido evaluados. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es evaluar la influencia del Tamaño de Partícula (TP), la Agitación (A) y el Tiempo de Maceración (TM) en la Eficiencia de extracción de sustancias bioactivas de la seta ostra (E). Para ello, se prepararon tinturas madre con etanol al 60% y hongo en polvo en relación 1:10 y se realizó un diseño experimental 2³ con un nivel de confianza del 95%. Se encontró que el tratamiento que presenta la mayor eficiencia (29%) consta de TP=500 micras, TM=48 h y FA=160 rpm. La influencia de FA en E fue la única estadísticamente significativa. El análisis de regresión lineal arrojó el siguiente modelo matemático: E (FA)=- 0,0636667*FA+ 31,9242.

PALABRAS CLAVE: extractos, eficiencia, optimización.

ABSTRACT

bioactive substances of *Pleurotus* ostreatus can be extracted by maceration in hydroalcoholic solvents. However, operating parameters have not evaluated. Therefore, the objective of this work is to evaluate the influence of Particle Size (TP), Agitation (A) and Maceration Time (TM) on the Extraction Efficiency (E) of bioactive substances from the oyster mushroom. To do this, mother tinctures were prepared byr 60% ethanol and powder mushroom in 1:10 ratio, and an experimental design 23 was carried out with 95% confidence level. It was found that the treatment with the highest efficiency (29%) consists of TP = 500 microns, TM = 48 h and FA = 160 rpm. The influence of FA on E was the only statistically significant. The linear regression analysis gave the following mathematical model: E (FA) = - 0.0636667 * FA + 31.9242.

KEYWORDS: extracts, efficiency, optimization.

¹ Universidad de los Llanos. Villavicencio, Colombia.

² Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA). Ibarra, Ecuador.

INTRODUCCIÓN

El envejecimiento acelerado de la población y el aumento de la carga de enfermedades crónicas ha generado preocupación internacional y creado conciencia de la importancia del mejoramiento y preservación de la salud (Mitra y Rodríguez-Fernandez, 2010; OMS, 2015). Estudios epidemiológicos desarrollados por más de 50 años han manifestado que tales inconvenientes pueden ser contrarrestados con una alimentación balanceada (Terry et al., 2001), de ahí que el mercado mundial de alimentos funcionales esté aumentando a una tasa anual del 8-14 % (Agriculture and Agri-Food Canada, 2009).

Los hongos comestibles son considerados alimentos funcionales, ya que presentan propiedades tanto nutricionales como medicinales que permiten mejorar las funciones biológicas y por lo tanto la salud del consumidor (M. E. Valverde, Hernández-Perez, y Paredes-López, 2013).

El segundo hongo comestible más cultivado en el mundo es la seta ostra (Pleurotus ostreatus) (Suárez y Nieto, 2013), el cual sintetizan gran variedad de compuestos bioactivos como glicoproteínas, polisacáridos, policétidos, péptidos, polifenoles, lectinas, betaglucanos, entre otros, los cuales generan reacciones biológicas que favorecen la salud consumidor (Gomes-Corrêa et al., 2016). Se ha reportado actividad biológica anticancerígena (Deepalakshmi Mirunalini, У 2016), antiinflamatoria (Gunawardena et al., 2014), antimicrobiana (Ramesh y Pattar, 2010), antioxidante (Khan *et al.*, 2017), anti-tirosinasa (Hapsari et al., 2012), antitumoral (Devi et al., 2015), cardioprotectora (Yan et al., 2015), hepatoprotectora (C. Zhang et al., 2016), hipocolesterolémica, hipoglucémica (Y. Zhang et al., 2016) e inmunomoduladora (Llauradó et al., 2016).

Las propiedades medicinales de P. ostreatus pueden ser aprovechadas mediante extracción de las sustancias bioactivas que le generan. Por ende, los procesos de extracción por maceración cobran importancia, ya que además de económicos, son sencillos y ecológicos. Los extractos pueden empleados como materia prima para la formulación de otras preparaciones (Azmir et al., 2013), como muestra para el estudio de componentes bioactivos У actividades biológicas (Smith, 2003), o como insumo para aplicaciones industriales que permitan aprovechar su potencial biológico (Chitiva, 2010). Dentro de las aplicaciones industriales de los extractos fúngicos se destaca su uso como cosmocéuticos, nutricosméticos (Taofiq et al., 2016), nutracéuticos, nutricéuticos (Niksic, Klaus, y Argyropoulos, 2016), y biofármacos (M. E. Valverde et al., 2013).

La distribución y consumo de los extractos fúngicos constituye, no sólo una forma de uso sostenible del capital natural, que según el Plan Nacional de desarrollo actual del Ecuador (2014-2018), es uno de los objetivos para el crecimiento verde del país (DNP, 2014), sino también, una forma de contribuir al mejoramiento de la salud de la población, que es uno de los Objetivos del Desarrollo Sostenible de la Organización de las Naciones Unidas (ONU, 2015).

No obstante, los procesos de extracción de sustancias bioactivas a partir de hongos no están estandarizados, ya que las farmacopeas existentes fueron hechas específicamente para tratar material vegetal y animal (E. Valverde У Dos Santos, 2000). estandarizar el proceso es necesario evaluar la influencia de los parámetros que influyen en la eficiencia de extracción. Según Valverde y Dos Santos (2000), las variables de entrada que influven la maceración, en independientemente de la escala producción o del tipo de producto final son: el estado de división (tamaño de partícula) de la droga, la agitación, la temperatura, el pH, la naturaleza del solvente y el tiempo de extracción

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es evaluar la influencia del Tamaño de Partícula (TP), la Agitación (A) y el Tiempo de Maceración (TM) en la Eficiencia de extracción de sustancias bioactivas de la seta ostra (E).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

La cepa ceba-gliie-po-010106 de Pleurotus ostreatus, perteneciente al Banco de Recursos Genéticos Microbianos (BRGM) del CEBA fue empleada como inóculo primario para la propagación del micelio sobre los granos de trigo, los cuales fueron usados como inóculo secundario para la propagación del micelio sobre el sustrato electo, la paja de fréjol (Phaseolus vulgaris) (Pineda, 2014). Los cuerpos fructíferos del hongo se cultivaron a una temperatura promedio de 18 adoptando las consideraciones establecidas por Pineda, Duarte y Ponce (2017); luego se cosecharon y se almacenaron a 4°C hasta su uso.

Equipos

Se empleó una balanza de precisión Acculab VIC212, un horno desecador Jelo Tech ON-01E, un molino eléctrico VICTORIA VH750-C, un agitador mecánico (shaker) Stuart SSM1, tamices Fisher No. 18 (1 mm) y 35 (0,5 mm).

Preparación del material biológico

Los cuerpos fructíferos se revisaron para comprobar que no se encuentren en deterioro, luego se fragmentaron en trozos de aproximadamente 5 cm y se deshidrataron en el horno de secado a 60 °C hasta peso constante, según metodología de Ma y colaboradores (2014). Posteriormente se molieron y se tamizaron. Se seleccionó el polvo que pasara por el tamiz No. 18 y quedara por encima del No. 35.

Maceración dinámica

La tintura para cada Erlenmeyer se preparó guardando una relación peso/volumen 1:10 entre la muestra y la tintura (Comissão Permanente de Revisão da Farmacopéia Brasileira., 1997). Las tinturas se maceraron según diseño experimental y se filtraron. Los residuos obtenidos se conservaron para calcular la eficiencia de extracción y los extractos para estudios posteriores de química analítica.

Diseño experimental

Se realizó un diseño experimental factorial 23, con un número de respuestas, 15 grados de libertad (g. l.) para el error y un orden completamente aleatorizado. Los factores de estudio fueron el Tiempo de Maceración (TM), la Frecuencia de Agitación (FA) y el Tamaño de Partícula (TP), con dos niveles de estudio cada uno, los cuales se combinaron formando un total de 8 tratamientos que se realizaron por triplicado dando lugar a 24 corridas experimentales. Los niveles seleccionados para el factor TM fueron 24 h y 48 h, mientras que los para el factor FA fueron 140 rpm y 160 rpm, y para el Factor TP fueron 500 micras y 1500 micras. La variable de respuesta fue la eficiencia de extracción de sustancias bioactivas y la unidad experimental fue una muestra de aproximadamente 5 g del hongo seco en polvo. El resto de parámetros se consideraron parámetros de operación, tales como la temperatura ambiente de 27 °C, la presión atmosférica de 0,95 atm y el solvente etanol al 60 % v/v.

Cálculo de la eficiencia de extracción

Los filtros de papel Whatman No. 4 se secaron a 60 °C hasta peso constante (AOAC, 1990). Por otro lado, las muestras maceradas se filtraron al vacío y se secaron sobre el papel Whatman a 60 °C hasta peso constante, el cual también se registró. El peso final de las muestras se obtuvo difiriendo los valores previamente registrados (1), y el peso de las

sustancias bioactivas extraídas se determinó sustrayendo al peso inicial de la muestra su peso final luego de la maceración (2).

$$Pfm(g) = Ppm - Ppf$$
 (1)

$$Pext(g) = Pim - Pfm$$
 (2)

Donde;

Pfm = Peso seco final de la muestra (luego de maceración)

Ppm = Peso seco de la muestra sobre el papel
filtro

Ppf = Peso seco del papel filtro

Pext = Peso seco de sustancias bioactivas extraídas

Pim = Peso seco inicial de la muestra (antes de la maceración)

La ecuación 3 permite calcular la eficiencia de extracción de las sustancias bioactivas, mediante el cociente entre el peso seco del extracto y el peso seco inicial de la muestra, multiplicado por 100.

$$E (\%) = \frac{Pext}{Pim} * 100 (3)$$

RESULTADOS

En la tabla 1, se presenta la matriz de resultados, conforme al diseño experimental.

Tabla 3. Matriz de resultados experimentales.

Trat	TM (h)	FA (rpm)	TP (micras)	E (%)
2	48	140	1500	20,24
6	48	140	500	14,12
7	24	160	500	19,76
5	24	140	500	22,59
3	24	160	1500	23,76
1	24	140	1500	17,65
8	48	160	500	28,94
4	48	160	1500	21,65
7	24	160	500	21,00
3	24	160	1500	24,00
4	48	160	1500	21,41
5	24	140	500	22,12
1	24	140	1500	17,41

_					
	Trat	TM (h)	FA (rpm)	TP (micras)	E (%)
	2	48	140	1500	20,00
	6	48	140	500	13,18
	8	48	160	500	29,65
	2	48	140	1500	21,65
	7	24	160	500	20,38
	5	24	140	500	23,06
	8	48	160	500	28,24
	3	24	160	1500	23,53
	6	48	140	500	13,65
	1	24	140	1500	17,88
_	4	48	160	1500	21,88

Análisis de Varianza para Eficiencia

En la tabla 2, se presenta el ANOVA, que evalúa la variabilidad de eficiencia en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, un efecto tiene el valor-P menor que 0,05 indicando con un nivel de confianza del 95,0% que su influencia en la eficiencia de extracción es estadísticamente significativa.

Tabla 4. Análisis de varianza para Eficiencia

Fuente	Razón-F	Valor-P
TM	0,01	0,9349
FA	11,73	0,0038
TP	0,10	0,7549
(TM)*(FA)	4,42	0,0529
(TM)*(TP)	0,04	0,8360
(FA)*(TP)	1,02	0,3294

Análisis de Pareto

En la figura 1, se presenta el diagrama de Pareto estandarizado para la eficiencia, el cual corrobora los resultados del análisis de varianza, indicando que existe diferencia significativa en el valor de la Eficiencia cuando se estudia el factor de agitación.

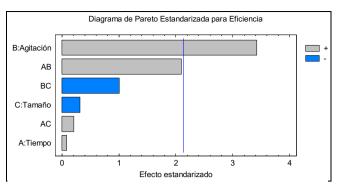


Figura 1. Diagrama de Pareto Estandarizada para Eficiencia

Camino de Máximo Ascenso para Eficiencia

En la tabla 2, se presenta el trayecto de máximo ascenso (o descenso). Este es el trayecto, desde el centro de la región experimental actual, a través del cual la respuesta estimada cambia más rápidamente con un cambio menor en los factores experimentales. Indica buenas locaciones para correr experimentos adicionales si el objetivo es incrementar o disminuir la eficiencia. Actualmente, 6 puntos se han generado cambiando tiempo en incrementos de 1,0 (h).

Tabla 3. Camino de Máximo Ascenso para Eficiencia

TM	FA	TP	Predicción
(h)	(rpm)	(micras)	E (%)
36,0	150,0	1000,0	21,1563
37,0	155,0	960,446	22,5365
38,0	157,335	932,349	23,3118
39,0	159,213	906,503	24,0217
40,0	160,864	881,886	24,7175
41,0	162,374	858,087	25,4176

Análisis de la superficie de respuesta estimada

En la figura 2, se presenta la superficie de respuesta estimada. La máxima eficiencia se logra cuando se trabaja con niveles superiores de tiempo y agitación para un tamaño de partícula de 1000 micras.

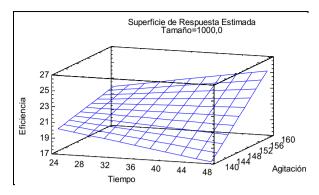


Figura 2. Superficie de respuesta estimada para un tamaño de partícula de 1000 micras.

Modelo matemático empírico

Un modelo de regresión lineal fue arrojado por el software estadístico:

$$E(FA) = -0.0636667 * FA + 31.9242$$

Utilizando el modelo matemático como función objetivo, se optimiza la variable respuesta, logrando un valor máximo de 26,11% cuando el proceso es operado a 48 horas de tiempo, 160 rpm de agitación y 500 micras de tamaño de partícula.

DISCUSIONES

Tamaño de partícula

La velocidad de difusión del solvente está en función del tamaño de partícula de la droga. La división excesiva de la droga produce polvos muy finos que se compactan, lo que dificulta la penetración del solvente y la extracción incompleta de los principios activos; además, pueden pasar al extracto y dar una apariencia turbia. La filtración de esos extractos es difícil, lenta y costosa, además, causa la retención de una parte del extracto. Por otro lado, una deficiente reducción del tamaño de partícula disminuye el área superficial de la droga, lo que dificulta la penetración del solvente a las células fúngicas (E. Valverde y Dos Santos, 2000).

Está comprobada su influencia en la eficiencia de extracción de polifenoles de la hierba

Thymus serpyllum L (Jovanović et al., 2017), pero en la extracción de sustancias bioactivas de hongos por maceración no ha sido evaluada.

Pese a que el tamaño de partícula no ha sido evaluado, algunos investigadores trabajado con tamaños de partícula de 0,8 mm logrando una eficiencia del 32,7% (Finimundy et al. 2018); 0,5 mm logrando una eficiencia del 4% (Szwengiel y Stachowiak, 2016); 0,4 mm logrando una eficiencia del 3,1% (Lin et al., 2014); 0,25 mm logrando una eficiencia del 2,6% (Hu et al., 2006); y 0,18 mm logrando una eficiencia del 7,1% (Li y Shah, 2016). Parecería que la disminución del tamaño de partícula provoca la disminución de la eficiencia, pero Li y Shah (2016) obtuvieron una mayor eficiencia que los otros autores, con excepción de Finimundy y colaboradores (2018), pese a que su TP es el menor. Por lo que podría pensarse que este parámetro no tiene influencia fuerte en la eficiencia de extracción, coincidiendo con este trabajo.

Frecuencia de agitación

La agitación rítmica y fuerte de la tintura contra un soporte adecuado o recipiente se denomina dinamización (Machado, 2000), , y favorece el proceso de extracción gracias a que incrementa la difusión de las sustancias bioactivas y disminuye el gradiente de concentración (Azmir et al., 2013). Está comprobado que la dinamización de la maceración aumenta la eficiencia de extracción de polifenoles (Lima et al., 2015).

La mayoría de las investigaciones reportadas en la literatura para *P. ostreatus* realizan la extracción por maceración estática, son pocas las que incorporan agitación al proceso, y cuando lo hacen optan por una frecuencia de 150 rpm (Huang *et al.*, 2015; Nattoh *et al.*, 2016; Ramesh y Pattar, 2010; Ren *et al.*, 2014; C. Zhang *et al.*, 2018), que es la recomendada por las farmacopeas para drogas vegetales. Otros autores operaron a 115 rpm (Sulistiany,

Sudirman, y Dharmaputra, 2016) y el resto no controló la frecuencia de agitación (Hapsari *et al.*, 2012; J. Li *et al.*, 2015; D. Ren *et al.*, 2015). Pero ningún autor evaluó la influencia de la frecuencia de agitación en la extracción de sustancias bioactivas de Orellana. Aunque algunos calcularon la eficiencia de extracción: 32,7% operando con agua al clima a 500 rpm y relación 1:30 (Finimundy *et al.* 2018), 7,8% operando con etanol 80% a 150 rpm y relación 1:50 (Radzki *et al.*, 2016); 22,2% operando con agua hirviendo a 150 rpm y relación 1:20 (Alam *et al.*, 2010).

En el presente trabajo se encontró que la frecuencia de agitación sí tiene influencia significativa y su valor óptimo fue de 160 rpm, muy cercano al recomendado por las Farmacopea argentina (1996), Farmacopea brasileña (2010) y Farmacopea francesa (1847).

Tiempo de maceración

Se determina experimentalmente en función del solvente y del equipo seleccionado. Debe ser el suficiente para permitir la separación de los compuestos de interés, sin embargo, tiene que procurarse que no sea excesivo para evitar sobrecostos innecesarios (Dalonso *et al.*, 2010).

Tan sólo dos investigaciones evaluaron la influencia del tiempo de maceración en el proceso de extracción de polisacáridos de Pleurotus. Para Jiao y colaboradores (2017) el tiempo óptimo fue de 44,77 minutos y obtuvo una eficiencia de tan sólo 3.61%, mientras que para Sun y colaboradores (2010) fue de 2.7 horas, aunque no midieron la eficiencia de extracción como variable de respuesta sino el porcentaje de purificación. Algunos estudios afirman que debe limitarse a 90 minutos, ya que luego de este tiempo la influencia sobre la eficiencia de extracción tiende insignificante (Albuquerque et al., 2017; Jovanović et al., 2017), por lo que no sería un factor estadísticamente influyente (Ćujić et al., 2016). Además, Modelos de Superficie de

Respuesta (RSM, por sus siglas en inglés) demostraron que el tiempo de operación no se ve afectado por la Relación Droga:Solvente, el número de extracciones o la temperatura de operación (Sun *et al.*, 2010).

Alam y colaboradores (2010) realizaron maceraciones acuosas durante h obtuvieron una eficiencia del 22,2%. Finimundy y colaboradores (2018), lo hicieron durante 2,5 h y obtuvieron una eficiencia del 32,7%. Hapsari y colaboradores (2012) maceraron durante 2 h y obtuvieron una eficiencia del 12%. Pahila y colaboradores (2017) lo hicieron en menos de una hora y obtuvieron una eficiencia de tan sólo el 10%, del mismo modo que Phat, Moon y Lee (2016), quienes obtuvieron una eficiencia de tan sólo el 3,1%, operando cada uno con diferente relación droga:solvente. Otros autores, realizaron las maceraciones incorporando etanol, antes y/o después de la maceración en agua, obteniendo eficiencias del: 30 % operando con agua hirviendo durante 2 h y Etanol 80% durante 4 h (Xu et al., 2016); 7,8% operando con Etanol 80% durante 1 h y agua hirviendo durante 3 h (Radzki et al., 2016); 7,1% operando con Etanol 95% durante 24 h, agua hirviendo durante 3 h y Etanol 80%

durante 12 h (S. Li y Shah, 2016); 5,8% operando con agua durante 3 h y Etanol 95% durante 24 h (Y. Zhang et al., 2012); 5,3% operando con Etanol 80% durante 24 h, agua durante 2 h y Etanol absoluto durante 12 h (Xia, Fan, Zhu, y Tong, 2011); 5,2% operando con Etanol 99% durante 48 h, agua hirviendo durante 8 h y Etanol 99% durante 12 h (P. Mitra, Khatua, v Acharva, 2013) 3,8% v 3,1% operando con Etanol absoluto durante 6 h y 24 h, respectivamente (Komura et al., 2014; Lin et al., 2014); 2,7% % operando con Etanol 80% durante 3 h y agua hirviendo durante 3 h (Facchini et al., 2014). Considerando los datos anteriores, se ve no relación de linealidad y/o proporcionalidad entre la variación del tiempo de maceración y la eficiencia de extracción, lo que concuerda con los resultados de este trabajo.

CONCLUSIONES

Se encontró que el tratamiento que presenta la mayor eficiencia (29%) consta de TP=500 micras, TM=48 h y FA=160 rpm. La influencia de FA en E fue la única estadísticamente significativa. El análisis de regresión lineal arrojó el siguiente modelo matemático: E (FA)=-0,0636667*FA+31,9242.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agriculture and Agri-Food Canada. (2009). Consumer Trends: Functional Foods. *Market Analysis Report*, (December), 10.

Alam, N., Yoon, K. N., Lee, K. R., Shin, P. G., Cheong, J. C., Yoo, Y. B., ... Lee, T. S. (2010). Antioxidant Activities and Tyrosinase Inhibitory Effects of Different Extracts from Pleurotus ostreatus Fruiting Bodies. *Mycobiology*, *38*(4), 295–301. https://doi.org/10.4489/MYCO.2010.38.4.295

Albuquerque, B. R., Prieto, M. A., Barreiro, M. F., Rodrigues, A., Curran, T. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2017). Catechin-based extract optimization obtained from Arbutus unedo L. fruits using maceration/microwave/ultrasound extraction techniques. *Industrial Crops and Products*, *95*, 404–415. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.10.050

Association of Official Analytical Chemists [AOAC]. (1990). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (15th ed.). Washington, DC: AOAC.

Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014

Chitiva Jaramillo, A. (2010). Contribución al estudio de microhongos filamentosos en los ecosistemas Páramo de Guasca y El Tablazo. Estudio preliminar de mohos de páramos colombianos. Bogotá

- D.C. Retrieved from http://www.javeriana.edu.co/gifuj/hongos ecosistemas paramo.pdf
- Colombia. Departamento Nacional de Planeación [DNP]. (2014). Bases del Plan Nacional de Desarrollo 2014-2018. Departamento Nacional de Planeacción (Vol. 2). Bogotá D.C. Retrieved from https://goo.gl/wuDSYZ
- Comissão Permanente de Revisão da Farmacopéia Brasileira. (1997). Farmacopéia Homeopática Brasileira: métodos gerais (2nd ed.). Brasilia. Retrieved from http://bases.bireme.br/cgibin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=247021&indexSearch=ID
- Ćujić, N., Šavikin, K., Janković, T., Pljevljakušić, D., Zdunić, G., & Ibrić, S. (2016). Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. *Food Chemistry*, 194, 135–142. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.008
- Dalonso, N., Souza, R., Silveira, M. L. L., Ruzza, Â. A., Wagner, T. M., Wisbeck, E., & Furlan, S. A. (2010). Characterization and antineoplasic effect of extracts obtained from pleurotus sajor-caju fruiting bodies. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 160(8), 2265–2274. https://doi.org/10.1007/s12010-009-8678-9
- Deepalakshmi, K., & Mirunalini, S. (2016). Efficacy of Pleurotus ostreatus (Jacq. Ex Fr.) P.kumm. on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced mammary carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats. *New Horizons in Translational Medicine*, 3(2), 73–82. https://doi.org/10.1016/j.nhtm.2016.06.002
- Devi, K. S. P., Behera, B., Mishra, D., & Maiti, T. K. (2015). Immune augmentation and Dalton's Lymphoma tumor inhibition by glucans/glycans isolated from the mycelia and fruit body of Pleurotus ostreatus. *International Immunopharmacology*, 25(1), 207–217. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.01.026
- Farmacopea argentina. (1996). *Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina* (7th ed., Vol. 1). Buenos Aires: ANMAT. https://doi.org/10.1016/B978-84-8086-896-9/00339-3
- Farmacopea brasileña. (2010). *Fundación Oswaldo Cruz [FIOCRUZ]* (5th ed., Vol. 1). Brasilia: Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria [ANVISA].
- Farmacopea francesa. (1847). *Traducido por Jiménez, Manuel*. (Universidad Complutense de Madrid, Ed.) (2nd ed.). Madrid: Imprenta de D. N. Sanchíz.
- Finimundy, T. C., Barros, L., Calhelha, R. C., Alves, M. J., Prieto, M. A., Abreu, R. M. V., ... Ferreira, I. C. F. R. (2018). Multifunctions of Pleurotus sajor-caju (Fr.) Singer: A highly nutritious food and a source for bioactive compounds. *Food Chemistry*, *245*, 150–158. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.088
- Gomes Corrêa, R. C., Brugnari, T., Bracht, A., Peralta, R. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of Pleurotus spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. *Trends in Food Science & Technology*, 50, 103–117. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.012
- Gunawardena, D., Bennett, L., Shanmugam, K., King, K., Williams, R., Zabaras, D., ... Münch, G. (2014). Anti-inflammatory effects of five commercially available mushroom species determined in lipopolysaccharide and interferon-γ activated murine macrophages. *Food Chemistry*, *148*, 92–96. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.015
- Hapsari, R., Elya, B., & Amin, J. (2012). Formulation and evaluation of antioxidant and tyrosinase inhibitory effect from gel containing the 70% ethanolic Pleurotus ostreatus extract. *Int. J. Med. Arom. Plants*, *2*(1), 135–140.
- Hu, S. H., Liang, Z. C., Chia, Y. C., Lien, J. L., Chen, K. S., Lee, M. Y., & Wang, J. C. (2006). Antihyperlipidemic and Antioxidant Effects of Extracts from *Pleurotus citrinopileatus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(6), 2103–2110. https://doi.org/10.1021/jf052890d
- Huang, S. J., Lin, C. P., & Tsai, S. Y. (2015). Vitamin D2 content and antioxidant properties of fruit body

- and mycelia of edible mushrooms by UV-B irradiation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 42, 38–45. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.02.005
- Jiao, F., Wang, X., Song, X., Jing, H., Li, S., Ren, Z., ... Jia, L. (2017). Processing optimization and anti-oxidative activity of enzymatic extractable polysaccharides from Pleurotus djamor. *International Journal of Biological Macromolecules*, *98*, 469–478. https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.01.126
- Jovanović, A. A., Đorđević, V. B., Zdunić, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., Gođevac, D. M., & Bugarski, B. M. (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from Thymus serpyllum L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. *Separation and Purification Technology*, *179*, 369–380. https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.01.055
- Khan, A. A., Gani, A., Masoodi, F. A., Mushtaq, U., & Naik, A. S. (2017). Structural, rheological, antioxidant, and functional properties of β–glucan extracted from edible mushrooms Agaricus bisporus, Pleurotus ostreatus and Coprinus attrimentarius. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 11, 67–74. https://doi.org/10.1016/J.BCDF.2017.07.006
- Li, J., Wang, X., Wang, W., Luo, J., Aipire, A., Li, J., & Zhang, F. (2015). Pleurotus ferulae water extract enhances the maturation and function of murine bone marrow-derived dendritic cells through TLR4 signaling pathway. *Vaccine*, *33*(16), 1923–1933. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.02.063
- Li, S., & Shah, N. P. (2016). Characterization, antioxidative and bifidogenic effects of polysaccharides from Pleurotus eryngii after heat treatments. *Food Chemistry*, *197*, 240–249. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.113
- Lima, M. dos S., da Conceição Prudêncio Dutra, M., Toaldo, I. M., Corrêa, L. C., Pereira, G. E., de Oliveira, D., ... Ninow, J. L. (2015). Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced in industrial scale by different processes of maceration. *Food Chemistry*, 188, 384–392. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.014
- Lin, J. T., Liu, C. W., Chen, Y. C., Hu, C. C., Juang, L. D., Shiesh, C. C., & Yang, D. J. (2014). Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory properties for ethanolic extracts from Pleurotus eryngii fruiting bodies harvested at different time. *LWT Food Science and Technology*, *55*(1), 374–382. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.08.023
- Llauradó, G., Morris, H. J., Lebeque, Y., Venet, G., Fong, O., Marcos, J., ... Bermúdez, R. C. (2016). Oral administration of an aqueous extract from the oyster mushroom Pleurotus ostreatus enhances the immunonutritional recovery of malnourished mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 83, 1456–1463. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.08.067
- Ma, G., Yang, W., Mariga, A. M., Fang, Y., Ma, N., Pei, F., & Hu, Q. (2014). Purification, characterization and antitumor activity of polysaccharides from Pleurotus eryngii residue. *Carbohydrate Polymers*, *114*, 297–305. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.069
- Machado Rocha, L. (2000). Extracción de materias primas vegetales. In R. Pinzón (Ed.), Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos (pp. 61–70). Bogotá D.C.: Área de Ciencia y Tecnología del Convenio Andrés Bello & Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos (RIPROFITO) del subprograma X del CYTED.
- Mitra, A. K., & Rodríguez-Fernandez, G. (2010). Latin America and the Caribbean: assessment of the advances in public health for the achievement of the Millennium Development Goals. *Int J Environ Res Public Health*, 7(5), 2238–2255. https://doi.org/10.3390/ijerph7052238
- Nattoh, G., Musieba, F., Gatebe, E., & Mathara, J. (2016). Towards profiling differential distribution of bioactive molecules across four phenologies in Pleurotus djamor R22. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(6), 472–480. https://doi.org/10.1016/S2222-1808(16)61071-X
- Niksic, M., Klaus, A., & Argyropoulos, D. (2016). Safety of foods based on mushrooms. In V. Prakash, O. Martín-Belloso, L. Keener, S. Astley, S. Braun, H. Mcmahon, & H. Lelieveld (Eds.), *Regulating*

- Safety of Traditional and Ethnic Foods (pp. 421–437). Waltham, Massachusetts: Academic Press.
- Organización de las Naciones Unidas [ONU]. (2015). Objetivos de Desarrollo Sostenible. Retrieved from http://www.un.org/sustainabledevelopment/es/summit/
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2015). *Informe mundial sobre el envejecimiento y la salud*.

 New York. Retrieved from http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/186466/1/9789240694873 spa.pdf?ua=1
- Pahila, J., Kaneda, H., Nagasaka, R., Koyama, T., & Ohshima, T. (2017). Effects of ergothioneine-rich mushroom extracts on lipid oxidation and discoloration in salmon muscle stored at low temperatures. *Food Chemistry*, 233, 273–281. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.130
- Pineda, J. A. (2014). Desarrollo de una tecnología para la producción a pequeña escala de la biomasa del hongo ostra (Pleurotus ostreatus). Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz.
- Pineda, J. A., Duarte, A. S., & Ponce, C. A. (2017). *Champiñón ostra: Guía de producción artesanal* (1st ed.). Ibarra.
- Radzki, W., Ziaja-So??tys, M., Nowak, J., Rzymowska, J., Topolska, J., S??awi??ska, A., ... Kuczumow, A. (2016). Effect of processing on the content and biological activity of polysaccharides from Pleurotus ostreatus mushroom. LWT Food Science and Technology, 66, 27–33. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.016
- Ramesh, C. H., & Pattar, M. G. (2010). Antimicrobial properties, antioxidant activity and bioactive compounds from six wild edible mushrooms of western ghats of Karnataka, India. *Pharmacognosy Research*, 2(2), 107–112. https://doi.org/10.4103/0974-8490.62953
- Ren, D., Jiao, Y., Yang, X., Yuan, L., Guo, J., & Zhao, Y. (2015). Antioxidant and antitumor effects of polysaccharides from the fungus Pleurotus abalonus. *Chemico-Biological Interactions*, *237*, 166–174. https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.06.017
- Ren, L., Hemar, Y., Perera, C. O., Lewis, G., Krissansen, G. W., & Buchanan, P. K. (2014). Antibacterial and antioxidant activities of aqueous extracts of eight edible mushrooms. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *3*(2), 41–51. https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.01.003
- Smith, R. M. (2003). Before the injection Modern methods of sample preparation for separation techniques. *Journal of Chromatography A, 1000*(1–2), 3–27. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00511-9
- Suárez Arango, C., & Nieto, I. J. (2013). Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: Una alternativa en la obtención de nutracéuticos. *Revista Iberoamericana de Micologia, 30*(1), 1–8. https://doi.org/10.1016/j.riam.2012.03.011
- Sulistiany, H., Sudirman, L. I., & Dharmaputra, O. S. (2016). Production of Fruiting Body and Antioxidant Activity of Wild Pleurotus. *HAYATI Journal of Biosciences*, *23*(4), 191–195. https://doi.org/10.1016/J.HJB.2016.07.003
- Sun, Y., Li, T., Yan, J., & Liu, J. (2010). Technology optimization for polysaccharides (POP) extraction from the fruiting bodies of Pleurotus ostreatus by Box-Behnken statistical design. *Carbohydrate Polymers*, 80(1), 242–247. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.11.018
- Szwengiel, A., & Stachowiak, B. (2016). Deproteinization of water-soluble ß-glucan during acid extraction from fruiting bodies of Pleurotus ostreatus mushrooms. *Carbohydrate Polymers*, *146*, 310–319. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.015
- Taofiq, O., González-Paramás, A. M., Martins, A., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Mushrooms extracts and compounds in cosmetics, cosmeceuticals and nutricosmetics-A review. *Industrial Crops and Products*, *90*, 38–48. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.06.012
- Terry, P., Giovannucci, E., Michels, K. B., Bergkvist, L., Hansen, H., Holmberg, L., & Wolk, A. (2001). Fruit, vegetables, dietary fiber, and risk of colorectal cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, *93*(7), 525–533. https://doi.org/10.1093/jnci/93.7.525
- Valverde, E., & Dos Santos, M. (2000). Extracción de materias primas vegetales. In R. Pinzón (Ed.),

- Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos (pp. 27–60). Bogotá D.C.: Área de Ciencia y Tecnología del Convenio Andrés Bello & Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos (RIPROFITO) del subprograma X del CYTED.
- Valverde, M. E., Hernández-Perez, T., & Paredes-López, O. (2013). Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. *International Journal of Microbiology*, 1–14. https://doi.org/10.1155/2015/376387
- Yan, B., Jing, L., & Wang, J. (2015). A polysaccharide (PNPA) from Pleurotus nebrodensis offers cardiac protection against ischemia—reperfusion injury in rats. *Carbohydrate Polymers*, *133*, 1–7. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.076
- Zhang, C., Li, S., Zhang, J., Hu, C., Che, G., Zhou, M., & Jia, L. (2016). Antioxidant and hepatoprotective activities of intracellular polysaccharide from Pleurotus eryngii SI-04. *International Journal of Biological Macromolecules*, *91*, 568–577. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.05.104
- Zhang, C., Zhang, L., Liu, H., Zhang, J., Hu, C., & Jia, L. (2018). Antioxidation, anti-hyperglycaemia and renoprotective effects of extracellular polysaccharides from Pleurotus eryngii SI-04. *International Journal of Biological Macromolecules, 111,* 219–228. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.009
- Zhang, Y., Hu, T., Zhou, H., Zhang, Y., Jin, G., & Yang, Y. (2016). Antidiabetic effect of polysaccharides from Pleurotus ostreatus in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 83, 126–132. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.045

Banco de recursos genéticos para Pycnoporus spp.

Genetics resource bank for Pycnoporus spp.

William Edisson Gómez Andrade¹, Julio Amilcar Pineda Insuasti², Ana Checa ¹

Autor para correspondencia: williamedisson@yahoo.es

Recibido: octubre 27 de 2019 Aceptado: diciembre 28 de 2019

RESUMEN

Pycnoporus spp. es un hongo con gran potencial industrial debido a la capacidad redox de sus enzimas lacasas y su actividad biológica, principalmente antimicrobiana y antitumoral. También es fuente natural rojo-anaranjado pigmentos como cinabarina. Por lo tanto, es necesario estudiar su conservación en Bancos de Recursos Genéticos con fines industriales. Bajo este contexto, el objetivo de este trabajo fue describir los pasos para la obtención de cepas puras de *Pycnoporus* spp. Se encontró que las etapas del proceso de obtención de cepas puras de este género son: Recolección, aislamiento, identificación, caracterización y conservación; siendo esta última el Punto Crítico de Control (PCC) que afectan directamente la viabilidad.

PALABRAS CLAVE: fungario, conservación de especies, cepa pura, potencial industrial.

ABSTRACT

Pycnoporus spp. is a fungus with great biotechnological potential due to the redox capacity of its enzymes and its biological activity, mainly antimicrobial and antitumor. It is also a natural source of red-orange pigments such as cinnabarina. Therefore, it is necessary to study its conservation in Genetic Resources Banks for industrial purposes. In this context, the aim of this work was to describe the steps for obtaining pure strains of *Pycnoporus* spp. It was found that the stages of obtaining pure strains of this genus are: Collection, isolation, identification, characterization conservation; the latter is a Critical Control Point (CCP) that directly affects viability.

KEYWORDS: fungus, species conservation, pure strain, industrial potential.

INTRODUCCIÓN

Los hongos basidiomicetos son saprófitos que provocan pudrición blanca en la madera debido al complejo enzimático que producen para degradarla (Alexopoulos, Mims, y Blackwell, 1996). Dentro de esta división se encuentra la familia Polyporaceae, que es la

más eficiente degradadora de la madera por su fuerte actividad ligninolítica (Papinutti, 2013), y además produce pigmentos durante su metabolismo secundario, generalmente derivados de ácidos polipóricos y terpenilquinones (Velíšek y Cejpek, 2011).

¹ Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra, Ecuador.

² Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

Pycnoporus spp. es un género representativo de la familia Polyporaceae. Según colaboradores (2011) existen cuatro especies: P. cinnabarinus, P. puniceus, P. sanguineus y P. coccineus. Dichas especies producen no menos de siete pigmentos, principalmente: cinabarina, ácido cinabarínico y tramesanguina (Achenbach y Blumm, 1991; Eggert, Temp, y Eriksson, 1996), así como enzimas de interés industrial, que presentan gran potencial debido a su actividad inespecífica para oxidar compuestos polifenólicos de estructura molecular compleja (Levasseur et al., 2014; Xu 2000). Adicionalmente, dichos metabolitos presentan actividad antiviral, antioxidante, antifúngica, antibacteriana, antihemorrágica, entre otras, de potencial biotecnológico (Acosta et al., 2010; Lomascolo et al., 2003).

La obtención de cepas puras y su conservación es imprescindible para la preservación de las especies y su aprovechamiento biotecnológico; ello es factible gracias a los Bancos de Recursos Genéticos (BRG), que se convierten en fuentes confiables de cepas viables con fines industriales y académicos (Badía et al., 2011; Cruz, 2004; Ramírez y Coha, 2003).

Existen en la República de Ecuador sólo dos Bancos de Recursos Genéticos fúngicos o Fungarios, coordinados por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE) y la Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL) (Cruz, 2004); aunque su impacto científico-industrial no ha sido muy visible, probablemente por deficiencias tecnológicas, pese a que la legislación ecuatoriana le sea favorable (Asamblea Nacional, 2008).

Por lo tanto, el propósito de este artículo es describir los pasos para la obtención de cepas puras de *Pycnoporus spp.* con fines industriales, mediante una revisión exhaustiva de la literatura que favorezca la conformación de fungarios exitosos.

RECOLECCION

Pycnoporus spp. suele encontrarse en sustratos lignocelulósicos en descomposición, sobre los cuales crece naturalmente (Borderes, Costa, Guedes, y Tavares, 2011).

Para la recolección es necesario conocer de antemano las características macrosópicas del cuerpo fructífero del hongo (Ortiz et al., 2016). **Pycnoporus** spp. posee un basidioma flaveliforme (forma de abanico) más o menos aplanado, de color naranja intenso y un margen redondeado de color similar al resto del carpóforo; su tamaño puede variar entre 3 a 10 cm de ancho y su carne varía de corchoso a duro. Se encuentra adherido al sustrato por la base, donde el basidioma es más grueso y puede llegar a medir hasta 3 cm; mientras los bordes son más delgados, alcanzando a medir hasta menos de 1 cm. Ocasionalmente los bordes son cofluentes, es decir, que se pegan con los de los basidiomas contiguos. (Asociación Micológica Fungípedia, 2016; Papinutti, 2013). Se puede observar a simple vista que el himenio de este género posee poros, por donde libera las esporas (Alexopoulos y Beneke, 1962).

Macroscópicamente las especies son diferenciables entre sí, por ejemplo: P. sanguineus, tiene un color más rojizo que su homólogo P. cinnabarinus; además tiene una base estrecha que le da la apariencia de subestipitado mientras P. cinnabarinus es sésil. Este último tiene a su vez una superficie piléica libre o escasa de vellosidades, a diferencia de P. fulgens, con el cual suele asemejarse por la coloración carpóforo (Asociación del Micológica Fungípedia, 2016; Papinutti, 2013).

Una vez reconocido el hongo y recolectado su cuerpo fructífero se deben tomar apuntes acerca de los diferentes substratos en donde fue encontrado (tierra, madera en descomposición, mantillo del bosque...) (Chanona et al., 2007), las coordenadas y la temperatura ambiental. En la tabla 1 se listan algunos materiales lignocelulósicos de donde

se han recolectado las cepas de *Pycnoporus* spp.

Tabla 1. Sustratos vegetales donde crece *Pycnoporus* spp.

Especie	Sustrato	Referencia
Pycnoporus	Madera de	(Cruz Muñoz et
sanguíneus	casuarina y mango	al., 2015)
	Madera	(Acosta et al.,
	contaminada con	2010; Quiroz <i>et</i>
	petróleo	al., 2009)
	Troncos de palma	(Achenbach y
		Blumm, 1991)
	Encino	(Chanona et al.,
		2007)
	Madera de <i>Parkia</i>	(Esposito et al.,
	oppositifolia	1993)
Pycnoporus	Madera de pino	(Eggert et al.,
cinnabarinus		1996)
	Troncos	(Guzmán,
	quemados	1979)
Pycnoporus	Eucalipto	(Machuca y
coccineus		Ferraz, 2001)

AISLAMIENTO DE CEPAS

Se toma una pequeña muestra de tejido y se deposita en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés) o Agar Extracto de Malta (MEA, por sus siglas en inglés) y se incuba durante 35 días a 25 °C en ausencia de luz. El rango de crecimiento micelial puede oscilar entre 24-30 °C.

Una vez desarrollado el hongo se hacen repiques hasta obtener una cepa pura (Cruz Muñoz et al., 2015; Herpoël et al., 2000; Schliephake et al., 1993). Es necesario adicionar cloranfenicol (200 g/l) a los medios de cultivo, para evitar contaminaciones bacterianas (Henrique Rosa et al., 2003).

Según Correa y colaboradores (2005) el MEA es el medio óptimo para el crecimiento micelial posterior a la purificación, mientras que Acosta y colaboradores (2010) afirman que es el Agar Harina Integral de Trigo (HTIA, por sus siglas en inglés). Por su parte, Cruz y colaboradores (2015) aseveran que los medios de cultivo

óptimos son los que contienen extracto del material vegetal del cual se recolectó el hongo.

En la tabla 2 se mencionan los principales medios de cultivo empleados para el aislamiento de *Pycnoporus spp*.

Tabla 2. Medios de cultivo reportados para el aislamiento de *Pycnoporus* spp.

Especie	Medio de cultivo	Referencia
Pycnoporus sanguíneus	Agar Papa Dextrosa	(Acosta <i>et al.</i> , 2010; Cruz <i>et al.</i> , 2015; Smânia <i>et al.</i> , 1998; Vikineswary <i>et al.</i> , 2006)
	Agar Harina Integral de Trigo Agar Extracto de Malta	(Acosta-Urdapilleta et al., 2010; Cruz Muñoz et al., 2015) (Acosta-Urdapilleta et al., 2010; Atteke et al., 2013; Cruz Muñoz et al., 2015; Machuca y Ferraz, 2001; Schliephake et al., 1993; Uzan et al., 2010)
	Medios afines al material vegetal de donde se recolectó	(Cruz Muñoz <i>et al.,</i> 2015)
	Medio Czapek-Dox con sulfato de manganeso, algunas veces adicionado con extracto de semillas de guisantes o salvado de trigo.	(Böse, 1946)
Pycnoporus cinnabarinus	Agar Extracto de malta Agar Extracto	(American Type Culture Collection, 2016a) (American Type
	de levadura Agar Papa Dextrosa	Culture Collection, 2016b) (FuQuan y QiJin, 2008)

IDENTIFICACIÓN

Microscópicamente, se pueden identificar cuatro tipo de hifas: 1) las de los tubos o poros, que son de pared delgada, ramificadas y se tiñen con fioxina; 2) las del margen y el píleo, que son un poco más gruesas, no ramificadas, no se tiñen con fioxina, y usualmente tienen gránulos anaranjados que se disuelven en KOH; 3) las de la zona de transición y tubos, que tienen grosor variable y se disponen en capas; y 4) las que se encuentran únicamente en la zona de transición, que son delgadas, con ramificaciones cortas y recurvadas (Papinutti, 2013). P. sanguíneus y P. cinnabarinus se diferencian en su sistema de hifas, el primero es dimítico y el segundo es trimítico (Asociación Micológica Fungípedia, 2016).

Es necesario realizar una adecuada identificación, para evitar asignar erróneamente propiedades, metabolitos o usos potenciales a alguna cepa, entorpeciendo el éxito de futuras investigaciones o generando pérdidas económicas a los empresarios que la adquirieron. Para evitar vacilaciones, lo más preciso es realizar pruebas a nivel molecular mediante extracción del ADN ribosomal, y su amplificación, secuenciación y alineación con las bases de datos del banco de genes (Cruz Muñoz et al., 2015).

CARACTERIZACIÓN

Para la determinación de las condiciones óptimas de crecimiento y la producción de metabolitos secundarios se toman discos de aproximadamente 5 mm de diámetro a partir del borde radial de colonias de 30 días de edad, y se transfieren a nuevos medios de cultivo conforme con el metabolito que se quiera producir, se incuba durante 30 días a 23 °C con luz blanca continua (Cruz Muñoz et al., 2015).

Es necesario realizar ensayos de actividad enzimática, para identificar su potencial industrial; principalmente actividad ligninolítica, celulolítica, hemicelulolítica (Forchiassin *et al.*, 2014). Las enzimas ligninolíticas más abundantes en este hongo son las lacasas (Eggert *et al.*, 1996), lo que facilita su proceso de purificación. Se había llegado a pensar que la producción de peroxidasas extracelulares era nula (Machuca y Ferraz, 2001).

Los metabolitos primarios y secundarios producidos por el género Pycnoporus varían dependiendo de la especie y condiciones de cultivo (Acosta-Urdapilleta et al., 2010); es necesario aclarar que el crecimiento micelial, no de manera obligatoria, está relacionado con la producción de metabolitos secundarios (Baumer et al., 2008). Una vez los metabolitos son extraídos según la metodología seguida, se identifican por cromatografía de capa fina, mediante comparación de los frentes de retención (Rf) (Cruz Muñoz et al., 2015), cromatografía de gases o espectrometría de masas (Teoh, Don, y Ujang, 2011). En la tabla 3 se nombran los principales metabolitos producidos por *Pycnoporus* spp.

Tabla 3. Principales metabolitos secundarios producidos por *Pycnoporus* spp.

Metabolito	Especie	Referencia
Lacasas	P. cinnabarinus	(Atteke et al., 2013; Berrio et al.,
	P. coccineus	2007; Camarero <i>et al.</i> , 2004;
	P. sanguineus	Camarero et al., 2005; Eugenio et al.,
		2010; Lu <i>et al.</i> , 2007; Machuca y
		Ferraz, 2001; Madhavi y Lele, 2009;
		Munusamy et al., 2008; Ramírez et
		al., 2014; Sigoillot et al., 2002, 2004;
		Xu <i>et al.</i> , 2000)

Metabolito	Especie	Referencia
Peroxidasas extracelulares (Lignin, Versátil y Manganeso Peroxidasa)	P. cinnabarinus P. coccineus	(Levasseur et al., 2014; Machuca y Ferraz, 2001)
Celulasas (β-glucosidasas Xilanasas)	P. cinnabarinus P. coccineus	(Bey et al., 2011; Machuca y Ferraz, 2001; Sigoillot et al., 2002)
Celobiosa deshidrogenasa	P. cinnabarinus	(Bey <i>et al.</i> , 2011; Sigoillot <i>et al.</i> , 2002)
Galactosidasa	P. cinnabarinus	(Bey <i>et al.</i> , 2011; Ohtakara, Hayashi, y Mitsutomi, 1981)
DDMP	P. sanguineus	(Teoh <i>et al.,</i> 2011)
Poliporina	P. sanguineus	(Böse, 1946; Henrique Rosa <i>et al.</i> , 2003)
Cinabarina (3-fenoxacina)	P. sanguineus P. cinnabarinus	(Achenbach y Blumm, 1991; Acosta et al., 2010; Cruz Muñoz et al., 2015; Dias y Urban, 2009; Smânia et al., 2003; Smânia et al., 1998)
O-acetyl-cinabarina	P. sanguineus	(Achenbach y Blumm, 1991)
Ácido cinabarínico	P. cinnabarinus P. sanguineus	(Achenbach y Blumm, 1991; Acosta <i>et al.</i> , 2010; Dias y Urban, 2009; Gocenoglu y Pazarlioglu, 2014)
Tramesanguina	P. sanguineus	(Acosta <i>et al.,</i> 2010)
Ácido cinabarínico	P. cinnabarinus	(Dias y Urban, 2009)

Metabolito	Especie	Referencia
Pycnoporina	P. cinnabarinus	(Dias y Urban, 2009)
3-1 fenoxacina	P. sanguineus	(Cruz et al., 2015)
2-amino-fenoxazin-3-ona	P. sanguineus	(Achenbach y Blumm, 1991)
Pycnosanguina éter fenoxacina	P. sanguineus	(Achenbach y Blumm, 1991)
Ergosterol	P. cinnabarinus P. sanguineus	(Achenbach y Blumm, 1991; Dias y Urban, 2009)
5-6- dihidroergosterol	P. sanguineus	(Achenbach y Blumm, 1991)
Ergosterol peróxido	P. sanguineus	(Achenbach y Blumm, 1991)
Vainillina	P. cinnabarinus	(Falconnier <i>et al.</i> , 1994; Krings <i>et al.</i> , 2001; Stentelaire <i>et al.</i> , 2000)

ALMACENAMIENTO

La cepa debe ser almacenada en refrigeración a 4 ºC para que no pierda su viabilidad (Borderes et al., 2011; Schliephake et al., 1993). Existen otros métodos que también pueden emplearse: Inmersión en destilada, inmersión en aceite mineral, liofilización. congelación, transferencia periódica (Ortiz et al., 2016). La temperatura de congelación es de -80 °C en hielo seco o nitrógeno líquido, y la de liofilización de 2 a 8 °C. Cada vez que se vaya a usar la cepa, limpie su envase con etanol al 70 % y transfiera asépticamente (American Type Culture Collection, 2016b, 2016a; Uzan et al., 2010).

CONCLUSIONES

Las etapas del proceso de obtención de cepas puras son: Recolección, aislamiento, identificación, caracterización y almacenamiento. La identificación de especies es clave, para no atribuir propiedades y/o usos potenciales erróneamente a una cepa, por lo que es más segura identificación molecular que la taxonómica. El almacenamiento de las cepas es un Punto Crítico de Control (PCC) porque si es inadecuado puede afectar su viabilidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Achenbach, H., & Blumm, E. (1991). Investigation of the Pigments of Pycnoporus sanguineus - Pycnosanguin and New Phenoxazin-3-ones. *Arch Pharm*, *324*(1), 3–6. https://doi.org/10.1002/ardp.19913240103

Acosta-Urdapilleta, L., Alonso-Paz, G. A., Rodríguez, A., Adame, M., Salgado, D., Montiel-Peña, M., & Villegas-Villarreal, E. C. (2010). Pycnoporus sanguineus, un hongo con potencial biotecnológico. In D. Martínez-Carrera, N. Cuvetto, M. Sobal, P. Morales, & V. M. Mora (Eds.), *Hacia un*

- Desarrollo sustentable de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el siglo XXI. (pp. 531–562). Puebla: Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales. COLPOS-UNS-CONACYT-AMC-UAEMUPAEP-IMINAP. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/235938991_Pycnoporus_sanguineus_un_hongo_c on potencial biotecnologico
- Alexopoulos, C. J., & Beneke, E. S. (1962). Laboratory Manual for Introductory Mycology. Minneapolis: Burgess Publishing Company. Retrieved from https://ia600300.us.archive.org/23/items/Laboratory_Manual_for_Introductory_Mycology/19 62_alexopoulosBeneke_laboratoryManualForIntroductoryMycology.pdf
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). Phylum Basidiomycota order Aphyllophorales, polypores, Chantharelles, tooth fungi, coral fungi and corticioids. In D. Harris (Ed.), *Introductory Mycology* (4th ed., pp. 563–597). New York: Wiley and Sons Inc.
- American Type Culture Collection. (2016a). *Pycnoporus cinnabarinus (ATCC® 200478* TM). Manassas.
- American Type Culture Collection. (2016b). *Pycnoporus cinnabarinus (ATCC® 204166™)*. Manassas.
- Asamblea Nacional. Constitución de la República del Ecuador, Pub. L. No. Registro Oficial 449, 218 (2008). Quito-Ecuador. Retrieved from http://www.asambleanacional.gov.ec/documentos/constitucion de bolsillo.pdf
- Asociación Micológica Fungípedia. (2016). Pycnoporus cinnabarinus. Retrieved August 3, 2016, from https://www.fungipedia.org/hongos/pycnoporus-cinnabarinus.html
- Atteke, C., Mounguengui, S., Saha Tchinda, J.-B., Ndikontar, M. K., Ibrahim, B., Gelhaye, E., & Gelhaye, E. (2013). Biodegradation of Reactive Blue 4 and Orange G by Pycnoporus sanguineus Strain Isolated in Gabon. *J Bioremed Biodeg*, 4(206), 2155–6.199. https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000206
- Badía, M., Hernández, B., Murrel, J. A. L., Mahillon, J., & Pérez, M. H. (2011). Aislamiento y caracterización de cepas de Bacillus asociadas al cultivo del arroz (Oryza sativa L.). *Revista Brasileira de Agroecologia*, *6*, 90–99.
- Baumer, J. D., Mas Diego, S. M., Pacheco, S., Morgado, A. F. M., & Furigo, A. F. (2008). Comparative study of mycelial growth and production of cinnabarin by different strains of Pycnoporus sanguineus. *Revista de Biología e Farmacia BioFar*, 2(2), 1–5. Retrieved from http://sites.uepb.edu.br/biofar/download/v2n2-2008/01-comparative_study.pdf
- Berrio, J., Plou, F. J., Ballesteros, A., Martínez, Á. T., & Martínez, M. J. (2007). Immobilization of pycnoporus coccineus laccase on Eupergit C: Stabilization and treatment of olive oil mill wastewaters. *Biocatalysis and Biotransformation*, 25(2–4), 130–134. https://doi.org/10.1080/10242420701379122
- Bey, M., Berrin, J.-G., Poidevin, L., & Sigoillot, J.-C. (2011). Heterologous expression of Pycnoporus cinnabarinus cellobiose dehydrogenase in Pichia pastoris and involvement in saccharification processes. *Microbial Cell Factories*, 10(113). https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-113
- Borderes, J., Costa, A., Guedes, A., & Tavares, L. B. B. (2011). Antioxidant activity of the extracts from Pycnoporus sanguineus mycelium. *Brazilian Archives of Biology and Technology, 54*(6), 1167–1174. https://doi.org/10.1590/S1516-89132011000600012
- Böse, S. R. (1946). Antibiotics in a Polyporus (Polystictus sanguineus). *Nature*, *158*, 292–296. https://doi.org/10.1038/158292a0
- Camarero, S., García, O., Vidal, T., Colom, J., del Río, J. C., Gutiérrez, A., ... Martínez, Á. T. (2004). Efficient bleaching of non-wood high-quality paper pulp using laccase-mediator system. *Enzyme and Microbial Technology*, 35(2), 113–120. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2003.10.019
- Camarero, S., Ibarra, D., Martínez, M. J., & Martínez, A. T. (2005). Lignin-derived compounds as efficient laccase mediators for decolorization of different types of recalcitrant dyes. *Applied and*

- *Environmental Microbiology*, *71*(4), 1775–1784. https://doi.org/10.1128/AEM.71.4.1775-1784.2005 Appl.
- Chanona-Gómez, F., Andrade-Gallegos, R. H., Castellanos-Albores, J., & Sánchez, J. E. (2007). Macromicetos del Parque Educativo Laguna Bélgica, municipio de Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 78, 369–381. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/pdf/rmbiodiv/v78n2/v78n2a14.pdf
- Correa, E., Quiñones, W., Torres, F., Cardona, D., Franco, A. E., Robledo, S., & Echeverri, F. (2005). Actividad leishmanicida de pycnoporus sanguineus. *Actual Biol.*, 27(1), 39–42.
- Cruz, D. J. (2004). Fungario. Retrieved June 20, 2008, from http://coleccionesbiologicas.utpl.edu.ec/fungario
- Cruz Muñoz, R., Piña-Guzmán, A. B., Yáñez-Fernández, J., Valencia-Del Toro, G., Bautista-Baños, S., & Villanueva Arce, R. (2015). Producción de pigmentos de Pycnoporus sanguineus en medio de cultivo sólido. *Agrociencia*, 49(4), 347–359. Retrieved from http://www.redalyc.org/pdf/302/30239403001.pdf
- Dias, D., & Urban, S. (2009). HPLC and NMR studies of phenoxazone alkaloids from Pycnoporus cinnabarinus. *Natural Product Communications*, *4*(4), 489–498. Retrieved from http://europepmc.org/abstract/med/19475991
- Eggert, C., Temp, U., & Eriksson, K.-E. E. L. (1996). The ligninolytic system of the white rot fungus Pycnoporus cinnabarinus: Purification and characterization of the laccase. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(4), 1151–1158. https://doi.org/0099-2240/96
- Esposito, E., Innocentini-Mei, L. H., Ferraz, A., Canhos, V. P., & Durán, N. (1993). Phenoloxidases and hydrolases from Pycnoporus sanguineus (UEC-2050 strain): applications. *Journal of Biotechnology*, *29*(3), 219–228. https://doi.org/10.1016/0168-1656(93)90054-Q
- Eugenio, M. E., Santos, S. M., Carbajo, J. M., Martín, J. A., Martín-Sampedro, R., González, A. E., & Villar, J. C. (2010). Kraft pulp biobleaching using an extracellular enzymatic fluid produced by Pycnoporus sanguineus. *Bioresource Technology*, 101(6), 1866–1870. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.084
- Falconnier, B., Lapierre, C., Lesage-Meessen, L., Yonnet, G., Brunerie, P., Colonna-Ceccaldi, B., ... Asther, M. (1994). Vanillin as a product of ferulic acid biotransformation by the white-rot fungus Pycnoporus cinnabarinus I-937: Identification of metabolic pathways. *Journal of Biotechnology*, 37(2), 123–132. https://doi.org/10.1016/0168-1656(94)90003-5
- Forchiassin, F., Papinutti, L., Levin, L., Cinto, I., Diorio, L. A., Grassi, E., ... Carabajal, M. (2014). *Manual de procedimientos de Micología Experimental* (17th ed.). Buenos Aires: Departamento de biodiversidad y biología experimental FCEN UBA. https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2
- FuQuan, X., & QiJin, H. (2008). Artificial Cultivation of a Pycnoporus cinnabarinus Strain Isolated from the Wild in Fujian Province. *Acta Edulis Fungi*, 1, 69–72. Retrieved from http://www.syjxb.com/EN/abstract/abstract8721.shtml
- Gocenoglu, A., & Pazarlioglu, N. (2014). Cinnabarinic acid: Enhanced production from Pycnoporus cinnabarinus, characterization, structural and functional properties. *Journal of Biological ChemistryJournal of Biological Chemistry*, 42(2), 281–290. Retrieved from http://www.hjbc.hacettepe.edu.tr/journal/volume-42/issue-2/cinnabarinic-acid-enhanced-production-from-pycnoporus-cinnabarinus-characterization-structural-and-functional-properties/index.html
- Guzmán, G. (1979). *Identificación de los hongos: comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera* (1st ed.). México D.F: Editorial Limusa.
- Henrique Rosa, L., Gomes Machado, K. M., Jacob, C. C., Capelari, M., Augusto Rosa, C., & Leomar Zani, C. (2003). Screening of Brazilian Basidiomycetes for Antimicrobial Activity. *Memorias Do*

- Instituto Oswaldo Cruz, 98(7), 967–974. https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000700019
- Herpoël, I., Moukha, S., Lesage-Meessen, L., Sigoillot, J. C., & Asther, M. (2000). Selection of Pycnoporus cinnabarinus strains for laccase production. *FEMS Microbiology Letters*, *183*(2), 301–306. https://doi.org/10.1016/S0378-1097(99)00616-3
- Krings, U., Pilawa, S., Theobald, C., & Berger, R. G. (2001). Phenyl propenoic side chain degradation of ferulic acid by Pycnoporus cinnabarinus elucidation of metabolic pathways using [5-2H]-ferulic acid. *Journal of Biotechnology*, 85(3), 305–314. https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00396-5
- Levasseur, A., Lomascolo, A., Chabrol, O., Ruiz-Dueñas, F. J., Boukhris-Uzan, E., Piumi, F., ... Record, E. (2014). The genome of the white-rot fungus Pycnoporus cinnabarinus: a basidiomycete model with a versatile arsenal for lignocellulosic biomass breakdown. *BMC Genomics*, *15*(1), 486. https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-486
- Lomascolo, A., Record, E., Herpoël-Gimbert, I., Delattre, M., Robert, J. L., Georis, J., ... Asther, M. (2003). Overproduction of laccase by a monokaryotic strain of Pycnoporus cinnabarinus using ethanol as inducer. *Journal of Applied Microbiology*, *94*(4), 618–624. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01879.x
- Lomascolo, A., Uzan-Boukhris, E., Herpoël-Gimbert, I., Sigoillot, J. C., & Lesage-Meessen, L. (2011). Peculiarities of Pycnoporus species for applications in biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *92*(6), 1129–1149. https://doi.org/10.1007/s00253-011-3596-5
- Lu, L., Zhao, M., Zhang, B.-B., Yu, S.-Y., Bian, X.-J., Wang, W., & Wang, Y. (2007). Purification and characterization of laccase from Pycnoporus sanguineus and decolorization of an anthraquinone dye by the enzyme. *Biotechnologically Relevant Enzymes And Proteins*, 74(6), 1232–1239. https://doi.org/10.1007/s00253-006-0767-x
- Machuca, A., & Ferraz, A. (2001). Hydrolytic and oxidative enzymes produced by white- and brown-rot fungi during Eucalyptus grandis decay in solid medium. *Enzyme and Microbial Technology*, 29(6), 386–391. https://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00417-3
- Madhavi, V., & Lele, S. S. (2009). Laccase: properties and applications. *BioResources*, 4(4), 1694–1717. Retrieved from http://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes_04_4_1694_Madhavi_Lele_Laccase Props Applications Rev
- Munusamy, U., Sabaratnam, V., Muniandy, S., Abdullah, N., Pandey, A., & Jones, E. B. G. (2008). Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Laccase of Pycnoporus sanguineus and Toxicity Evaluation of Treated PAH. *Biotechnology*, 7(4), 669–677. https://doi.org/10.3923/biotech.2008.669.677
- Ohtakara, A., Hayashi, N., & Mitsutomi, M. (1981). Purification and Some Properties of Acid β-Galactosidase from Pycnoporus cinnabarinus. *Journal of Fermentation Technology*, *59*(4), 325–328. Retrieved from http://ci.nii.ac.jp/naid/110002672598/
- Ortiz, E., Saransi, C., Ayala, K., Faz, L., Benavides, N., Vela, P., ... Pineda, C. A. (2016). Banco de recursos genéticos de Auricularia spp. con fines industriales: Una revisión. *Revista Bionatura*, 3(1), 139–145. Retrieved from http://revistabionatura.com/2016.01.03.8.html
- Papinutti, L. (2013). Pycnoporus sanguineus. *Revista Boletin Biológica*, *29*(7), 32–33. Retrieved from http://www.boletinbiologica.com.ar/pdfs/N29/papinutti(micologica29).pdf
- Pontificia Universidad Católica del Ecuador. (2016). Fungario QCA (M). Retrieved June 20, 2008, from http://www.puce.edu.ec/portal/content/Fungario/442;jsessionid=2E8EC51E755E85
- Quiroz-Castañeda, R. E., Balcázar-López, E., Dantán-González, E., Martinez, A., Folch-Mallol, J., & Anaya, C. M. (2009). Characterization of cellulolytic activities of Bjerkandera adusta and Pycnoporus sanguineus on solid wheat straw medium. *Electronic Journal of Biotechnology*, 12(4). https://doi.org/10.2225/vol12-issue4-fulltext-3

- Ramírez-Cavazos, L., Junghanns, C., Nair, R., Cárdenas-Chávez, D., Hernández-Luna, C., Agathos, S., & Parra, R. (2014). Enhanced production of thermostable laccases from a native strain of Pycnoporus sanguineus using central composite design. *J Zhejiang Univ Sci B.*, 15(4), 343–352. https://doi.org/10.1631/jzus.B1300246
- Ramírez, P., & Coha, J. M. (2003). Degradación enzimática de celulosa por actinomicetos termófilos : aislamiento, caracterización y determinación de la actividad celulolítica. *Rev. Peru. Biol.*, 10(1), 67–77.
- Schliephake, K., Lonergan, G. T., Jones, C. L., & Mainwaring, D. E. (1993). Decolourisation of a pigment plant effluent by Pycnoporus cinnabarinus in a packed-bed bioreactor. *Biotechnology Letters*, 15(11), 1185–1188. https://doi.org/10.1007/BF00131213
- Sigoillot, C., Lomascolo, A., Record, E., Robert, J. ., Asther, M., & Sigoillot, J. . (2002). Lignocellulolytic and hemicellulolytic system of Pycnoporus cinnabarinus: isolation and characterization of a cellobiose dehydrogenase and a new xylanase. *Enzyme and Microbial Technology*, *31*(6), 876–883. https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00208-9
- Sigoillot, C., Record, E., Belle, V., Robert, J. L., Levasseur, A., Punt, P. J., ... Asther, M. (2004). Natural and recombinant fungal laccases for paper pulp bleaching. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *64*(3), 346–352. https://doi.org/10.1007/s00253-003-1468-3
- Smânia, A., Marques, C. J. S., Smânia, E. F. A., Zanetti, C. R., Carobrez, S. G., Tramonte, R., & Loguercio-Leite, C. (2003). Toxicity and antiviral activity of cinnabarin obtained from Pycnoporus sanguineus (Fr.) Murr. *Phytotherapy Research*, 17(9), 1069–1072. https://doi.org/10.1002/ptr.1304
- Smânia, E. de F. A., Smânia Júnior, A., & Loguercio-Leite, C. (1998). Cinnabarin synthesis by Pycnoporus sanguineus strains and antimicrobial activity against bacteria from food products. *Revista de Microbiologia*, 29(4), 317–320. https://doi.org/10.1590/S0001-37141998000400017
- Stentelaire, C., Lesage-Meessen, L., Oddou, J., Bernard, O., Bastin, G., Ceccaldi, B. C., & Asther, M. (2000). Design of a fungal bioprocess for vanillin production from vanillic acid at scalable level by Pycnoporus cinnabarinus. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 89(3), 223–230. https://doi.org/10.1016/S1389-1723(00)88823-4
- Teoh, Y. P., Don, M. M., & Ujang, S. (2011). Media selection for mycelia growth, antifungal activity against wood-degrading fungi, and gc-ms study by Pycnoporus sanguineus. *BioResources*, 6(3). Retrieved from http://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes_06_3_2719_Teoh_MU_Media_Selection_Mycelia_Antifungal_GCMS_Extract
- Uzan, E., Nousiainen, P., Balland, V., Sipila, J., Piumi, F., Navarro, D., ... Lomascolo, A. (2010). High redox potential laccases from the ligninolytic fungi Pycnoporus coccineus and Pycnoporus sanguineus suitable for white biotechnology: From gene cloning to enzyme characterization and applications. *Journal of Applied Microbiology*, 108(6), 2199–2213. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04623.x
- Velíšek, J., & Cejpek, K. (2011). Pigments of higher fungi: A review. *Czech Journal of Food Sciences UZEI (Czech Republic)*, 29(2), 87–102. Retrieved from http://agris.fao.org/agrissearch/search.do?recordID=CZ2011000419
- Vikineswary, S., Abdullah, N., Renuvathani, M., Sekaran, M., Pandey, A., & Jones, E. B. G. (2006). Productivity of laccase in solid substrate fermentation of selected agro-residues by Pycnoporus sanguineus. *Bioresource Technology*, *97*(1), 171–177. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.015
- Xu, F., Kulys, J. J., Duke, K., Li, K., Krikstopaitis, K., Deussen, H.-J. W., ... Schneider, P. (2000). Redox Chemistry in Laccase-Catalyzed Oxidation of N-Hydroxy Compounds. *Appl. Envir. Microbiol.*, 66(5), 2052–2056. https://doi.org/10.1128/AEM.66.5.2052-2056.2000

Obtención de cepas puras de Psilocybe spp

Obtaining pure strains of Psilocybe spp

Patricia Isabel Rosero Yépez ¹, Julio Amilcar Pineda Insuasti², Astrid Stefanía Duarte Trujillo ³

- ¹ Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra, Ecuador.
- ² Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.
- ³ Organización Micológica Internacional (OMI), Florencia, Colombia.

Autor para correspondencia: patricia-rosero@hotmail.com

Recibido: octubre 18 de 2019 Aceptado: diciembre 30 de 2019

RESUMEN

Psilocybe spp. es un hongo alucinógeno, que no solo es útil desde el punto de vista recreacional, sino que presenta propiedades medicinales para el tratamiento de trastornos psiquiátricos, siendo notable su potencial en la industria farmacéutica. El objetivo de este trabajo fue describir el proceso de obtención de cepas puras de *Psilocybe spp* con fines industriales. La purificación de cepas de Psilocybe spp. presenta varias fases: recolección, aislamiento, identificación. caracterización y conservación. Las fases más importantes son la identificación y la conservación.

PALABRAS CLAVE: estabilidad genética, viabilidad, potencial industrial, psilocibina.

ABSTRACT

Psilocybe spp. is a hallucinogenic fungus, which is not only useful from the recreational point of view, but also has medicinal properties for the treatment of psychiatric disorders, its potential being notable in the pharmaceutical industry. The objective of this work was to describe the process of obtaining pure strains of Psilocybe spp for industrial purposes. The purification of strains of Psilocybe spp. It presents several phases: collection, isolation, identification, characterization and conservation. The most important phases are identification and conservation.

KEYWORDS: genetic stability, viability, industrial potential, psilocybin.

INTRODUCCIÓN

Se estima que existen en la naturaleza más de 1,5 millones de especies de hongos, de las cuales sólo se han descrito alrededor de 69 mil (Hawksworth, 1991). Aproximadamente 14 mil especies de hongos presentan basidiocarpo, de las cuáles más de tres mil pueden ser consideradas como comestibles y tan sólo 10 producidas a escala industrial (Chang y Miles,

2004). Tan sólo en el Ecuador se han estimado más de 100 mil especies de hongos (Hawksworth, 2001), aunque sólo se han descrito cinco mil (Freire Fierro, 2004).

"Hongos alucinógenos" es el nombre dado a los hongos psicoactivos, pertenecientes a los géneros *Psilocybe*, *Panaeolus* y *Gymnopilus*, que contienen compuestos alucinógenos de carácter indólico como psilocibina, psilocina y

sus análogos baeocistina, norbaeocistina y aeruginascina. A estos hongos se les concede un carácter mágico-religioso, ya que eran empleados por los indígenas de México y Centroamérica en sus ceremonias con fines religiosos y medicinales (Bozal, 2013; Catafolmo y Tyler, 1964; Hofmann et al., 1958; Peredy y Bradford, 2014). Los chamanes antiguos los usaban para la inducción de visiones y estados de trance, los cuales eran semejantes a estados de sueño o de psicosis aguda (Metzner, 2005). En la actualidad son consumidos como droga recreativa por de algunos sectores la población, principalmente adolescentes, aunque su posesión es ilegal (Vega et al., 2013). Los hongos alucinógenos están disponibles en fresca. conserva (por forma ejemplo, deshidratados, cocidos, congelado...) o incluso como polvos secos o cápsulas (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, 2015).

Psilocybe spp. es un género de hongos alucinógenos consumido ancestralmente por sus propiedades neurotrópicas; es un hongo fácil de obtener, fácil de cultivar, resistente a enfermedades y psicoactivamente fuerte (Gottlieb, 1976). La mayoría de las especies del género se congregan en dos clados separados. Un clado corresponde a las especies alucinógenas y el otro a las no alucinógenas; por lo que la producción de triptaminas es una sinapomorfia para esos taxones (Redhead et al., 2007). Guzmán y colaboradores (2012) hicieron una revisión de las especies reportadas en la literatura hasta el momento y describieron nueve nuevas especies del género. Las especies alucinógenas más estudiadas son P. cubensis y P. mexicana, mientras que P. semilanceata es la más promisoria, ya que es gran productora de psilocibina (Andersson, Kristinsson, y Gry, 2009; Peredy y Bradford, 2014). Entre las especies no alucinógenas se destacan P. percevalii (Guzmán y Kasuya, 2004) y P. atrobrunnea (Borovička et al., 2015).

La psilocibina y sus derivados han demostrado ser efectivos en el tratamiento de trastornos psiquiátricos como el desorden obsesivo compulsivo, la ansiedad en pacientes terminales, la cefalea crónica, la esquizofrenia, la depresión persistente, y las adicciones al alcohol, a la cocaína y al tabaco (Bogenschutz et al., 2015; dos Santos et al., 2016; Grob et al., 2011; Johnson et al., 2014; Moreno et al., 2006; Patra, 2016; Vollenweider et al., 1999) sin inducir a largo plazo al deterioro de la memoria, delirio o adicción (Halberstadt, 2015; Tylš, Páleníček, y Horáček, 2014), siempre y cuando se empleen dosis adecuadas (Hasler et al., 2004). Por otro lado, la psilocibina puede inhibir el crecimiento de varios hongos de la rizósfera, con excepción de Trichoderma spp. (Keay y Brown, 1989).

Siendo notable el potencial biotecnológico y farmacéutico de *Psilocybe spp*, es necesario obtener cepas puras nativas. Sin embargo, existe limitado conocimiento acerca del protocolo de purificación de cepas, lo que dificulta el éxito de la operación. Bajo este contexto, el objetivo de este trabajo es describir el proceso de obtención de cepas puras de *Psilocybe spp* con fines industriales, mediante una amplia revisión de la literatura que promueva la valorización de la biodiversidad nativa del Ecuador.

RECOLECCION

Psilocybe spp crece por lo general en o cerca del estiércol de vaca en los pastos, solitario o gregario, durante los períodos calientes y lluviosos, desde el ártico a los trópicos (Gottlieb, 1976; Stafford, 2003c). Aunque también pueden crecer sobre otros sustratos, como se muestra en la tabla 1.

Hay que tener mucha precaución porque estos hongos pueden confundirse con otros de carácter tóxico que crecen bajo las mismas condiciones, por lo que se aconseja que el recolector se empleen claves taxonómicas (Gottlieb, 1976).

Tabla 5. Sustratos específicos para algunas especies de *Psilocybe spp*.

Especie	Sustrato	Referencia
P. caerulescens	Deslizamientos de tierra, caña de azúcar	(Gottlieb, 1976)
	mantillo, alrededor de plantaciones de maíz o	
	de café	
P. caerulipes	Troncos en descomposición y restos de árboles	(Gottlieb, 1976)
	de madera dura (especialmente abedul y arce)	
P. cyanescens	Tierra, entre hojas y ramas	(Gottlieb, 1976)
P. mexicana	Musgos e hierbas junto a los caminos, en los	(Gottlieb, 1976)
	prados húmedos, en los campos de maíz y cerca	
	de los bosques de pino	
P. pelliculosa	Humus y escombros, en o cerca de los bosques	(Gottlieb, 1976)
	de coníferas	
P. quebecencis	Suelos arenosos que contienen restos vegetales	(Gottlieb, 1976)
	inundados regularmente por la crecida del río y	
	en la descomposición de la madera	
	(especialmente de abedul, aliso, pino y abeto)	
P. semilanceata	Suelo, entre los pastos, bordes de caminos y	(Gottlieb, 1976)
	bosques de coníferas, pero nunca en el estiércol	
P. strictipes	Madera en descomposición y troncos de árboles	(Gottlieb, 1976)
	como los pinos	
P. sylvatica	Mantillo de hojas, madera (especialmente de	(Gottlieb, 1976)
	haya), y suelo alrededor de los tocones y troncos	
P. cubensis var.	Praderas afuera de las zonas forestales, estiércol	(Gottlieb, 1976;
Cyanescens	de vaca o de caballo, paja, serrín o mezcla con	Stafford, 2003b)
	estiércol	
P. coprophila	Estiércol de conejo o de vaca	(Masiulionis,
		Weber, & Pagnocca,
		2013; Stamets,
		1996)
P. samuiensis	No fructifica directamente en el estiércol pero	(Gartz, Allen, &
	aparece disperso o gregario en el suelo	Merlin, 1994)
	endurecido de arrozales	

En la literatura se han reportado varias pruebas de campo para la identificación de especies psilocíbicas. Una de ellas es la exposición del tejido interno de los carpóforos al aire, la cual se tornará azulada después de 30 minutos tras oxidación de sustancias a base de indol, sin embargo, puede que algunas especies venenosas como *Boletus*

Eastwoodiae respondan positivo a esta prueba mientras algunas que sí son psilocíbicas no lo hagan. Otra prueba reportada en la literatura es el tratamiento de los tejidos con metol, un producto químico utilizado en los desarrolladores de fotos, el cual acelera la coloración azul de los hongos de psilocibina; sin embargo, varias setas que contengan

sustancias indólicas de cualquier tipo va a responder positivamente a esta prueba y la mayoría de los organismos vivos contienen aminoácidos a base de indol como el triptófano (Gottlieb, 1976).

Según Gottlieb (1976) no existe prueba de campo para la identificación de los hongos de psilocibina, sin embargo, hay una prueba relativamente simple para identificar la presencia de la psilocina y psilocibina mediante cromatografía en papel. Para ello el hongo se seca, se pulveriza y se extrae por maceración dinámica con una pequeña cantidad de metanol durante media hora; luego de que los residuos se han asentado, el sobrenadante es vertido sobre el papel en una zona de unos 2 mm. La zona manchada es tratada con agua saturada de butanol durante



Figura 2. P. cubensis



Figura 3. P. pelliculosa

aproximadamente dos horas, posteriormente es secada y pulverizada ligeramente con una solución saturada de p-dimetilaminobenzaldehído en alcohol, y luego con ácido clorhídrico 1 N. El papel es secado de nuevo y analizado. Si se ha desarrollado un color rojizo indica presencia de psilocibina, mientras que si el color desarrollado es azulvioleta indica presencia de psilocina (Gottlieb, 1976).

Un buen libro para la identificación de especies a nivel macro es "Poisonous and Hallucinogenic Mushrooms" (Haard y Haard, 1975). En la tabla 2 se resumen algunas de las principales características macroscópicas necesarias de *Psilocybe spp.* En las figuras 1, 2, 3 y 4 se ve la representación fotográfica de algunas especies del género (Stamets, 1996).



Figura 4. P. semilanceata



Figura 5. P. mexicana

Tabla 2. Características macroscópicas de *Psilocybe* spp.

Especies	Características microscópicas			
	Estípite	Píleo	Lamelas	Referencia
P semilanceata	Sólido, color blanco a amarillo	Cónico a obtuso, color café rojizo	Adnatas a anexas	(Cole, 2003)
P. cubensis	Hueco, curvado, de color blanco a amarillo verdoso, con anillo blanco fibroso	Cónico a convexo, color ocre a crema	Adnatas a anexas, color verde grisáceo	(Cole, 2003; Stamets, 1996)
P. aztecorum	Corto	Convexo	Verde grisáceas	(Stamets, 1996)
P. mexicana	Hueco, color rosa amarillento	Cónico a campanulado, color café a ocre	Ondeada, adnata o anexa	(Cole, 2003)
P. baeocystis	Céntrico, curvado y color café	Ondulado y parecido a la tapa de una botella		(Stafford, 2003a)
P. coprophila	Céntrico, ahusado hacia arriba, hueco, subcartilaginoso, a menudo flocoso y luego Glabro, color ocre	Inicialmente convexo, luego glabro plano o Incluso deprimido. Color avellana a marrón	Subdistantes, Desiguales, adnadas a subdecurrentes, color amarillo a multicolor	(Gilmore, 1926)
P. squamosa	Cilíndrico, céntrico, de color crema, con anillo fibroso	Convexo, ligeramente umbonado, sedoso, amarillo	Adnadas, anexas y color lila	(Hernández, 2007)
P. percevalii	Color blanquecino a ocre, con anillo fibroso blanco	Convexo a subumbonado o subcampanulado, liso, color ocre pálido a marrón	Adnadas, color violáceo- marrón y bordes blanquecinos	(Guzmán & Kasuya, 2004)
P. pseudobullacea	Color blanco a gris pálido, anillo membranoso blanco	Convexo, a veces subumbonado, liso pero ligeramente estriado, color marrón rojizo a marrón amarillento	Adnadas, decurrentes, color marrón violáceo oscuro, con bordes blanquecinos	(Guzmán & Kasuya, 2004)

Especies	Características microscópicas			
	Estípite	Píleo	Lamelas	Referencia
P. samuiensis	Hueco, liso a	Subconvexa a	Adnadas a	(Gartz et al.,
	ligeramente	Cónica-convexa,	anexas, de color	1994)
	Subbulboso, de	umbonado o	arcilla en fresco	
	color blanco a	campanulado,	y marrón	
	paja pálido con	estriado, sulcado	violáceo a	
	fibrillas blancas	en el margen e	marrón	
		higrófano, de color	chocolate con	
		marrón rojizo a	bordes blancos	
		paja en fresco y	cuando está	
		arcilla cuando está	seco.	
		seco.		

AISLAMIENTO

Se puede realizar a partir de un cuerpo fructífero o de unas pocas esporas. Para la toma de una muestra de tejido se disecciona el tallo del carpóforo, mientras que para realizar la impresión de esporas se corta el estípite desde la base y se deposita el píleo boca abajo sobre una hoja de papel blanco o un portaobjetos, luego se cubre con una tapa de una caja de Petri y se esperan 24 horas hasta obtener la esporada (Gottlieb, 1976; Stamets, 1996).

Las muestras son cultivadas en medios Agar Saboraud (Leung, Smith, y Paul, 1965), Agar Papa Dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés) o Agar Extracto de Malta (MEA, por sus siglas en inglés) a 21-24 °C durante 10-12 días. En cuanto a medios líquidos se reporta caldo de Papa-Levadura-Dextrosa (PDY, por sus siglas en inglés).

El medio de cultivo tiene que haber sido previamente esterilizado a 65 °C durante 30 minutos; una temperatura mayor provoca la caramelización de los azúcares, lo que inhibe el crecimiento del micelio y la producción de psilocibina (Gottlieb, 1976). Se seleccionan las cepas de mayor y más rápido crecimiento, y por supuesto, que no estén contaminadas (Gottlieb, 1976).

IDENTIFICACIÓN

Para la identificación morfológica, mediante observación de características microscópicas se emplean dos reactivos: amoniaco al 10 % y el reactivo de Melzer; el primero se emplea como agente de limpieza suave y de rehidratación de la carne del hongo, mientras que el segundo se emplea como revelador de caracteres ya que tiñe las estructuras de un color azulado-negro, púrpura-marrón dorado a amarillento. La muestra se sumerge primero en solución amoniacal y luego se monta en el reactivo de Melzar sobre un portaobjetos, se tapa con el cubre objetos y se observa. El tamaño de la muestra debe ser al menos como el de una cabeza de alfiler, con un espesor igual o inferior a 1 mm. Los principales caracteres estudiados son las esporas, el cistidio, la estructura de la capa externa del píleo y la estructura básica del tejido interbranquial (Watling, 1983).

Algunas características generales del género *Psilocybe spp.* son: hifas apiculadas con punta hialina; micelio blanco y algodonoso; esporada en masa de color púrpura cuando se derrama por primera vez y más tarde marrón negruzca. Los basidios son tetrasporosos en forma de botella; el pleurocistidio puede ser escaso ventricoso a ausente, con una base corta y estrecha o subcilíndrica; las esporas son de color marrón amarillento oscuro, subhexagonales en vista frontal y subelípticas

en vista lateral, aunque pueden ser subelipsoides por todas las vistas, con una base estrecha y un amplio poro germinal. Cuando las esporas comienzan a formarse se produce una curvatura negativa geotrópica del estípite (Badham, 1982; Guzmán y Kasuya, 2004; Stamets, 1996). Para la consulta de claves taxonómicas más específicas remitirse al trabajo de Watling (1983). En la figura 5 se representan algunas de estas características mencionadas.





Figura 6. a) Esporas y b) basidios de *Psilocybe cubensis*.

Fuente: (Hernández, 2007)

Los métodos de análisis molecular identifican un mayor número de especies en contraste con el método morfológico (Gambaro et al., 2016; Kowalczyk et al., 2015), que consta principalmente de una impresión de esporas sobre una superficie plana y la observación de sus características microscópicas (Gottlieb, 1976). Lee, Cole y Linacre (2000) emplearon un método de identificación molecular, mediante el uso de secuencias de ADN específicas dentro del espaciador transcrito interno del complejo de genes ribosomales. La amplificación de un producto de ADN común y de dos metabolitos específicos del género facilita la identificación inequívoca de los contenidos de estos hongos a nivel de género (Lee et al., 2000). Hasta el momento se han descrito 435 secuencias de ADN y ARN; 69 secuencias de proteínas; 36 secuencias fijas de estudios filogenéticos y de población; y un catálogo de nomenclatura y clasificación taxonómica (NCBI, 2016a).

Lo mejor es emplear métodos moleculares, ya que muchas especies pueden parecerse demasiado morfológicamente, pero en términos genéticos pueden ser muy distantes; tal es el caso de *P. laetissima*, que recientemente se cambió al género Leratiomyces (Borovička *et al.*, 2015).

CARACTERIZACIÓN

Durante su metabolismo secundario, Psilocybe produce algunas sustancias como psilocibina (4-fosforiloxi-N, Ndimetiltriptamina), psilocina (4-hidroxi-N, Ndimetiltriptamina), baeocistina (4-fosforiloxi-N-metiltriptamina), norbaeocistina fosforiloxi-triptamina) (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, 2015; Gottlieb, 1976; Leung y Paul, 1966), 4hidroxitriptamina (Repke, Leslie, y Guzman, 1976), aeruginascina (Zhuk et al., 2015), gliceraldehído 3-fosfato dehidrogenasa (NCBI, 2016b), lecitinas (Hernandez et al., 1993), fenoles (Nowacka et al., 2015), entre otras.

Algunos hongos alucinógenos contienen diversas cantidades de feniletilamina, una amina simpaticomimética, que puede ser responsable de sus efectos cardiovasculares (taquicardia) y otras reacciones no deseadas (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, 2015). Varias de estas sustancias actúan como alérgenos y pueden estar presentes tanto en el micelio como en las esporas, aunque no necesariamente han de ser los mismos (Helbling, Horner, y Lehrer, 1993).

CONSERVACIÓN

Se aconseja que para el mantenimiento de los medios se alternen los medios PDA y MEA, mediante subcultivos periódicos (Gottlieb, 1976; Keay y Brown, 1990). Los carpóforos se pueden secar a 25 °C, sellar en bolsas de plástico y almacenar a -10 °C (Gartz y Moller, 1989). El hongo puede todavía ser potente después de un largo periodo de almacenamiento (Christiansen y Rasmussen, 1982); y las esporas pueden germinar después

de 9 meses de almacenamiento a 20 ° C (Gartz, 1992).

CONCLUSIONES

Psilocybe spp. es un hongo alucinógeno ancestralmente empleado por propiedades neurotrópicas que le dan un carácter mágico-religioso; dichas propiedades son otorgadas por las triptaminas que poseen, principalmente psilocibina, la cual mostrado potencial farmacológico en el tratamiento de trastornos psiquiátricos, por lo cual óptima purificación de cepas ecuatorianas constituye una oportunidad para valorizar los recursos locales. La purificación de cepas de *Psilocybe* spp. presenta varias fases: recolección, aislamiento, identificación, caracterización y conservación. Las fases más importantes son la identificación y la conservación; la primera porque de ella depende la adecuada asignación propiedades y usos potenciales a las especies, de modo que los resultados de su uso a nivel industrial sean los deseados; la segunda porque de ella depende la viabilidad y estabilidad genética de las cepas. purificación de cepas puras de *Psilocybe* spp. ecuatoriano presenta beneficios potenciales para la bioindustria nacional, teniendo en cuenta su alta biodiversidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andersson, C., Kristinsson, J., & Gry, J. (2009). *Occurrence and Use of Hallucinogenic Mushrooms Containing Psilocybin Alkaloids*. Copenhague, Dinmark: Nordic Council of Ministers.
- Badham, E. R. (1982). Tropisms in the Mushroom Psilocybe cubensis. *Mycologia*, 74(2), 275–279. http://doi.org/10.2307/3792895
- Bogenschutz, M. P., Forcehimes, A. A., Pommy, J. A., Wilcox, C. E., Barbosa, P., & Strassman, R. J. (2015). Psilocybin-assisted treatment for alcohol dependence: A proof-of-concept study. *Journal of Psychopharmacology*, *29*(3), 289–299. http://doi.org/10.1177/0269881114565144
- Borovička, J., Oborník, M., Stříbrný, J., Noordeloos, M. E., Sánchez, L. A. P., & Gryndler, M. (2015). Phylogenetic and chemical studies in the potential psychotropic species complex of Psilocybe atrobrunnea with taxonomic and nomenclatural notes. *Persoonia*, (34), 1–9. http://doi.org/10.3767/003158515X685283
- Bozal, I. S. (2013). Hongos visionarios en la península ibérica. En J. C. Bouso (Ed.), *Psilocibes* (1ª ed., pp. 149–170). Barcelona: The mushrooms.
- Catafolmo, P., & Tyler, V. E. (1964). The production of psilocybin in submerged culture by Psilocybe cubensis. *Lloydia*, *27*, 53–63.
- Chang, S.-T., & Miles, P. G. (2004). *Mushrooms: Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact* (2ª ed.). Florida: CRC Press.
- Christiansen, A. L., & Rasmussen, K. E. (1982). Analysis of indole alkaloids in Norwegian Psilocybe semilanceata using high-performance liquid chromatography and mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 244(2), 357–364. http://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)85700-3
- Cole, M. D. (2003). The analysis of psilocybin and psilocin from fungi. En *The Analysis of Controlled Substances* (pp. 127–137). Great Britain: John Wiley and Sons. Recuperado a partir de https://books.google.com.co/books?id=abw93p3C8NEC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false
- dos Santos, R. G., Osorio, F. L., Crippa, J. A. S., Riba, J., Zuardi, A. W., & Hallak, J. E. C. (2016). Antidepressive, anxiolytic, and antiaddictive effects of ayahuasca, psilocybin and lysergic acid diethylamide (LSD): a systematic review of clinical trials published in the last 25 years: antidepressive effects of ayahuasca, psilocybin and LSD. *Therapeutic Advances in Psychopharmacology*, (September), 2045125316638008–.

- http://doi.org/10.1177/2045125316638008
- European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. (2015). Hallucinogenic mushrooms drug profile. Recuperado a partir de http://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/mushrooms
- Freire Fierro, A. (2004). *Botánica Sistemática Ecuatoriana*. St. Louis: Missouri Botanical Garden Pressix.
- Gambaro, V., Roda, G., Visconti, G. L., Arnoldi, S., Casagni, E., Dell'Acqua, L., ... Mora, D. (2016). DNA-based taxonomic identification of basidiospores in hallucinogenic mushrooms cultivated in "grow-kits" seized by the police: LC-UV quali-quantitative determination of psilocybin and psilocin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 125, 427–432. http://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.03.043
- Gartz, J. (1992). New aspects of the occurrence, chemistry and cultivation of European hallucinogenic mushrooms. *Annali dei Musei Civici di Rovereto*, *8*, 107–124.
- Gartz, J., Allen, J. W., & Merlin, M. D. (1994). Ethnomycology, biochemistry, and cultivation of Psilocybe samuiensis Guzmán, Bandala and Allen, a new psychoactive fungus from Koh Samui, Thailand. *Journal of Ethnopharmacology*, 43(2), 73–80. http://doi.org/10.1016/0378-8741(94)90006-X
- Gartz, J., & Moller, G. K. (1989). Analysis and Cultivation of Fruit Bodies and Mycelia of Psilocybe bohemica. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 184(3-4), 337–341. http://doi.org/10.1016/S0015-3796(89)80023-X
- Gilmore, K. A. (1926). Culture Studies of Psilocybe coprophila. *Chicago Journals*, 81(4), 419–433.
- Gottlieb, A. (1976). The psilocybin producers guide.
- Grob, C. S., Danforth, A. L., Chopra, G. S., Hagerty, M., McKay, C. R., Halberstadt, A. L., & Greer, G. R. (2011). Pilot study of psilocybin treatment for anxiety in patients with advanced-stage cancer. *Archives of General Psychiatry*, 68(1), 71–78. http://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2010.116
- Guzmán, G., Guillén, F. R., Hyde, K. D., & Karunarathna, S. C. (2012). Psilocybe s.s. in Thailand: four new species and a review of previously recorded species. *Mycotaxon*, *119*(1), 65–81. http://doi.org/10.5248/119.65
- Guzmán, G., & Kasuya, T. (2004). The known species of Psilocybe (Basidiomycotina, Agaricales, Strophariaceae) in Nepal. *Mycoscience*, 45(4), 295–297. http://doi.org/10.1007/s10267-004-0186-8
- Haard, R., & Haard, K. (1975). *Poisonous & hallucinogenic mushrooms*. Washington D. C.: Cloudburst Press
- Halberstadt, A. L. (2015). Recent advances in the neuropsychopharmacology of serotonergic hallucinogens. *Behavioural Brain Research*, *277*, 99–120. http://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.07.016
- Hasler, F., Grimberg, U., Benz, M. A., Huber, T., & Vollenweider, F. X. (2004). Acute psychological and physiological affects of psilocybin in healthy humans: A double-blind, placebo-controlled dose-effect study. *Psychopharmacology*, *172*(2), 145–156. http://doi.org/10.1007/s00213-003-1640-6
- Hawksworth, D. L. (1991). The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research*, *95*(6), 641–655. http://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80810-1
- Hawksworth, D. L. (2001). The magnitude of fungal diversity: the $1\cdot 5$ million species estimate revisited. *Mycological research*, 105(12), 1422-1432. http://doi.org/10.1017/S0953756201004725
- Helbling, A., Horner, W. E., & Lehrer, S. B. (1993). Comparison of Psilocybe cubensis spore and

- mycelium allergens. *J Allergy Clin Immunol*, *9*(5), 1059–1066. http://doi.org/10.1016/0091-6749(93)90220-A
- Hernandez, E., Ortiz, R., Pez, F. L., Maso, F., & Zenteno, E. (1993). Purification and characterization of a galactose-specific lectin from Psilocybe barrerae. *Phytochemistry*, *32*(5), 1209–1211.
- Hernández, H. (2007). *Macromicetos de una región de Mineral del Chico, Hidalgo: una aproximación a la etnomicología*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Hofmann, A., Heim, R., Brack, A., & Kobel, H. (1958). Psilocybin, ein psychotroper Wirkstoff aus dem mexikanischen Rauschpilz Psilocybe mexicana Heim. *Experientia*, 14(3), 107–109. http://doi.org/10.1007/BF02159243
- Johnson, M. W., Garcia-Romeu, A., Cosimano, M. P., & Griffiths, R. R. (2014). Pilot study of the 5-HT2AR agonist psilocybin in the treatment of tobacco addiction. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, (September), 0269881114548296—. http://doi.org/10.1177/0269881114548296
- Keay, S. M., & Brown, A. E. (1989). Interactions between Psilocybe semilanceata and fungi of its habitat. *Mycological Research*, *93*(4), 554–556. http://doi.org/10.1016/S0953-7562(89)80054-1
- Keay, S. M., & Brown, A. E. (1990). Colonization by Psilocybe semilanceata of roots of grassland flora. *Mycological Research*, *94*(1), 49–56. http://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)81263-X
- Kowalczyk, M., Sekuła, A., Mleczko, P., Olszowy, Z., Kujawa, A., Zubek, S., & Kupiec, T. (2015). Practical aspects of genetic identification of hallucinogenic and other poisonous mushrooms for clinical and forensic purposes. *Croatian medical journal*, *56*(1), 32–40. http://doi.org/10.3325/cmj.2015.56.32
- Lee, J. C. I., Cole, M., & Linacre, A. (2000). Identification of members of the genera Panaeolus and Psilocybe by a DNA test: A preliminary test for hallucinogenic fungi. *Forensic Science International*, 112(2-3), 123–133. http://doi.org/10.1016/S0379-0738(00)00181-X
- Leung, A. Y., & Paul, A. G. (1966). Baeocystin, a Mono-Methyl Analog of Psilocybin from Psilocybe baeocystis saprophytic culture. *Journal of pharmaceutical sciences*, *56*(1), 146. http://doi.org/10.1002/jps.2600560132
- Leung, A. Y., Smith, A. H., & Paul, A. G. (1965). Production of psilocybin in Psilocybe baeocystis saprophytic culture. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 54(11), 1576–1579. http://doi.org/10.1002/jps.2600541104
- Masiulionis, V. E., Weber, R. W., & Pagnocca, F. C. (2013). Foraging of Psilocybe basidiocarps by the leaf-cutting ant Acromyrmex lobicornis in Santa Fé, Argentina. *SpringerPlus*, 2(1), 254. http://doi.org/10.1186/2193-1801-2-254
- Metzner, R. (2005). Sacred Mushroom of Visions: Teonanácatl: A Sourcebook on the Psilocybin MushroomPaperback. Rochester: Inner Traditions/Bear.
- Moreno, F. a, Wiegand, C. B., Taitano, E. K., & Delgado, P. L. (2006). Safety, tolerability, and efficacy of psilocybin in 9 patients with obsessive-compulsive disorder. *The Journal of clinical psychiatry*, 67(11), 1735–1740. http://doi.org/10.4088/JCP.v67n1110
- National Center for Biotechnology Information [NCBI]. (2016a). GenBank. Psilocybe spp. Recuperado a partir de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gquery/?term=psilocybe
- National Center for Biotechnology Information [NCBI]. (2016b). Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, partial [Psilocybe cubensis]. Recuperado a partir de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AKF17616.1
- Nowacka, N., Nowak, R., Drozd, M., Olech, M., Los, R., & Malm, A. (2015). Antibacterial, antiradical potential and phenolic compounds of thirty-one polish mushrooms. *PLoS ONE*, *10*(10), 1–13. http://doi.org/10.1371/journal.pone.0140355
- Patra, S. (2016). Return of the psychedelics: Psilocybin for treatment resistant depression. Asian

- Journal of Psychiatry, 24, 51–52. http://doi.org/10.1016/j.ajp.2016.08.010
- Peredy, T., & Bradford, H. (2014). Mushroom, Psilocybin. En P. Wexlerl (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology* (Third, Vol. 3, pp. 418–419). Elsevier. http://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00759-4
- Redhead, S. A., Moncalvo, J.-M., Vilgalys, R., & Matheny, P. B. (2007). (1757) Proposal to conserve the name Psilocybe (Basidiomycota) with a conserved type. *Taxon*, *56*(February), 255–257.
- Repke, D. B., Leslie, D. T., & Guzman, G. (1976). Baeocystin in psilocybe, conocybe and panaeolus. *Lloydia*, 40(6), 566–578. Recuperado a partir de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/600026
- Stafford, P. (2003a). Baeocystis. En *Magic Mushrooms* (pp. 102–104). Oakland, EEUU: Ronin Publishing. Recuperado a partir de https://books.google.com.co/books?id=3jqdD1cTh4sC&pg=PA102&lpg=PA102&dq=psilocybe+identification+characteristics&source=bl&ots=Nm-u0pRE8t&sig=V2eBNytFpWygfBV2ZWuJzoHXUVs&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjlwKuJ04TQAhWDKCYKHWZdDoU4ChDoAQgoMAU#v=onepage&q=psilocybe ide
- Stafford, P. (2003b). Cubensis. En *Magic Mushrooms* (pp. 85–90). Oakland, EEUU: Ronin Publishing. Recuperado a partir de https://books.google.com.co/books?id=3jqdD1cTh4sC&pg=PA102&lpg=PA102&dq=psilocybe+identification+characteristics&source=bl&ots=Nm-u0pRE8t&sig=V2eBNytFpWygfBV2ZWuJzoHXUVs&hl=es&sa=X&ved=OahUKEwjlwKuJ04TQAhWDKCYKHWZdDoU4ChDoAQgoMAU#v=onepage&q=psilocybe ide
- Stafford, P. (2003c). *Magic Mushrooms*. Oakland, EEUU: Ronin Publishing. Recuperado a partir de https://books.google.com.co/books?id=3jqdD1cTh4sC&pg=PA102&lpg=PA102&dq=psilocybe+identification+characteristics&source=bl&ots=Nm-u0pRE8t&sig=V2eBNytFpWygfBV2ZWuJzoHXUVs&hl=es&sa=X&ved=OahUKEwjlwKuJ04TQAhWDKCYKHWZdDoU4ChDoAQgoMAU#v=onepage&q=psilocybe ide
- Stamets, P. (1996). *Psilocybin Mushrooms of the World: An Identification Guide*. Berkeley, California: Ten Speed Press.
- Tylš, F., Páleníček, T., & Horáček, J. (2014). Psilocybin Summary of knowledge and new perspectives. *European Neuropsychopharmacology, 24*(3), 342–356. http://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2013.12.006
- Vega-Villasante, F., Ruiz-González, L. E., Guerrero-Galván, S. R., & Guzmán-Dávalos, L. (2013). Evaluación de la toxicidad de Psilocybe cubensis (Agaricales, Basidiomycota) sobre Artemia franciscana (Crustacea, Anostraca). *Revista Iberoamericana de Micologia*, 30(1), 54–56. http://doi.org/10.1016/j.riam.2012.06.001
- Vollenweider, F. X., Vontobel, P., Hell, D., & Leenders, K. L. (1999). 5-HT modulation of dopamine release in basal ganglia in psilocybin-induced psychosis in Man A PET study with [11C]raclopride. *Neuropsychopharmacology*, *20*(5), 424–433. http://doi.org/10.1016/S0893-133X(98)00108-0
- Watling, R. (1983). Hallucinogenic mushrooms. *Journal of the Forensic Science Society*, *23*(1), 53–66. http://doi.org/10.1016/S0015-7368(83)71545-8
- Zhuk, O., Jasicka-Misiak, I., Poliwoda, A., Kazakova, A., Godovan, V. V., Halama, M., & Wieczorek, P. P. (2015). Research on acute toxicity and the behavioral effects of methanolic extract from psilocybin mushrooms and psilocin in mice. *Toxins*, *7*(4), 1018–1029. http://doi.org/10.3390/toxins7041018

Caracterización físico química de residuos sólidos urbanos del mercado Amazonas ciudad de Ibarra

Physical-chemical characterization of urban solid waste from the Amazonas market of the Ibarra city

Salomé Yépez Pantoja ¹, Jimmy Nuñez ¹, Julio Amilcar Pineda Insuasti ²

Autor para correspondencia: salomeyepezp@gmail.com

Recibido: octubre 03 de 2019 Aceptado: diciembre 29 de 2019

RESUMEN

El desaprovechamiento de residuos vegetales, se debe en gran medida al manejo inadecuado de los mismos, que evita pensar en alternativas de valorización. En Ibarra se cuenta con el mercado Amazonas, donde a diario se producen de 8 a 10 toneladas de residuos sólidos, los cuales son vertidos directamente en el relleno sanitario. El objetivo de este trabajo es caracterizar fisicoquímicamente los residuos identificar para aplicaciones potenciales. Para ello se muestrearon los residuos por el método de cuarteo por volumen y se determinaron lo componentes estructurales mediante análisis proximal. Se encontró que los residuos del mercado son aptos nutricionalmente para la producción de microrganismos benéficos.

PALABRAS CLAVE: residuos sólidos urbanos, FES, valorización de residuos.

ABSTRACT

The waste of vegetable waste, is largely due to inadequate management of them, which avoids thinking about alternatives for recovery. In Ibarra, there is the Amazonas market, where 8 to 10 kilos of solid waste are produced daily, which are discharged directly into the landfill. The objective of this work is to physicochemically characterize the residues to identify potential applications. For this, the waste was sampled by the quarter method, and the structural components were determined by proximal analysis. It was found that the waste from the market is nutritionally suitable for the production of beneficial microorganisms.

KEYWORDS: urban solid waste, FES, recovery of waste.

INTRODUCCIÓN

Los residuos se consideran uno de los problemas ambientales más grandes de nuestra sociedad. La población y el consumo per cápita crece, y por ende los residuos; pero el espacio no, sin contar que su tratamiento no es el adecuado, ni el conocido en algunos casos (Medellín *et al.*, 2008). Cabe aclarar que la generación de residuos no varía sólo con la cantidad de habitantes, sino también con el nivel económico de cada región.

¹ Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra, Ecuador.

² Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

El impacto ambiental y socioeconómico que presenta el manejo de residuos sólidos urbanos, desde el almacenamiento, transporte y destino final, se debe en gran parte a que no existe orden, ni tratamientos previos antes de ser llevados a rellenos y botaderos, lugares en los cuales la materia orgánica es rápidamente degradada por las reacciones químicas que se generan, produciéndose metano (CH4), un potente gas de efecto invernadero que al concentrarse puede dar lugar a explosiones e incendios (MAE, 2010).

Durante mucho tiempo, el único tratamiento que se aplicaba a los residuos urbanos era su ordenamiento, luego del traslado a determinados puntos más o menos alejados de los núcleos habitados, donde se depositaban para que la mera acción de los organismos vivos y los elementos favoreciesen su desaparición. El orden que presentaban hacía más favorable, la idea de empezar a reducir, reciclar, reutilizar (Medellín *et al.*, 2008)

Posteriormente, el desarrollo social, la industrialización y la implantación de modelos económicos basados en la cultura de consumismo, provocaron la aparición de basura de gran potencial contaminante, tales como los enlatados, aceites minerales, procesados caducados, frutos descompuestos por químicos, entre otros. Surgió así, una nueva problemática medioambiental (García, 2010).

Los impactos del mal manejo de los residuos en los recursos no renovables se encuentra: la muerte de suelos y contaminación de acuíferos por lixiviados, pudiendo llegar incluso hasta a la capa freática; la emisión de gases de efecto invernadero, fruto de la combustión incontrolada de los materiales allí vertidos; la ocupación incontrolada del territorio que genera la destrucción del paisaje y de los espacios naturales, creando focos de infección; la proliferación de plagas de roedores e insectos, agentes biológicos activos; entre otros (Grijalva, 2013).

Hasta el día de hoy la gestión de los residuos se ha centrado principalmente en un único aspecto, la eliminación de los mismos (hacerlos desaparecer de la vista) a través de basurales, rellenos sanitarios y en algunos casos, de incineradores. Estas soluciones de final de tubería, como las denomina Cerrato y Alarcón (2001), no tienen en cuenta la necesidad de reducir el consumo de materias primas y de energía, y plantean serios riesgos para el medio ambiente y la salud de las personas.

En Ecuador, la población en general no presenta una cultura de interés en el destino de los residuos, ya que la mayor preocupación es contar con un servicio de recolección de los mismos (MAE, 2010). No hay mucho interés en efectuar una reducción importante en la generación, como base para un manejo sustentable, para lograr la preservación de los recursos naturales y tampoco interés en los mecanismos de disposición final, salvo que ellos representen una amenaza para la salud en los casos de poblaciones circundantes (Rendón, 2010).

De acuerdo a Morales (2010), en la ciudad de Ibarra y en el país en general, el tratamiento de residuos sólidos es un tema poco tratado por los organismos municipales y del estado, a pesar del volumen recolectado diariamente en cada ciudad. En promedio los ecuatorianos producen un aproximado de 0,57 kg de residuos sólidos en 1 día, lo que equivale a 208,5 kg en un año por habitante. En Ibarra la producción tan sólo del mercado Amazonas es de 8 a 10 toneladas diarias según el Director de Manejo de Residuos sólidos (Enriquez,2017).

Un 53,81% de los residuos presentes en un mercado son orgánicos, y de allí surgen ideas de tratamientos viables, como un compostaje en su forma más básica, dada su caracterización fisicoquímica rica en carbono y nitrógeno, elementos principales para la generación de una gama de subproductos tanto para agricultura como para generación de energía, tales como

bioinsumos, biogás, biocombustible, entre otro (Ibarra y Rojas, 2016; Castro, 2008).

De acuerdo con Arias y Meneses (2016), la caracterización física y química de los residuos agroindustriales se desarrolló a principios de 1995, en respuesta a la producción biocombustible por las industrias azucareras. Existen diversas metodologías caracterización aplicadas en cada región y país con diferentes criterios de muestreo y parámetros, que se adaptan a las necesidades de cada caso (Martinez, 2015). Aunque es necesaria la evaluación comparativa de las metodologías de caracterización de residuos sólidos urbanos, para en un futuro estandarizar una metodología que se pueda adaptar a las necesidades presupuestarias, de exactitud y de referencia local, y que pueda ser aplicable en cualquier estudio de caso (Junco Díaz y Rodríguez Pérez, 2001).

Para una correcta caracterización de los residuos vegetales del mercado, la recolección de muestras debe ser significativa, de manera que se componga en un 95% de toda la clase de residuos presentes (Oviedo, 2010). Para que la muestra sea significativa, debe colectarse a diario, formando así una muestra por semana altamente heterogénea. La metodología de muestreo por cuadrantes es la indicada para la recolección de la muestra representativa (Grijalva, 2013). En una caracterización simple se puede comparar niveles de elementos que varían en la muestra fresca y seca, la elección de cómo trabajar depende del subproducto a obtener; para el caso de un compost, es básico trabajar con los residuos en fresco y determinar la relación C:N, y los macro y micro elementos; en caso de tratarse de biomasa activa es necesario controlar parámetros experimentales, por lo que es mejor trabajar en base seca. (Quinteros, Cárdenas, & Aguirre, 2014).

El objetivo de este trabajo es identificar el uso potencial de los residuos orgánicos generados en el mercado amazonas, a través de la conversión biológica para formar biomasa activa, que permita valorizarlos y reducir la contaminación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se recolectaron 15 muestras aleatorias de residuos vegetales de la unidad de almacenamiento del sector del mercado Amazonas, siguiendo el método de cuarteo durante siete días, como indica la figura 1.

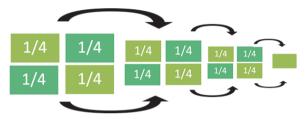


Fig. 1. Método de cuarteo.

Preparación de material biológico

Para eliminar las impurezas y partículas finas, se realizó un lavado en agua clorada (1 mg/l, pH 6,5-7,0) durante 20 minutos. Luego se secaron las muestras en secador de bandejas durante 8 a 10 horas, a 60°C, con flujo de aire de 3 m/s. Las muestras fueron reducidas de tamaño en molino de mano y homogenizadas con tamices no. 4 y no. 16 hasta un tamaño promedio de 1 a 5 mm.

Caracterización fisicoquímica

Fueron realizados por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), conforme con la legislación vigente: uno proximal, donde se determinó contenido de Humedad (H), proteína, fibra, Extracto Libre de Nitrógeno (E.L.N), Extracto Etéreo (E.E) o grasa bruta, Cenizas; y uno de macro y micro elementos, donde se determinó contenido de Calcio (Ca), Manganeso (Mn), Sodio (Na), Potasio (K), Fósforo (P), Cobre (Cu), Hierro (Fe), Magnesio (Mg), Zinc (Zn).

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Caracterización fisicoquímica

Los residuos vegetales presentaron las características de la tabla 1.

Tabla 1. Análisis Proximal de residuos vegetales secos.

Н	E.L.N	E.E	PROTEÍNA	FIBRA	CENIZAS
(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
8,32	64,82	2,57	11,74	13,64	7,23

Los valores que resultan de la caracterización de los residuos vegetales secos, son una base a comparar con los rangos de producción del hongo *Trichoderma* spp, ya descritos en escalas de aplicación a nivel mundial. Los valores de cada elemento presente en estos residuos entran adecuadamente en los rangos ya experimentados (Castro & Rivillas, 2012).

Los valores que resultan de la caracterización de los residuos vegetales secos, son una base a comparar con los rangos de producción del hongo *Trichoderma spp*, ya descritos en escalas de aplicación a nivel mundial. Los valores de cada elemento presente en estos residuos entran adecuadamente en los rangos ya experimentados (Castro & Rivillas, 2012).

Las condiciones de humedad del material vegetal está entre el 70 a 80%, y *Trichoderma* tiene su capacidad de crecimiento en un rango del 20% a 90% (Castro & Rivillas, 2012). Al trabajar con los residuos secos y conocer la humedad en base seca, se puede determinar el contenido de agua a adicionar, para tener este parámetro controlado.

La relación C:N óptima ha de ser de 10:1 (Sergio, Ortiz, & Gutierrez, 2008). Cuando la concentración de carbono es inferior a 75%, la producción de conidios se eleva; mientras que cuando la concentración de carbono supera este valor, la esporulación tiende a disminuir.

El hongo no es exigente en su nutrición, entonces puede crecer y desarrollar esporas sin problema en sustratos vegetales con contenido de grasa bruta que varían entre el 1,5% y 2,85%, y proteína del 7 al12% (Fernández, 2011). Los resultados de este trabajo se encuentran dentro del rango.

En cuanto a la fibra, no existen requerimientos nutricionales del hongo; sin embargo, un mayor contenido de fibra, es decir celulosa, le da mayor viabilidad y fortaleza (Agosin & Aguilera, 2010).

Los elementos traza requeridos para el crecimiento potencial del hongo *Trichoderma* incluyen hierro, zinc, manganeso, potasio, fósforo y magnesio, cuyo contenido en los residuos del Amazonas se consignan en las tablas 2 y 3:

Tabla 2. Análisis de macroelementos en los residuos vegetales secos.

Са	Р	Mg	K	Na
%	%	%	%	%
0,58	0,15	0,16	1,55	0,10

Tabla 3. Análisis de microelementos en los residuos vegetales secos.

Cu	Fe	Mn	Zn
ppm	ppm	ppm	ppm
2	227	25	19

Los macro y microelementos en grandes cantidades, no son indispensables para el desarrollo de *Trichoderma* (Papavizas, 1985).

CONCLUSIONES

Los residuos vegetales provenientes del mercado Amazonas pueden usarse como sustrato para la producción del hongo entomopatógeno *Trichoderma* spp, ya que cumple con los requerimientos nutricionales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevez, M., Flores, A., & Barrios, A. (2008). Producción masiva de Trichoderma harzianum Rifai en diferentes sustratos orgánicos. Mexico.
- Agamez, E., & Barrera, V. (2008). Evaluación de sustratos y procesos de fermentación sólida para la producción de esporas de Trichoderma sp. Bogotá Colombia.
- Agosin, E., & Aguilera, J. (2010). *Industrial production of active propagules of Trichoderma for agricultural uses*. Estados Unidos: Tylor & Francis. Inc. Bristol.
- AGROCALIDAD. (2017). Agricultura Orgánica. Quito.
- Ballardo Matos, C. (2016). VALORIZACIÓN DE RESIDUOS SÓLIDOS ORGÁNICOS COMO SUSTRATO PARA MICRORGANISMOS. Barcelona España.
- Barrena, R. G. (2006). Aplicación de técnicas respirométricas en valoración de residuos sólidos orgánicos. Barcelona España.
- Brito, R. (2006). Fitosanidad PROTECCION DE LAS PLANTAS; TRICHODERMA; PLANTAS ORNAMENTALES; ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS; METODOS DE CONTROL. Habana Cuba.
- Cárdenas, J. (2010). Métodos de conservación y formulación de Trichoderma ssp. La Habana.
- Castro, A., & Rivillas, C. (2012). *Trichoderma spp, modo de acción eficacia y usos en el cultivo del cafe.* Colombia.
- Centeno, R., & Pavone, D. (2015). Producción de celulasas y biomasa del hongo Trichoderma utilizando lodo papelero como fuente de carbono. Venezuela.
- Cerrato, R. F., & Alarcón, A. (2001). La microbiología en la agricultura sostenible. *CIENCIAS NATUALES Y AGROPECUARIAS*, 175-177.
- Cevallos, F. (2014). Gases de efecto invernadero de la agricultura. Quito: El telégrafo.
- Chavez, E., Ortuño, N., & Mamani, P. (2012). EL BIOL. Colombia.
- Chávez, M., Rodriguez, M., Salvador, J., & Martinez, M. (2009). *Efecto del sustrato y la exposición a la luz en la producción de una cepa de Trichoderma sp.* Colombia.
- Chiriboga, H., Gómez, G., & Garcés, K. (2015). TRICHODERMA SPP. PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE ENFERMEDADES. Paraguay.
- Collazos, R. (2010). Prueba de sensibilidad Bacteriana. Perú.
- CPTS. (2010). Centro de Promoción Tecnología Sostenible. 2003. Guía técnica de Producción más Limpia para Curtiembres. Otras Medidas de Producción más Limpia: Valoración de Residuos. . Cartagena Colombia.
- Cruz, L. (2007). ESTANDARIZACIÓN DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN MASIVA DEL HONGO. Bogotá Colombia.
- Cruz, N. (2010). APROVECHAMIENTO Y MANEJO DE DESECHOS ORGÁNICOS DE UTILIZANDO MICRORGANISMOS DE MONTAÑA. Cartago Costa Rica.
- Durán, L., & Henríquez, C. (2014). *Caracterización química, física y microbiológica a partir de cinco sustratos orgánicos*. Argentina.
- EL UNIVERSO. (2010). En el país no se aprovechan desechos. Quito- Ecuador.
- Enriquez, A. (2014). Fusarium Plagas y Enfermedades. CANNA.
- Enriquez, M. (Diciembre de 2017). Cuantificación de residuos sólidos orgánicos del Mercado Amazonas. (S. Yepez, Entrevistador)
- Fernandez, O. (2005). INFLUENCIA DE LA CARGA MICROBIANA CONTAMINANTE. La Habana.
- Fernández, V. O. (2011). Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Costa Rica.
- Gallardo, R., & Bueno, L. (1998). *Preservación de hongos filamentosos en agua destilada estéril.* La Habana.

- García, I. (2010). Valorización y reciclaje material. Barcelona España.
- García, R., Riera, R., Zambrano, C., & Gutierrez, L. (2006). *Desarrollo de un fungicida biologico a base de una cepa de hongo Trichoderma ssp.* Venezuela.
- González, I., Infante, D., Peteira, B., & Martinez, B. (2010). CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE AISLAMIENTOS DE Trichoderma spp. PROMISORIOS COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO. I. EXPRESIÓN DE ACTIVIDAD QUITINASA. La Habana Cuba.
- Grondona, I. (2010). *Physiological and Biochemical Characterization of Trichoderma Biological Control Agent against Soilborne Fungal.* Estados Unidos.
- Growland, J. (2014). Modo de acción del Trichiderma spp. España Barcelona.
- Guzman, R. (1970). Micología Médica. Bogota Colombia.
- Hanson, L., & Howell, C. (2004). Biological Control Elicitors of Plant Defense Responses. *PHITOPATHOLOGY*.
- Howell, C. R. (2012). *Mecanismos empleados por Trichoderma Especies en el control biológico de enfermedades de las plantas*. California Estados Unidos.
- INAMHI. (2015). Boletín Climatologico Anual. Ecuador.
- INEC. (2011). Estadística de información ambiental del Ecuador. Quito, Ecuador.
- Infante, D. (2013). Trichoderma spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. La Habana. Jimenez, E. (2011). APLICACIÓN DE BIOL Y FERTILIZACION QUÍMICA EN LA REHABILITACIÓN DE PRADERA. Ecuador.
- Kumar, R. (2017). Role of Biological Control Agents in Integrated Pest Management Approaches. *Acta Scientific Agriculture*, 3.
- Lorenzo, M. E. (2002). Prospección de hongos antagonistas en la provincia de Cienfuegos. Efectividad y posibilidades de reproducción de cepas nativas de Trichoderma ssp. La Habana.
- MAE. (2010). Programa 'PNGIDS' Ecuador. Quito Ecuador.
- Martinez, N., Gonzales, P., & Torres, A. (2014). *Guía Técnica para el aprovechamiento de residuos orgánicos*. Bogotá.
- Martinez. (2015). Residuos Agroindustriales su impacto, manejo y aprovechamiento. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 11.
- Martinez, M. M. (2016). Evaluación de aislados nativos de Trichoderma sp para el control de hongos patógenos del suelo en tomate. *Ciencias Naturales y Agropecuarias.*, 32-42.
- MIPRO. (2014). Diagnóstico de la Agroindustria Ecuatoriana. Ecuador.
- Morales, X. (2010). PLAGAS Y RESIDUOS. Guayaquil.
- Nakasone, k., Peterson, S., & Jong, S. (s.f.). Biodiversity of Fungi Inventory and Monitoring Methods. *Preservation and Distribution of Fungal Cultures*, 37-47.
- Nieto, C. A. (2013). Evaluación comparativa de la actividad del Trichoderma spp., con el Biocatalizador Microbiano para la descomposición de la materia orgánica en desechos sólidos domiciliarios en la ciudad de Guayaquil. Guayaquil Ecuador.
- Oviedo, M. (2010). Salud laboral y medio ambiente. Valencia España.
- Papavizas, G. (1985). Trichoderma and Gliocladium: biology, ecology, and potential for biocontrol. Annual Rewiew of Phytopathology, 23 - 54.
- Parzanese, M. (2014). Fermentación en estado Sólido de subproductos de la Agroindustria. Guayaquil .
- Perez, J. (2011). Conservación de bacterias. Colombia.
- Pérez, L. V., & Viera, A. B. (2009). Eficacia de Trichoderma harzianum a34 en el biocontrol de Fusarium oxysporum f. Sp. Santiago de Cuba.
- Ponzo, H. (2010). Control de plagas y saneamiento ambiental en el relleno sanitario. Sucumbios.

- Prada Ospina, R. (2012). Alternativa de aprovechamiento eficiente de residuos biodegradables: el caso del almidón residual derivado de la industrialización de la papa Bogotá. Bogotá.
- Quinteros, V., Cárdenas, C., & Aguirre, J. (2014). Caracterización de los residuos vegetales generados en el centro mayorista de acopio, de la ciudad de Armenia para su utilización industrial. Bogotá Colombia.
- Ramirez, S. G. (2012). Aprovechamiento de residuos Agroindustriales, cascarilla de arroz y resisuos de papa, para la producción de Trichoderma. Ambato Ecuador.
- Rodriguez, I., Torres, L., & Marinez, C. (2005). *Caracterización del producto de la fermentación sólida de Trichoderna sobre el bagazo de año.* Brasil.
- Romero, O. (2015). Producción de Trichoderma en diferentes sustratos agrícolas. Argentina.
- Sergio, O., Ortiz, C., & Gutierrez, M. (2008). *Aplicación directa de residuos sólidos orgánicos*. Cali Colombia.
- Sierra, B. E. (2008). Micorriza arbuscular. Recurso microbiológico en la agricultura sostenible. *Tecnología en Marcha*, 191-201.
- Tejada, H. (2002). Control de calidad y análisis de alimentos . Mexico, D.F.
- Vischer, B., Howland, S., & Raudnitz, H. (1950). Viridin. nature, 156.
- Yepes, S. M., Montoya, L. J., & Orozco, F. (2008). *Alternativas de Valorización para los Residuos.*Colombia.

Instrucciones a los autores

TÍTULO EN ESPAÑOL

English title

Nombre y apellidos¹, Nombre y apellidos² (subrayar el responsable de la correspondencia)

¹Institución, ciudad, País

²Institución, ciudad, País

Autor para correspondencia:

Recibido: día/mes/año Aceptado: día/mes/año

RESUMEN

Exponga el problema de investigación en una sola oración, si es posible; el método experimental, incluyendo los mecanismos, procedimientos de recopilación de datos, nombres de las pruebas; los hallazgos, incluyendo los niveles de significación estadística; y las conclusiones, implicaciones, recomendaciones y/o aplicaciones. Máximo 120 palabras.

PALABRAS CLAVE: no más de cinco, en orden alfabético, no incluidas en el título del trabajo. Debe basarse en tesauros de gran impacto como el oficial de la UNESCO, SKOS, CAB, EUROVOC, National Agricultural Library (USDA), AGROVOC, MeSH, entre otros específicos del área de estudio.

ABSTRACT

KEYWORDS:

INTRODUCCIÓN

La introducción presenta la teoría que sustenta la experimentación. Contiene el planteamiento del problema, el desarrollo de los antecedentes, fundamentación y objetivos. Las contribuciones enviadas a la revista deben abordar temáticas relacionadas con el desarrollo de la Bioeconomía con base Biotecnológica en los campos agrícola, alimentos, salud, ambiente, energías e industria.

Se aceptarán contribuciones de los siguientes tipos: revisión, de investigación, de reflexión, metodológicos, estudios de caso y notas breves. Se aceptarán solamente contribuciones inéditas, **no sometidas** al mismo tiempo a ninguna otra publicación impresa o digital. El envío de estas contribuciones supone el compromiso del autor a **ceder sus derechos** a la revista. Serán enviadas al correo electrónico <u>biorrefinería.ceba@gmail.com</u> y sometidas al sistema de revisión por pares, en la modalidad abierta al editor asociado, manteniendo el anonimato. Este recurso es inapelable.

Las contribuciones se escribirán en español o inglés con fuente Calibri Light, tamaño de 12 puntos, interlineado sencillo, un espacio entre párrafos y una extensión máxima de 8 páginas. El formato del papel debe ser A4, con márgenes de 2 cm a cada lado. El procesador de texto a utilizar será Microsoft Word. Los títulos se escribirán en negrita y mayúscula sostenida, mientras que los subtítulos tendrán sólo la primera letra en mayúscula. Las tablas deben crearse en Word y separarse únicamente con líneas horizontales. Las figuras (fotografías, gráficos, esquemas) deben insertarse en formato JPG con una resolución de 300 dpi y enviarse también como documento adjunto. Las tablas y figuras se citarán en el texto de acuerdo al orden de aparición y en el siguiente formato: Tabla 1, Fig. 1, Figs. 1 y 2, Fig. 1(A) (cuando una imagen se subdivida en varios recuadros), se insertarán en el lugar exacto de aparición y se acompañarán de su correspondiente título y pie de figura, respectivamente. El número de tablas y figuras no será superior a 5 para para artículos y 3 para notas breves. Las unidades de medida a utilizar serán las especificadas en el Sistema Internacional de Unidades. Los separadores de decimales serán la coma para artículos en español y el punto para artículos en inglés. La estructura de los artículos de revisión es libre y notas breves, siempre y cuando no sobrepase las 10 páginas en el formato de fuente indicado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Informe en tiempo pretérito qué es lo que usted hizo y cómo lo hizo, incluyendo la descripción de participantes (muestras), Herramientas o materiales, método estadístico, diseño experimental (incluyendo nivel de confianza) y procedimiento. Identifique en el texto todos los reactivos utilizados (reseñando el nombre del fabricante y el país entre paréntesis), el modelo de cada equipo y el sitio de obtención del material biológico (incluyendo las coordenadas del sitio de recolección).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados responden a los objetivos planteados en el experimento, incluyendo el análisis estadístico y los hallazgos relevantes. Los resultados se pueden presentar en tablas y/o figuras, siendo preferibles las figuras. Las discusiones interpretan los resultados obtenidos con base en la teoría y los contrastan con los resultados de otros autores, se escriben en tiempo presente.

CONCLUSIONES

Las conclusiones responden al problema científico expuesto en la introducción el cual dio origen al experimento. Incluyen consecuencias, deducciones y generalizaciones que emanan de la evidencia aportada por los resultados y su interpretación. Sintetiza la idea planteada y los argumentos que se utilizaron para sustentarla. Evalúa lo planteado, señalando sus alcances y sus limitaciones. Plantea implicaciones o nuevos interrogantes al problema y recomendaciones. Escribir en tiempo presente.

AGRADECIMIENTO (opcional)

Se mencionarán las fuentes de financiación de los proyectos de investigación y/o apoyos recibidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Se aplicará la norma APA tanto para citación como para referenciación. Se recomienda usar un software de referenciación.

N°. 3 Revista Biorrefinería **Vol**. 3 **Año**: 2020 ISSN: 2602-8530





PRESENTACIÓN: Bienvenidos a ECUAMORTIÑO, empresa ecuatoriana de base biotecnológica con domicilio en la ciudad de Ibarra.

MISIÓN: Producir y comercializar derivados del Mortiño, mediante la aplicación de técnicas modernas de bioingeniería, que permitan el máximo aprovechamiento de las materias primas.

VISIÓN: Ofrecer un portafolio de derivados del Mortiño que contribuya con el bienestar del ser humano y del planeta.

VALORES: Integridad, Calidad, Responsabilidad, Liderazgo, Colaboración, Diversidad **PRODUCTOS**







Extracto de Mortiño

Extracto de Mortiño Sustancia concentrada que obtiene de la fruta de Mortiño por proceso de extracción sólido líquido. Usos: alimentos, fitofármacos, fármacos, cosmética, limpieza industria.

ESTRUCTURA

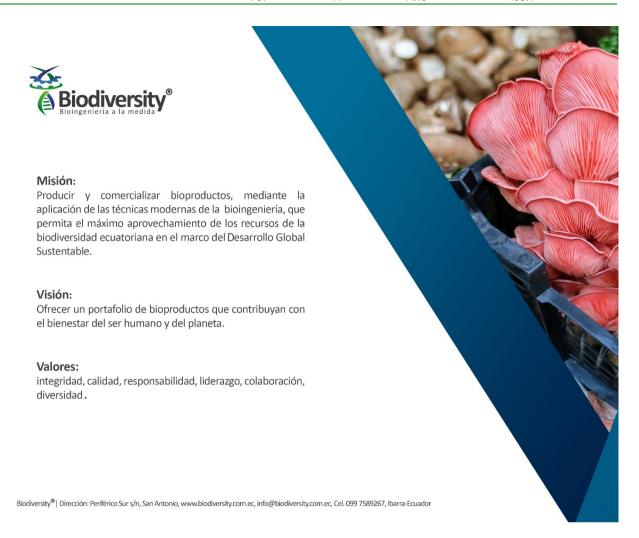
LOTITOCTORA		
Gerencia:	Abg. Cristian Carrera	Cel. 098 5224417
Dirección Comercial:	Ing. Klever Carrera	Cel. 099 934 0270
Dirección Técnica:	Ing. Nellys Hernández	Cel. 099 9205449
Online community manager	Alejandro Pineda Soto	Cel. 099 5968529
Dirección Científica:	Dr. C. Julio Pineda, PhD	Cel. 099 5797813
		info.biodiversity@gmail.com
Secretaria:		

CONTACTO

Corredor Periférico Sur s/n, Fincas San Agustín, San Antonio.

www.ceba.org.ec/ecuacaco

Ibarra-Ecuador



Tecnologías

- Producción de micelios (semillas) de hongos comestibles.
- Producción de champiñones (Pleurotus spp.).
- Producción de agro biológicos (Trichoderma spp.)
- Producción de saponinas esteroides.
- Producción de hecogenina (materia prima para producir la cortisona)
- Producción de suplementos alimenticios.
- Producción de extractos vegetales.
- Producción de alcaloides.
- Producción de bioles (agrobiológicos).
- Producción de bagazo hidrolizado para alimentación animal.
- Producción de aceites esenciales.
- Producción de biogás. Producción industrial de hongos frescos.
- Producción de hongos deshidratados.
- Producción de hongos en conservas.
- Producción de capsulas de hongos.
- Producción de Beta-Glucan.
- Producción de enzimas (lacasas, celulasas, amilasas, etc.).
- Producción de chicha de jora (de maíz).

