

# 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 el Estado 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 científico-empresarial, con una filosofía de trabajo por resultados fundamentada en la competitividad. Promueve y apoya toda actividad encaminada a conseguir un 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](http://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](mailto:cebaecuador@gmail.com), [www.ceba.org.ec](http://www.ceba.org.ec)

Ibarra-Ecuador

# Biorrefinería

La Revista Biorrefinería es una publicación digital de circulación gratuita, 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

Dr. C. Julio Pineda Insuasti, PhD.

**Director Ejecutivo / Executive Director**

Lcda. M. Vanessa Rocha Cabuyales

**Editora de Sección / Section Editor**

Dr. C. Gualberto León Revelo, PhD.

**Editor Técnico / Technical Editor**

Ing. Astrid Stefanía Duarte Trujillo

**Editor Académico / Academic Editor**

## Equipo Técnico / Technical Team

Tatiana Saltos

**Asistente de publicación / Publication assistant**

Camilo Alejandro Pineda Soto

**Diagramador y Diseñador / Diagrammer and Designer**

---

## Comité Científico / Scientific Committee

1. Dr. Rubén Del Toro, PhD. PUCE, Ecuador.

2. Dr. José País. UTN, Ecuador.

3. MSc. Jimmy Núñez. UTN, Ecuador.

4. MSc. Elsa Sulay Mora Muñoz. UTN, Ecuador.

5. MSc. Edwin Jesús Ortiz Rodríguez. GAD Antonio Ante, Ecuador.

6. MSc. Gustavo Reyes Lara. CEBA, Ecuador.

7. Ing. Carlos Alfonso Santillán. CEBA, Ecuador.

8. Dr. C. Fidel Domenech PhD. ONUDI, Cuba.

9. Dr. César Zuleta, PhD. PUCE, Ecuador.

10. MSc. Claudia Soto Arroyave. UCO, Colombia.

11. MSc. Napoleón Benavides. MAE, Ecuador.

12. Ing. Rubén Darío Guzmán. IANCEM, Ecuador

13. Abg. César Augusto Ponce. CEBA, Ecuador.

14. MSc. William Edisson Gómez Andrade, Aglomerados S.A. Ecuador.

15. MSc. Klever Bayardo Ayala Pasta. CEBA, Ecuador

16. MSc. Juan Carlos Fiallos. ESPOCH, Ecuador

17. Dr. C. Mario Cujilema. U de Camagüey, Cuba.

18. Dr. Ernesto Rosero Delgado. UTM, Ecuador.

19. Dra. Zaida Gabriela Cif. Qualipharm, Ecuador

20. MSc. Javier Alexander Jiménez Forero. Universidad de los Llanos, Colombia.

21. MSc. Estefanía Andrade, FLACSO, Ecuador.

22. Msc. José Huaca, UTN, Ecuador.

23. Msc. Ernesto Osejos, UTN. Ecuador.

---

ISSN digital: 2602-8530

Formato: 21 cm x 29,7 cm

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

Contacto: [biorrefineria.ceba@gmail.com](mailto:biorrefineria.ceba@gmail.com)

## Tabla de contenido

|  |            |
|--|------------|
| <b>Impacto del maíz bt en la conservación de la mariposa monarca (<i>Danaus plexippus</i>)</b><br>.....  | <b>5</b>   |
| <b>La producción de hongos comestibles frente a la crisis alimentaria del Ecuador ....</b>   | <b>13</b>  |
| <b>Cepa nativa ecuatoriana de <i>Beauveria bassiana</i> con potencial industrial.....</b>  | <b>23</b>  |
| <b><i>Auricularia fuscosuccinea</i>: una cepa nativa ecuatoriana para hacer frente a la crisis alimentaria .....</b>   | <b>32</b>  |
| <b>Toxicidad de los colorantes sintéticos: de lo global al Ecuador.....</b>  | <b>40</b>  |
| <b>Fermentación en Estado Sólido (FES) de <i>Psilocybe</i> spp. para producción de psilocibina.....</b>  | <b>49</b>  |
| <b><i>Biocontroladores: una alternativa para el agro</i> .....</b>   | <b>58</b>  |
| <b><i>Obtención de cepas puras de Pleurotus djamor</i> .....</b>   | <b>70</b>  |
| <b><i>Influencia del tamaño de partícula, la agitación y el tiempo en la extracción de sustancias bioactivas de la seta ostra (Pleurotus ostreatus).</i> .....</b> | <b>79</b>  |
| <b><i>Banco de recursos genéticos para Pycnoporus spp.</i> .....</b>   | <b>90</b>  |
| <b><i>Obtención de cepas puras de Psilocybe spp</i> .....</b>  | <b>101</b> |
| <b><i>Caracterización físico química de residuos sólidos urbanos del mercado Amazonas ciudad de Ibarra</i>.....</b>  | <b>112</b> |
| <b>Instrucciones a los autores .....</b>   | <b>119</b> |

# Impacto del maíz *Bt* en la conservación de la mariposa monarca (*Danaus plexippus*)

## Impact of *Bt* corn on the conservation of the monarch butterfly (*Danaus plexippus*)

Astrid Stefanía Duarte Trujillo<sup>1</sup>, Julio Amilcar Pineda Insuasti<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Organización Micológica Internacional (OMI), Florencia, Colombia.

<sup>2</sup> Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

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

Recibido: octubre 20 de 2017

Aceptado: diciembre 05 de 2017

---

### RESUMEN

Investigaciones apresuradas afirmaron que el polen del maíz *Bt* afectaba la conservación de *Danaus plexippus*, lo que generó una polémica científica. El propósito de este artículo es describir los hallazgos de la ciencia con respecto al impacto de los cultivos de maíz *Bt* en la conservación de dicha especie de lepidóptero. Se encontró que la existencia de estos cultivos no afecta la conservación de la *D. plexippus*, debido a que la mayoría de híbridos comerciales no expresan las proteínas Cry en el polen y tienen anti-toxinas en su ADN, que evitan atacar insectos no objetivo. Además, la superposición espacio-temporal entre la producción de polen en plantas de maíz y la etapa larval de la mariposa monarca es muy baja, alrededor del 19%.

**PALABRAS CLAVE:** Organismo modificado genéticamente, planta transgénica, proteínas Cry.

### ABSTRACT

Hasty researches stated that *Bt* corn pollen affecting the conservation of the monarch butterfly, which generated a scientific controversy. The purpose of this paper is to describe the findings of science regarding the impact of *Bt* maize crops in the conservation of said lepidopteran species. It was found that the existence of *Bt* maize crops does not affect the monarch conservation because most commercial hybrids do not express the Cry proteins in pollen and have anti-toxins incorporated in DNA that avoid attack to objective insects. In addition, the space-time overlap between production of pollen in maize plants and the larval stage of the monarch butterfly is very low, about 19%.

**KEYWORDS:** Genetically modified organisms, transgenic plant, cry protein.

---

### INTRODUCCIÓN

El término transgénico hace referencia a células de plantas en las que se ha incorporado a su genoma genes de interés que expresan características deseadas, es decir, que dichas células vegetales han sido transformadas. Las

dos técnicas de transformación más utilizadas son la inserción mediada por *Agrobacterium tumefaciens* y la biobalística (Wisniewski, Frangne, Massonneau, y Dumas, 2002). El uso de transgénicos promete aliviar el hambre y reducir los efectos adversos de la agricultura moderna en el medio natural mediante la

reducción de los agro-insumos y laboreo agrícola. Sin embargo las preocupaciones por algunos riesgos hipotéticos se abordan constantemente como los concernientes a la salud humana, la nutrición, el medio ambiente natural, la viabilidad económica y el desarrollo rural (Morales-Estupiñán, 2001); lo cual resulta absurdo, pues los procesos moleculares de la transgénesis son similares a los de la mutación natural (Ammann, 2014).

La investigación y el desarrollo de los OGM para la alimentación se han condensado en unos pocos cultivos básicos como soja, maíz, canola, arroz, trigo, algodón, tabaco y patata, definidos principalmente por su valor real o potencial en el mercado (Nelson, 2001). El maíz ha sido priorizado porque corresponde al 39,7 % de la producción mundial de cereales, siendo Estados Unidos, Alaska y China los principales productores. Para el año 2015 se reportó una producción mundial de aproximadamente un millón de toneladas (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2014, 2016). Los cultivos de maíz padecen constantemente ataques por insectos tipo lepidóptero y coleóptero, lo que genera pérdidas en producción y aumento de los costos agrícolas al incrementar los requerimientos de insumos para su tratamiento. La biotecnología ha sido útil en la búsqueda de soluciones para dicho problema, pues modificó genéticamente el ADN del maíz con genes de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), que expresan proteínas Cry, las cuáles resultan tóxicas para dicha plaga.

En particular, la adopción de los cultivos *Bt* resistentes a los insectos, representa una oportunidad para reemplazar el uso de insecticidas de origen sintético (Ammann, 2005), hecho reconocido por la escritora ambientalista Rachel Carson (1962) en su libro "La Primavera Silenciosa". Aunque, el cultivo a gran escala del maíz transgénico *Bt* generó gran preocupación en la comunidad del Tratado de Libre Comercio de América del Norte (TLCAN) porque estudios prematuros en 1999 señalaron que el polen transgénico

generaban efectos adversos en la conservación de la mariposa monarca (*Danaus plexippus*), una especie considerada "buque insignia de conservación" en Norteamérica (Losey, Rayor, y Carter, 1999).

Por lo tanto, el objetivo de éste trabajo es describir los hallazgos de la ciencia con respecto al impacto de los cultivos de maíz *Bt* en la conservación de la mariposa monarca, mediante una revisión de la literatura científica y un análisis comparativo que permita clarificar la polémica.

## LA MARIPOSA MONARCA

La mariposa monarca (*Danaus plexippus*), es una especie de lepidóptero ditrisio de la familia Nymphalidae. Sus alas tienen un patrón de colores naranja, blanco y negro fácilmente reconocible, que alerta de su toxicidad a sus predadores, la cual es adquirida de los glucósidos cardíacos presentes en el algodoncillo del que se alimentan (Scott, 1986).

Por lo general, las mariposas monarcas completan un ciclo de vida de aproximadamente dos meses, distribuidos en cuatro días como huevo, dos semanas como oruga, 10 días como crisálida y de entre dos a seis semanas como mariposa (Galindo-Leal y Rendón-Salinas, 2005); no obstante, existe una generación de mariposas monarca mucho más resistente y longeva denominada "matusalén" porque puede llegar a vivir hasta nueve meses. La generación Matusalén nace durante verano y otoño, luego migra a los bosques para pasar el invierno y regresa durante la primavera a reproducirse; las mariposas del este de las montañas rocosas de Estados Unidos (Aprox. 95 %), migran hacia los estados de México y Michoacán (México), mientras las del oeste migran a la costa de California. Las mariposas ovipositan en las asclepias o plantas de algodoncillo, las cuales crecen por lo general en los campos de maíz; se alberga allí hasta que desarrolla sus alas y migra (Galindo-Leal y Rendón-Salinas, 2005).

## LAS PROTEÍNAS CRY

Son proteínas de inclusión que comprenden al menos 50 subgrupos con más de 200 miembros (Crickmore *et al.*, 1998); son secretadas por la bacteria gram-positiva *Bacillus thuringiensis* (Bt) en forma de cristales para-esporales durante la fase de esporulación. Estos cristales se conforman no sólo de las proteínas de cristal (Cry) que presentan actividad entomopatogena sino también de toxinas citolíticas (Cyt) que evidencian actividad hemolítica. Los dos componentes de los cristales se denominan en conjunto  $\delta$ -endotoxinas (Bravo, Gill, y Soberón, 2005).

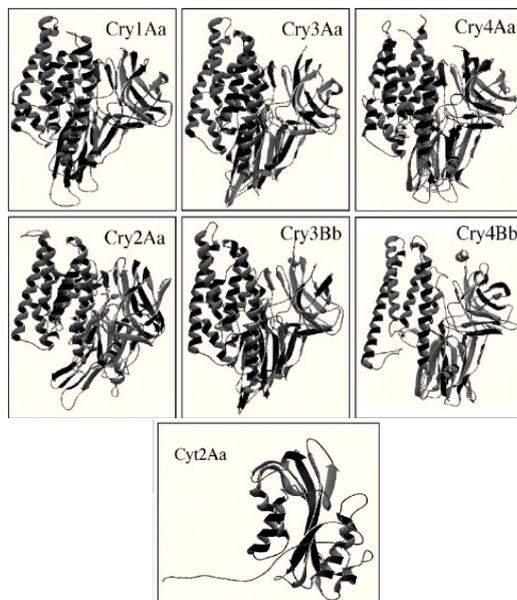


Fig. 1. Estructura tridimensionales de toxinas insecticidas producidas por *Bacillus Trurigiensis* (Bravo *et al.*, 2007)

Las proteínas Cry contienen protoxinas con dos longitudes diferentes y tres dominios estructurales enlazados por conectores individuales: el primero consta de siete hélices alfa, el segundo de tres láminas beta anti-paralelas y el tercero de un beta-sandwich. Hasta la fecha, han sido determinadas por cristalografía de rayos x las estructuras terciarias de seis proteínas Cry de tres dominios diferentes, como indica la fig. 1

(Bravo, Gill y Soberón, 2007; de Maagd, Bravo, y Crickmore, 2001).

Las proteínas Cry resultan tóxicas sólo para los órdenes de insectos Lepidóptera, Coleóptera, Himenóptera y Díptera, así como para nematodos (Crickmore *et al.*, 1998). Presentan una actividad tan específica que tienen poco o ningún efecto contra organismos no objetivo, además, las toxinas se expresan dentro de los tejidos de la planta, minimizando la exposición de los animales que no se alimentan de las plantas de cultivo (Ammann, 2005).

## MODO DE ACCIÓN DE LAS PROTEÍNAS CRY

Las proteínas cry pertenecen al grupo de Toxinas Formadoras de Poros (TFP), son secretadas en forma de inclusiones cristalinas que se disuelven en el ambiente alcalino del intestino de las larvas objetivo que les ingieren. Una vez liberadas, las protoxinas Cry son activadas por proteasas intestinales que les escinden, lo que implica la eliminación proteolítica del N-terminal de un péptido específico y aproximadamente la mitad del del C-terminal (Bravo *et al.*, 2005; de Maagd *et al.*, 2001).

Como la toxina activada es soluble en agua, se une a receptores específicos del borde en cepillo, el cual está conformado por las microvellosidades de los enterocitos (células columnares) del epitelio intestinal del huésped. La toxina sufre cambios conformacionales tipo oligomérico pre-poro, es decir, que polimeriza y forma oligómeros, lo que le permiten insertarse o trasladarse a través de la membrana, conduciendo a la formación de poros líticos en las microvellosidades apicales, fuga de iones y contaminación, desencadenando una septicemia grave, y finalmente la muerte del insecto (Bravo *et al.*, 2005; de Maagd *et al.*, 2001; Soberón *et al.*, 2012). Se desconoce con exactitud el número de monómeros que se asocian en la estructura oligomérica, aunque algunos estudios sugieren que tres, otros que

cuatro (Soberón *et al.*, 2012). En cuanto a las proteínas receptoras se han descrito al menos cuatro para toxinas Cry1A en diferentes insectos lepidópteros: Una proteína-cadherina como (CADR), un glicosilfosfatidil-inositol (GPI) anclada aminopeptidasa-N (APN), una fosfatasa alcalina anclada a GPI (ALP) y un glicoconjugado de 270 kDa (Bravo *et al.*, 2007).

Existen ciertos mecanismos de resistencia del huésped que implican la síntesis de anticuerpos inhibidores de la unión de las toxinas Cry a los receptores Bt (Bravo *et al.*, 2007), lo cual ha generado preocupación acerca de la vida útil de *Bacillus thuringiensis* como bioplaguicida. Se han desarrollado soluciones como el desarrollo de las proteínas Cry1AMod, versiones de Cry1Ab que carecen del extremo amino-terminal por lo que son capaces de polimerizar sin necesidad de la unión al receptor cadherina, por lo tanto, resultan tóxicas para los insectos objetivo resistentes. Estas versiones deben combinarse con promotores cry3A que presenten mutaciones de cisteína individuales para su expresión eficaz (Bravo *et al.*, 2015; García-Gómez *et al.*, 2013). También se han planteado refugios, que comprenden la inclusión de al menos un 20 % de maíz no *Bt* dentro de media milla de maíz *Bt*, sembrado fuera de zonas de cultivo de algodón, con un monitoreo de la resistencia del insecto al bioplaguicida (US Environmental Protection Agency [USEPA], 2001).

## INFLUENCIA DEL MAÍZ BT EN LA CONSERVACIÓN DE LA MARIPOSA MONARCA

Losey y colaboradores (1999) alimentaron a las orugas de la Mariposa Monarca con algodoncillo contaminado con polen de maíz *Bt*, obteniendo que el 50 % presentó menor crecimiento y murió prematuramente. Concluyeron que el polen del maíz transgénico tenía profundas implicaciones para la conservación de la mariposa monarca. Para corroborar ésta información, Hansen-Jesse y Obrycki (2000) realizaron un estudio en el cual

alimentaron larvas de mariposa monarca durante 48 horas con algodoncillo espolvoreado con polen *Bt*, con polen no *Bt* y sin espolvorear; alcanzando tasas de mortalidad del 20 %, 3 % y 0 % respectivamente. Afirmaron que los efectos del polen de maíz *Bt* sobre las larvas eran visibles en las fronteras de campos transgénicos hasta los 10 m y mortal para las que se alimentaran de plantas de algodoncillo a una distancia de menos de metros del borde del cultivo de maíz (Hansen-Jesse y Obrycki, 2000). Sin embargo, la evaluación de riesgos en ambas investigaciones estaba incompleta porque no tuvieron en cuenta los niveles de exposición temporal ni espacial (Sears *et al.*, 2001), así como la dosis de polen en las hojas y la reproducibilidad de las condiciones experimentales empleadas en situaciones reales (Gatehouse, Ferry, y Raemaekers, 2002).

Por su parte, la USEPA (2001) afirmó que es poco probable que el polen *Bt* le resulte tóxico a la especie, lo que se debe a que en la mayoría de los híbridos de maíz comerciales la expresión de la toxina en el polen es baja, además, estudios de toxicidad en laboratorio y campo no mostraron efectos adversos en la mariposa, tras exponerla a diferentes densidades de polen *Bt* (Sears *et al.*, 2001). La oviposición tampoco se ve afectada por la presencia del cultivo *Bt*, ya que la mariposa monarca deposita similar cantidad de huevos tanto en el algodoncillo que ha crecido dentro de campos de maíz *Bt* como en el que ha crecido al borde de la carretera (Jesse y Obrycki, 2003).

Surgieron luego acusaciones de toxicidad del polen *Bt* en otro tipo de lepidópteros no objetivo como el *Papilio machaon* L. o cola de golondrina común (Lang y Vojtech, 2006) y la larva de *Inachis io* o mariposa pavo real (Holst, Lang, Lövei, y Otto, 2013), por lo cual expertos en biología molecular desarrollaron mutantes Dominantes Negativos (DN), también llamados anti-toxinas, que pueden inhibir la toxicidad de las proteínas *Bt* en insectos no objetivo

mediante sustitución de los residuos del hélice  $\alpha$ -4 por cisteína (Girard *et al.*, 2008).

Algunos autores reconocen que el cultivo *Bt* tiene un impacto positivo significativo en la diversidad ecológica, la contaminación ambiental y la sostenibilidad económica de los agroecosistemas al provocar la disminución del uso de insecticidas sintéticos (Walker y Frederick, 2011). Estudios comparativos evaluaron el impacto del polen *Bt* que no expresa proteínas Cry y el pesticida  $\lambda$ -cihalotrina, encontrando que el primero es insignificante mientras el segundo resulta mortal para las larvas monarca (Stanley-Horn *et al.*, 2001).

En efecto, el aumento de cultivos de maíz *Bt* en los últimos años no afecta la población y conservación de las mariposas monarca, ya que según la organización Monarch Watch (2016), la población de mariposas monarca se duplicó durante el 2016, gracias a las condiciones climáticas favorables para la etapa larval durante 2015. La principal amenaza para la población monarca es la pérdida de hábitats cruciales de invierno en el sur de California y el centro de México; y las inadecuadas prácticas agrícolas como el control de malezas que arrasa con los cultivos de algodóncillo o el uso de insecticidas sintéticos (Bravo *et al.*, 2007). Para el año 2009 se reportó en el centro-norte de Estados Unidos una disminución del 90 % de las áreas de algodóncillo en comparación con 1999, probablemente a causa del uso indiscriminado del glifosato (Hartzler, 2010).

## VARIABLES DE IMPACTO

### Tipo de evento

El nivel de impacto del maíz *Bt* sobre la mariposa monarca depende del tipo de evento (híbrido comercial). Cada evento utiliza un promotor diferente para controlar la expresión de genes en diferentes partes de la planta; es decir, que los eventos con promotores que expresan las proteínas cry en las hojas o el polen no resultan tóxicos para los insectos objetivo en comparación a los que las expresan

constitutivamente (Gatehouse *et al.*, 2002). Hellmich y colaboradores (2001) evaluaron los riesgos, encontrando que la toxicidad depende de los niveles de exposición al polen a que sea sometida la mariposa monarca, del evento implicado y de los niveles de expresión de la proteína Cry en el polen. Encontraron que sólo los eventos en que se expresaran CryAc o CryAb en el polen eran tóxicos para la especie (Hellmich *et al.*, 2001).

### Concentración de la proteína en el polen

El evento 176 presentó 40 veces más endotoxinas CryAb en comparación a los eventos Bt11 y MON810, lo que evidenció el gran diferencial de concentraciones que puede existir entre eventos (Hellmich *et al.*, 2001).

### Derramamiento del polen

La reproducción del maíz *Bt* ocurre mediante fertilización cruzada por derramamiento del polen, y es cuando las plantas de algodóncillo que albergan a la mariposa monarca (huevos y larvas, principalmente) se contaminan con el polen transgénico (Westgate, Lizaso, y Batchelor, 2003). Sin embargo el derramamiento del polen depende de varios factores como: la distancia entre la fuente de polen y el algodóncillo; el tamaño, forma y orientación de dicha fuente con respecto al receptor; la intensidad y dirección del viento; entre otras (Della Porta *et al.*, 2008).

### Nivel de exposición de la mariposa monarca

Se hizo un estudio donde se obtuvo que la densidad de polen en las hojas superiores (donde se sentaron las masas de huevos) fue sólo del 30-35 % en comparación con las hojas intermedias, donde las densidades de polen fueron significativamente más altas alrededor de la nervadura de la hoja, área evitada por larvas más jóvenes (Pleasant *et al.*, 2001).

### Superposición espacio-temporal

Oberhauser y colaboradores (2001) hicieron una importante contribución a la polémica mediante la investigación de la superposición espacial y temporal entre la producción de

polen en plantas de maíz y la etapa larval de la mariposa monarca; encontrando un mayor solapamiento temporal en el norte frente a la parte sur del área de reproducción en verano. En la investigación de Sears y colaboradores (2001) hubo una superposición de tan sólo el 19% en Norteamérica.

## CONCLUSIONES

Las investigaciones apresuradas que afirmaron que los cultivos de maíz *Bt* perjudicaban la conservación de la mariposa monarca no se ajustan a la realidad, ya que en ellas se obviaron parámetros como el nivel de exposición de la mariposa al polen y la

superposición espacio-temporal entre ambos, el tipo de evento empleado y la concentración de la toxina en el polen. El tipo de evento es el parámetro más importante porque cada híbrido comercial presenta diferentes concentraciones de la proteína Cry, así como diferentes patrones de expresión en una o varias partes de la planta. La mayoría de eventos no expresan la toxina, y contienen anti-toxinas que evitan que las proteínas Cry resulten tóxicas para insectos no objetivo. Lo que realmente afecta la conservación de *Danaus plexippus* son las malas prácticas de agricultura, que acaban con los lotes de algodoncillo, maleza de la cual se alimentan sus larvas. monarca

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ammann, K. (2005). Effects of biotechnology on biodiversity: herbicide-tolerant and insect-resistant GM crops. *Trends in Biotechnology*, 23(8), 388–394. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2005.06.008>
- Ammann, K. (2014). Genomic Misconception: a fresh look at the biosafety of transgenic and conventional crops. A plea for a process agnostic regulation. *New Biotechnology*, 31(1), 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2013.04.008>
- Bravo, A., Gill, S. S., y Soberón, M. (2005). *Bacillus thuringiensis* mechanisms and use. *Comprehensive molecular insect science*, 6, 175–205.
- Bravo, A., Gill, S. S., y Soberón, M. (2007). Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon*, 49(4), 423–435. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2006.11.022>
- Bravo, A., Martínez de Castro, D. L., Sánchez, J., Cantón, P. E., Mendoza, G., Gómez, I., ... Soberón, M. (2015). Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins and their use in the control of insect pests. En *The Comprehensive Sourcebook of Bacterial Protein Toxins* (pp. 858–873). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800188-2.00030-6>
- Carson, R. (2002). *The Silent Spring* (40ª ed.). Boston - New York: Houghton Mifflin Harcourt. Recuperado a partir de: <https://goo.gl/ctYAhw>
- Crickmore, N., Zeigler, D. R., Feitelson, J., Schnepf, E., Van Rie, J., Lereclus, D., ... Dean, D. H. (1998). Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*, 62(3), 807–13. Recuperado a partir de <http://mmbbr.asm.org/content/62/3/807.abstract>
- de Maagd, R. A., Bravo, A., y Crickmore, N. (2001). How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. *Trends in Genetics*, 17(4), 193–199. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(01\)02237-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(01)02237-5)
- Della Porta, G., Ederle, D., Bucchini, L., Prandi, M., Verderio, A., y Pozzi, C. (2008). Maize pollen mediated gene flow in the Po valley: Source–recipient distance and effect of flowering time. *European Journal of Agronomy*, 28(3), 255–265. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2007.07.009>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2014). Statistics. Recuperado a partir de <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>

- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2016). AmisStatistics. Recuperado a partir de <http://statistics.amis-outlook.org/data/index.html>
- Galindo-Leal, C., y Rendón-Salinas, E. (2005). *Danaidas: Las Maravillosas Mariposas Monarca* (Publicació). México D.F: World Wildlife Fund (WWF) - Telcel México. Recuperado a partir de [http://www.soymonarca.mx/\\_pdf/danaidas\\_maravillosas\\_mariposas\\_monarca.pdf](http://www.soymonarca.mx/_pdf/danaidas_maravillosas_mariposas_monarca.pdf)
- García-Gómez, B., Sánchez, J., Martínez de Castro, D., Ibarra, J., Bravo, A., y Soberón, M. (2013). Efficient production of *Bacillus thuringiensis* Cry1AMod toxins under regulation of cry3Aa promoter and single cysteine mutations in the protoxin region. *Applied And Environmental Microbiology*, 79(22), 6969–73. <https://doi.org/10.1128/AEM.02546-13>
- Gatehouse, A. M. ., Ferry, N., y Raemaekers, R. J. (2002). The case of the monarch butterfly: a verdict is returned. *Trends in Genetics*, 18(5), 249–251. [doi.org/10.1016/S0168-9525\(02\)02664-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(02)02664-1)
- Girard, F., Vachon, V., Préfontaine, G., Marceau, L., Su, Y., Larouche, G., ... Laprade, R. (2008). Cysteine scanning mutagenesis of alpha4, a putative pore-lining helix of the *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxin Cry1Aa. *Applied and environmental microbiology*, 74(9), 2565–72. <https://doi.org/10.1128/AEM.00094-08>
- Hartzler, R. G. (2010). Reduction in common milkweed (*Asclepias syriaca*) occurrence in Iowa cropland from 1999 to 2009. *Crop Protection*, 29(12), 1542–1544. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.07.018>
- Hellmich, R. L., Siegfried, B. D., Sears, M. K., Stanley-Horn, D. E., Daniels, M. J., Mattila, H. R., ... Lewis, L. C. (2001). Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis*- purified proteins and pollen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(21), 11925–11930. <https://doi.org/10.1073/pnas.211297698>
- Holst, N., Lang, A., Lövei, G., y Otto, M. (2013). Increased mortality is predicted of *Inachis io* larvae caused by Bt-maize pollen in European farmland. *Ecological Modelling*, 250, 126–133. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2012.11.006>
- Jesse, L. C. H., y Obrycki, J. J. (2000). Field deposition of Bt transgenic corn pollen: lethal effects on the monarch butterfly. *Oecologia*, 125(2), 241–248. Recuperado a partir de <http://link.springer.com/article/10.1007/s004420000502>
- Jesse, L. C. H., y Obrycki, J. J. (2003). Occurrence of *Danaus plexippus* L. (Lepidoptera: Danaidae) on milkweeds (*Asclepias syriaca*) in transgenic Bt corn agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 97(1–3), 225–233. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(03\)00124-5](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(03)00124-5)
- Lang, A., y Vojtech, E. (2006). The effects of pollen consumption of transgenic Bt maize on the common swallowtail, *Papilio machaon* L. (Lepidoptera, Papilionidae). *Basic and Applied Ecology*, 7(4), 296–306. <https://doi.org/10.1016/j.baee.2005.10.003>
- Losey, J. E., Rayor, L. S., y Carter, M. E. (1999). Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*, 399(6733), 214. <https://doi.org/10.1038/20338>
- Monarch Watch Org. (2016). No. Recuperado a partir de <http://www.monarchwatch.com>
- Morales Estupiñán, C. (2001). *Las nuevas fronteras tecnológicas: promesas, desafíos y amenazas de los transgénicos*. Santiago de Chile. Recuperado a partir de [http://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/4490/S018664\\_es.pdf?sequence=1](http://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/4490/S018664_es.pdf?sequence=1)
- Nelson, G. (2001). Traits and techniques of GMOs. En G. C. Nelson (Ed.), *Genetically modified organisms in agriculture: economics and politics* (pp. 7–14). Cornwall: Academic Press. Recuperado a partir de: <https://goo.gl/11VXqt>
- Oberhauser, K. S., Prysby, M. D., Mattila, H. R., Stanley-Horn, D. E., Sears, M. K., Dively, G., ... Hellmich, R. L. (2001). Temporal and spatial overlap between monarch larvae and corn pollen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(21), 11913–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.211234298>
- Pleasants, J. M., Hellmich, R. L., Dively, G. P., Sears, M. K., Stanley-Horn, D. E., Mattila, H. R., y Jones,

- G. D. (2001). Corn pollen deposition on milkweeds in and near cornfields. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(21), 11919–11924.
- Scott, J. A. (1986). *The butterflies of North America. A natural history and field guide*. Stanford University Press. Recuperado a partir de <http://www.cabdirect.org/abstracts/19880546914.html>
- Sears, M. K., Hellmich, R. L., Stanley-Horn, D. E., Oberhauser, K. S., Pleasants, J. M., Mattila, H. R., ... Dively, G. P. (2001). Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations: a risk assessment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(21), 11937–42. <https://doi.org/10.1073/pnas.211329998>
- Soberón, M., Rodríguez-Almazán, C., Muñoz-Garay, C., Pardo-López, L., Porta, H., y Bravo, A. (2012). *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt mutants useful to counter toxin action in specific environments and to overcome insect resistance in the field. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 104(2), 111–117. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.05.003>
- Stanley-Horn, D. E., Dively, G. P., Hellmich, R. L., Mattila, H. R., Sears, M. K., Rose, R., ... Lewis, L. (2001). Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(21), 11931–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.211277798>
- US Environmental Protection Agency [USEPA]. (2001). Biopesticides registration action document: *Bacillus thuringiensis* plant-incorporated protectants. Recuperado a partir de [https://www3.epa.gov/pesticides/chem\\_search/reg\\_actions/pip/1-overview.pdf](https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/pip/1-overview.pdf)
- Walker, K., y Frederick, R. (2011). Entomological Risks of Genetically Engineered Crops. En *Encyclopedia of Environmental Health* (pp. 306–314). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52272-6.00172-0>
- Westgate, M. E., Lizaso, J., y Batchelor, W. (2003). Quantitative relationships between pollen shed density and grain yield in maize. *Crop Science*, 43(3), 934–942. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.9340>
- Wisniewski, J.-P., Frangne, N., Massonneau, A., y Dumas, C. (2002). Between myth and reality: genetically modified maize, an example of a sizeable scientific controversy. *Biochimie*, 84(11), 1095–1103. [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(02\)00014-7](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(02)00014-7)

# La producción de hongos comestibles frente a la crisis alimentaria del Ecuador

## Edible mushrooms production against the food crisis from Ecuador

Edwin Jesús Ortiz Rodríguez<sup>1</sup>, Julio Pineda Insuasti<sup>2</sup>, Astrid Stefanía Duarte Trujillo<sup>3</sup>, Guillermo Andrés Parrado Castro<sup>3</sup>, Claudia Patricia Soto Arroyave<sup>4</sup>, Camilo Alejandro Pineda Soto<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra, Ecuador.

<sup>2</sup> Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

<sup>3</sup> Universidad de los Llanos (UNILLANOS), Villavicencio, Colombia.

<sup>4</sup> Universidad Católica de Oriente (UCO), Rionegro, Colombia.

<sup>5</sup> Escuela Politécnica Nacional (EPN), Quito, Ecuador

Autor para correspondencia: edwinortizrod@gmail.com

*Recibido: octubre 15 de 2017*

*Aceptado: diciembre 13 de 2017*

---

### RESUMEN

Los hongos comestibles son un alimento rico tanto nutricional como medicinalmente, que se cultiva fácilmente sobre residuos agroindustriales. El impacto de su producción en los territorios rurales ecuatorianos, no ha sido abordada. El objetivo de este trabajo fue reconocer la importancia de dicha actividad agroindustrial en la valorización de los recursos locales rurales como una alternativa para enfrentar la crisis alimentaria mundial. Se realizó una ardua búsqueda bibliográfica y se encontró que la producción de hongos comestibles como AIR, concebida dentro de un SIAL, constituye un elemento clave en la lucha contra la inseguridad alimentaria y la pobreza rural.

**PALABRAS CLAVES:** aprovechamiento de recursos, seguridad alimentaria, zona rural.

---

### ABSTRACT

Edible mushrooms are a food rich both nutritionally and medicinally, which is easily grown on agroindustrial waste. The impact of its production in Ecuadorian rural areas has not been addressed. The aim of this study was to recognize the importance of this agroindustrial activity in valorization of rural local resources as an alternative to tackle the global food crisis. An arduous literature search was made and it was found that the production of edible fungi as AIR, conceived within a SIAL constitutes a key element in the fight against food insecurity and rural poverty.

**KEYWORDS:** resources development, food security, rural areas.

---

### INTRODUCCIÓN

La humanidad vivía bajo la profecía malthusiana de que la población iba a aumentar exponencialmente mientras que la producción de alimentos lo haría linealmente, hasta que,

políticas alimentarias y demográficas, así como avances tecnológicos permitieron hacer frente a esta problemática. Pese a estos logros, se estima que para mediados del siglo XXI la población mundial alcance los 9200 millones de habitantes, la población urbana represente

el 70% del total, frente al 49% actual y la demanda de alimentos aumente un 50%. Dicho aumento poblacional repercutirá en la superficie agraria per cápita, que pasará de 2,6 has en 2010 a 1,5 has en 2050; por lo que se hace necesario el aumento de la producción por área. Lo malo, es que se prevé que el aumento de la productividad pasará del 1,4% en la primera década del siglo al 1% a mediados de este. La forma de hacer frente a ésta problemática es mediante la adopción de tecnologías que aumenten la productividad sin comprometer negativamente el medio ambiente. En éste sentido, hay que reconocer la importancia de la biotecnología y la ingeniería genética (Viñas, 2011, 2012). La implementación de la biotecnología se plantea como una solución viable para confrontar la crisis alimentaria en el mundo puesto que no solo aumenta la productividad de los cultivos sino que también mejora las propiedades nutricionales de los alimentos (Ramón et al., 2005), aumenta su vida útil y su calidad higiénico-sanitaria a través de procesos de bioconservación, y trazabilidad (Marín, 2016).

Uno de los retos de alimentar al mundo es proveer a las personas la proteína y micronutrientes necesarios en su dieta (Godfray et al., 2010). No obstante, la producción de carne cada vez es más insostenible ambiental y económicamente; por tanto la modificación de hábitos de consumo hacia fuentes de proteína alternativa es una opción viable (Capone, El Bilali, Debs, Cardone, y Driouech, 2014; Hoogland, de Boer, y Boersema, 2005). La producción de proteína de origen microbiano o Proteína Unicelular (SCP, por sus siglas en inglés), es una aplicación biotecnológica muy antigua y conocida, que permite convertir los residuos agroindustriales en productos biotecnológicos útiles desde un punto de vista económico, nutricional e industrial mediante procesos de fermentación controlados (Olsen y Allermann, 2001; Pineda, Ramos, y Soto, 2014); su consumo constituye una alternativa biotecnológica para afrontar el reto de la seguridad alimentaria contemplado

en el objetivo número uno de la Declaración del Milenio (Anupama y Ravindra, 2000; FAO, FIDA y PMA, 2015). No obstante, el consumo de proteínas de bacterias, levaduras y algas se ha visto limitado debido a problemas de toxicidad y otras reacciones adversas (García-Garibay, Gómez-Ruiz, Cruz-Guerrero, y Bárzana, 2014; Zepka, Jacob-Lopes, Goldbeck, Souza-Soares, y Queiroz, 2010) por lo que la producción de proteína obtenida de hongos filamentosos se plantea como una opción más viable para la obtención de aminoácidos esenciales y proteínas de alta digestibilidad (Nigam y Singh, 2014; Román Corrochano, 2013).

El Ecuador es un país rico en biodiversidad, lo que le hace apto para la actividad agropecuaria, agroindustrial y la biotecnología (Banco Mundial, 2014). Bajo este contexto, la producción de hongos comestibles es una actividad biotecnológica viable para el país, aunque su impacto en los territorios rurales, no ha sido estudiado.

El objetivo de este trabajo es reconocer la importancia de dicha actividad agroindustrial en la valorización de los recursos locales rurales como una alternativa para hacer frente a la crisis alimentaria mundial.

## CRISIS ALIMENTARIA MUNDIAL

La Declaración de Roma sobre la seguridad alimentaria mundial y el Plan de Acción de la Cumbre Mundial sobre la Alimentación establecen que “existe seguridad alimentaria cuando todas las personas tienen en todo momento acceso físico y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias en cuanto a los alimentos a fin de llevar una vida activa y sana” (ONU, 1996). La definición plantea cuatro dimensiones primordiales que son: Disponibilidad física de los alimentos, acceso económico y físico, utilización (diversificación de la dieta y consumo calórico) y estabilidad en el tiempo de las tres dimensiones mencionadas.

La FAO define el hambre como sinónimo de desnutrición crónica (FAO, 2015a). “Poner fin al hambre, lograr la seguridad alimentaria y la mejora de la nutrición, y promover la agricultura sostenible” es el segundo de los Objetivos De Desarrollo Sostenible (ODS) de la ONU; se ha visto obstaculizado por los conflictos socio-económicos y las catástrofes naturales, que conducen cada día a una mayor inseguridad alimentaria. En el periodo de 1990-2015 se logró reducir el número de personas con hambre de un 23% a un 12,9% a nivel mundial, sin embargo, pese al enorme esfuerzo, una de cada nueve personas vive en pobreza extrema y sufren de hambre, lo que representa en la actualidad unos 800 millones de personas, de las cuales alrededor del 97% pertenecen a países en desarrollo. Asimismo, existen más de 160 millones de niños menores de 5 años que para su edad tienen una altura inadecuada, debido a una alimentación insuficiente (FAO et al., 2015; ONU, 2015). A este problema de subalimentación se suma el aumento progresivo de la proporción de personas con obesidad, que está alrededor del 6,5%, como consecuencia de malos hábitos alimenticios (FAO, 2015b).

### SITUACIÓN LATINOAMERICANA

Latinoamérica y el Caribe cuentan con recursos más que suficientes para alimentar a toda la población, el problema radica en el desempeño productivo y la diversidad de políticas que garanticen el acceso a los más vulnerables. Gracias al aumento del Producto Interno Bruto (PIB) se logró reducir el porcentaje de personas con hambre de 14,7 al 5,5 %. Empero, a pesar de reducirse a menos de la mitad el número de personas subalimentadas desde 1990, todavía existen más de 34 millones de individuos en estado de desnutrición crónica. Actualmente, mediante la Iniciativa “América Latina y el Caribe sin Hambre”, se ha propuesto erradicar el hambre por completo antes del 2025. Este objetivo fue ratificado y adoptado en 2015 por la Comunidad de Estados Latinoamericanos y Caribeños (CELAC) mediante su Plan de

Seguridad Alimentaria, Nutrición y Erradicación del Hambre. A nivel Latinoamérica, existen alrededor de 16 millones de personas subalimentadas, siendo Colombia (4,4 millones), Perú (2,3 millones), Bolivia (1,8 millones) y Ecuador (1,8 millones) los países más afectados (FAO, 2015b).

### SITUACIÓN NACIONAL

Ecuador al igual que el resto de países en desarrollo lucha contra la crisis de la inseguridad alimentaria y el cambio climático (Pineda, 2014). Pese al logro mundial de la disminución del número de personas hambrientas en casi un 50%, este país muestra un progreso lento en el cumplimiento del ODM1 (ONU, 2015), puesto que el cumplimiento del Reglamento Sanitario Internacional de la Organización Mundial de la salud (OMS) en términos de seguridad alimentaria es de tan sólo el 50-60 % (Global Economy and Development, 2015). Se reportaron para el año 2014 alrededor de 1,8 millones de personas en estado de desnutrición, lo que corresponde al 10,9% de la población (FAO, 2015). Además, el 25% de la población infantil presentó retraso en el crecimiento por desnutrición crónica y el 2,3% murió de hambre. La más afectada es la población rural, ya que el 70% presentó desnutrición por alimentación hipocalórica y el 67% por alimentación hipoproteica (Global Economy and Development, 2015). El índice GIH (Global Index Hunger, 2015), dio al Ecuador una puntuación de 14, lo que lo cataloga como un país con un moderado problema de desnutrición en su población (Von Grebmer et al., 2015). Para el año 2016, la situación se agravó debido al terremoto que sacudió la costa norte ecuatoriana y dejó alrededor de 150000 personas en pobreza extrema; a esto se suma el aumento de migrantes colombianos y colombianos, que en conjunto representan más del 90% de los refugiados (World Food Programme [WFP], 2015).

Por otro lado, los pilares de la seguridad alimentaria en el Ecuador, no se han cumplido adecuadamente: el consumo y el acceso a los alimentos medido según la Encuesta de Condiciones de Vida (ECV) 2014 ha sido incumplido por el 25,8 % de la población; y la disponibilidad de los alimentos se ha visto estancada por el no ascenso de la productividad, los fenómenos climáticos y la disputa por el agua de riego entre los cultivos de consumo nacional y los de exportación (como las flores en Pichincha) (Carrasco y Manosalvas, 2015; INEC, 2015; Mena-Vásquez, Boelens, y Vos, 2016).

Un análisis de la accesibilidad de los alimentos en el Ecuador mostró que “el principal obstáculo de la seguridad alimentaria está dado por la incapacidad de los hogares para acceder a una canasta alimenticia básica”, lo que desencadena en dietas hipocalóricas. Según la ECV 2006, alrededor del 8,7% de los hogares del país no puede acceder a una canasta de alimentos que cubra con los requerimientos calóricos mínimos, y aproximadamente 3 de cada 10 familias presentan dificultades para pagar sus gastos de alimentación. Además, existen problemas distributivos, ya que el 10% de las familias más ricas consume cinco veces más alimento que el 10% de las familias más pobres (Calero, 2011). Las provincias del Ecuador más afectadas por la inseguridad alimentaria son Morona Santiago y Napo, que presentan desnutrición en un 50 a 60% de la población (INEC, 2015).

La provincia de Imbabura tiene alrededor del 32,4% de su población en estado de desnutrición (INEC, 2015), lo cual se ha mitigado un poco gracias a la alta producción y consumo de fréjol ya que el consumo promedio de esta leguminosa es superior a 40kg/(persona\*año), aproximadamente 10 veces superior que la media nacional (FAO, n. d.). Actualmente, existe un Programa de Seguridad Alimentaria y Nutricional denominado SAN Imbabura, destinado al fortalecimiento de los sistemas alimentarios locales, principalmente de las familias más

vulnerables de los cantones de Ibarra, Cotacachi y Pimampiro (Unicef, 2015).

En este contexto, la Constitución Política de la República del Ecuador (2008) en su artículo 48 establece que la soberanía alimentaria constituye un objetivo estratégico y una obligación del estado; y en el artículo 262 establece que es competencia de los Gobiernos Regionales Autónomos fomentar la seguridad alimentaria. También dicta, que una de las formas de lograrlo es impulsando la producción, transformación agroalimentaria y el desarrollo de biotecnología bajo normas de bioseguridad. Los sectores de alimentos y biotecnología son sectores priorizados por el Plan de Desarrollo para el Buen Vivir 2017-2021 mediante el aprovechamiento sustentable de la biodiversidad, que constituye una ventaja comparativa en el desarrollo científico y el biocomercio nacional (Senplades, 2017). Teniendo en cuenta que el Ecuador, junto con el resto de países de la Comunidad Andina (Colombia, Perú, Bolivia y Venezuela), concentran alrededor del 25 % de la biodiversidad mundial y presentan el mayor número de especies endémicas (Corporación Andina de Fomento, 2007). El uso sostenible de la biodiversidad constituye un motor de desarrollo, no sólo en términos económicos, sino también sociales, porque contribuye a la lucha contra el hambre.

## LOS HONGOS COMESTIBLES

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). Tan sólo en el Ecuador se han estimado más de 100 mil especies de hongos (Hawksworth, 2001), aunque se han descrito tan solo cinco mil (Freire Fierro, 2004). Aproximadamente 14 mil especies de hongos producen cuerpo fructífero, pero solo 7 mil tienen algún grado de comestibilidad y tan solo 3 mil pueden ser consideradas completamente comestibles. Cerca 200 de estas especies han sido cultivadas experimentalmente, 60 cultivadas comercialmente y apenas 10

producidas a escala industrial (Chang y Miles, 2004).

Los hongos comestibles tienen un alto contenido de proteína (entre el 20 al 30 % en base seca), pared quitinosa que actúa como fibra dietética, alto contenido de vitaminas del complejo B, bajo contenido de grasa y todos los aminoácidos esenciales, por lo que se podrían consumir como sustitutos de la carne (Ghorai *et al.*, 2009). Adicionalmente, presentan excelentes propiedades medicinales debido a su contenido de biocompuestos con actividad biológica; dentro de los cuales se identifican beta-glucanos, enzimas, policétidos, ácidos grasos, lectinas, polifenoles, flavonoides y terpenoides, entre otros; que pueden ser aislados del micelio, del cuerpo fructífero y del medio de cultivo agotado (Gomes-Corrêa, Brugnari, Bracht, Peralta, y Ferreira, 2016).

El cultivo los hongos comestibles es muy rentable debido su bajo costo de producción, gracias a que pueden crecer sobre residuos agroindustriales (Suárez y Nieto, 2016), que de otro modo no tendrían valor agregado. Se estima que se producen en el mundo alrededor de  $1 \times 10^{10}$  TM de residuos lignocelulósicos cada año, por lo que su potencial de bioconversión en biomasa fúngica está sub-aprovechado (Li, Kim, Jiang, Won, y Nam, 2009). La bioconversión ocurre naturalmente por Fermentación en Estado Sólido (FES), aunque también se puede efectuar por Fermentación en Estado Líquido (FEL), método empleado a nivel industrial (Fazenda, Seviour, McNeil, y Harvey, 2008). La FES es un bioproceso en el cual el microorganismo se desarrolla sobre un sustrato sólido, en este caso, los residuos lignocelulósicos, que utiliza como fuente principal de nutrientes y medio físico para su crecimiento (Belur y Mugeraya, 2011). Según Pineda, Ramos y Soto (2014), la FES presenta grandes ventajas con respecto a la FEL. Estas son: Menor costo de inversión, mayor productividad, bajo consumo de energía, mayor simplicidad del proceso, menor uso de

agua y una mejor eficiencia de recuperación de productos (Khalil, Hoque, Basunia, Alam, y Khan, 2011; Kumar, Jain, Shanker, y Srivastava, 2003).

## VALORIZACIÓN DEL TERRITORIO RURAL

La inseguridad alimentaria es una forma de medir la pobreza, la cual agrupa medidas monetarias de las condiciones de vida de la población, tales como ingresos y consumo. La inseguridad alimentaria está muy relacionada con el consumo, ya que aquellas personas que tienen una dieta que no cumple con los requerimientos calóricos mínimos son consideradas como pobres extremos (INEC, 2015). La población rural es la más afectada, pues alrededor del 70% presenta alimentación hipocalórica, mientras el 67% presenta alimentación hipo-proteica (Global Economy and Development, 2015), lo que se debe principalmente a la liberalización de los mercados internos que da mayor favoritismo a la agricultura moderna exportadora que a la campesina, promoviendo la inequitativa distribución de las ganancias obtenidas de la explotación de los recursos locales. Se da una dualidad entre grandes empresarios y campesinos, siendo el primer grupo quien se queda con las ganancias. Frente a dicha problemática de pobreza rural, han ido tomando importancia aquellas propuestas de desarrollo con visión local que busquen una mayor participación de los actores rurales (Boucher, 2006; Salas Casasola, Boucher, y Requier-Desjardins, 2006).

Los Sistemas Agroalimentarios Localizados (SIAL) se definen como “organizaciones de producción y de servicio (unidades de producción agrícolas, empresas agro-alimentarias, comerciales, de servicio, de restauración...) asociadas a un territorio específico por sus características y su funcionamiento” (Muchnick y Sautier, 1998). La Agro-Industria Rural (AIR), consolidada mediante una visión territorial bajo el concepto de SIAL, es una forma de valorizar la producción agrícola de las comunidades

campesinas, de modo que las ganancias se distribuyan en los territorios rurales y no en manos de terceros (Salas Casasola et al., 2006; Torres Salcido, 2007).

La producción de hongos comestibles como AIR, no sólo contribuye a la generación de ingresos locales y la diversificación de la economía; también beneficia al medio ambiente tras la valorización de los residuos agroindustriales y el aprovechamiento de la biodiversidad fúngica; así mismo, favorece a la seguridad alimentaria, pues al aumentar los ingresos de los campesinos se favorece el acceso a los alimentos. Inclusive, la producción de hongos comestibles puede ser implementada como agricultura de subsistencia, aumentando la ingesta proteica y favoreciendo la salud de sus productores. Se estaría promoviendo el cambio de matriz productiva propuesto por la Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo (SENPLADES, 2012) que busca pasar de una economía extractiva a una agroindustrial que dé mayor valor agregado a los recursos locales rurales, y más en este caso, donde las materias primas empleados son los residuos de cosecha y poscosecha, que de otro modo no recibirían ningún tipo de aprovechamiento.

Las políticas del entorno institucional en el Ecuador son favorables para la implementación de esta AIR en el marco del Plan nacional para el Buen vivir 2013-2017, sin embargo, una limitante imperante tiene que ver con las características culturales del territorio, de acuerdo con Torres Salcido (2007), ya que la producción de hongos comestibles no es una actividad agrícola tradicional, por tanto, la población rural tendería a resistirse al cambio. Una excepción a la generalidad son los productores del hongo

*Pleurotus ostreatus* en la zona de amortiguamiento de la reserva Biosfera de Sumaco y Cayambe-Coca (López-Rodríguez, Hernández-Corredor, Suárez-Franco, y Borrero, 2008), y los recolectores de hongos de pino en Cayambe, a través de la empresa URCO, SISA creada por la Casa Campesina del cantón (DFC, 1998).

En términos económicos, la AIR de hongos comestibles es viable porque presenta bajos costos de producción (Pineda, 2014; Pineda, Ramos, Soto, et al., 2014) y un mercado próspero, que está aumentando a una velocidad del 25 % al año. Para el año 2010 se reportó una producción mundial de 10 millones de toneladas; siendo China, Italia y Estados Unidos los principales productores (FAO, 2014). Latinoamérica ha sido una de las regiones que más ha tardado en adherirse al desarrollo tecnológico de la micocultura, pese a la tradición ancestral en el conocimiento y consumo de hongos (BOA, 2004). Particularmente, el Ecuador inició sólo hasta la década de los 60's con las empresas KENNET S.A y AMCESA, produciendo principalmente hongos frescos, razón por la cual importa 361 toneladas de hongos en conserva (FAO, 2014), un mercado potencial para las AIR de setas comestibles.

## CONCLUSIONES

La producción de hongos comestibles como AIR concebida dentro de un SIAL permite la valorización de los recursos locales rurales en pro del desarrollo territorial endógeno; constituyendo un elemento clave en la lucha contra la inseguridad alimentaria y la pobreza rural. Por tanto, su implementación impacta benéficamente los territorios rurales.

---

## REFERENCIAS

- Anupama, y Ravindra, P. (2000). Value-added food: Single cell protein. *Biotechnology Advances*, 18(6), 459–479. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(00\)00045-8](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(00)00045-8)
- Banco Mundial [BM]. (2014). Ecuador. Recuperado a partir de

<http://www.bancomundial.org/es/country/ecuador>

- Belur, P., y Mugeraya, G. (2011). Microbial Production of Gibberellins : State of the Art. *Research Journal of Microbiology*, 6(1), 25–40. <https://doi.org/10.3923/jm.2011.25.40>
- BOA, E. (2004). *Los hongos silvestres comestibles. Perspectiva global de su uso e importancia para la población*. Recuperado a partir de <http://www.fao.org/3/a-y5489s.pdf>
- Boucher, F. (2006). Agroindustria rural y sistemas agroalimentarios locales. Nuevos enfoques de desarrollo territorial. En *III Congreso Internacional de la Red SIAL "Alimentación y Territorios"* (p. 24). IICA y CIRAD.
- Calero, C. J. (2011). *Seguridad Alimentaria en Ecuador Desde un Enfoque de Acceso a Alimentos*. Quito: Flacso-Sede Ecuador, Abya - Yala. Recuperado a partir de <http://www.flacsoandes.edu.ec/libros/digital/52065.pdf>
- Capone, R., El Bilali, H., Debs, P., Cardone, G., y Driouech, N. (2014). Food System Sustainability and Food Security: Connecting the Dots. *Journal of Food Security*, 2(1), 13–22. <https://doi.org/10.12691/jfs-2-1-2>
- Carrasco, F., y Manosalvas, M. (2015). *Informe de la revisión estratégica (IRE) de la seguridad alimentaria y nutricional en Ecuador*. Quito.
- Chang, S.-T., y Miles, P. G. (2004). *Mushrooms: Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. (Eds., Ed.) (2ª ed.). Florida: CRC Press.
- Comunidad de Estados Latinoamericanos y Caribeños [CELAC]. (2015). *Plan para la seguridad alimentaria, nutrición y erradicación del hambre 2025*. Recuperado a partir de <http://www.fao.org/3/a-i4493s.pdf>
- Corporación Andina de Fomento. (2007). *Biocomercio en la subregión andino: oportunidad para el desarrollo*. Corporación Andina de Fomento. Recuperado a partir de <http://site.ebrary.com/lib/utnortesp/detail.action?docID=10174166>
- Fazenda, M. L., Seviour, R., McNeil, B., y Harvey, L. M. (2008). Submerged Culture Fermentation of "Higher Fungi": The Macrofungi. *Advances in Applied Microbiology*, 63, 33–103. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(07\)00002-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(07)00002-0)
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (s. f.). Perfil de fréjol en el Ecuador. Citado por Carvajal, A. (2012) Rentabilidad de cuatro variedades y cinco líneas promisorias de fréjol voluble en dos sistemas de cultivo (espaldera y asocio con maíz), bajo manejo orgánico [Tesis de grado]. Escuela Superior. Recuperado a partir de [http://dspace.epoch.edu.ec/bitstream/123456789/2202/1/13T0747\\_CARVAJAL\\_ADELA.pdf](http://dspace.epoch.edu.ec/bitstream/123456789/2202/1/13T0747_CARVAJAL_ADELA.pdf)
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2014). Statistics. Recuperado a partir de <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2015a). Mapa del hambre 2015 de la FAO. Recuperado a partir de <http://www.fao.org/hunger/es/>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2015b). *Panorama de la Inseguridad Alimentaria en América Latina y el Caribe*. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i6747s.pdf>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola [FIDA], y Programa Mundial de Alimentos [PMA]. (2015). *El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo 2015. Cumplimiento de los objetivos internacionales para 2015 en relación con el hambre: balance de los desiguales progresos*. Roma. Recuperado a partir de <http://www.fao.org/3/a-i4646s.pdf>
- Freire Fierro, A. (2004). *Botánica Sistemática Ecuatoriana*. St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.
- García-Garibay, M., Gómez-Ruiz, L., Cruz-Guerrero, A. E., y Bárzana, E. (2014). Single Cell Protein | Yeasts and Bacteria. En *Encyclopedia of Food Microbiology* (pp. 431–438). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00310-4>
- Ghorai, S., Banik, S. P., Verma, D., Chowdhury, S., Mukherjee, S., y Khowala, S. (2009). Fungal

- biotechnology in food and feed processing. *Food Research International*, 42(5–6), 577–587. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.02.019>
- Global Economy and Development. (2015). Ending Rural Hunger [ERH]: Mapping needs and actions for food and nutrition security. Recuperado a partir de <https://endingruralhunger.org/data/map/>
- Global Index Hunger [GIH]. (2015). GIH scores 2015. Recuperado a partir de <http://ghi.ifpri.org/>
- Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., ... Toulmin, C. (2010). Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science*, 327(5967), 812–818.
- Gomes-Corrêa, R. C., Brugnari, T., Bracht, A., Peralta, R. M., y 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>
- Hawksworth, D. L. (1991). The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research*, 95(6), 641–655. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80810-1](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80810-1)
- Hawksworth, D. L. (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1· 5 million species estimate revisited. *Mycological research*, 105(12), 1422–1432. <https://doi.org/10.1017/S0953756201004725>
- Hoogland, C. T., de Boer, J., y Boersema, J. J. (2005). Transparency of the meat chain in the light of food culture and history. *Appetite*, 45(1), 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2005.01.010>
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos [INEC]. (2015). *Informe de resultados ECV 2013-2014*. Quito.
- Khalil, M. I., Hoque, M. M. M. M., Basunia, M. A., Alam, N., y Khan, M. A. M. A. (2011). Production of cellulase by *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* in solid state fermentation of lignocellulosic biomass. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 35(4), 333–341. <https://doi.org/10.3906/tar-1002-684>
- Kumar, D., Jain, V. K., Shanker, G., y Srivastava, A. (2003). Citric acid production by solid state fermentation using sugarcane bagasse. *Process Biochemistry*, 38(12), 1731–1738. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(02\)00252-2](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00252-2)
- Li, H., Kim, N., Jiang, M., Won, J., y Nam, H. (2009). Bioresource Technology Simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulosic residues pretreated with phosphoric acid – acetone for bioethanol production. *Bioresource Technology*, 100(13), 3245–3251. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.01.021>
- López-Rodríguez, C., Hernández-Corredor, R., Suárez-Franco, C., y Borrero, M. (2008). Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca. *Universitas Scientiarum*, 13(2), 128–137. Recuperado a partir de <http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/1417/4438>
- Marín, P. (2016). Pruebas Microbiológicas Y Físico - Químicas Para El Control De Calidad De Hongos Entomopatógenos. *Control*, (March 2002), 1–18.
- Mena-Vásquez, P., Boelens, R., y Vos, J. (2016). Food or flowers? Contested transformations of community food security and water use priorities under new legal and market regimes in Ecuador's highlands. *Journal of Rural Studies*, 44, 227–238. <https://doi.org/10.1016/j.jrurstud.2016.02.011>
- Muchnick, J., y Sautier, D. (1998). Systèmes agro-alimentaires localisés et construction de territoires. *Proposition d'action thématique programmée*.
- Nigam, P. S., y Singh, A. (2014). Single Cell Protein | Mycelial Fungi. En C. Batt y M. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (pp. 415–424). Reino Unido: Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00311-6>

- Olsen, J., y Allermann, K. (2001). *La biomasa microbiana como fuente de proteína. Biotecnología básica*. (Biotechnolo). ACRIBIA S.A.
- Organización de las Naciones Unidas [ONU]. (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. Recuperado a partir de <http://www.fao.org/docrep/003/w3613s/w3613s00.htm>
- Organización de las Naciones Unidas [ONU]. (2015). *The road to dignity by 2030: ending poverty, transforming all lives and protecting the planet*. Recuperado a partir de <http://www.un.org/es/comun/docs/?symbol=A/69/700&referer=http://www.un.org/en/documents/&Lang=E>
- 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., Ramos, L. B., y Soto, C. P. (2014). Producción de *Pleurotus ostreatus* por fermentación en estado sólido: una revisión. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de azúcar*, 48(2), 13–23. Recuperado a partir de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223131465002>
- Pineda, J. A., Ramos, L. B., Soto, C. P., Pineda-insuasti, J. A., Ramos-sánchez, L. B., Soto-arroyave, C. P., ... Soto, C. P. (2014). Producción de *Pleurotus ostreatus* por fermentación en estado sólido: una revisión. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de azúcar*, 48(2), 13–23. Recuperado a partir de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223131465002>
- Proyecto Desarrollo Forestal Campesino en los Andes del Ecuador [DFC]. (1998). *Producción y Comercialización de Hongos Secos de Pino “una experiencia en desarrollo empresarial”*. Quito: DFC, INEFAN, FAO. Recuperado a partir de <http://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/bvirtual/004583/info/pdf/Hongos.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>
- Román Corrochano, A. (2013). *Facultad de Medicina Departamento de Biología Celular , Histología y Farmacología comestibles , Agaricus bisporus , Pleurotus eryngii y Sarcodon imbricatum ”*. Universidad de Valladolid. Recuperado a partir de <https://uvadoc.uva.es/bitstream/10324/3639/1/TFM M 40.pdf>
- Salas Casasola, I., Boucher, F., y Requier-Desjardins, D. (2006). Agroindustria rural y liberalización comercial agrícola: El rol de los sistemas agroalimentarios localizados. *Agroalimentaria*, 11(22), 29–40. Recuperado a partir de [www.scielo.org/ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1316-03542006000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org/ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-03542006000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo (SENPLADES). (2012). *Proyecto inversión pública para la transformación de la matriz productiva del Ecuador*. Quito. Recuperado a partir de [http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/01/matriz\\_productiva\\_WEBtodo.pdf](http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/01/matriz_productiva_WEBtodo.pdf)
- Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo (SENPLADES). (2017). *Plan Nacional para el Buen Vivir 2017-2021* (1ª ed.). Quito: Gobierno Nacional de la República del Ecuador. Recuperado a partir de [http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/10/PNBV-26-OCT-FINAL\\_OK.compressed1.pdf](http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/10/PNBV-26-OCT-FINAL_OK.compressed1.pdf)
- Suárez, C., y Nieto, J. (2016). Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles : una alternativa en la obtención de nutraceuticos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 30(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2012.03.011>
- Torres Salcido, G. (2007). Agroindustria Rural y Mercados de Trabajo. ¿Alternativa a la Pobreza Rural? *Cadernos PROLAM/USP*, 7(2), 9–32.
- Unicef. (2015, junio 17). Programa de Seguridad Alimentaria y Nutricional “SAN Imbabura” fue inaugurado en Ibarra, p. 3. Ibarra. Recuperado a partir de

- [www.unicef.org/ecuador/018\\_Comunicado\\_Lanzamiento\\_Proyecto\\_SAN\\_Imbabura\\_2.pdf](http://www.unicef.org/ecuador/018_Comunicado_Lanzamiento_Proyecto_SAN_Imbabura_2.pdf)
- Viñas, J. M. S. (2011). y crisis alimentaria. *Revista española de estudios agrosociales y pesqueros*, (229), 11–35. Recuperado a partir de [http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf\\_REEAP/r229\\_11\\_35.pdf](http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_REEAP/r229_11_35.pdf)
- Viñas, J. M. S. (2012). Los retos de la agricultura para alimentar al mundo en 2050. *Tiempo de paz*, 106, 37–48. Recuperado a partir de <http://www.iesa.csic.es/eventos/071120110.pdf>
- Von Grebmer, K., Bernstein, J., Prasai, N., Yin, S., Yohannes, Y., Towey, O., ... Waal, A. (2015). *Global Hunger Index: Armed Conflict and The Challenge of Hunger*. Bonn/Washington, DC/ Dublin: International Food Policy Research Institute. Recuperado a partir de [http://www.welthungerhilfe.de/fileadmin/user\\_upload/Mediathek/Welthunger-Index/WHI\\_2015/global-hunger-index\\_2015\\_english.pdf](http://www.welthungerhilfe.de/fileadmin/user_upload/Mediathek/Welthunger-Index/WHI_2015/global-hunger-index_2015_english.pdf)
- World Food Programme [WFP]. (2015). Food Security Analysis. Recuperado a partir de <http://www.wfp.org/food-security>
- Zepka, L. Q., Jacob-Lopes, E., Goldbeck, R., Souza-Soares, L. A., y Queiroz, M. I. (2010). Nutritional evaluation of single-cell protein produced by *Aphanothece microscopica* Nägeli. *Bioresource Technology*, 101(18), 7107–7111. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.04.001>

# Cepa nativa ecuatoriana de *Beauveria bassiana* con potencial industrial

## Native Ecuadorian strain of *Beauveria bassiana* with industrial potential

Pablo Roberto Vela Núñez<sup>1</sup>, Julio Amilcar Pineda Insuasti<sup>2</sup>, Astrid Stefanía Duarte Trujillo<sup>3</sup>, Claudia Patricia Soto Arroyave<sup>4</sup>, Camilo Alejandro Pineda Soto<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra, Ecuador.

<sup>2</sup> Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

<sup>3</sup> Universidad de los Llanos (UNILLANOS), Villavicencio, Colombia.

<sup>4</sup> Universidad Católica de Oriente (UCO), Rionegro, Colombia.

<sup>5</sup> Escuela Politécnica Nacional (EPN), Quito, Ecuador

Autor para correspondencia: velapablo1981@gmail.com

Recibido: octubre 12 de 2017

Aceptado: diciembre 15 de 2017

---

### RESUMEN

*Beauveria* spp. es un mohó cosmopolita usualmente empleado como biocontrolador en cultivos agrícolas debido a su actividad antagonista hacia insectos fitopatógenos. Este experimento tiene como objetivo seleccionar el mejor medio de cultivo para el cultivo in vitro de la cepa nativa del hongo *Beauveria bassiana* mediante el cálculo de la tasa de crecimiento radial. Se aisló, identificó molecularmente y caracterizó químicamente las cepas nativas procedentes de suelo de cafetal, luego se evaluó el crecimiento en diferentes medios. Se obtuvieron cepas puras con calidad del 99%, identidad genética del 100%, composición química rica en proteínas y minerales, y velocidad de crecimiento radial promedio de 6,4 mm/día en medio MEA, que mostró diferencias significativas con PDA.

**PALABRAS CLAVE:** aislamiento, caracterización control biológico, tasa de crecimiento.

### ABSTRACT

*Beauveria* spp. is a cosmopolitan mold usually used as a biocontroller in agricultural crops due to its antagonistic activity against phytopathogenic insects. This experiment aims to select the better culture medium for the in vitro cultivation of the native strain of the fungus *Beauveria bassiana* by calculating the radial growth rate. The native strains of the soil from a coffee plantation was isolated, molecularly identified and chemically characterized, then the growth rate was evaluated. Pure strains of *B. bassiana* were obtained with quality of 99%, genetic identity of 100%, chemical composition rich in proteins and minerals, and radial growth rate of 6.4 mm /day in MEA medium, which has statistically significant differences with PDA.

**KEYWORDS:** isolation, characterization, biological control, growth rate.

---

### INTRODUCCIÓN

Ecuador es mega diverso en términos culturales y biológicos. Se encuentra entre las 17 naciones que albergan más del 70% de las

especies terrestres y dulceacuícolas conocidas del mundo, a pesar de que abarca menos del 0,2% de la superficie del planeta (Falconí,

2005). El Estado ecuatoriano reconoce a la biodiversidad como una ventaja comparativa para el desarrollo científico de las industrias

El aprovechamiento sostenible de la biodiversidad y su potencial industrial constituye una oportunidad para promover la conservación de las áreas naturales, incentivar la investigación científica, impulsar proyectos biotecnológicos, fomentar y proteger los conocimientos tradicionales, crear normas que permitan un comercio justo de las especies útiles y/o sus productos derivados, y a la larga favorecer el crecimiento de los indicadores económicos nacionales (Granizo y Rios, 2011).

El desarrollo de bioinsumos constituye una forma de valorización de la biodiversidad a través de la biotecnología, permitiendo su aprovechamiento sostenible (Quezada, Roca, Szauer, Gómez, y López, 2005; Ramón *et al.*, 2005). Los bioinsumos pueden dividirse en biofertilizantes y biocontroladores, aunque a veces la misma cepa microbiana posee ambas funciones (Nora Altier, Elena Beyhaut, 2012).

*Beauveria* spp. es un hongo cosmopolita de gran importancia como modelo para el estudio de entomopatogénesis y como biocontrolador de insectos plaga (Rehner y Buckley, 2005), dentro de los cuales se destacan: el escarabajo de la patata de Colorado, *Lepitnotarsa decemlineata* (Allee, Goettel, Gol'berg, Whitney, y Roberts, 1990); la hormiga roja de fuego, *Solenopsis invicta* Burenk (Bradleighvinson y Siebeneicher, 1991); la oruga de pino, *Dendrolimus Punctata* Walker (Long y Du, 1988); la cucaracha alemana, *Blattella germánica* (Cai y Liu, 1988); el barrenador menor, *Elasmopalpus hgnosellus* (McDowell, Funderburk, Boucias, Gilreath, y Lynch, 1990); el gusano falso medidor, *Trichoplusia ni* (Ignoffo, García, Kroha, y Crouch, 1982); el gusano de seda de mora, *Bombyx mori* (Huang, 1988); el saltamontes migratorio, *Melanoplus sanguinipes* (Feng, 1994) y piojo harinoso, *Planococcus ficus* (Rondot y Reineke, 2018). Además, este hongo

química, farmacéutica y alimenticia, con el fin de viabilizar su uso soberano, estratégico y sustentable (Senplades, 2017).

tiene la capacidad de promover el crecimiento vegetal, directamente al facilitar la absorción de nutrientes por la planta (Gómez-Vidal, Salinas, Tena, y Lopez-Llorca, 2009).

Bajo este contexto, el propósito de este trabajo es seleccionar el mejor medio de cultivo para el cultivo in vitro de la cepa nativa del hongo *Beauveria bassiana* mediante el cálculo de la tasa de crecimiento radial para tener una idea de su potencial industrial.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Medios de cultivo

Se empleó los medios de cultivo Agar antibiótico, Agar papa dextrosa (PDA) y Agar Extracto de Malta (MEA) de la marca FUNGI PERFECTI®, los cuales se prepararon siguiendo la técnica descrita por Stamets (2000).

### Material biológico

Las muestras de suelo y de granos de café arábica fueron recolectados en la Provincia de Imbabura, Cantón Cotacachi, Parroquia Apuela, Sector pueblo viejo, en una plantación con las siguientes coordenadas UTM WGS84 (GPS MAGELLAN 550): 17S Este 777252,87 Norte 10041385,16. La plantación estaba a una altitud de 1647 msnm, con una temperatura promedio de 18 °C y una precipitación media de aproximadamente 1400 milímetros por año. Los muestreos se realizaron en forma de zig-zag, cerca de las raíces de la planta café, a una profundidad de 20 cm, conforme con Cubillos, Goretti y Lizcano (2014).

### Aislamiento

Se depositó 1 g de suelo en cada caja de Petri con agar antibiótico y se incubó durante 7 días a 22 °C. Las cepas de *Beauveria* sp. fueron purificadas mediante la técnica de repiques sucesivos en agar PDA, teniendo en cuenta las claves taxonómicas de Humber (1997). Las

cepas puras se codificaron como *ceba BB-30u* y *ceba BB-20u*, y se conservaron a una temperatura de 2 a 4 °C en el Banco de Recursos Genéticos Microbianos (BRGM) del CEBA.

### Identificación

Se realizó en el laboratorio especializado IDGEN. La identificación molecular tuvo el siguiente protocolo: extracción de ADN mediante el método de Sambrook, Fritsch y Maniatis (1989), eliminación del ARN residual con ARNasa (X. Z. Fan, Zhou, Xiao, Xu, y Bian, 2014); amplificación de barcode con ITS1 e ITS4 como cebadores (primers); secuenciación estándar por el Método de Sanger, Nicklen y Coulson (1977); ensamblaje de productos de PCR empleando el programa bioinformático GENEIOUS; y contraste de resultados con las secuencias registradas en la base de datos GenBank.

### Caracterización química

Se realizó en el laboratorio de la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP. El Análisis Proximal (Bromatológico) se realizó por el método MO-LSAIA-01, tomando como referencia el método U. Florida 1970; mientras la cuantificación de los minerales más importantes se realizó por el método MO-LSAIA-03, tomando como referencia el método U. Florida 1980. La unidad experimental consistió en 2Kg carpóforos de *B. bassiana* previamente limpiados y desinfectados.

### Cálculo de la velocidad de crecimiento

Cajas de Petri que contenían los medios de cultivo en estudio (PDA y MEA) fueron inoculadas con plugs (tacos de agar con micelio) provenientes de las cepas de reserva del CEBA, se incubaron a 22 °C durante 6 días y se codificaron como *H001*. La ecuación (1) permitió calcular la velocidad de crecimiento (V) como el cociente entre el diámetro de la colonia (x) y el tiempo de incubación (t) (Pineda, Soto, Santiago, Ponce, y Reyes, 2015).

$$V \left( \frac{\text{mm}}{\text{d}} \right) = x (\text{mm}) / t (\text{d}) \quad (1)$$

### Diseño experimental

Se realizó un Diseño Factor Categórico Individual completamente aleatorizado, con 6 réplicas por tratamiento, para un total de 12 corridas experimentales. Como factor de estudio se seleccionó el medio de cultivo (MEA y PDA), como variable de respuesta la velocidad de crecimiento radial y como factor de ruido el nivel de luz. Los parámetros de operación fueron la temperatura y el tiempo, que se mantuvieron constantes en el tiempo.

### Tratamiento estadístico

El tratamiento estadístico se realizó empleando el software estadístico STATGRAPHIS®, Centurion XV, versión 15.2.05. Se realizó un Análisis De Varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés) para evaluar el efecto de los medios de cultivo en la velocidad de crecimiento radial de *B. bassiana*; la prueba se efectuó con un nivel de confianza del 95%, un bloque de estudio y 10 grados de libertad para el error, tomando como Hipótesis nula ( $H_0$ ) que la velocidad media de crecimiento de los distintos medios de cultivo son iguales y como Hipótesis alternativa ( $H_a$ ) que al menos una es diferente.

Previamente, se verificaron los supuestos de la estadística paramétrica más importantes: normalidad y homocedasticidad (homogeneidad de varianzas). La distribución normal de los residuales se verificó con la prueba de Shapiro-Wilk, con un nivel de confianza del 95%, tomando como  $H_0$  que la muestra proviene de una población con distribución normal y como  $H_a$  lo contrario. Para apoyar la afirmación anterior se realizó la prueba de Jarque-Bera, con un nivel de confianza del 95%, empleando como  $H_0$  que la muestra tiene la asimetría y la curtosis de una distribución normal y como  $H_a$  lo contrario. La homocedasticidad de los datos se verificó con la prueba de Levene, con un nivel de confianza del 95%, empleando como  $H_0$  que la muestra proviene de una población con igualdad de varianzas entre los grupos y como  $H_a$  lo contrario.

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

### Aislamiento

Las colonias de *B. bassiana* presentaron una apariencia blanca algodonosa al inicio de la incubación, que con el tiempo se tornó de color crema y textura polvorienta con algunos coremios blancos. El reverso presentó un color amarillo ligero (ver fig. 1). Se coincidió con las observaciones de Echeverría-Beirute (2006) y de Cajas-Suárez (2012). Se observa también que en el medio MEA hay mayor cantidad de Unidades Formadoras de Colonias (UFC), pero menor densidad de micelio por colonia en contraste con el medio PDA.



Fig. 1. Colonias de *Beauveria* sp. nativo.

El aislamiento de las cepas se realizó en agar antibiótico y la purificación en agar MEA coincidiendo con Galarza (2011), aunque otros autores reportan también el uso de otros medios de cultivo selectivos a base de cloruro de cobre, cristal violeta y benzoato de sodio (Archuleta-Torres, García-Gutiérrez, Ruelas, Gaxiola-Castro, y López, 2012); Agar Rosa de Bengala y Agar Sabouraud (Cubillos *et al.*, 2014); PDA más peptona (Ramos-Delgado, 2016), Agar Papa Sacarosa (PSA, por sus siglas en inglés) (García, Villamizar, Torres, y Cotes, 2006), PDA más oxitetraciclina (Echeverría Beirute, 2006).

La incubación de la cepa en el experimento se realizó a 22 °C durante siete días, mientras otros autores reportan incubaciones a 25 °C durante 5 a 7 días (Cubillos *et al.*, 2014), 25 °C durante 15 a 21 días (Echeverría Beirute, 2006), 24 °C durante 8 días (García *et al.*, 2006), 23 a 27 °C durante 14 a 21 días

(Gandarilla-Pacheco, Galán-Wong, Arévalo-Niño, Elías-Santos, y Quintero-Zapata, 2013), 26 °C durante 25 a 30 días (Ramos Delgado, 2016), 25 °C durante 15 días (Cajas-Suárez, 2012), 24 a 28 °C durante 4 a 6 días (Monzón, 2000).

### Identificación

Los estudios moleculares se consideran herramientas eficaces para determinar la relación inter e intragenética en especies de basidiomicetos, corroborando los resultados obtenidos mediante métodos convencionales (morfológicos, fisiológicos y bioquímicos) (Tao, Liu, y Xu, 2011).

Se debe garantizar la correcta identificación del hongo para evitar la pérdida de tiempo y presupuesto, la publicación de resultados erróneos, la entrega imprudente de microorganismos patógenos que pongan en riesgo la salud de los manipuladores, entre otras consecuencias (González y Jiménez, 2014).

El análisis de secuencias de Espaciadores Transcritos Internos (ITS, por sus siglas en inglés) es muy importante en la identificación de hongos y en los estudios de relación de parentesco entre especies o taxones en general en o por debajo del nivel de género (Dunham, O'dell, y Molina, 2003).

El ADN lineal de H001 tuvo una longitud de 600 pb, una calidad del 99,4% y una identidad genética del 100% con la secuencia de nucleótidos *B. bassiana*, registrada en la accesión número KY471654.1 de la base de datos de nucleótidos de GenBank (GenBank, 2017).

El tamaño de banda de los amplicones obtenidos coincidió con los resultados de Montesinos y colaboradores (2011). Por el contrario, Echeverría Beirute (2006) obtuvo diferentes patrones de bandas de variable intensidad y alta reproducibilidad, comparándose con los locus Ba01 a Ba13 de GenBank. Lo anterior puede deberse a que los

investigadores emplearon un marcador de peso molecular de 300 a 700 pares de bases, en contraste con este trabajo que empleó un marcador de 1000 pb.

La comparación de los amplicones de ADN de *H001* con el marcador de peso molecular de 1000 pb por electroforesis en gel de agarosa 1% se visualiza en la fig. 2; donde M es el marcador de peso molecular, C+ es el control positivo y C- es el control negativo.

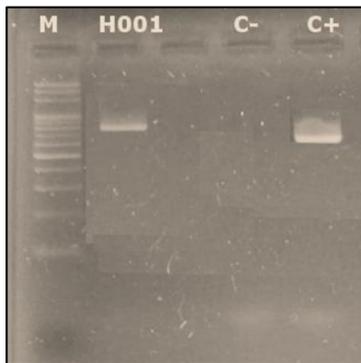


Fig. 2. Amplicón del fragmento ITS de *H001*.

Ramos Delgado (2016) también empleó los cebadores ITS1 e ITS4, aunque empleó un marcador de peso molecular de tan sólo 100 pb, obteniendo al igual que en este trabajo identidades moleculares del 99 y 100% con 18 accesiones de CENICAFÉ desde *B.bassiana* IBL 03043 a *B. bassiana* AY 334539. Bravo y colaboradores (2016) también alcanzaron un porcentaje de identidad alto, correspondiente al 97%, comparando sus amplicones con la secuencia de la accesión JX270638.1 97. Se coincidió también con la identificación realizada por Loc y colaboradores (2011); Alvarado y Rivera, (2016); Hguang y colaboradores (2015).

Montesinos-Matías y colaboradores (2011), emplearon los cebadores ITS 4 e ITS 5 y alcanzaron un porcentaje de similitud genética de más del 99% con *Cordyceps bassiana* y *B. bassiana* (número de acceso GenBank es HM189220); por lo que se consideró que *B. bassiana* es la fase asexual de *Cordyceps bassiana*.

**Caracterización**

La fig. 3 y la tabla 1 muestran los resultados del análisis bromatológico en base seca.

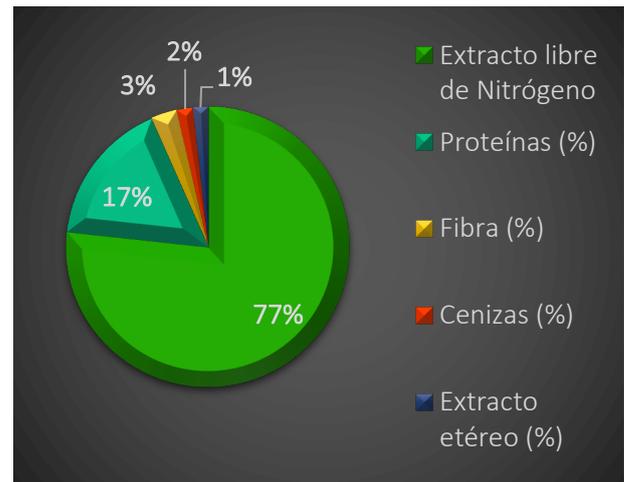


Fig. 3. Contenido nutricional de *B. bassiana*

**Tabla 1.** Contenido de minerales por elemento

| Elemento | Unidad | Valor |
|----------|--------|-------|
| Ca       | %      | 0,22  |
| P        | %      | 0,51  |
| Mg       | %      | 0,17  |
| K        | %      | 0,21  |
| Na       | %      | 0,01  |
| Cu       | ppm    | 2,00  |
| Fe       | ppm    | 56,00 |
| Mn       | ppm    | 32,00 |
| Zn       | ppm    | 26,00 |

No se encuentra en la literatura análisis proximales relevantes efectuados al hongo *B. bassiana*, probablemente porque sus aplicaciones no están relacionadas con la industria alimentaria a causa de su alto contenido de toxinas. Sin embargo, se reporta el análisis de sus metabolitos secundarios por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC, por sus siglas en inglés) y Espectroscopía de Infrarrojos (FTIR, por sus siglas en inglés), donde se cuantificó el contenido de alcoholes, fenoles, alcanos, alquenos, nitrilos, compuestos aromáticos, ácidos carboxílicos, aminas alifáticas, aminas primarias y cetonas (Ragavendran, Dubey, y Natarajan, 2017).

### Velocidad de crecimiento

La velocidad promedio en MEA fue de 6,4 mm/d con un mínimo de 6,0 mm/d, un máximo de 6,7 mm/d, desviación estándar de 0,2530, coeficiente de variación de 0,0395, sesgo de -0,5559 y curtosis de -0,0830. La velocidad promedio en PDA fue de 5,18 mm/d, con un mínimo de 5,0 mm/d, un máximo de 5,5 mm/d, desviación estándar de 0,2229, coeficiente de variación de 0,0430, sesgo de 0,6354 y curtosis de -0,9047.

Se observa que los datos por grupos presentan una dispersión muy semejante, con una variación de aproximadamente el 4%, aunque el rango en el nivel MEA es 0,2 unidades mayor. Los valores de curtosis muestran que ambos grupos presentan una distribución con apuntamiento platicúrtico con colas más anchas que la normal. Los valores de sesgo muestran que los datos en MEA presentan una leve asimetría negativa mientras los datos en PDA presentan una leve asimetría positiva, que al operarse da 0,0624, un valor no muy alejado del correspondiente a la distribución normal, que es cero.

La prueba de Shapiro-Wilk arrojó un valor P de 0,06551 que confirma que los datos muestrales provienen de una población con distribución normal. La prueba de Jarque-Bera dio un valor P de 0,5063 que demuestra que los datos tienen la asimetría y la curtosis de una distribución normal. La prueba de Levene suministró un valor Pr de 0,8284 que comprueba que las varianzas poblacionales son iguales.

El ANOVA arrojó un valor P de  $4.86e^{-06}$  y una razón F de 78,14, que evidencian que existe diferencia estadísticamente significativa entre la media de la velocidad de crecimiento lineal de un medio de cultivo y otro.

García, Villamizar, Torres y Cotes (2006) reportaron en medio Papa Sacarosa Agar (PSA) velocidades de crecimiento un poco inferiores, correspondientes a 6,5 mm/d en un periodo de 5 días y de 5,9 mm/d para un periodo de 8

días. Por el contrario, Echeverría-Beirute (2006) obtuvo velocidades de crecimiento promedio demasiado bajas, que variaron entre 0,68 y 2,43 mm/d sin perder la conducta lineal; del mismo modo que Vélez y colaboradores (2001), cuyas tasas de crecimiento oscilaron entre el 0,18 a 0,37%; y que Malpartida-Zevallos, Narrea-Cango y Dale-Larraburre (2013), quienes obtuvieron tasas de crecimiento promedio de 3,45 mm/d.

Los resultados acerca del mejor medio de cultivo para la propagación in vitro de *B. bassiana* discrepan con los resultados de Luque (1989), quien afirma que el mejor medio es PDA, aunque este autor realizó el estudio con otro hongo, *Diplodia mutila*.

Un estudio realizado en *Sclerotium rolfsii* mostró que el medio MEA es el que permite la mayor producción de esclerocios y la mejor diferenciación de variantes morfológicas, aunque conlleva a una menor velocidad de crecimiento micelial, coincidiendo con Luque (1989) (Hernández et al., 2004).

El medio de cultivo óptimo varía dependiendo de las investigaciones, ya que todas trabajan con diferentes parámetros de operación, sin embargo, lo que sí está comprobado es que la composición del medio de cultivo tiene influencia estadísticamente significativa sobre la velocidad de crecimiento de *B. bassiana* (Safavi et al., 2007). Aunque, un estudio demostró que la sacarosa es la fuente de carbono más adecuada para la producción de biomasa mientras la glucosa es más adecuada para la producción de esporas; por otro lado, el sulfato de amonio es la fuente de nitrógeno que permite la mayor producción de biomasa mientras el nitrito de sodio es mejor inductor de la producción de esporas (Mishra y Malik, 2013).

### CONCLUSIONES

Se obtuvieron cepas puras de *Beauveria* sp. procedentes de suelo de cafetal y granos de café arábica, las cuales mostraron identidad

genética del 100% con *B. bassiana* y un contenido nutricional rico en proteínas y minerales como fósforo, calcio y potasio. El medio de cultivo más apropiado para su

crecimiento in vitro es el medio MEA, ya que mostró diferencias estadísticamente significativas con el medio PDA.

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allee, L. L., Goettel, M. S., Gol'berg, A., Whitney, H. S., y Roberts, D. W. (1990). Infection by *Beauveria bassiana* of *Leptinotarsa decemlineata* larvae as a consequence of fecal contamination of the integument following per os inoculation. *Mycopathologia*, 111(1), 17–24. <https://doi.org/10.1007/BF02277296>
- Alvarado, L., y Rivera, W. (2016). Molecular Identification of *Trichoderma* spp. in Garlic and Onion Fields and In Vitro Antagonism Trials on *Sclerotium cepivorum*. *Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, v40:e01504, 9. <https://doi.org/10.1590/18069657rbcS20150454>
- Archuleta-Torres, A., García-Gutiérrez, C., Ruelas, R. D., Gaxiola-Castro, L. A., y López, M. Á. (2012). Aislamiento de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* con medio selectivo y pruebas de toxicidad contra el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais*. *Revista Entomología Mexicana*, 11(1), 266–269. <http://www.entomologia.socmexent.org/revista/entomologia/2012/CB/266-269.pdf>
- Bradleighvinson, S., y Siebeneicher, S. R. (1991). Infection of the red imported fire ant by *Beauveria bassiana* through various routes of exposure. *Journal of Invertebrate Pathology*, 285, 280–285. Recuperado a partir de [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(92\)90133-0](https://doi.org/10.1016/0022-2011(92)90133-0)
- Bravo, V., Ronquillo, M., Martínez, M., y Quezada, G. (2016). Efecto enraizador de *Trichoderma asperellum* en el cultivo de palma aceitera. *Ecuador es calidad: Revista Científica Ecuatoriana*, 4, Número especial de suelos, 20–27. Recuperado a partir de <http://www.agrocalidad.gob.ec/revistaecuadorestabilidad/index.php/revista/article/view/42>
- Cai, B. L., y Liu, A. X. (1988). Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to cockroaches. En Y. W. Li, Z. Z. Li, Z. Q. Liang, J. W. Wu, Z. K. Wu, y Q. F. Xu (Eds.), *Study and Application of Entomogenous Fungi in China* (pp. 101–103). Beijing: Academic Periodical Press.
- Cajas-Suárez, Y. N. (2012). *Caracterización morfológica y fisiológica de Beauveria sp. entomopatígeno de Hypothenemus hampei*. Universidad Técnica Particular de Loja. Recuperado a partir de <http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/7742/1/1008077.pdf>
- Cubillos, C., Goretti, M., y Lizcano, R. (2014). Aislamiento de *Trichoderma* sp., en las unidades productivas agrícolas del centro de formación agroindustrial la angostura de campoalegre (Huila). *Revista Agropecuaria y Agroindustrial La Angostura*, 1(1), 15–20. Recuperado a partir de <http://revistas.sena.edu.co/index.php/raaa/article/view/145>
- Dunham, S. M., O'dell, T. E., y Molina, R. (2003). Analysis of nrDNA sequences and microsatellite allele frequencies reveals a cryptic chanterelle species *Cantharellus cascadenis* sp. nov. from the American Pacific Northwest. *Mycological Research*, 107(10), 1163–1177. <https://doi.org/10.1017/S0953756203008475>
- Echeverría Beirute, F. (2006). *Caracterización biológica y molecular de aislamientos del hongo entomopatígeno Beauveria bassiana (Bálsamo) Vuillemin*. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Recuperado a partir de <https://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/463/Trabajo%20Final%20de%20Graduacion%20Biblioteca.pdf?sequence=1>
- Feng, M. G. (1994). Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. *Biocontrol Science and Technology*, 4(1), 3–34. Recuperado a partir de

<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09583159409355309>

- Galarza, L. L. (2011). *Aislamiento e identificación molecular de Trichoderma spp.* Escuela Superior Politécnica Del Litoral. Recuperado a partir de <http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/30239>
- Gandarilla-Pacheco, F. L., Galán-Wong, L. J., Arévalo-Niño, K., Elías-Santos, M., y Quintero-Zapata, I. (2013). Evaluación de aislados nativos Mexicanos de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Hypocreales: *Cordycipitaceae*) provenientes de zonas citrícolas para su producción masiva en cultivo sumergido y bifásico. *Agrociencia*, 47(3), 255–266. Recuperado a partir de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-31952013000300005](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952013000300005)
- García, M. X., Villamizar, L. F., Torres, L. A., y Cotes, A. M. (2006). *B. bassiana* sobre sus características y actividad contra *Premnotrypes vorax*. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, 77, 50–56. Recuperado a partir de <http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/handle/11554/6119>
- GenBank. (2017). *Beauveria bassiana* isolate A2B small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence. Accesion. Recuperado a partir de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/KY471654.1>.
- Gómez-Vidal, S., Salinas, J., Tena, M., y Lopez-Llorca, L. V. (2009). Proteomic analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) responses to endophytic colonization by entomopathogenic fungi. *Electrophoresis*, 30(17), 2996–3005. <https://doi.org/10.1002/elps.200900192>
- González, D. M., y Jiménez, J. N. (2014). Colecciones microbianas : Importancia , establecimiento y regulación. *Hechos Microbiológicos*, 4(1), 23–33. Recuperado a partir de <http://scielo.sld.cu/pdf/vac/v18n1/vac04109.pdf>
- Granizo, T., y Rios, M. (2011). Aprovechamiento económico del bioconocimiento, los recursos genéticos, las especies y las funciones ecosistémicas en el Ecuador. Quito: Ministerio Coordinador de Patrimonio. Institute For Tropical Ecology and Conservation. Recuperado a partir de <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/handle/28000/4341>
- Huang, Y., Mijiti, G., Wang, Z., Yu, W., Fan, H., Zhang, R., y Liu, Z. (2015). Functional analysis of the class II hydrophobin gene HFB2-6 from the biocontrol agent *Trichoderma asperellum* ACCC30536. *Microbiological Research*, 171, 8–20. Recuperado a partir de [10.1016 / j.micres.2014.12.004](https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.12.004)
- Huang, Y. X. (1988). Experiment on the virulence of *Beauveria bassiana* to *Bombyx mori* in different culture stage. En Y. W. Li, Z. Z. Li, Z. Q. Liang, J. W. Wu, Z. K. Wu, y Q. F. Xu (Eds.), *Study and Application of Entomogenous Fungi in China* (pp. 80–82). Beijing: Academic Periodical Press.
- Humber, R. A. (1997). Fungi — Preservation of Cultures. En *Manual of Techniques in Insect Pathology*, 269–280. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-012432555-5/50015-4>
- Ignoffo, C. M., García, C., Kroha, M., y Crouch, T. L. (1982). Use of larvae of *Trichoplusia ni* to bioassay conidia of *Beauveria bassiana*. *Journal of Economic Entomology*, 75(2), 275–276. Recuperado a partir de <https://doi.org/10.1093/jee/75.2.275>
- Loc, N. H., Quang, H. T., Hung, N. B., Huy, N. D., Thi, T., Phuong, B., ... Ha, T. (2011). *Trichoderma asperellum* Chi42 Genes Encode Chitinase. *Mycobiology*, 39(3), 182–186. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2011.39.3.182>
- Long, F. Z., y Du, K. H. (1988). Study on the pathogenic mechanism of *Beauveria bassiana* to the Masson's pine caterpillar. En Y. W. Li, Z. Z. Li, Z. Q. Liang, J. W. Wu, Z. K. Wu, y Q. F. Xu (Eds.), *Study and Application of Entomogenous Fungi in China* (pp. 80–82). Beijing: Academic Periodical Press.
- McDowell, J. M., Funderburk, J. E., Boucias, D. G., Gilreath, M. E., y Lynch, R. E. (1990). Biological activity of *Beauveria bassiana* against *Elasmopalpus lignosellus* (Lepidoptera: *Pyrilidae*) on leaf substrates and soil. *Environmental Entomology*, 19, 137–141. Recuperado a partir de

<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9030096>

- Montesinos-Matías, R., Viniestra-González, G., Alatorre-Rosas, R., Gallardo-Escamilla, F., y Loera, O. (2011). Variación de fenotipos de crecimiento y de virulencia en cepas mutantes de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. resistentes a 2-desoxi-D-glucosa. *Agrociencia*, 45(8), 929–942. Recuperado a partir de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-31952011000800006](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952011000800006)
- Monzón, A. (2000). Producción de hongos entomopatógenos. En *Producción y uso de hongos entomopatógenos* (pp. 10–35). Managua: FUNICA. Recuperado a partir de <http://funica.org.ni/index/biblioteca/resultados-de-investigacion/category/85-Bioplaguicidas.html?download=436:Produccion%20y%20uso%20hongos>
- Nora Altier, Elena Beyhaut, M. R. y F. R. (2012). Plataforma de bioinsumos de uso agrícola en base a microorganismos benéficos. *INIA*, (29), 47–50. Recuperado a partir de <http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos compartidos/18429300612191129.pdf>
- Pineda, J. A., Soto, C. P., Santiago, N. F., Ponce, C. A., y Reyes, G. (2015). Selección de cepas nativas ecuatorianas del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*) con fines industriales. *Bionatura*, 1(1), 29–32. Recuperado a partir de <https://goo.gl/aePL6d>
- Quezada, F., Roca, W., Szauer, M. T., Gómez, J. J., y López, R. (2005). *Biotecnología para el uso sostenible de la biodiversidad: Capacidades locales y mercados potenciales*. Caracas: CAF. Recuperado a partir de <http://publicaciones.caf.com/media/1275/99.pdf>
- Ragavendran, C., Dubey, N. K., y Natarajan, D. (2017). *Beauveria bassiana* (Clavicipitaceae): a potent fungal agent for controlling mosquito vectors of *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *RSC Adv.*, 7(7), 3838–3851. <https://doi.org/10.1039/C6RA25859J>
- 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>
- Ramos Delgado, Y. J. (2016). *Identificación de hongos entomopatógenos de Diaphorina citri Kuwayama, en los departamentos del Valle del Cauca y Quindío, Colombia*. Universidad Nacional de Colombia. Recuperado a partir de <http://www.bdigital.unal.edu.co/53469/>
- Rondot, Y., y Reineke, A. (2018). Endophytic *Beauveria bassiana* in grapevine *Vitis vinifera* (L.) reduces infestation with piercing-sucking insects. *Biological Control*, 116, 82-89. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.10.006>
- Sanger, F., Nicklen, S., y Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(12), 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo (SENPLADES). (2017). Plan Nacional para el Buen Vivir 2017-2021 (1ª ed.). Quito: Gobierno Nacional de la República del Ecuador. Recuperado a partir de [http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/10/PNBV-26-OCT-FINAL\\_OK.compressed1.pdf](http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/10/PNBV-26-OCT-FINAL_OK.compressed1.pdf)
- Stamets, P. (2000). *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms*. Ten Speed Press (3ª ed., Vol. 2). Berkeley, California: Ten Speed Press. Recuperado a partir de <https://goo.gl/5QzDMb>
- Tao, P., Liu, H., y Xu, X. (2011). ITS sequence analysis of wild *auricularia auricularia* strains from Heilongjiang Province. *Procedia Environmental Sciences*, 8(18), 569–574. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2011.10.088>

# *Auricularia fuscosuccinea*: una cepa nativa ecuatoriana para hacer frente a la crisis alimentaria

## *Auricularia fuscosuccinea*: a native Ecuadorian strain to face the food crisis

Edwin Jesús Ortiz Rodríguez<sup>1</sup>, Julio Amilcar Pineda Insuasti<sup>2</sup>, Astrid Stefanía Duarte Trujillo<sup>3</sup>, Claudia Patricia Soto Arroyave<sup>4</sup>, Camilo Alejandro Pineda Soto<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del Cantón Antonio Ante, Antonio Ante, Ecuador.

<sup>2</sup> Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

<sup>3</sup> Organización Micológica Internacional (OMI), Florencia, Colombia.

<sup>4</sup> Universidad Católica de Oriente (UCO), Rionegro, Colombia.

<sup>5</sup> Escuela Politécnica Nacional (EPN), Quito, Ecuador

Autor para correspondencia: edwinortizrod@gmail.com

Recibido: octubre 27 de 2017

Aceptado: diciembre 16 de 2017

---

### RESUMEN

*Auricularia* spp. es un hongo que presenta amplio potencial en la industria alimentaria debido a sus propiedades nutricionales y medicinales. Aunque, las inadecuadas técnicas de identificación y propagación in vitro han limitado su aprovechamiento. Por ello, el objetivo de este trabajo es obtener cepas puras de *Auricularia* spp. con potencial industrial. Se aislaron e identificaron y caracterizaron químicamente cepas nativas del hongo, y se seleccionó el medio de cultivo que permitiera la mayor velocidad de crecimiento. Las cepas aisladas mostraron identidad genética del 99% con *A. fuscosuccinea* y una velocidad de crecimiento óptima de 7,2 mm/día en medio Agar Extracto de Malta (MEA), que presentó diferencias estadísticamente significativas con PDA.

**PALABRAS CLAVE:** aislamiento, caracterización seguridad alimentaria, tasa de crecimiento.

---

### ABSTRACT

*Auricularia* spp. is a fungus that has wide potential in the food industry due to its nutritional and medicinal properties. Although, the inadequate techniques of identification and in vitro propagation have limited its use. Therefore, the objective of this work is to obtain pure strains of *Auricularia* spp. with industrial potential. Native strains of the fungus were isolated and identified and chemically characterized, and the culture medium that allowed the highest growth rate was selected. The isolated strains showed 99% genetic identity with *A. fuscosuccinea* and an optimal growth rate of 7.2 mm / day in the Malt Agar Extract Medium (MEA), which presented statistically significant differences with PDA.

**KEYWORDS:** isolation, characterization, food security, growth rate.

---

### INTRODUCCIÓN

El Objetivo de Desarrollo Sostenible (ODS) n° 2 de la Organización de las Naciones Unidas

(ONU, 2015) pretende disminuir el hambre a cero, por lo que una serie de políticas alimentarias y sociales, e invenciones científicas han sido implementadas por todos

los países miembros (Viñas, 2011, 2012). Sin embargo, el objetivo de “hambre cero” está muy ligado al nº 3, “salud y bienestar”, ya que no se trata sólo de saciar de comida a los individuos, sino también de suministrarles los nutrientes necesarios para gozar de un buen estado de salud.

El suministro de proteína es uno de los retos mundiales para suplir los requerimientos dietéticos de la población (Godfray *et al.*, 2010), no obstante, su producción cada vez es más insostenible ambiental y económicamente; por tanto la modificación de hábitos de consumo hacia fuentes de proteína alternativa es una opción viable (Capone, El Bilali, Debs, Cardone, y Driouech, 2014; Hoogland, de Boer, y Boersema, 2005). En este contexto, la producción de proteína microbiana es una buena alternativa (Pineda, Ramos y Soto, 2014), ya que presenta altos rendimientos; no obstante, el consumo de proteína de algas, bacterias y levaduras ha sido limitado por sus efectos nocivos en la salud del consumidor (García-Garibay, Gómez-Ruiz, Cruz-Guerrero, y Bárzana, 2014; Zepka, Jacob-Lopes, Goldbeck, Souza-Soares, y Queiroz, 2010). La proteína fúngica, pese a presentar menor rendimiento, no provoca efectos adversos en el consumidor, contiene todos los aminoácidos esenciales y presenta alta digestibilidad (Nigam y Singh, 2014; Román Corrochano, 2013).

*Auricularia* spp. es una de las diez setas producidas a escala industrial, que crece de forma natural en los tallos y las raíces de algunos árboles, así como en materiales lignocelulósicos en descomposición (Cano-Estrada y Romero-Bautista, 2016; Ortiz *et al.*, 2016), por lo que su producción constituiría una forma de reciclaje de residuos agroindustriales viable, teniendo en cuenta que Ecuador es un país con vocación agrícola (Monteros Guerrero, Sumba Lusero, y Salvador Sarauz, 2013).

Por ello, el objetivo de este trabajo es obtener cepas puras de *Auricularia* spp. con potencial industrial.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Medios de cultivo

Se empleó los medios de cultivo Agar antibiótico, Agar papa dextrosa (PDA) y Agar Extracto de Malta (MEA) de la marca FUNGI PERFECTI®, los cuales se prepararon siguiendo la técnica descrita por Stamets (2000).

### Material biológico

Los carpóforos de *Auricularia* sp. fueron recolectados en la provincia de Carchi, cantón Mira, parroquia Jacinto Jijón y Camaño, comunidad La Joya, en un bosque tropical húmedo con las siguientes coordenadas UTM WGS84 (GPS MAGELLAN 550): 17N 806475 Este 10088020 Norte. Los hongos habían crecido sobre troncos caídos y restos de madera aserrada de pendo en descomposición; por lo que para su recolección se transportaron adheridos al sustrato, como indica la fig. 1.



Fig. 1. Carpóforos de *Auricularia* sp. adheridos al sustrato natural.

### Aislamiento

Se realizó por escisión de los carpóforos, extracción de tejidos internos de 2mm de longitud y posterior incubación en agar antibiótico durante 6 días a 22 °C. Se consideraron como aislamientos positivos, todos aquellos con crecimientos y características miceliares uniformes, sin

contaminaciones ni estados conidiales. Las cepas se purificaron mediante el método de repiques sucesivos (Ortiz *et al.*, 2016) y se rotularon con la nomenclatura ceba AP1-1810, ceba AP2-1810 y ceba AP3-1810. Luego, se liofilizaron por congelación a 200 atm descendiendo desde 10 °C hasta -50 °C, y secado a 300 atm de presión, ascendiendo hasta 30 °C. Las cepas se almacenaron a 4 °C en el Banco de Recursos Genéticos (BRG) del Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA).

### Identificación

Se emplearon las claves taxonómicas reportadas por Montoya-Alvarez y colaboradores (2011), luego se enviaron los carpóforos al laboratorio especializado IDGEN. La identificación molecular tuvo el siguiente protocolo: extracción de ADN mediante el método de Sambrook, Fritsch y Maniatis (1989) modificado con la adición de ARNasa (X. Z. Fan, Zhou, Xiao, Xu, y Bian, 2014); amplificación de barcode con ITS4 e ITS5 como cebadores (primers); secuenciación estándar por el Método de Sanger, Nicklen y Coulson (1977); ensamblaje de productos de PCR empleando el programa bioinformático GENEIOUS; y contraste de resultados con las secuencias registradas en la base de datos GenBank.

### Cálculo de velocidad de crecimiento

Cajas de Petri que contenían los medios de cultivo en estudio (PDA y MEA) fueron inoculadas con las cepas liofilizadas del CEBA e incubadas a 22 °C durante 7 días. Las medidas fueron tomadas con cinta métrica, como muestra la fig 2.

La ecuación (1) permitió calcular la velocidad de crecimiento (V) como el cociente entre el diámetro de la colonia (x) y el tiempo de incubación (t) (Pineda, Soto, Santiago, Pónce, y Reyes, 2015).

$$V \left( \frac{\text{mm}}{\text{d}} \right) = x (\text{mm}) / t (\text{d}) \quad (1)$$



Fig. 2. Técnica de medición de crecimiento.

### Diseño experimental

Se realizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con cinco réplicas por tratamiento para un total de 10 corridas. Como factor de estudio se seleccionó el medio de cultivo (MEA y PDA), como variable de respuesta la velocidad de crecimiento de la cepa nativa y como factor de ruido el nivel de luz. Los parámetros de operación fueron: la temperatura a 22°C, el tiempo de incubación de 7 días y el tipo de cepa, que se mantuvieron constantes durante el desarrollo del experimento.

### Tratamiento estadístico

El tratamiento estadístico se realizó empleando el software estadístico STATGRAPHIS®, Centurion XV, versión 15.2.05. Se realizó un Análisis De Varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés) para evaluar el efecto de los medios de cultivo en la velocidad de crecimiento radial de *A. fuscosuccinea*; la prueba se efectuó con un nivel de confianza del 95%, un bloque de estudio y 9 grados de libertad para el error, tomando como Hipótesis nula ( $H_0$ ) que la velocidad media de crecimiento de los distintos medios de cultivo son iguales y como Hipótesis alternativa ( $H_a$ ) que al menos una es diferente.

Previamente, se verificaron los supuestos de la estadística paramétrica más importantes: normalidad y homocedasticidad. La distribución normal de los residuales se verificó con la prueba de Shapiro-Wilk, con un nivel de confianza del 95%, tomando como  $H_0$  que la muestra proviene de una población con distribución normal y como  $H_a$  lo contrario.

Para apoyar la afirmación anterior se realizó la prueba de Jarque-Bera, con un nivel de confianza del 95%, empleando como  $H_0$  que la muestra tiene la asimetría y la curtosis de una distribución normal y como  $H_a$  lo contrario. La homocedasticidad de los datos se verificó con la prueba de Levene, con un nivel de confianza del 95%, empleando como  $H_0$  que la muestra proviene de una población con igualdad de varianzas entre los grupos y como  $H_a$  lo contrario.

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

### Aislamiento

El aislamiento de *Auricularia* sp. se hace a partir del tejido del hongo y no de esporas debido a que los cultivos de tejidos son esencialmente clones del hongo, en contraste con los cultivos de esporas, que presentan variabilidad genética (Ardón López, 2007).

El medio de cultivo empleado, agar PDA, coincide con el empleado por varios investigadores para el aislamiento de especies del género, tales como *A. auricula* (Fan *et al.*, 2014; Tao, Liu, y Xu, 2011).

Las colonias fúngicas presentaron micelio blanco de aspecto sedoso a plumoso y mediana densidad, como muestra la fig. 3.

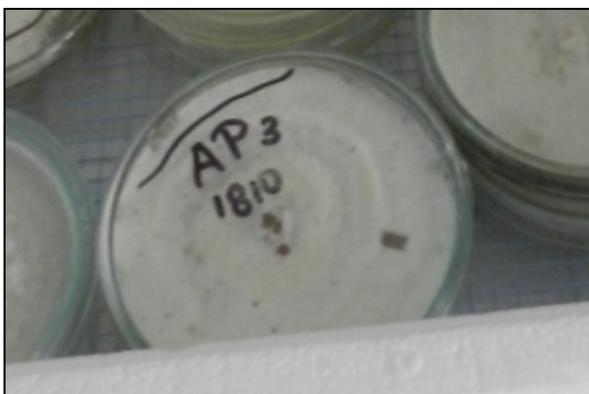


Fig. 3. Cepa de *Auricularia* sp. purificada.

### Identificación morfológica

Los cuerpos fructíferos recolectados presentaron crecimiento en solitario, unión lateral al sustrato, forma de oreja, estípites

corto o ausente, color rosa amarronado, apariencia glabra, consistencia cerosa y gelatinosa cuando frescos mientras que coriácea cuando secos, himenio suave con pliegues leves, tamaño de 2 a 10 cm de largo por 5 a 12 cm de ancho, y una zona pilosa inferior a 100  $\mu\text{m}$  con capa medular inferior a 150  $\mu\text{m}$ , coincidiendo con Lowy (1951) y Bolaños y Soto (2011).

Taxonómicamente se puede decir que las cepas corresponden a *A. Fuscosuccinea*, aunque, es necesario un estudio filogenético para mayor exactitud (Montoya-Alvarez *et al.*, 2011).

### Identificación molecular

Los enfoques moleculares se consideran herramientas poderosas para investigar la relación inter e intragenética de especies de basidiomicetos, apoyando los resultados obtenidos a partir de métodos convencionales tales como los morfológicos, fisiológicos y bioquímicos (Tao *et al.*, 2011).

En este trabajo se emplearon los cuerpos fructíferos del *Auricularia* sp. (*Auri1*) como muestra para la extracción de ADN, a diferencia de otros trabajos donde se emplea el micelio seco luego de Fermentación en Estado Líquido (FEL) (Fan *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2007; Tao *et al.*, 2011).

La extracción de ADN se realizó en este trabajo por el método de Sambrook y colaboradores (1989), a diferencia de Tao y Colaboradores (2011), que emplearon el método de Doyle y Doyle (1987) modificado, y de Yan y colaboradores (2004), que emplearon el método de Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB, por sus siglas en inglés). Para la extracción se requirió de un tratamiento enzimático adicional, que permitiera la obtención de ADN de alta calidad, debido a que el cuerpo fructífero de *Auri1* posee una elevada concentración de proteínas y polisacáridos.

El ADN de *Auri1* se extrajo por duplicado con el fin de obtener una concentración y calidad de ADN que permitiera la correcta amplificación del Fragmento de Espaciadores Transcritos Internos (ITS, por sus siglas en inglés) mediante PCR. Adicionalmente, las muestras se trataron con ARNasa y se diluyeron hasta una concentración en un rango de 15 a 30 ng/ $\mu$ L, para descartar procesos inhibitorios de la PCR debido a una elevada concentración de ADN, previo a su utilización en el ensamblaje de la PCR. Este rango de concentración de ADN es semejante al rango reportado por Tao y Colaboradores (2011) para la identificación de cepas nativas de *A. auricula*, 20 a 40 ng/ $\mu$ L.

El análisis de secuencias de Espaciadores Transcritos Internos (ITS, por sus siglas en inglés) juega un papel importante en los estudios de filogenia en o por debajo del nivel de género y en la identificación de hongos (Dunham, O'dell, y Molina, 2003).

Los resultados del ensamblaje de ADN se visualizan en la fig. 4, donde "C-" es el control negativo y el marcador de peso molecular tiene una longitud de 1000 pb.

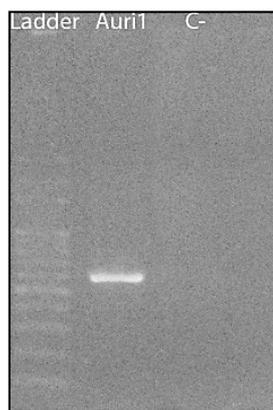


Fig. 4. Amplicón del fragmento ITS de *Auri1*.

El ADN lineal de *Auri1* presenta longitud de 636 pb, calidad del 71,5 % y al contrastarse con la accesión JX065150.1 de la base de datos de nucleótidos de GenBank muestra identidad del 99 % con *A. fuscosuccinea* (GenBank, 2013), conforme con la publicación de Looney, Birkebak y Matheny (2013). Este porcentaje de identidad genética es **favorable**, ya que otros

estudios evidencian que las cepas nativas presentan una alta diversidad genética. Cepas nativas de *A. auricula-judae* presentaron una identidad genética promedio de tan sólo el 41% (Du, Cui, y Dai, 2011), mientras que las cepas de *A. auricular* presentaron el 50-63% (Li *et al.*, 2007; Yan *et al.*, 2004) y las de *A. polytricha* el 58-65 % (Du, Cui, Zhang, y Dai, 2013; Yan *et al.*, 2004).

### Velocidad de crecimiento

La velocidad de crecimiento promedio de *A. fuscosuccinea* fue mayor en MEA que en PDA, cuyos valores correspondieron a 7,20 mm/d y 6,28 mm/d, respectivamente.

Carreño-Ruiz y colaboradores (2014) cultivaron *A. Fuscosuccinea* en diferentes medios de agar para su caracterización morfológica luego del aislamiento y obtuvieron velocidades de crecimiento superiores en PDA que en MEA; aunque las cepas no habían sido sometidas a liofilización, a diferencia de este trabajo, lo que probablemente causó las discrepancias. Aunque, algunos autores sostienen que la influencia de la liofilización en la supervivencia de los hongos no es estadísticamente significativa, siempre y cuando se sigan los protocolos adecuados (Singh, Upadhyay, Yadav, y Tiwari, 2004; Singh, Yadav, y Rai, 2007).

En el trabajo de Carreño-Ruiz y colaboradores (2014), las velocidades de crecimiento en PDA son similares a las de este trabajo, alrededor de 6 mm/ día, caso contrario a las velocidades de crecimiento en MEA que corresponden a aproximadamente 4 mm/ día, casi tres unidades inferiores a las de este trabajo.

### Tratamiento estadístico

La velocidad promedio en MEA fue de 7,20 mm/d con un mínimo de 7,0 mm/d, un máximo de 7,3 mm/d, desviación estándar de 0,141421, coeficiente de variación de 0,0196419, sesgo de -0,8838835 y curtosis de -1,750000. La velocidad promedio en PDA fue de 6,28 mm/d, con un mínimo de 6,2 mm/d,

un máximo de 6,4 mm/d, desviación estándar de 0,109545, coeficiente de variación de 0,0174434, sesgo de 0,6085806 y curtosis de -3,333333. Según esto, el mejor medio de cultivo para *A. fuscosuccinea*.

Se observa que los datos por grupos presentan una dispersión muy semejante, de 1,9% y 1,7% para MEA y PDA, respectivamente, aunque el rango en el nivel MEA es 0,1 unidades mayor. Los valores de curtosis muestran que los datos en MEA presentan apuntamiento bastante platicúrtico, mientras que en PDA presentan apuntamiento casi mesocúrtico, tendiendo a leptocúrtico. Los valores de sesgo muestran que los datos en MEA presentan una leve asimetría negativa mientras los datos en PDA presentan una leve asimetría positiva, que al operarse da 0,03770452, un valor no muy alejado del correspondiente a la distribución normal, que es cero.

La prueba de Shapiro-Wilk arrojó un valor P de 0,07397221 que demuestra que los datos

muestrales provienen de una población con distribución normal. La prueba de Jarque-Bera dio un valor P de 0,5039801 que evidencia que los datos tienen la asimetría y la curtosis de una distribución normal. La prueba de Levene suministró un valor Pr de 0,8088874 que comprueba que las varianzas poblacionales son iguales.

El ANOVA arrojó un valor P de 0,000 y una razón F de 132,25, que evidencian que existe diferencia estadísticamente significativa entre la media de la velocidad de crecimiento lineal de un medio de cultivo y otro.

## CONCLUSIONES

Se aislaron cepas nativas de *Auricularia* spp., las cuales mostraron identidad genética del 99% con *B. bassiana* y una calidad del 75%. El medio de cultivo más apropiado para su crecimiento in vitro es el medio MEA, ya que mostró diferencias estadísticamente significativas con el medio PDA.

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ardón López, C. E. (2007). *La producción de los hongos comestibles*. Universidad de San Carlos de Guatemala. Recuperado a partir de [http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/2043/07\\_1932.pdf](http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/2043/07_1932.pdf)
- Bolaños, A. C., y Soto, E. (2011). Macrohongos Comestibles Y Medicinales Comunes En La Vegetación De La Universidad Del Valle, Colombia. *Revista De Ciencias*, 15, 31–38. Recuperado a partir de [http://revistaciencias.univalle.edu.co/volumenes/vol\\_15/ABolanos.pdf](http://revistaciencias.univalle.edu.co/volumenes/vol_15/ABolanos.pdf)
- Cano-Estrada, A., y Romero-Bautista, L. (2016). Valor económico , nutricional y medicinal de hongos comestibles silvestres Economic , nutritional and medicinal value of edible wild mushrooms. *Revista chilena de nutrición*, 43(1), 75–80. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182016000100011>
- Capone, R., El Bilali, H., Debs, P., Cardone, G., y Driouech, N. (2014). Food System Sustainability and Food Security: Connecting the Dots. *Journal of Food Security*, 2(1), 13–22. <https://doi.org/10.12691/jfs-2-1-2>
- Carreño-Ruiz, S. D., Cappello-García, S., Gaitán-Hernández, R., y Edmundo, J. C.-B. (2014). Crecimiento de tres hongos comestibles tropicales en medios de cultivo y residuos agrícolas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(8), 1447–1458. Recuperado a partir de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342014000800009](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342014000800009)
- Doyle, J., y Doyle, J. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf material. *Phytochemical Bulletin*, 19, 8–15.
- Du, P., Cui, B.-K., y Dai, Y.-C. (2011). High genetic diversity in wild culinary-medicinal wood ear mushroom, *Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc., in tropical China revealed by ISSR analysis. *Int J Med Mushrooms*, 13(3), 289–297. Recuperado a partir de

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22135881>

- Du, P., Cui, B. K., Zhang, C. F., y Dai, Y. C. (2013). Genetic diversity of wild *Auricularia auricula-judae* revealed by ISSR analysis. *Biochemical Systematics and Ecology*, 48, 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.11.011>
- Dunham, S. M., O'dell, T. E., y Molina, R. (2003). Analysis of nrDNA sequences and microsatellite allele frequencies reveals a cryptic chanterelle species *Cantharellus cascadenis* sp. nov. from the American Pacific Northwest. *Mycological Research*, 107(10), 1163–1177. <https://doi.org/10.1017/S0953756203008475>
- Fan, X. Z., Zhou, Y., Xiao, Y., Xu, Z. Y., y Bian, Y. B. (2014). Cloning, expression and phylogenetic analysis of a divergent laccase multigene family in *Auricularia auricula-judae*. *Microbiological Research*, 169(5–6), 453–462. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.08.004>
- García-Garibay, M., Gómez-Ruiz, L., Cruz-Guerrero, A. E., y Bárzana, E. (2014). Single Cell Protein | Yeasts and Bacteria. En *Encyclopedia of Food Microbiology* (pp. 431–438). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00310-4>
- GenBank. (2013). *Auricularia fuscusuccinea* isolate TFB11532 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 25S ribosomal RNA gene, partial sequence. Acceso JX065. Recuperado a partir de <https://goo.gl/kn5ZQA>
- Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., ... Toulmin, C. (2010). Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science*, 327(5967), 812–818. <https://doi.org/10.1126/science.1185383>
- Hoogland, C. T., de Boer, J., y Boersema, J. J. (2005). Transparency of the meat chain in the light of food culture and history. *Appetite*, 45(1), 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2005.01.010>
- Li, L., Li, J., Zou, L., Bai, S. Y., Niu, L. M., y Ma, Y. K. (2007). RAPD analysis of genetic diversity of nine strains of *Auricularia auricular* cultivated in Heilongjiang Province. *Journal of Forestry Research*, 18(2), 136–138. <https://doi.org/10.1007/s11676-007-0027-7>
- Looney, B. P., Birkebak, J. M., y Matheny, P. B. (2013). Systematics of the genus *Auricularia* with an emphasis on species from the southeastern United States. *North American Fungi*, 8(6), 1–25. <https://doi.org/10.2509/naf2013.008.006>
- Lowy, B. (1951). A morphological basis for classifying the species of *Auricularia*. *Mycologia*, 43(3), 351–8. <https://doi.org/10.2307/3755598>
- Monteros Guerrero, A., Sumba Lusero, E., y Salvador Sarauz, S. (2013). *Productividad Agrícola en el Ecuador*. Quito. Recuperado a partir de [http://sinagap.agricultura.gob.ec/pdf/estudios\\_agroeconomicos/indice\\_productividad.pdf](http://sinagap.agricultura.gob.ec/pdf/estudios_agroeconomicos/indice_productividad.pdf)
- Montoya-Alvarez, A., Hayakama, H., Minamya, Y., Fukuda, T., López-Quintero, C., y Franco-Molano, A. (2011). Phylogenetic Relationships and Review of the Species of *Auricularia* ( Fungi: Basidiomycetes ) in Colombia. *Caldasia*, 33(1), 55–66. Recuperado a partir de <http://www.bdigital.unal.edu.co/35922/1/36375-151681-1-PB.pdf>
- Nigam, P. S., y Singh, A. (2014). Single Cell Protein | Mycelial Fungi. En C. Batt y M. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (pp. 415–424). Reino Unido: Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00311-6>
- Organización de las Naciones Unidas [ONU]. (2015). Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). Recuperado a partir de <http://www.undp.org/content/undp/es/home/sustainable-development-goals.html>
- 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. Recuperado a partir de <http://revistabionatura.com/files/Banco-de-Recursos-Geneticos.pdf>

- Pineda, J. A., Ramos, L. B., y Soto, C. P. (2014). Producción de *Pleurotus ostreatus* por fermentación en estado sólido: una revisión. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de azúcar*, 48(2), 13–23. Recuperado a partir de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223131465002>
- Pineda, J. A., Soto, C. P., Santiago, N. F., Pónce, C. A., y Reyes, G. (2015). Selección de cepas nativas ecuatorianas del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*) con fines industriales. *Revista Bionatura*, 1(1), 29–32. Recuperado a partir de [https://www.researchgate.net/publication/281068003\\_Seleccion\\_de\\_cepas\\_nativas\\_ecuatorianas\\_del\\_hongo\\_ostra\\_Pleurotus\\_ostreatus\\_con\\_fines\\_industriales](https://www.researchgate.net/publication/281068003_Seleccion_de_cepas_nativas_ecuatorianas_del_hongo_ostra_Pleurotus_ostreatus_con_fines_industriales)
- Román Corrochano, A. (2013). *Facultad de Medicina Departamento de Biología Celular, Histología y Farmacología comestibles, Agaricus bisporus, Pleurotus eryngii y Sarcodon imbricatum*. Universidad de Valladolid. Recuperado a partir de <https://uvadoc.uva.es/bitstream/10324/3639/1/TFM M 40.pdf>
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., y Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual* (2ª ed.). New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90210-6](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90210-6)
- Sanger, F., Nicklen, S., y Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(12), 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Singh, S. K., Upadhyay, R. C., Yadav, M. C., y Tiwari, M. (2004). Development of a novel lyophilization protocol for preservation of mushroom mycelial cultures. *Current Science*, 87(5), 568–570. Recuperado a partir de <http://www.iisc.ernet.in/~currsci/sep102004/568.pdf>
- Singh, S. K., Yadav, M. C., y Rai, R. D. (2007). Molecular characterization and crypreservation of germoplasm of the edible mushrooms. En R. D. Rai, S. K. Singh, M. C. Yadav, y R. P. Tewari (Eds.), *Mushroom Biology and Biotechnology* (pp. 63–78). Chambaghat, Solan: Mushroom Society of India. Recuperado a partir de <https://pdfs.semanticscholar.org/46f1/a2ac56295bd87c8fb330dfa20431578594ef.pdf>
- Stamets, P. (2000). *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms*. Ten Speed Press (3ª ed., Vol. 2). Berkeley, California: Ten Speed Press. Recuperado a partir de <https://goo.gl/5QzDMb>
- Tao, P., Liu, H., y Xu, X. (2011). ITS sequence analysis of wild *Auricularia auricularia* strains from Heilongjiang Province. *Procedia Environmental Sciences*, 8(18), 569–574. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2011.10.088>
- Viñas, J. M. S. (2011). Volatilidad de los mercados agrarios y crisis alimentaria. *Revista española de estudios agrosociales y pesqueros*, (229), 11–35. Recuperado a partir de [http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf\\_REEAP/r229\\_11\\_35.pdf](http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_REEAP/r229_11_35.pdf)
- Viñas, J. M. S. (2012). Los retos de la agricultura para alimentar al mundo en 2050. *Tiempo de paz*, 106, 37–48. Recuperado a partir de <http://www.iesa.csic.es/eventos/071120110.pdf>
- Yan, P.-S., Luo, X.-C., y Zhou, Q. (2004). RAPD molecular differentiation of the cultivated strains of the jelly mushrooms, *Auricularia auricula* and *A. polytricha*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(8), 795–799. <https://doi.org/10.1007/s11274-004-5840-y>
- Zepka, L. Q., Jacob-Lopes, E., Goldbeck, R., Souza-Soares, L. A., y Queiroz, M. I. (2010). Nutritional evaluation of single-cell protein produced by *Aphanothece microscopica* Nägeli. *Bioresource Technology*, 101(18), 7107–7111. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.04.001>

# Toxicidad de los colorantes sintéticos: de lo global al Ecuador

## Synthetic dyes's toxicity: from the global to Ecuador

Klever Bayardo Ayala Pastaz<sup>1</sup>, Julio Amilcar Pineda Insuasti<sup>2</sup>, Astrid Stefanía Duarte Trujillo<sup>3</sup>, Claudia Patricia Soto Arroyave<sup>4</sup>, Camilo Alejandro Pineda Soto<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Universidad Técnica del Norte, Ibarra, Ecuador.

<sup>2</sup> Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

<sup>3</sup> Organización Micológica Internacional (OMI), Florencia, Colombia.

<sup>4</sup> Universidad Católica de Oriente (UCO), Rionegro, Colombia.

<sup>5</sup> Escuela Politécnica Nacional (EPN), Quito, Ecuador

Autor para correspondencia: kleverbayal@gmail.com

*Recibido: octubre 18 de 2017*

*Aceptado: diciembre 23 de 2017*

---

### RESUMEN

Los colorantes sintéticos se emplean comúnmente en diversos campos de la industria pese a que se ha reportado que afectan la salud de los consumidores. El objetivo de este trabajo es describir brevemente la crisis de los colorantes sintéticos para identificar la incidencia mundial en el Ecuador. Se encontró que el Ecuador, a pesar de regular el uso de los aditivos alimentarios, permite el uso de colorantes sintéticos catalogados como cancerígenos, lo que podría haber causado el aumento de enfermedades crónicas en los últimos años. Urge un cambio normativo, que incluya más colorantes de origen natural como los de origen microbiano.

**PALABRAS CLAVE:** carcinógenos, pigmentos, regulación, salud.

### ABSTRACT

Synthetic dyes are commonly used in various fields of industry, although they have been reported to affect the health of consumers. The objective of this paper is to briefly describe the crisis of synthetic dyes to identify the global incidence in Ecuador. It was found that Ecuador, despite regulating the use of food additives, allows the use of synthetic dyes classified as carcinogenic, which could have caused the increase in chronic diseases in recent years. There is a need for a normative change that includes more dyes of natural origin such as those of microbial origin.

**KEYWORDS:** carcinogens, pigments, regulation, health.

---

### INTRODUCCIÓN

Un colorante es una molécula con dos grupos químicos: el cromóforo, que le da color y el auxocromo, que le permite fijarse a una

superficie (Jean-Marie, 2016). Los colorantes pueden clasificarse según su fuente de extracción en sintéticos y naturales. Los colorantes sintéticos fueron desarrollados a finales del siglo XIX, reemplazando en su mayor

parte a los naturales (Nikfar y Jaberidoost, 2014). Se emplean comúnmente para dar color a los textiles, los alimentos, los insumos para el cabello y muchos artículos de uso cotidiano. Se ha reportado que el uso de tintes para cabello y textiles, al igual que el consumo de alimentos elaborados con colorantes sintéticos repercute negativamente en la salud del consumidor, provocando desde una simple reacción alérgica hasta enfermedades crónicas como el cáncer. Pese al conocimiento de dichos efectos, las instituciones reguladoras del uso de dichos colorantes sintéticos, siguen permitiendo algunos, aunque estableciendo dosis máximas. Muchos de los efectos se presentan con el tiempo y no inmediatamente, por lo que los colorantes sintéticos podrían ser causantes del auge de enfermedades crónicas que azotan a la población y pasan inadvertidos. La mejor alternativa para afrontar esta crisis, que asesina lentamente a la humanidad, es girar el rumbo de la industria, de lo sintéticos a lo natural; por lo que los colorantes naturales son una buena alternativa. Bajo este contexto, el objetivo de este trabajo es describir brevemente la crisis de los colorantes sintéticos, mediante una amplia revisión de la literatura, que permita identificar cómo afecta la dinámica mundial al Ecuador.

## LOS COLORANTES TEXTILES

Los tintes de las telas pueden degradarse y esparcirse por la piel de la persona provocando dermatitis alérgica de contacto, que presenta un cuadro clínico de eczema, el cual puede progresar y ser grave, generalizado, o incluso eritrodérmico. Las lesiones se originan principalmente en sitios corporales de transpiración o fricción que tengan contacto directo con la prenda, así como en los pliegues de piel. Los tintes que causan la reacción alérgica pertenecen al grupo de los colorantes dispersos, tales como el Naranja disperso 3, Azul disperso 124, Azul disperso 106, Amarillo disperso 3, rojo disperso 1, entre otros (Nikfar y Jaberidoost, 2014). Aunque, el índigo rara vez puede causar dermatitis alérgica, provoca

conjuntivitis, hipertensión, hiperactividad, afecciones gastrointestinales, neurotoxicidad (Additifs, 2015; European Food Safety Authority (EFSA), 2015).

En las tablas 1 y 2 se relacionan los principales colorantes sintéticos reconocidos como cancerígenos o alérgenos por el Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (FDA, siglas en inglés).

**Tabla 1.** Colorantes textiles clasificados como alérgenos.

| Nombre genérico     | No. de Índice de Color | No. de Registro |
|---------------------|------------------------|-----------------|
| Azul Disperso 3     | 61 505                 | 2475-46-9       |
| Azul Disperso 7     | 62 500                 | 3179-90-6       |
| Azul Disperso 26    | 63 305                 | ---             |
| Azul Disperso 35    | ---                    | 12222-75-2      |
| Azul Disperso 102   | ---                    | 12222-97-8      |
| Azul Disperso 106   | ---                    | 12223-01-7      |
| Azul Disperso 124   | ---                    | 61951-51-7      |
| Naranja Disperso 1  | 11 080                 | 2581-69-3       |
| Naranja Disperso 3  | 11 005                 | 730-40-5        |
| Naranja Disperso 37 | 11 132                 | ---             |
| Naranja Disperso 76 | 11 132                 | ---             |
| Rojo Disperso 1     | 11 110                 | 2872-52-8       |
| Rojo Disperso 11    | 62 015                 | 2872-48-2       |
| Rojo Disperso 17    | 11 210                 | 3179-89-3       |
| Amarillo Disperso 1 | 10 345                 | 119-15-3        |
| Amarillo Disperso 9 | 10 375                 | 6373-73-5       |

Fuente: (Nikfar y Jaberidoost, 2014)

**Tabla 2.** Colorantes textiles clasificados como carcinógenos.

| Nombre genérico     | No. de Índice de Color | No. de Registro |
|---------------------|------------------------|-----------------|
| Rojo ácido 26       | 16 150                 | 3761-53-3       |
| Rojo Básico 9       | 42 500                 | 569-61-9        |
| Violeta Básico 14   | 42 510                 | 632-99-5        |
| Negro Directo 38    | 30 235                 | 1937-37-7       |
| Azul Directo 6      | 22 610                 | 2602-46-2       |
| Rojo Directo 28     | 22 120                 | 573-58-0        |
| Azul Disperso 1     | 64 500                 | 2475-45-8       |
| Naranja Disperso 11 | 60 700                 | 82-28-0         |
| Amarillo Disperso 3 | 11 855                 | 2832-40-8       |

Fuente: (Nikfar y Jaberidoost, 2014)

Está demostrada la carcinogenicidad de las arilaminas dicíclicas, las difenilaminas y los derivados de antraquinona. Las monoarilaminas presentan débil potencial cancerígeno tras exposición a largo tiempo, mientras los derivados de bencidina son cancerígenos sospechosos. Los componentes azoicos no son cancerígenos de por sí, pero si son sistemáticamente absorbidos por humanos, pueden ser metabolizados por los microorganismos endógenos vía azoreductasa en aminas aromáticas cancerígenas (Nikfar y Jaberidoost, 2014).

Por otro lado, los tintes textiles sintéticos constituyen contaminantes persistentes de los cuerpos de agua debido a su origen sintético, su estructura compleja de alto peso molecular (Kuhad, Sood, Tripathi, Singh, y Ward, 2004), y su estabilidad tanto a la luz como a la temperatura y al ataque microbiano (Gregory, 2000). Por ende, provocan fluctuaciones en parámetros como demanda química de oxígeno (DQO), demanda bioquímica de oxígeno (DBO), pH, color, salinidad y composición química del agua (Talarposhti, Donnelly, y Anderson, 2001), lo que afecta los procesos fotosintéticos, la estética y vida acuática (Kuhad *et al.*, 2004).

### LOS TINTES PARA CABELLO

Antes de la década de los 80's se empleaban en la industria de los tintes para cabello ingredientes como las aminas aromáticas, a las que más adelante se les relacionó con carcinogenicidad y genotoxicidad. Los estilistas o peluqueros que aplicaron esos productos durante más de 10 años y las personas que tiñeron su cabello por más de 15 años presentaron cáncer de vejiga, principalmente (Gago-Dominguez, Esteban Castelao, Yuan, Yu, y Ross, 2001). A raíz de ello, la mayoría de las industrias de tintes para cabello eliminaron varias aminas aromáticas cancerígenas de la fórmula de sus productos con el fin de responder a las exigencias de organizaciones internacionales que abogaban por la salud de los consumidores.

Actualmente, los efectos de los tintes para el cabello en la población general y en los profesionales de la belleza se han estabilizado o disminuido. A pesar de que estos productos se componen de sustancias sintéticas catalogadas como cancerígenas sospechosas, su efecto directo en la salud de los consumidores no ha sido comprobado. Se reporta que dichas aminas aromáticas tienen un potencial genotóxico débil e inducen el cáncer tras suministrarse oralmente a ratas; sin embargo, esta carcinogenicidad in vivo no se ha reportado en humanos, ya que la exposición al producto es tópica y no oral. (Kelsh, Alexander, Kalmes, y Buffler, 2008; Kogevinas *et al.*, 2006; Lin, Dinney, Grossman, y Wu, 2006; Nohynek, Fautz, Benech-Kieffer, y Toutain, 2004). No obstante algunos autores sugieren que estos químicos pueden permanecer en latencia hasta 20 años y pasado este tiempo mostrar sus efectos adversos (Bolt y Golka, 2007).

Lo que sí está comprobado es que los tintes para cabello pueden ocasionar reacciones alérgicas como dermatitis eritematosa y papular, debido principalmente a su contenido de iones de cobalto, que pueden actuar como haptenos y unirse a los componentes macromoleculares, produciendo sustancias inmunogénicas (Cámara-Martos y Moreno-Rojas, 2016).

### LOS COLORANTES ALIMENTARIOS

El color es uno de los principales criterios de calidad de los alimentos, por ello las industrias alimentarias destinan gran porcentaje de los costos de producción al estudio de técnicas de preservación y/o adición del color. El color es proporcionado muchas veces por pigmentos naturales en alimentos frescos o sintéticos en productos manufacturados (Villaño, García-Viguera, y Mena, 2016). Los pigmentos y/o colorantes son usualmente añadidos para modificar, mejorar o restaurar el atractivo visual de los alimentos, o simplemente para que el consumidor pueda identificarlos (Barrows, Lipman, y Bailey, 2003); pueden

clasificarse por criterios de fuente de obtención, solubilidad en agua y habilidad de cobertura (opaco o transparente), siendo la segunda categoría la más usual (Amchova, Kotolova, y Ruda-Kucerova, 2015).

Los principales colorantes empleados en la industria alimentaria aceptados por la Unión Europea (UE), pero no por la FDA son: las rivoftalinas, ácido carmínico (de colchinilla), carbón vegetal, y minerales como el dióxido de titanio, el carbonato de calcio y los óxidos de hierro. Por otro lado, algunos aditivos de color como el gluconato ferroso y el lactato ferroso son aceptados por la FDA, pero no por la UE. Tanto la FDA como la UE aceptan el uso de ciertos colorantes azoicos, regulados bajo una legislación que define las dosis y patrones de consumo (Villaño *et al.*, 2016).

Infelizmente, el ácido carmínico puede causar reacciones alérgicas y choque anafiláctico a un grupo sensible de la población; los colorantes azoicos Tartrazina, Ponceau 4R, Rojo Allura AC, Negro brillante BN y Marrón HT pueden afectar el desarrollo neurológico o ser carcinógenos; el Amarillo Ocaso FCF puede afectar la morfología y movilidad de los espermatozoides; el Amarillo de Quinoleína puede causar reacciones de sensibilidad adversa a largo plazo, como urticaria y rinitis (Villaño *et al.*, 2016); el Rojo 40, y los Amarillo 5 y 6 contienen Benzidina, un carcinógeno comprobado (Potera, 2010); la tartrazina puede causar migraña, asma, genotoxicidad, neurotoxicidad, cirrosis y ciertas afecciones cutáneas; el amarillo de mantequilla es cancerígeno (Nikfar y Jaberidoost, 2014).

Un estudio la Universidad de Purdue encontró que el consumo de un contenido de 29 a 33 mg de colorantes sintéticos, principalmente azoicos en los caramelos puede afectar el comportamiento (hiperactividad, inquietud y trastornos del sueño) de un pequeño porcentaje de niños (Godshall, 2016; McCann *et al.*, 2007).

En particular, los colorantes que tienen un grupo azo son metabolizados por la microflora intestinal o por las enzimas hepáticas mediante escisión metabólica, la induciendo estrés oxidativo y como consecuencia formación de radicales libres, llegando a afectar órganos encargados de la depuración del cuerpo como el hígado y el sistema urinario (Diacu, 2016; Nikfar y Jaberidoost, 2014).

Muchos de los colorantes sintéticos son testeados en roedores para evaluar el riesgo en humanos, sin embargo el Centro de Ciencia de Interés Público (CSPI, por sus siglas en inglés) afirmó que muchas de las pruebas se monitorean hasta los dos años (alrededor de 65 años humanos), lo cual es un error porque los cánceres pueden aparecer hasta el tercer año de vida del roedor (Potera, 2010).

## SITUACIÓN MUNDIAL

Debido a la creciente demanda de alimentos procesados acaecida durante las últimas décadas, y con ella un aumento en el uso de los aditivos alimentarios (incluidos los colorantes sintéticos) (Diacu, 2016), se creó en 1963 la primera colección internacional de normas y directrices alimentarias: el Codex Alimentarius (CA), a cargo de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) y de la Organización Mundial de la salud (OMS, por sus siglas en inglés). Ya en 1964 se creó el Comité del Codex sobre Aditivos Alimentarios y Contaminantes de los Alimentos (CCFAC, por sus siglas en inglés), que se centra en la regulación de los niveles máximos permitidos para los distintos aditivos alimentarios (Amchova *et al.*, 2015; FAO-OMS, 2016), por lo cual creó un Sistema Internacional de Numeración (INS, por sus siglas en inglés), que permite la identificación de los aditivos alimentarios en la lista de ingredientes por un número de tres dígitos que reemplaza su nombre (Amchova *et al.*, 2015). Posteriormente la FAO desarrolló una base de datos denominada "Normas Generales para los Aditivos Alimentarios", que recoge las pruebas

disponibles de la actividad biológica de los aditivos alimentarios (FAO, 2016).

La creciente preocupación acerca de la calidad e inocuidad de los alimentos se ha visto reflejada en nuevas legislaciones reguladoras de dichos aditivos (Diacu, 2016). En 1994 expidió el Decreto del Buen Consumidor Alemán, que restringía el uso de varios colorantes azoicos en los bienes de consumo (Ausfertigungsdatum y Verordnung, 1994), varios países de la UE siguieron el ejemplo e introdujeron legislaciones semejantes. En septiembre de 2003 la UE publicó la Directiva del Consejo N° 36 de 1994, una ley que regula el uso de los colorantes alimentarios, prohibiendo la fabricación y venta de bienes de consumo que tras análisis químico muestren presencia de aminas aromáticas cancerígenas (Diacu, 2016). Luego, en 2011 la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) clasificó los colorantes en dos categorías: Los exentos, que no requieren aprobación para su uso porque se derivan de fuentes naturales, y los certificados, que requieren aprobación porque su origen es sintético o artificial (U. S. Government Publishong Office, 2016).

En la mayoría de los países, el uso de aditivos alimentarios (incluidos colorantes) es regido por una legislación estricta, que especifica qué colorante puede ser utilizado, la fuente, la pureza, y en qué concentración se pueden añadir a los alimentos. Para el caso de la UE, todos los países miembros comparten la misma legislación (Villaño *et al.*, 2016), que actualmente es el reglamento N° 178 de 2002, que establece los principios generales y los requisitos de la legislación alimentaria. El uso específico de aditivos alimentarios en la UE, está regulado por la por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (AESA), perteneciente a la Comisión Europea (CE) con base en recomendaciones del CCFAC, quienes identifican a los aditivos con un código compuesto de la letra inicial E y tres dígitos contiguos (Amchova *et al.*, 2015).

El uso de aditivos nocivos en la industria, sumado a la contaminación ambiental y la gestión inadecuada de agroquímicos, que transmiten trazas tóxicas al ser humano, provocan el envejecimiento acelerado de la población, así como el aumento de las patologías cancerígenas. Por ello, se ha hecho necesaria la adopción de medidas de salud pública adaptables a países de todos los niveles de desarrollo económico. Con ello surge el término “envejecimiento saludable” como algo más que la ausencia de enfermedad (OMS, 2015b).

El cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo; durante el año 2012 hubo 14 millones de nuevos casos y 8,2 millones de muertes provocadas por este. Más del 60% de los nuevos casos y el 70% de las muertes anuales por cáncer a nivel mundial se produjeron en países en desarrollo, pertenecientes a África, Asia, Latinoamérica y el Caribe. Los países con más altos índices de mortalidad fueron Zimbabwe, Armenia y Mongolia; con 223, 220 y 194 muertes por cada 100 mil habitantes, respectivamente. Los tipos de cáncer más comunes a nivel mundial en el hombre fueron los de próstata, pulmón, hígado, estómago, colon y recto; mientras que en la mujer predominaron los de mama, colon, recto, pulmón, cuello uterino y estómago. Se prevé que los casos anuales de cáncer aumentarán de 14 millones en 2012 a 22 millones en las próximas dos décadas (IARC, 2014; OMS, 2015a).

Stewart (2015) afirma que el cáncer el causado por el envejecimiento prematuro y la prevalencia de enfermedades crónicas, asociadas principalmente a países de bajos y medianos ingresos (IARC, 2014). El envejecimiento prematuro favorece la aparición del cáncer debido a la acumulación en el tiempo de factores de riesgo, que pueden ser químicos, físicos y biológicos. Alrededor del 30% de las muertes por cáncer se deben a los factores de riesgo conductuales y dietéticos, principalmente: obesidad, ingesta reducida de

frutas y verduras, consumo de alimentos con químicos nocivos, poca actividad física, consumo de tabaco y de alcohol (OMS, 2015a). Se reporta que alrededor de un tercio de las muertes por cáncer en países desarrollados podrían evitarse si se aumenta el consumo de productos naturales y orgánicos (Terry *et al.*, 2001).

A raíz de esto, en el 2013 la OMS puso en marcha el Plan de Acción Global para la Prevención y el Control de las Enfermedades No Transmisibles 2013-2020 que tiene como objetivo reducir la mortalidad prematura por enfermedades crónicas: cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares y respiratorias crónicas. La OMS trabaja junto con la IARC (OMS, 2015a).

### SITUACIÓN LATINOAMERICANA

Hasta hace poco, se consideraba que la carga de enfermedad por padecimientos transmisibles predominaba en los países en vías de desarrollo mientras la carga de enfermedad por padecimientos crónicos (obesidad, hipertensión, diabetes e hiperlipidemia) predominaba en los países desarrollados. No obstante, en la región de Latinoamérica y del Caribe (LATAM) está aumentando significativamente la carga de enfermedad por causas crónicas, que generan el 60% de las muertes en la región (Mitra y Rodríguez-Fernandez, 2010; Terry *et al.*, 2001).

La gestión de las enfermedades crónicas y del envejecimiento acelerado de la población es una preocupación tanto de la OMS como de los gobiernos locales; ya que esto conlleva a un aumento de los costos y demanda de los servicios de salud (Dmytraczenko y Almeida, 2015).

### SITUACIÓN ECUATORIANA

El Ecuador, a pesar de contar todavía con zonas agrícolas libres de transgénicos y agroquímicos, no se escapa del auge de los

aditivos alimentarios en la comida procesada. Por ello se creó en 1970 el Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN) mediante Decreto Supremo No. 357, que expidió la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2 074:2012, que trata de los aditivos alimentarios permitidos para consumo humano: listas positivas y requisitos (INEN, 2016).

En la NTE INEN 2 074:2012 se aprueba el uso de los siguientes colorantes alimentario sintéticos, con base en una dosis máxima: Amarillo Ocaso FCF, Azul Brillante FCF, Cantaxantina, Caramelo III o Caramelo al Amoniaco, Caramelo IV o Caramelo al Sulfato Amónico, Carbonato de Calcio, Carmín, Carotenoides, Clorofilinas, Eritrosina, Extracto de piel de uva, Extractos de Annato, Indigotina, Óxidos de Hierro, Ponceau 4R o Rojo de Colchinilla A, Riboflavinas, Rojo Allura AC y Verde Sólido FCF; de los cuales el Rojo de Allura AC, Indigotina, Eritrosina y Ponceau 4R tienen efectos cancerígenos y neurodegenerativos, mientras el amarillo Ocaso afecta la salud reproductiva.

Existen otros colorantes que no presentan restricciones de este tipo, como: Caramelo I o Caramelo Puro, Carbonato de Calcio, Clorofilas, Dióxido de Titanio y Rojo de Remolacha (INEN, 2012).

Según los datos de la OMS correspondientes a los años 2012-2014, la población ecuatoriana tiene el 12% de probabilidades de morir por enfermedades crónicas entre los 30 a 70 años. Las muertes provocadas por enfermedades crónicas ascienden a 409 por cada 100 mil habitantes, de las cuales el 26% corresponde a fallecimientos por cáncer (OMS, 2012).

En el artículo 23 de la Constitución Pública de la República del Ecuador se establece la salud como un derecho civil que el Estado reconocerá y garantizará a las personas en condiciones de igualdad (Asamblea Nacional, 2008). Por ello, es responsabilidad del estado incursionar alternativas favorables para la

salud de la población, como es el cambio rotundo de los aditivos empleados en la industria.

### PROPUESTA AL DESAFÍO

Una mala alimentación influye mucho en la calidad de la salud de la población, pues está demostrado que puede reducir la inmunidad y aumentar la vulnerabilidad a las enfermedades (OMS, 2016). Por lo tanto, se propone basar las dietas en productos naturales, ya que está comprobado por estudios realizados durante más de 50 años que disminuyen el riesgo de sufrir enfermedades crónicas (diabetes, enfermedades cardiovasculares, obesidad...) y cáncer (Terry *et al.*, 2001).

Algunos fabricantes de alimentos ya emplean colorantes de origen natural entre sus aditivos alimentarios, mientras que otros todavía no han accedido al cambio. Por ejemplo; el refresco naranja de Fanta en Reino Unido es coloreado con extractos de calabaza y zanahoria mientras la versión estadounidense es coloreada con Rojo 40 y Amarillo 6; el helado rosado de McDonald's en Reino Unido es coloreado con fresas mientras el de Estados Unidos es coloreado con Rojo 40 (Potera, 2010).

Los pigmentos naturales presentan por lo general propiedades bioactivas y un menor riesgo para la salud de los consumidores, por eso son de interés reciente en la industria alimentaria y farmacéutica. Se pueden

clasificar en: Antocianinas, betalaínas, carotenoides, clorofilas, curcumina, mioglobina y hemoglobina, derivados del procesamiento de los alimentos (melanoidinas, pigmentos de *Monascus spp.*) (Villaño *et al.*, 2016).

Los colorantes de origen microbiano son una alternativa viable para satisfacer la demanda nacional, ya que su producción es rápida, rentable, y no provoca efectos adversos en la salud de los consumidores.

### CONCLUSIONES

Muchos de los colorantes sintéticos empleados en la industria son nocivos para la salud, siendo el sector alimentario más afectado. A nivel mundial se han establecido legislaciones para regular su uso; muchos países tienen regulaciones propias basadas en las expedidas por la FDA, mientras los países de la Unión Europea tienen un marco regulatorio común. En el Ecuador, se regula el uso de muchos colorantes sintéticos, sin embargo, muchos de los colorantes permitidos están catalogados a nivel internacional como cancerígenos, pudiendo ser una causa del aumento de enfermedades crónicas, en especial cancerosas. Urge un cambio normativo local, que incluya más colorantes de origen natural. Se debe seguir el ejemplo de las comunidades indígenas que aún conservan la tradición de emplear los pigmentos naturales.

---

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Additifs. (2015). Indigotine, Carmin(e) d'indigo. Toxicite. Recuperado a partir de [http://www.additifs-alimentaires.net/E132.php?src\\_reg&nostat#a\\_src](http://www.additifs-alimentaires.net/E132.php?src_reg&nostat#a_src)
- Amchova, P., Kotolova, H., y Ruda-Kucerova, J. (2015). Health safety issues of synthetic food colorants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73(3), 914–922. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.09.026>
- Asamblea Nacional. Constitución de la República del Ecuador, Pub. L. No. Registro Oficial 449, 218 (2008). Quito-Ecuador. Recuperado a partir de [http://www.asambleanacional.gov.ec/documentos/constitucion\\_de\\_bolsillo.pdf](http://www.asambleanacional.gov.ec/documentos/constitucion_de_bolsillo.pdf)
- Ausfertigungsdatum, B., y Verordnung, D. Bedarfsgegenständeverordnung (1994). Germany.

Recuperado a partir de <https://www.gesetze-im-internet.de/bedggstv/BedGgstV.pdf>

- Barrows, J., Lipman, A., y Bailey, C. (2003). Color Additives: FDA's Regulatory Process and Historical Perspectives. *Food Safety Magazine. U.S. Food and Drug Administration*. Recuperado a partir de <http://www.fda.gov/ForIndustry/ColorAdditives/RegulatoryProcessHistoricalPerspectives/>
- Bolt, H. M., y Golka, K. (2007). The debate on carcinogenicity of permanent hair dyes: new insights. *Critical reviews in toxicology*, 37(6), 521–536. <https://doi.org/10.1080/10408440701385671>
- Cámara-Martos, F., y Moreno-Rojas, R. (2016). Cobalt: Toxicology. En B. Caballero, P. M. Finglas, y F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of food and health* (p. 174). Oxford: Academic Press is an imprint of Elsevier.
- Diacu, E. (2016). Colors: Properties and Determination of Synthetic Pigments. En B. Caballero, P. M. Finglas, y F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of food and health* (pp. 284–290). Oxford: Academic Press is an imprint of Elsevier.
- Dmytraczenko, T., y Almeida, G. (2015). *Toward Universal Health Coverage and Equity in Latin America and the Caribbean: Evidence from Selected Countries*. Washington D. C. Recuperado a partir de <https://openknowledge.worldbank.org/bitstream/handle/10986/22026/9781464804540.pdf?sequence=2>
- European Food Safety Authority (EFSA). (2015). Scientific Opinion on the safety and efficacy of indigo carmine (E 132) for cats and dogs and ornamental fish. *EFSA Journal*, 13(5), 4108–4123. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4108>
- FAO-OMS. (2016). Codex Alimentarius: international food standards. Recuperado a partir de <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/about-codex/en/>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2016). Componentes de la Norma General para los Aditivos Alimentarios (NGAA). Recuperado a partir de <http://www.fao.org/docrep/meeting/005/W8495S/w8495s0l.htm>
- Gago-Dominguez, M., Esteban Castelao, J., Yuan, J. M., Yu, M. C., y Ross, R. K. (2001). Use of permanent hair dyes and bladder-cancer risk. *International Journal of Cancer*, 91(4), 575–579. [https://doi.org/10.1002/1097-0215\(200002\)9999:9999::AID-IJC1092>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/1097-0215(200002)9999:9999::AID-IJC1092>3.0.CO;2-S)
- Godshall, M. A. (2016). Candies and Sweets: Sugar and Chocolate Confectionery. En B. Caballero, P. M. Finglas, y F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of food and health* (p. 625). Oxford: Academic Press is an imprint of Elsevier.
- Gregory, P. (2000). Dyes and Dye Intermediates. En *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* (pp. 1–66). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/0471238961.0425051907180507.a01.pub2>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN]. Aditivos Alimentarios Permitidos Para Consumo Humano. Listas Positivas. Requisitos., Pub. L. No. NTE INEN 2 074:2012, 2625 304 (2012). Ecuador. Recuperado a partir de <https://archive.org/details/ec.nte.2074.2012>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN]. (2016). La institución. Recuperado a partir de <http://www.normalizacion.gob.ec/la-institucion/>
- International Agency for Research on Cancer [IARC]. (2014). *World Cancer Report 2014*. (B. W. Stewart y C. P. Wild, Eds.). WHO Press. Recuperado a partir de <http://apps.who.int/bookorders/anglais/detart1.jsp?codlan=1&codcol=76&codcch=31>
- Jean-Marie, E. (2016). Microscopy: Light Microscopy and Histochemical Methods. En B. Caballero, P. M. Finglas, y F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of food and health* (p. 717). Oxford: Academic Press is an imprint of Elsevier.
- Kelsh, M. A., Alexander, D. D., Kalmes, R. M., y Buffler, P. A. (2008). Personal use of hair dyes and risk of bladder cancer: a meta-analysis of epidemiologic data. *Cancer Causes Control* (2008), 19, 549–558. <https://doi.org/10.1007/s10552-008-9123-z>

- Kogevinas, M., Fernandez, F., Garcia-Closas, M., Tardon, A., Garcia-Closas, R., Serra, C., ... Silverman, D. (2006). Hair dye use is not associated with risk for bladder cancer: Evidence from a case-control study in Spain. *European Journal of Cancer*, 42(10), 1448–1454. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2006.02.009>
- Kuhad, R. C., Sood, N., Tripathi, K. K., Singh, A., y Ward, O. P. (2004). Developments in microbial methods for the treatment of dye effluents. *Advances in Applied Microbiology*, 56, 185–213. Recuperado a partir de <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=16287114>
- Lin, J., Dinney, C. P., Grossman, H. B., y Wu, X. (2006). Personal permanent hair dye use is not associated with bladder cancer risk: Evidence from a case-control study. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 15(9), 1746–1749. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-06-0156>
- McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., ... Stevenson, J. (2007). Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *Lancet*, 370(9598), 1560–1567. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61306-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61306-3)
- Mitra, A. K., y 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>
- Nikfar, S., y Jaberidoost, M. (2014). *Dyes and Colorants*. *Encyclopedia of Toxicology* (Third Edit, Vol. 2). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00602-3>
- Nohynek, G. J., Fautz, R., Benech-Kieffer, F., y Toutain, H. (2004). Toxicity and human health risk of hair dyes. *Food and Chemical Toxicology*, 42(4), 517–543. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2003.11.003>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2012). Base de datos. Recuperado a partir de <http://www.who.int/gho/database/es/>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2015a). Cáncer. Nota descriptiva N°297. Recuperado 14 de septiembre de 2016, a partir de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2015b). *Informe mundial sobre el envejecimiento y la salud*. New York. Recuperado a partir de [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/186466/1/9789240694873\\_spa.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/186466/1/9789240694873_spa.pdf?ua=1)
- Potera, C. (2010). Diet and nutrition: The Artificial Food Dye Blues. *Environmental Health Perspectives*, 108(10), A428. <https://doi.org/10.1289/ehp.10716.6>
- Talarposhti, A. M., Donnelly, T., y Anderson, G. K. (2001). Colour removal from a simulated dye wastewater using a two-phase Anaerobic packed bed reactor. *Water Research*, 35(2), 425–432. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00280-3](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00280-3)
- Terry, P., Giovannucci, E., Michels, K. B., Bergkvist, L., Hansen, H., Holmberg, L., y 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>
- U. S. Government Publishong Office. Electronic Code Federal of Regulations [e-CFR], Pub. L. No. Title 21 → Chapter I → Subchapter A. Parts 73, 74, 81 and 82 (2016). Estados Unidos. Recuperado a partir de <http://www.ecfr.gov/cgi-bin/ECFR?page=browse>
- Villaño, D., García-Viguera, C., y Mena, P. (2016). Colors: Health Effects. En B. Caballero, P. M. Finglas, y F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of food and health* (pp. 265–272). Oxford: Academic Press is an imprint of Elsevier.

# Fermentación en Estado Sólido (FES) de *Psilocybe* spp. para producción de psilocibina

## Solid State Fermentation (SSF) of *Psilocybe* spp. to production of psilocybin.

Patricia Isabel Rosero Yépez<sup>1</sup>, Julio Amilcar Pineda Insuasti<sup>2</sup>, Astrid Stefanía Duarte Trujillo<sup>3</sup>, Claudia Patricia Soto Arroyave<sup>4</sup>, Camilo Alejandro Pineda Soto<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Universidad Técnica del Norte, Ibarra, Ecuador.

<sup>2</sup> Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

<sup>3</sup> Organización Micológica Internacional (OMI), Florencia, Colombia.

<sup>4</sup> Universidad Católica de Oriente (UCO), Rionegro, Colombia.

<sup>5</sup> Escuela Politécnica Nacional (EPN), Quito, Ecuador

Autor para correspondencia: patricia-rosero@hotmail.com

Recibido: octubre 15 de 2017

Aceptado: diciembre 26 de 2017

---

### RESUMEN

*Psilocybe* spp. es un género de hongos alucinógenos que produce sustancias neurotrópicas, por lo que se ha empleado tratamiento de trastornos psiquiátricos. El objetivo de este trabajo es describir el proceso de producción de *Psilocybe* spp. por Fermentación en Estado Sólido (FES). Se reporta el uso de diferentes sustratos como residuos vegetales, estiércol seco, abono vegetal y harinas con o sin suplementos. Los parámetros de producción más importantes son la humedad del sustrato, la temperatura y la iluminación. El kit de cultivo más ampliamente usado es PF-Tek, lo que indica la factibilidad de producir psilocibina a pequeña escala. No obstante, es escalado se ha visto limitado por la falta de bioceldas de gran capacidad, fácilmente controlables.

**PALABRAS CLAVE:** factores de producción, psilocibina, trastorno mental, triptaminas.

### ABSTRACT

*Psilocybe* spp. is a genus of hallucinogenic mushrooms that produces neurotropic substances, so it has been used in the treatment of psychiatric disorders. The objective of this work is to describe the production process of *Psilocybe* spp. by Fermentation in Solid State (FES). The use of different substrates such as vegetable waste, dry manure, vegetable fertilizer and flours with or without supplements is reported. The most important production parameters are substrate humidity, temperature and lighting. The most widely used culture kit is PF-Tek, which indicates that the producing small scale psilocybin is feasible. However, scaling has been limited by the lack of large capacity, easily controllable biocells.

**KEYWORDS:** production factors, psilocybin, mental disorders, tryptamines

## INTRODUCCIÓN

La depresión es un trastorno psiquiátrico caracterizado por la sensación persistente de tristeza durante dos semanas o más, el cual interfiere con las actividades cotidianas. Se estima que en el mundo hay más de 350 millones de personas con depresión y están en aumento, constituyéndose como una de las enfermedades más importantes del siglo XXI (OMS, 2012). Hasta la fecha, los tratamientos farmacológicos tanto para los trastornos de ánimo y ansiedad como para la dependencia a drogas han mostrado una eficacia limitada, dejando un gran número de pacientes con síntomas severos y persistentes (dos Santos *et al.*, 2016).

Para tratar los síntomas más severos y persistentes de algunos trastornos psiquiátricos empezó a comercializarse en la década de los 60's la psilocibina pura bajo la marca Indocybin® (EMCDDA, 2015). La Psilocibina es una indolealquilamina o triptamina presente en los hongos alucinógenos (Hofmann, Heim, Brack, y Kobel, 1958), que puede derivarse del aminoácido triptófano por varias rutas biosintéticas (Tittarelli, Mannocchi, Pantano, y Romolo, 2015), y presenta alta afinidad con receptores serotonina 5-hidroxitriptamina (5-HT), por lo que su consumo mejora el estado de ánimo (Halberstadt, 2015).

Ensayos clínicos realizados desde 1990 hasta 2015 sugieren que la psilocibina presenta propiedades antidepresivas, ansiolíticas y antiadictivas (dos Santos *et al.*, 2016), siendo efectiva en el tratamiento de trastornos psiquiátricos como el Desorden Obsesivo Compulsivo (DBC), la ansiedad en pacientes terminales, la depresión persistente, la cefalea crónica, la esquizofrenia, 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, Garcia-Romeu, Cosimano, y Griffiths, 2014; Moreno, Wiegand, Taitano, y Delgado, 2006; Patra, 2016; Vollenweider,

Vontobel, Hell, y Leenders, 1999) sin inducir a largo plazo al deterioro de la memoria, delirio o adicción, siempre y cuando se empleen dosis adecuadas (Halberstadt, 2015; Tylš, Páleníček, y Horáček, 2014)), ya que una sobredosis desencadena reacciones alérgicas que pueden llegar a ser letales (Beug, Shaw, y Cochran, 2006; Johnson, Andrew Sewell, y Griffiths, 2012). Está comprobado que la psilocibina también mejora el recuerdo autobiográfico, por lo que es útil en la psicoterapia, ya sea como una herramienta para facilitar la recuperación de los recuerdos o para revertir los sesgos cognitivos negativos (Carhart-Harris *et al.*, 2012).

*Psilocybe spp.* es un género de hongos alucinógenos consumido ancestralmente por sus propiedades neurotrópicas, otorgadas por las triptaminas que contiene. Entre las principales triptaminas se encuentran: psilocibina, psilocina, baeocistina, ni-baeocistina, norbaeocistina y aeruginascina (EMCDDA, 2015; Zhuk *et al.*, 2015). Es un hongo fácil cultivar, resistente a enfermedades y psicoactivamente fuerte; puede producirse en tan sólo 28 a 56 días, y en algunos casos como el de *P. caerulea* puede tardar desde 55 a 85 días (Gottlieb, 1976). *P. cubensis* y *P. mexicana* son las especies más estudiadas del género, mientras *P. semilanceata* es la más promisoría, ya que es gran productora de psilocibina (Andersson, Kristinsson, y Gry, 2009; Peredy y Bradford, 2014). No todas las especies del género contienen sustancias neurotrópicas (Bozal, 2013), tales como *P. percevalii* (Guzmán y Kasuya, 2004) y *P. atrobrunnea* (Borovička *et al.*, 2015).

En la actualidad, los carpóforos de *Psilocybe spp.* son consumidos como droga recreativa por algunos grupos de la población, principalmente adolescentes, aunque su posesión es ilegal (Vega-Villasante, Ruiz-González, Guerrero-Galván, y Guzmán-Dávalos, 2013). Estos hongos se encuentran disponibles en la siguiente presentación: en fresco, conserva (deshidratados, cocidos,

congelados...) o procesados (polvos secos o cápsulas). Para su producción, se pueden encontrar en el mercado online las esporas, bolsas de micelio y kits de cultivo. La mayoría de las tiendas en línea ofrecen el envío internacional, aunque la mayoría de los sitios no envían a países donde se prohíben la venta (EMCDDA, 2015).

En vista del potencial farmacéutico de *Psilocybe spp* para el tratamiento de trastornos psiquiátricos, es necesario conocer todo lo referente a su producción.

El objetivo de este trabajo es describir el proceso de producción de *Psilocybe spp*, mediante una amplia revisión de la literatura, que promueva el máximo aprovechamiento de la biodiversidad fúngica.

## PROCESO DE PRODUCCIÓN

El método de cultivo de hongos Psicótricos más popular es el PF-Tek (McPherson, 1991), el cual es fácil, sencillo, barato y fiable. Originalmente se empleaban granos de centeno como sustrato, pero más tarde se incluyó harina de arroz integral y vermiculita. Es indispensable el uso de bolsas y cajas de cultivo con filtro de aire, una jeringa, un atomizador y clips (Innervisions, s. f.). En caso de que no se cuente con filtro de aire, se puede cubrir los orificios de la tapa con cinta de enmascarar (McPherson, 1991).

### Sustratos

Se ha reportado el uso de abono vegetal (Gottlieb, 1976), aserrín (Gartz, 1992), troncos de madera de roble decaída, vainas de frijol, estiércol de conejo, estiércol de vaca (Gilmore, 1926), estiércol de búfalo (Gartz, Allen, y Merlin, 1994), copos de avena, paja de avena (Gabriel, Švec, Koliňová, Tlustoř, y Száková, 2016), paja de trigo (Acosta-Urdapilleta y Medrano-Vega, 2006), turba tamizada de musgos del género *Sphagnum* (Keay y Brown, 1990), granos de arroz (Gartz y Moller, 1989), granos de centeno, semillas de pasto, harina de

arroz, vermiculita (McPherson, 1991). Puede usarse una mezcla de arena de sílice/piedra caliza como suplemento (Gottlieb, 1976). En el método PF-Tek, los sustratos (harina de arroz y vermiculita) son adicionados a frascos y humedecidos con un atomizador, luego son tapados, envueltos en papel aluminio y esterilizados a 121 °C durante 60 minutos.

### Preparación de Inóculo

Hay que preparar primero cultivo un Stock en agar para transportar el micelio desde la cepa a los granos. Se emplean por lo general Agar Papa Dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés) y Agar Extracto de Malta (MEA, por sus siglas en inglés), aunque a veces se prepara una variación del MEA, el medio Malta-Levadura - Peptona (MYP, por sus siglas en inglés). El tiempo de incubación de las cepas varía entre los 7 y 20 días de incubación, hasta que las colonias toman una apariencia blanca y viscosa. Por otro lado, los granos de cebada, trigo o centeno deben ser esterilizados a 15-20 lb de presión durante 45 minutos, enfriados y suplementados con carbonato de calcio, el cual evita la aglomeración. Posteriormente, se inoculan los granos con tacos de agar y se incuban con remoción esporádica durante 10 días a 21-27 °C y 95 % de humedad relativa (Oss y Oeric, 1991). En el método PF-Tek, el inóculo consta de una suspensión de esporas (McPherson, 1991), mientras en otros casos consta directamente de cubos de agar con micelio (Keay y Brown, 1990).

### Fermentación

Al frasco con el inóculo se adiciona el sustrato pre-humedecido y pre-esterilizado. El sustrato debe tener la cantidad de agua necesaria, de modo que se torne uniformemente oscuro y al exprimir con el puño de la mano no escurra agua (Oss y Oeric, 1991). En el método PF-Tek, el inóculo es inyectado al frasco a través de cada orificio de la tapa, empleando una jeringa previamente flameada (Keay y Brown, 1990) como se indica en la fig. 1.



**Fig 1.** Inoculación de bioceldas en método PF-Tek (Innervisions, s. f.).

La incubación debe hacerse en un lugar oscuro, con alta humedad relativa y una temperatura de 20 °C (Innervisions, s. f.). Luego de que el micelio invade el sustrato, se introducen los frascos en bolsas con filtro de aire y se humedecen con un spray (ver fig. 2) e se sigue incubando a 20-25 °C. Después de 14 días aparecen los primordios, y luego de 7 días más, los carpóforos están listos para cosecharse. El tiempo óptimo de cosecha es cuando los píleos empiecen a abrirse (McPherson, 1991).



**Fig. 2.** Bioceldas dentro de las bolsas de aireación (Innervisions, s. f.).

La producción máxima de psilocibina en los carpóforos ocurre al séptimo día después de la germinación, mientras que en el micelio ocurre después del noveno día (Catafolmo y Tyler, 1964); aunque otros autores aseveran que la máxima producción de psilocibina se da cuatro días después de acabarse el azúcar del medio de cultivo (Gottlieb, 1976).

## ESCALADO

Se han reportado cuartos de cultivo con área de 13,5 m<sup>2</sup>, acondicionados con estantes de 30 cm de profundidad y 1,5 m de largo, los cuales contienen cajas de Petri con el hongo, alcanzando una capacidad de producción de 5 mil dosis de alucinógeno por semana, teniendo en cuenta que una dosis comprende entre 6 a 20 mg (Gottlieb, 1976).

## FACTORES QUE AFECTAN LA PRODUCCIÓN

### Fuente de carbono

Se reporta que el almidón de papa es la mejor fuente de carbono y la harina de soya es la mejor fuente de nitrógeno (Stafford, 2003). Es importante tener en cuenta que la composición del sustrato influye en la composición de los cuerpos fructíferos; por ejemplo, los carpóforos de *P. cubensis* pueden absorber el mercurio del medio de cultivo (Gabriel *et al.*, 2016).

### Micronutrientes

Usualmente se emplea el triptófano para inducir la producción de psilocibina (Heim y Wasson, 1958). Algunos oligoelementos también son adicionados a los medios de cultivo, tales como FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O, Na<sub>2</sub>MO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O (Keay y Brown, 1990).

### Temperatura

Es importante controlar este factor, ya que de él depende el crecimiento y desarrollo del micelio. Se reportan un intervalo de temperatura de 20 a 30 °C. Si la temperatura es muy alta puede ocurrir muerte térmica, después de 35 °C para *P. caerulescens* y después de 40 °C para *P. cubensis* var. *Cyanescens* (Gottlieb, 1976), pero si la temperatura es muy baja ocurre retraso en el crecimiento, hasta el punto de detenerse a menos de 15 °C (Innervisions, s. f.); sin embargo, especies como *P. quebecensis* pueden desarrollarse a temperaturas menores, entre 6 a 15 °C. La temperatura también afecta

la producción de metabolitos; por ejemplo, a 24 °C hay un crecimiento más rápido pero una menor producción de psilocibina en contraste con lo ocurrido a 21 °C (Gottlieb, 1976).

### Potencial de Hidrógeno (pH)

Un medio básico favorece la contaminación bacteriana. La máxima producción de psilocibina ocurre a pH ácido, pudiendo llegar hasta un rendimiento del 5,2 % en base seca del hongo (Andersson et al., 2009).

### Iluminación

La luz inhibe el alargamiento del estípite, aunque es necesaria en al menos dos fases del ciclo de vida del hongo: la aparición de primordios y la producción de esporas (Badham, 1982). Para la producción de carpóforos se utiliza tanto iluminación limitada como iluminación natural, ya que en la oscuridad el hongo no puede fructificar adecuadamente. A gran escala se emplean tubos fluorescentes de amplio espectro uniformemente distribuidos en el techo y encendidos durante 10 a 12 horas diarias (Gottlieb, 1976), mientras que a escala laboratorio se reportan fotoperiodos de 16 horas (Keay y Brown, 1990).

### Humedad

Es importante para que el hongo se desarrolle adecuadamente, si es baja el medio se seca y el hongo no se desarrolla, pero si es alta el medio se compacta y el hongo se asfixia (Oss y Oeric, 1991).

### Aireación

Cuando existe una mala aireación, se acumula el dióxido de carbono, lo que inhibe la fructificación o retrasa la maduración de los carpóforos (Oss y Oeric, 1991).

## EXTRACCIÓN DE PSILOCIBINA

La psilocibina y la psilocina son indolealquilaminas estructuralmente similares al neurotransmisor serotonina (EMCDDA,

2015), son derivados psicotomiméticos de triptamina 4-sustituida aisladas por primera vez a partir de *Psilocybe mexicana* (Hofmann et al., 1958). Teóricamente la psilocina tiene el mismo efecto que la psilocibina en el consumidor, la única diferencia es que la psilocibina contiene enlaces de fosfato que desaparecen después de la asimilación en el cuerpo (Casale, 1985). La fig. 3 muestra las estructuras de la psilocina y psilocibina.

El contenido de psilocina en los carpóforos es por lo general menor que el de psilocibina, corresponden aproximadamente al 8% y 76%, respectivamente (Andersson et al., 2009). *P. mexicana* puede contener entre 0,2 a 0,4 % de psilocibina en base seca del cuerpo fructífero y entre 0,2 a 0,3 % en base seca del micelio (Hofmann et al., 1959). Por otro lado, *P. semilanceata* reporta un 0,6 % y *P. cubensis* un 1,0 %; otras especies como *P. azurens* y *P. bohémica* pueden contener más del 1% (EMCDDA, 2015). El contenido de baecocistina y psilocibina es más alto en el píleo de las setas que en el estípite (Gartz, 1992).

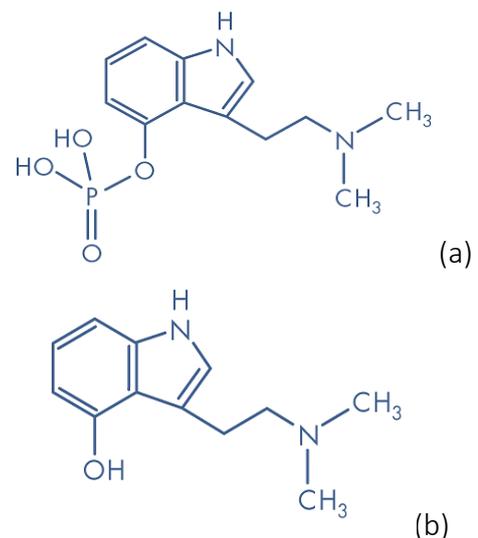


Fig. 3. Estructura de la psilocibina (a) y psilocina (b)

Para la extracción de estas triptaminas se desmenuzan y pulverizan los micelios secos, se disuelven en metanol y se ponen al baño maría durante cuatro horas. Se Filtra y conserva el

filtrado, luego se vuelve a extraer la misma muestra de micelio con etanol por dos veces más y se conserva también el filtrado. Para comprobar que todos los alcaloides han sido extraídos se hace una prueba de color, que consiste en extraer un poco de muestra con reactivo de Keller (ácido acético glacial, cloruro ferroso y ácido sulfúrico concentrado) y observar la coloración, si es violeta indica que los alcaloides siguen presentes y se debe hacer otra extracción con metanol. Una vez se termine la extracción se evapora el filtrado hasta sequedad total (Gottlieb, 1976).

Es importante, resaltar que antes de la extracción acuosa con disolventes orgánicos es necesario desfosforilar la psilocibina a psilocina debido a su baja solubilidad (Casale, 1985). La extracción de estas triptaminas también puede hacerse por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC, por sus siglas en inglés), Cromatografía de Capa Fina (TLC, por sus siglas en inglés) o Cromatografía en Columna de Celulosa (Gartz, 1989).

La concentración y la detectabilidad de la psilocina y psilocibina están limitadas por una

serie de condiciones: 1) la ausencia de glucosa restringe la producción de psilocibina; 2) los bajos niveles de succinato de amonio disminuyen los rendimientos de producción de psilocibina; 3) el medio de cultivo requiere un pH de menor que 7 (Catafolmo y Tyler, 1964); 4) la pérdida completa de las triptaminas en los carpóforos se da tras exposición a temperatura ambiente durante un período de tiempo prolongado (Beug y Bigwood, 1981), ya que ocurre oxidación y el micelio se torna azul (Horita y Weber, 1961).

## CONCLUSIONES

*Psilocybe spp.* es un género con gran potencial en la industria farmacéutica debido a su contenido de triptaminas. Su producción por Fermentación en Estado Sólido (FES) se ve ampliamente influenciada por la humedad del sustrato, la temperatura y la iluminación, que afectan directamente el desarrollo del hongo. La producción de triptaminas a pequeña escala es posible gracias al kit PF-Tek, aunque es necesario implementar un proceso de escalado para que el proceso sea viable.

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta-Urdapilleta, M. de L., y Medrano-Vega, F. A. (2006). Evaluación de material biológico perteneciente al cepario de hongos del laboratorio de micología del Centro de Investigaciones de la UAEM. En *V Congreso Internacional y XI Congreso Nacional de Ciencias Ambientales* (p. 10). Morelos: Red de Ciencias Ambientales. Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMéx).
- Andersson, C., Kristinsson, J., y Gry, J. (2009). *Occurrence and Use of Hallucinogenic Mushrooms Containing Psilocybin Alkaloids*. Copenhagen, Dinmark: Nordic Council of Ministers. Recuperado a partir de <https://goo.gl/gsvAS3>
- Badham, E. R. (1982). Tropisms in the Mushroom *Psilocybe cubensis*. *Mycologia*, 74(2), 275–279. <https://doi.org/10.2307/3792895>
- Beug, M. W., y Bigwood, J. (1981). Quantitative analysis of psilocybin and psilocin and psilocybe baecystis (singer and smith) by high-performance liquid chromatography and by thin-layer chromatography. *Journal of Chromatography A*, 207(3), 379–385. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)88741-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)88741-5)
- Beug, M. W., Shaw, M., y Cochran, K. W. (2006). Thirty-Plus Years of Mushroom Poisoning : Summary of the Approximately 2 , 000 Reports in the NAMA Case Registry. *MCI/vainea*, 16(2), 47–68.
- Bogenschutz, M. P., Forchimes, A. A., Pommy, J. A., Wilcox, C. E., Barbosa, P., y Strassman, R. J. (2015). Psilocybin-assisted treatment for alcohol dependence: A proof-of-concept study. *Journal of Psychopharmacology*, 29(3), 289–299. <https://doi.org/10.1177/0269881114565144>

- Borovička, J., Oborník, M., Stříbrný, J., Noordeloos, M. E., Sánchez, L. A. P., y 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. <https://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.
- Carhart-Harris, R. L., Leech, R., Williams, T. M., Erritzoe, D., Abbasi, N., Bargiotas, T., ... Nutt, D. J. (2012). Implications for psychedelic-assisted psychotherapy: Functional magnetic resonance imaging study with psilocybin. *British Journal of Psychiatry*, 200(3), 238–244. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.111.103309>
- Casale, J. (1985). An Aqueous-Organic Extraction Method for the Isolation and Identification of Psilocin from Hallucinogenic Mushrooms. *J. Forens. Sci.*, 30(1), 247–250. Recuperado a partir de <https://erowid.org/archive/rhodium/chemistry/psilocin.extraction.html>
- Catafolmo, P., y Tyler, V. E. (1964). The production of psilocybin in submerged culture by *Psilocybe cubensis*. *Lloydia*, 27, 53–63. Recuperado a partir de <https://goo.gl/gqPR1T>
- dos Santos, R. G., Osorio, F. L., Crippa, J. A. S., Riba, J., Zuardi, A. W., y 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*, 6(3), 193–213. <https://doi.org/10.1177/2045125316638008>
- European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. (2015). Hallucinogenic mushrooms drug profile. Recuperado de <http://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/mushrooms>
- Gabriel, J., Švec, K., Koliňová, D., Tlustoš, P., y Száková, J. (2016). Translocation of mercury from substrate to fruit bodies of *Panellus stipticus*, *Psilocybe cubensis*, *Schizophyllum commune* and *Stropharia rugosoannulata* on oat flakes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 125, 184–189. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.12.009>
- Gartz, J. (1989). Biotransformation of tryptamine derivatives in mycelial cultures of *Psilocybe*. *Journal of Basic Microbiology*, 29(6), 347–352. <https://doi.org/10.1002/jobm.3620290608>
- Gartz, J. (1992). New aspects of the occurrence, chemistry and cultivation of European hallucinogenic mushrooms. *Annali dei Musei Civici di Rovereto*, 8, 107–124. Recuperado de <https://goo.gl/z2QsY4>
- Gartz, J., Allen, J. W., y 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. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(94\)90006-X](https://doi.org/10.1016/0378-8741(94)90006-X)
- Gartz, J., y 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. [https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(89\)80023-X](https://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., y 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. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2010.116>
- Guzmán, G., y Kasuya, T. (2004). The known species of *Psilocybe* (Basidiomycotina, Agaricales, Strophariaceae) in Nepal. *Mycoscience*, 45(4), 295–297. <https://doi.org/10.1007/s10267-004-0186-8>
- Halberstadt, A. L. (2015). Recent advances in the neuropsychopharmacology of serotonergic hallucinogens. *Behavioural Brain Research*, 277, 99–120. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.07.016>
- Hasler, F., Grimberg, U., Benz, M. A., Huber, T., y 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. <https://doi.org/10.1007/s00213-003-1640-6>
- Heim, R., y Wasson, R. G. (1958). *Les champignons hallucinogenes du mexique*. Paris: Muséum national d` histoire naturelle. Recuperado a partir de <https://goo.gl/FqSbrE>
- Hofmann, A., Heim, R., Brack, A., y Kobel, H. (1958). Psilocybin, ein psychotroper Wirkstoff aus dem mexikanischen Rauschpilz Psilocybe mexicana Heim. *Experientia*, 14(3), 107–109. <https://doi.org/10.1007/BF02159243>
- Hofmann, A., Heim, R., Brack, A., Kobel, H., Frey, A., Ott, H., ... Troxler, F. (1959). Psilocybin und Psilocin, zwei psychotrope Wirkstoffe aus mexikanischen Rauschpilzen. *Helvetica Chimica Acta*, 42(5), 1557–1572. <https://doi.org/10.1002/hlca.19590420518>
- Horita, a., y Weber, L. J. (1961). The enzymic dephosphorylation and oxidation of psilocybin and psilocin by mammalian tissue homogenates. *Biochemical pharmacology*, 7(1), 47–54. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90124-1](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90124-1)
- Innervisions. (s. f.). Kit de cultivo de setas “Basic” - Manual. Recuperado 9 de noviembre de 2016, a partir de [http://innervisions.nl/wp-content/themes/BLANK-Theme/manuals/grow-kit-basic/Mushroom\\_Grow\\_Kit\\_Basic\\_download\\_ES.pdf](http://innervisions.nl/wp-content/themes/BLANK-Theme/manuals/grow-kit-basic/Mushroom_Grow_Kit_Basic_download_ES.pdf)
- Johnson, M. W., Andrew Sewell, R., y Griffiths, R. R. (2012). Psilocybin dose-dependently causes delayed, transient headaches in healthy volunteers. *Drug and Alcohol Dependence*, 123(1–3), 132–140. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2011.10.029>
- Johnson, M. W., Garcia-Romeu, A., Cosimano, M. P., y Griffiths, R. R. (2014). Pilot study of the 5-HT2AR agonist psilocybin in the treatment of tobacco addiction. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, (September). <https://doi.org/10.1177/0269881114548296>
- Keay, S. M., y Brown, A. E. (1990). Colonization by Psilocybe semilanceata of roots of grassland flora. *Mycological Research*, 94(1), 49–56. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)81263-X](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)81263-X)
- McPherson, R. (1991). PF - Psilocybe Cubensis growing techniques.
- Moreno, F. a, Wiegand, C. B., Taitano, E. K., y 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. <https://doi.org/10.4088/JCP.v67n1110>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2012). *La depresión es una enfermedad frecuente y las personas que la padecen necesitan apoyo y tratamiento*. Ginebra. Recuperado a partir de [http://www.who.int/mediacentre/news/notes/2012/mental\\_health\\_day\\_20121009/es/](http://www.who.int/mediacentre/news/notes/2012/mental_health_day_20121009/es/)
- Oss, O. T., y Oeric, O. N. (1991). *Psilocybin: magic mushrooms grower`s guide* (1ª ed.). Oakland, California: Quick American Publishing. Recuperado a partir de <https://goo.gl/Z7tCpW>
- Patra, S. (2016). Return of the psychedelics: Psilocybin for treatment resistant depression. *Asian Journal of Psychiatry*, 24, 51–52. <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2016.08.010>
- Peredy, T., y Bradford, H. (2014). Mushroom, Psilocybin. En P. Wexlerl (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology* (Third, Vol. 3, pp. 418–419). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00759-4>
- Stafford, P. (2003). *Magic Mushrooms*. Oakland, EEUU: Ronin Publishing. Recuperado a partir de <https://goo.gl/YNf9dW>
- Tittarelli, R., Mannocchi, G., Pantano, F., y Romolo, F. S. (2015). Recreational Use, Analysis and Toxicity of Tryptamines. *Current neuropharmacology*, 13(1), 26–46. <https://doi.org/10.2174/1570159X13666141210222409>
- Tylš, F., Páleníček, T., y Horáček, J. (2014). Psilocybin - Summary of knowledge and new perspectives. *European Neuropsychopharmacology*, 24(3), 342–356. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2013.12.006>
- Vega-Villasante, F., Ruiz-González, L. E., Guerrero-Galván, S. R., y Guzmán-Dávalos, L. (2013). Evaluación de la toxicidad de Psilocybe cubensis (Agaricales, Basidiomycota) sobre Artemia franciscana (Crustacea, Anostraca). *Revista Iberoamericana de Micología*, 30(1), 54–56.

<https://doi.org/10.1016/j.riam.2012.06.001>

Vollenweider, F. X., Vontobel, P., Hell, D., y 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. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(98\)00108-0](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(98)00108-0)

Zhuk, O., Jasicka-Misiak, I., Poliwoda, A., Kazakova, A., Godovan, V. V., Halama, M., y Wiczorek, 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. <https://doi.org/10.3390/toxins7041018>

# Biocontroladores: una alternativa para el agro

## Biocontrollers: an alternative for agriculture

Pablo Roberto Vela Núñez<sup>1</sup>, Julio Amilcar Pineda Insuasti<sup>2</sup>, Astrid Stefanía Duarte Trujillo<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra, Ecuador.

<sup>2</sup> Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

<sup>3</sup> CasOrellana, Andalucía, Colombia.

Autor para correspondencia: [velapablo1981@gmail.com](mailto: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 tal manera que perjudica directa o 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 amplia gama de compuestos como insecticidas, fungicidas, herbicidas, raticidas, molusquicidas, nematocidas, 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  $10^3$

a  $10^5$  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 diana provocan disminución de los rendimientos y mayor susceptibilidad a 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 los pequeños agricultores acceder a 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 es 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 biológico en las prácticas agrícolas ha incrementado en los últimos 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 que usualmente suele atribuir sus enfermedades a otras causas. Además, muchas variedades de plantas mejoradas están adaptadas al uso de estos químicos 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 la economía (2,6%); lo que se debió principalmente al crecimiento de la 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 sus exportaciones 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 valor agregado de los productos. El 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

del grado de concientización de los 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 cuadruplica 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 mercado favorable 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 trabajadores, quienes lo desconocían (Griehop 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 de 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 reportó el uso de fungicidas como 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 de toxicidad. Adicionalmente, las prácticas de disposición de desechos contaminaban otros lugares no objetivo. Por tanto, el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones 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 gastos en pesticidas y 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, industria, organizaciones de desarrollo, 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 alta y 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 coliesterasa, 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 y 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 Recursos Genéticos (BRG) con cepas potenciales para uso 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](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.gov.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\\_Agriculture.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/Issues_papers/HLEF2050_Global_Agriculture.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](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=Ensayo+sobre+el+principio+de+la+población+maltus&ots=7Fe1kZGWIs&sig=PDUPeiBrMFyLbPDPD\\_rllJqw98&redir\\_esc=y#v=onepage&q=Ensayo+sobre+el+principio+de+la+población+maltus](https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=2aOuxVUqw6YC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Ensayo+sobre+el+principio+de+la+población+maltus&ots=7Fe1kZGWIs&sig=PDUPeiBrMFyLbPDPD_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 guía para su uso y acceso en el Ecuador* (1st ed.). Quito: EcoCiencia, INIAP, MAE y Abya Yala. Retrieved from <http://www.ecociencia.org/archivos/Biodiversidadyrecursosgeneticos-110922.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](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/openmeeting/downloads/1004629612\\_presentation\\_paperrio.doc](https://view.officeapps.live.com/op/view.aspx?src=http://sedac.ciesin.columbia.edu/openmeeting/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/EQU/ENBPA\\_2015-2030\\_Versión\\_final\\_21.07.2015.pdf](https://info.undp.org/docs/pdc/Documents/EQU/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](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 biológico de enfermedades 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\\_](http://sinagap.agricultura.gob.ec/pdf/estudios_agroeconomicos/panorama_agroeconomico_)

ecuador2015.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](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](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 Agrícola En Base a Microorganismos Benéficos. *INIA*, (29), 47–50. Retrieved from [http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos\\_compartidos/18429300612191129.pdf](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](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](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: alimentos 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](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](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=AH9JghsCNOgC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q=pampasic&f=false](https://books.google.es/books?id=AH9JghsCNOgC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_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](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 batrachus*. *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. *Revista 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](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](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 Caiza<sup>1</sup>, Julio Pineda Insuasti<sup>2</sup>, Astrid Stefanía Duarte Trujillo<sup>3</sup>, Claudia Patricia Soto Arroyave<sup>4</sup>, Camilo Alejandro Pineda Soto<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra. Ecuador.

<sup>2</sup> Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

<sup>3</sup> Organización Micológica Internacional (OMI), Colombia.

<sup>4</sup> Universidad Católica de Oriente (UCO), Rionegro, Colombia.

<sup>5</sup> Escuela Politécnica Nacional (EPN), Quito, Ecuador

Autor para correspondencia: [lucia\\_faz86@hotmail.com](mailto:lucia_faz86@hotmail.com)

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,

higrófono, compacto, carnoso, con olor farináceo y 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 promisorio como hongo comestible (Vivero, 2002) en 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 las 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 castaño-grisáceo (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 coloración puede ir del rosa al blanco 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, conformado por laminillas 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).

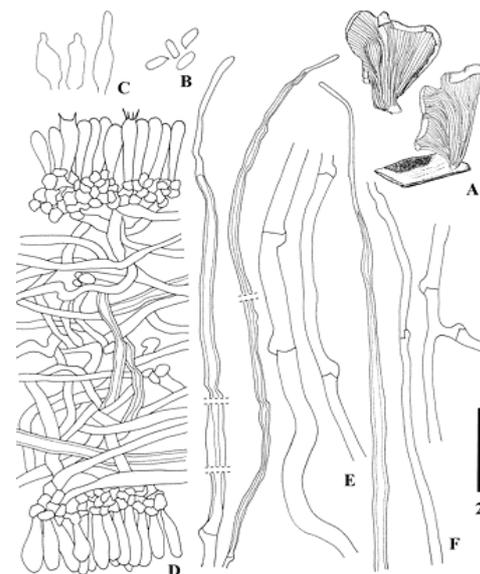
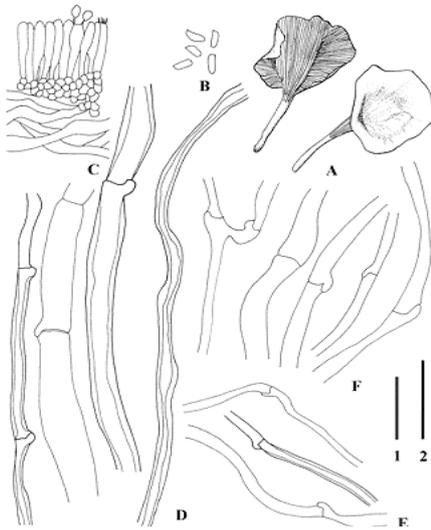
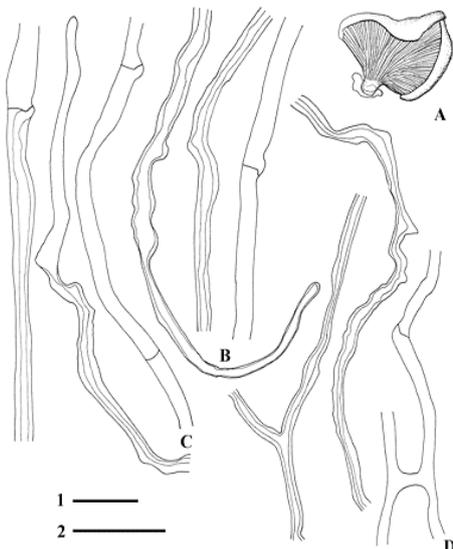


Figura 3. *P. djamor* var. *Roseus*. A. basidiocarpos; Esporas de B.; C. Cheilocystidia; Trama e himenio D. Hymenophoral; E. Las hifas del píleo; F. Las hifas del tallo. La barra de escala 1 = 5 cm para A; 2 barra de escala = 30 micras para B-F.



**Figura 4.** *P. djamor* var. *Cyathiformis*. A. basidiocarp; 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. basidiocarp; 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 tetraesporicos, a veces bi o triesporicos, 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 de transcripción del homeodominio y los 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 estererasas (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 Roysse, 2001).

El contenido nutricional de *P. djamor* es 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 macro y 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     | 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 ± 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 hongo presentan múltiples actividades biológicas: antioxidante (M. Guzmán *et al.*, 2009; Sasidhara y Thirunalasundari, 2014), hepatoprotectora (Zhang *et al.*, 2016), anticancerígena (Raman *et al.*, 2015), 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       | $\alpha$ -galactosidasa | (Hu <i>et al.</i> , 2016)  |
|               | Lipasas                 | (Velioglu y Ozturk, 2015)  |
|               | Celulasas               | (Murrieta, 2002)   |
|               | Lacasas                 | (Murrieta, 2002; Salmones y Mata, 2015)  |
|               | Manganeso-peroxidasas   | (Murrieta, 2002)   |
|               | Ribonucleasas           | (Wu <i>et al.</i> , 2010)  |
| Polisacáridos | ---                     | (Zhang <i>et al.</i> , 2016)   |
| Flavonoides   | Quercetina              | (Nattoh, Musieba, Gatebe, y Mathara, 2016; Sasidhara y Thirunalasundari, 2014) |
| Terpenos      | Sesquiterpen-lactonas   | (Valencia del Toro <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 2016)        |
| Vitaminas               | Ácido ascórbico | (Sasidhara y Thirunalasundari, 2014) |
| Biosurfactantes         | ---             | (Velioglu y Ozturk, 2015)            |
| Reductor del colesterol | Esteroles       | (Angarita <i>et al.</i> , 2013)      |
|                         | Ácido linoleico | (Angarita <i>et al.</i> , 2013)      |
| Compuestos esteroidales | ---             | (M. Guzmán <i>et al.</i> , 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 (Kalmış, 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 y 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 Juárez Autónoma de Tabasco. Recuperado a partir de [https://books.google.com.co/books?id=gA4E8I5JMEkC&printsec=frontcover&hl=es&source=gs\\_bse\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.co/books?id=gA4E8I5JMEkC&printsec=frontcover&hl=es&source=gs_bse_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* (2ª 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 Accesión: 32600. Recuperado a partir de <http://www.darwinfoundation.org/datazone/collections/44368/>
- Fundación Charles Darwin. (2007). Pleurotus djamor (Rumph. ex Fr.) Boedijn. Numero de Accesión: 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. (Agaricomycetidae): 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 químico 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](http://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80810-1)
- Hawksworth, D. L. (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1· 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  $\alpha$ -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 Hypercholesteremic Rats. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5(2), 581–588.
- Kalmış 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](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](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](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 Micología*, 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 Micología*, 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\\_Pleurotus\\_spp](https://www.researchgate.net/publication/256526787_Book_La_biologia_y_el_cultivo_de_Pleurotus_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 physico-chemical 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 Trujillo<sup>1</sup>, Julio Amilcar Pineda Insuasti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad de los Llanos. Villavicencio, Colombia.

<sup>2</sup> Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA). Ibarra, Ecuador.

Autor para correspondencia: [stefan-ing.agroind@hotmail.com](mailto:stefan-ing.agroind@hotmail.com)

Recibido: octubre 15 de 2019

Aceptado: diciembre 26 de 2019

#### RESUMEN

Las sustancias bioactivas de *Pleurotus 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 2<sup>3</sup> 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:  $E = -0,0636667 \cdot FA + 31,9242$ .

**PALABRAS CLAVE:** extractos, eficiencia, optimización.

#### ABSTRACT

The bioactive substances of *Pleurotus ostreatus* can be extracted by maceration in hydroalcoholic solvents. However, the operating parameters have not been 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 by 60% ethanol and powder mushroom in 1:10 ratio, and an experimental design 2<sup>3</sup> 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:  $E = -0.0636667 \cdot FA + 31.9242$ .

**KEYWORDS:** extracts, efficiency, optimization.

## 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 del consumidor (Gomes-Corrêa *et al.*, 2016). Se ha reportado actividad biológica anticancerígena (Deepalakshmi y Mirunalini, 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 ser empleados como materia prima para la formulación de otras preparaciones (Azmir *et al.*, 2013), como muestra para el estudio de componentes bioactivos y 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 y Dos Santos, 2000). Para 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 influyen en la maceración, independientemente de la escala de 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 °C, adoptando las consideraciones técnicas 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 2<sup>3</sup>, 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).

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

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

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.

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

## 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

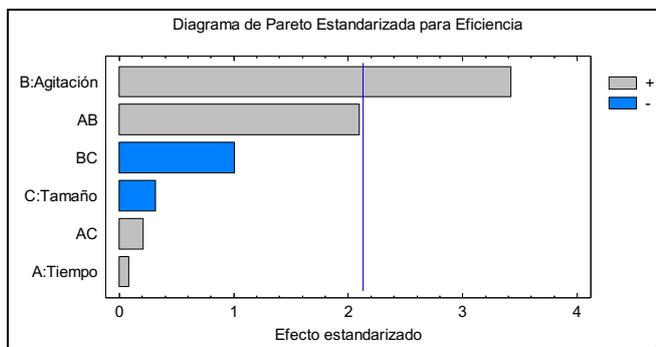
En la tabla 2, se presenta el ANOVA, que evalúa la variabilidad de eficiencia en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, un efecto tiene el valor-P 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**

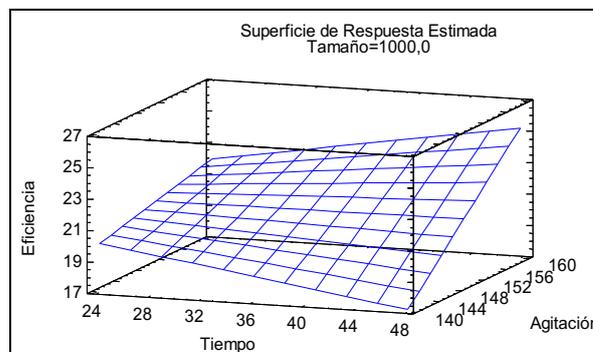
En la tabla 2, se presenta el trayecto de máximo ascenso (o descenso). Este es el trayecto, desde el centro de la región experimental actual, a través del cual la respuesta estimada cambia más rápidamente con un cambio menor en los factores experimentales. Indica buenas locaciones para correr experimentos 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 (h) | FA (rpm) | TP (micras) | Predicción 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 han 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 a ser 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 3 h y 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, y Acharya, 2013) 3,8% y 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](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 Planeación* (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.). Brasília. Retrieved from <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=Ink&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 antineoplastic 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). Brasília: 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., Zabarás, D., ... Münch, G. (2014). Anti-inflammatory effects of five commercially available mushroom species determined in lipopolysaccharide and interferon- $\gamma$  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 antioxidative 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  $\beta$ -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](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(16)61071-X)
- Nikšić, 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](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-Sołtys, M., Nowak, J., Rzymowska, J., Topolska, J., Sławińska, 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](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 nutraceuticos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 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>
- Szwengel, A., & Stachowiak, B. (2016). Deproteinization of water-soluble  $\beta$ -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 Edison Gómez Andrade<sup>1</sup>, Julio Amilcar Pineda Insuasti<sup>2</sup>, Ana Checa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra, Ecuador.

<sup>2</sup> Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

Autor para correspondencia: [williamedisson@yahoo.es](mailto: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 pigmentos rojo-anaranjado como la 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 and 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).

*Pycnoporus spp.* es un género representativo de la familia Polyporaceae. Según y 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 *et al.*, 2000). Adicionalmente, dichos metabolitos presentan actividad antiviral, antioxidante, antifúngica, antibacteriana, antihemorrágica, entre otras, de gran 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 Cocha, 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 (Borredes, 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 confluentes, 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 del carpóforo (Asociación Micológica Fungípedia, 2016; Papinutti, 2013).

Una vez reconocido el hongo y recolectado su cuerpo fructífero se deben tomar apuntes acerca de los diferentes sustratos 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   |
|--------------------------------|---------------------------------------|--|
| <i>Pycnoporus sanguineus</i>   | Madera de casuarina y mango           | (Cruz Muñoz <i>et al.</i> , 2015)                          |
|                                | Madera contaminada con petróleo       | (Acosta <i>et al.</i> , 2010; Quiroz <i>et al.</i> , 2009) |
|                                | Troncos de palma                      | (Achenbach y Blumm, 1991)                                  |
|                                | Encino                                | (Chanona <i>et al.</i> , 2007)                             |
|                                | Madera de <i>Parkia oppositifolia</i> | (Esposito <i>et al.</i> , 1993)                            |
| <i>Pycnoporus cinnabarinus</i> | Madera de pino                        | (Eggert <i>et al.</i> , 1996)                              |
|                                | Troncos quemados                      | (Guzmán, 1979)   |
| <i>Pycnoporus coccineus</i>    | Eucalipto                             | (Machuca y Ferraz, 2001)                                   |

## ASLAMIENTO 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   |
|--------------------------------|---|--|
| <i>Pycnoporus sanguineus</i>   | 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   | (Acosta-Urdapilleta <i>et al.</i> , 2010; Cruz Muñoz <i>et al.</i> , 2015)   |
|                                | Agar Extracto de Malta  | (Acosta-Urdapilleta <i>et al.</i> , 2010; Atteke <i>et al.</i> , 2013; Cruz Muñoz <i>et al.</i> , 2015; Machuca y Ferraz, 2001; Schliephake <i>et al.</i> , 1993; Uzan <i>et al.</i> , 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)   |
| <i>Pycnoporus cinnabarinus</i> | Agar Extracto de malta  | (American Type Culture Collection, 2016a)  |
|                                | Agar Extracto de levadura   | (American Type Culture Collection, 2016b)  |

| Especie | Medio de cultivo   | Referencia             |
|---------|--------------------|------------------------|
|         | Agar Papa Dextrosa | (FuQuan y QiJin, 2008) |

## IDENTIFICACIÓN

Microscópicamente, se pueden identificar cuatro tipos 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. sanguineus* y *P. cinnabarinus* se diferencian en su sistema de hifas, el primero es dimítico y el segundo es trimítico (Asociación Micológica Fungipedia, 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

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

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.

| Metabolito   | Especie   | Referencia  |
|--|---|---|
| Lacasas  | <i>P. cinnabarinus</i><br><i>P. coccineus</i><br><i>P. sanguineus</i> | (Atteke <i>et al.</i> , 2013; Berrio <i>et al.</i> , 2007; Camarero <i>et al.</i> , 2004; Camarero <i>et al.</i> , 2005; Eugenio <i>et al.</i> , 2010; Lu <i>et al.</i> , 2007; Machuca y Ferraz, 2001; Madhavi y Lele, 2009; Munusamy <i>et al.</i> , 2008; Ramírez <i>et al.</i> , 2014; Sigoillot <i>et al.</i> , 2002, 2004; Xu <i>et al.</i> , 2000) |
| Peroxidasas extracelulares (Lignin, Versátil y Manganeso Peroxidasa) | <i>P. cinnabarinus</i><br><i>P. coccineus</i>                         | (Levasseur <i>et al.</i> , 2014; Machuca y Ferraz, 2001)  |
| Celulasas ( $\beta$ -glucosidasas Xilanasas)                         | <i>P. cinnabarinus</i><br><i>P. coccineus</i>                         | (Bey <i>et al.</i> , 2011; Machuca y Ferraz, 2001; Sigoillot <i>et al.</i> , 2002)  |
| Celobiosa deshidrogenasa   | <i>P. cinnabarinus</i>  | (Bey <i>et al.</i> , 2011; Sigoillot <i>et al.</i> , 2002)  |
| Galactosidasa  | <i>P. cinnabarinus</i>  | (Bey <i>et al.</i> , 2011; Ohtakara, Hayashi, y Mitsutomi, 1981)  |
| DDMP   | <i>P. sanguineus</i>  | (Teoh <i>et al.</i> , 2011)   |
| Poliporina   | <i>P. sanguineus</i>  | (Böse, 1946; Henrique Rosa <i>et al.</i> , 2003)  |
| Cinabarina (3-fenoxacina)  | <i>P. sanguineus</i><br><i>P. cinnabarinus</i>                        | (Achenbach y Blumm, 1991; Acosta <i>et al.</i> , 2010; Cruz Muñoz <i>et al.</i> , 2015; Dias y Urban, 2009; Smânia <i>et al.</i> , 2003; Smânia <i>et al.</i> , 1998)   |
| O-acetyl-cinabarina  | <i>P. sanguineus</i>  | (Achenbach y Blumm, 1991)   |

| Metabolito                    | Especie  | Referencia  |
|-------------------------------|--|---|
| Ácido cinabaránico            | <i>P. cinnabarinus</i><br><i>P. sanguineus</i> | (Achenbach y Blumm, 1991; Acosta <i>et al.</i> , 2010; Dias y Urban, 2009; Gocenoglu y Pazarlioglu, 2014) |
| Tramesanguina                 | <i>P. sanguineus</i>                           | (Acosta <i>et al.</i> , 2010)   |
| Ácido cinabaránico            | <i>P. cinnabarinus</i>                         | (Dias y Urban, 2009)  |
| Pycnoporina                   | <i>P. cinnabarinus</i>                         | (Dias y Urban, 2009)  |
| 3-1 fenoxacina                | <i>P. sanguineus</i>                           | (Cruz <i>et al.</i> , 2015)   |
| 2-amino-fenoxazin-3-ona       | <i>P. sanguineus</i>                           | (Achenbach y Blumm, 1991)   |
| Pycnosanguina éter fenoxacina | <i>P. sanguineus</i>                           | (Achenbach y Blumm, 1991)   |
| Ergosterol                    | <i>P. cinnabarinus</i><br><i>P. sanguineus</i> | (Achenbach y Blumm, 1991; Dias y Urban, 2009)   |
| 5-6- dihidroergosterol        | <i>P. sanguineus</i>                           | (Achenbach y Blumm, 1991)   |
| Ergosterol peróxido           | <i>P. sanguineus</i>                           | (Achenbach y Blumm, 1991)   |
| Vainillina                    | <i>P. cinnabarinus</i>                         | (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 °C para que no pierda su viabilidad (Borderes *et al.*, 2011; Schliephake *et al.*, 1993). Existen otros métodos que también pueden emplearse: Inmersión en agua 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\\_con\\_potencial\\_biotecnologico](https://www.researchgate.net/publication/235938991_Pycnoporus_sanguineus_un_hongo_con_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/1962\\_alexopoulosBeneke\\_laboratoryManualForIntroductoryMycology.pdf](https://ia600300.us.archive.org/23/items/Laboratory_Manual_for_Introductory_Mycology/1962_alexopoulosBeneke_laboratoryManualForIntroductoryMycology.pdf)
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). Phylum Basidiomycota order Aphyllophorales, polypores, Chantharellales, 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™). 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](http://www.asambleanacional.gov.ec/documentos/constitucion_de_bolsillo.pdf)
- Asociación Micológica Fungipedia. (2016). *Pycnoporus cinnabarinus*. Retrieved August 3, 2016, from <https://www.fungipedia.org/hongos/pycnoporus-cinnabarinus.html>
- Atteke, C., Mounquengui, 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](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://coleccionbiologicas.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](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](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 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](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](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](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](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  $\beta$ -

- 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 Boletín Biológica*, 29(7), 32–33. Retrieved from [http://www.boletinbiologica.com.ar/pdfs/N29/papinutti\(micologica29\).pdf](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., Martínez, 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., & Cocha, 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](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](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](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/agris-search/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<sup>1</sup>, Julio Amilcar Pineda Insuasti<sup>2</sup>, Astrid Stefanía Duarte Trujillo<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra, Ecuador.

<sup>2</sup> Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

<sup>3</sup> 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 algunos sectores de la población, principalmente adolescentes, aunque su posesión es ilegal (Vega *et al.*, 2013). Los hongos alucinógenos están disponibles en forma fresca, conserva (por 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 promisoría, 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.*

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

En la literatura se han reportado varias pruebas de campo para la identificación de especies psicocíbicas. 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 psicocíbicas 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 psicocibina; 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

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 azul-violeta 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 2. *P. cubensis*



Figura 4. *P. semilanceata*



Figura 3. *P. pelliculosa*



Figura 5. *P. mexicana*

**Tabla 2.** Características macroscópicas de *Psilocybe* spp.

| Especies                 | Características microscópicas  |  |   |                             |
|--------------------------|--|--|---|-----------------------------|
|                          | Estípite   | Píleo  | Lamelas   | Referencia                  |
| <i>P. semilanceata</i>   | Sólido, color blanco a amarillo  | Cónico a obtuso, color café rojizo   | Adnatas a anexas  | (Cole, 2003)                |
| <i>P. cubensis</i>       | 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) |
| <i>P. aztecorum</i>      | Corto  | Convexo  | Verde grisáceas   | (Stamets, 1996)             |
| <i>P. mexicana</i>       | Hueco, color rosa amarillento  | Cónico a campanulado, color café a ocre  | Ondeada, adnata o anexa   | (Cole, 2003)                |
| <i>P. baeocystis</i>     | Céntrico, curvado y color café   | Ondulado y parecido a la tapa de una botella   |   | (Stafford, 2003a)           |
| <i>P. coprophila</i>     | 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)             |
| <i>P. squamosa</i>       | Cilíndrico, céntrico, de color crema, con anillo fibroso   | Convexo, ligeramente umbonado, sedoso, amarillo  | Adnadas, anexas y color lila  | (Hernández, 2007)           |
| <i>P. percevalii</i>     | 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)     |
| <i>P. pseudobullacea</i> | 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                   |
| <i>P. samuiensis</i> | Hueco, liso a ligeramente Subbulboso, de color blanco a paja pálido con fibrillas blancas | Subconvexa a Cónica-convexa, umbonado o campanulado, estriado, sulcado en el margen e higrófono, de color marrón rojizo a paja en fresco y arcilla cuando está seco. | Adnadas a anexas, de color arcilla en fresco y marrón violáceo a marrón chocolate con bordes blancos cuando está seco. | (Gartz <i>et al.</i> , 1994) |

## 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).

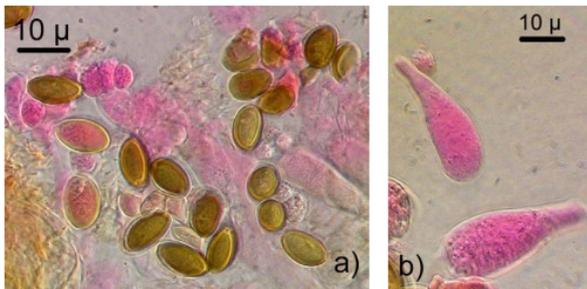
El medio de cultivo tiene que haber sido previamente esterilizado a 65 °C durante 30 minutos; una temperatura mayor provoca la caramelización de los azúcares, lo que inhibe el crecimiento del micelio y la producción de psilocibina (Gottlieb, 1976). Se seleccionan las cepas de mayor y más rápido crecimiento, 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 o dorado a amarillento. La muestra se sumerge primero en solución amoniaca 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 inter-branquial (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 tetrasporos 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 estípote (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 spp.* produce algunas sustancias como psilocibina (4-fosforiloxi-N, N-dimetiltriptamina), psilocina (4-hidroxi-N, N-dimetiltriptamina), baeocistina (4-fosforiloxi-N-metiltriptamina), norbaeocistina (4-fosforiloxi-triptamina) (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, 2015; Gottlieb, 1976; Leung y Paul, 1966), 4-hidroxitriptamina (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 empleado ancestralmente por sus propiedades neurotrópicas que le dan un carácter mágico-religioso; dichas propiedades son otorgadas por las triptaminas que poseen, principalmente psilocibina, la cual ha mostrado potencial farmacológico en el tratamiento de trastornos psiquiátricos, por lo cual la 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 de 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. La 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*. Copenhagen, 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](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 Press ix.
- 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](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](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](http://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80810-1)
- Hawksworth, D. L. (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1· 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](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-HT<sub>2A</sub>R 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](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](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](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 Mushroom*. 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-uOpRE8t&sig=V2eBNytFpWygfBV2ZWuJzoHXUVs&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjIwKuJ04TQAhWDKCYKHWZdDoU4ChDoAQgoMAU#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-uOpRE8t&sig=V2eBNytFpWygfBV2ZWuJzoHXUVs&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjIwKuJ04TQAhWDKCYKHWZdDoU4ChDoAQgoMAU#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-uOpRE8t&sig=V2eBNytFpWygfBV2ZWuJzoHXUVs&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjIwKuJ04TQAhWDKCYKHWZdDoU4ChDoAQgoMAU#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 Micología*, 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 [<sup>11</sup>C]raclopride. *Neuropsychopharmacology*, 20(5), 424–433. [http://doi.org/10.1016/S0893-133X\(98\)00108-0](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](http://doi.org/10.1016/S0015-7368(83)71545-8)
- Zhuk, O., Jasicka-Misiak, I., Poliwoda, A., Kazakova, A., Godovan, V. V., Halama, M., & Wiczorek, 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<sup>1</sup>, Jimmy Nuñez<sup>1</sup>, Julio Amilcar Pineda Insuasti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra, Ecuador.

<sup>2</sup> Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

Autor para correspondencia: [salomeyepetz@gmail.com](mailto:salomeyepetz@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 físicoquímicamente los residuos para identificar aplicaciones potenciales. Para ello se muestrearon los residuos por el método de cuarteo por volumen y se determinaron los componentes estructurales mediante análisis proximal. Se encontró que los residuos del mercado son aptos nutricionalmente para la producción de microorganismos 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 physico-chemically 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.

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 (CH<sub>4</sub>), 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 de biocombustible por las industrias azucareras. Existen diversas metodologías de caracterización aplicadas en cada región y país con diferentes criterios de muestreo y parámetros, que se adaptan a las necesidades de cada caso (Martínez, 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.

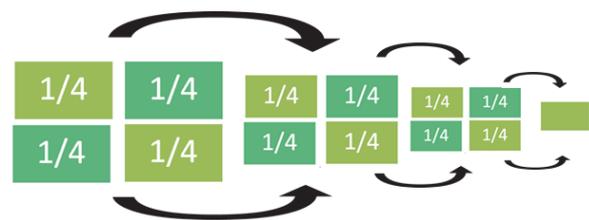


Fig. 1. Método de cuarteo.

### 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.

| H    | 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 al 12% (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.

| Ca   | P    | 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 paplero 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., Rodríguez, M., Salvador, J., & Martínez, 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 biológico a base de una cepa de hongo Trichoderma ssp*. Venezuela.
- González, I., Infante, D., Peteira, B., & Martínez, B. (2010). *CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE AISLAMIENOS 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 Trichoderma 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 Climatológico 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 Review 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 residuos de papa, para la producción de Trichoderma*. Ambato - Ecuador.
- Rodriguez, I., Torres, L., & Marinez, C. (2005). *Caracterización del producto de la fermentación sólida de Trichoderma 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 apellidos<sup>1</sup>, Nombre y apellidos<sup>2</sup> (subrayar el responsable de la correspondencia)

<sup>1</sup>Institución, ciudad, País

<sup>2</sup>Institución, 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 [biorrefineria.ceba@gmail.com](mailto: biorrefineria.ceba@gmail.com) 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 subdivide 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 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.

### **Contacto:**

correo: [biorrefineria.ceba@gmail.com](mailto: biorrefineria.ceba@gmail.com)

# PULPA DE SÁBILA ALOE VERA GEL 1X

**BIODIVERSITY®**  
100% Natural



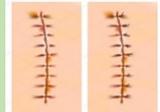
www.biodiversity.com.ec  
Cel.0995797813 / 0997589267  
Ibarra-Ecuador

## BENEFICIOS DE LA SÁBILA<sup>1</sup>

La hoja de sábila ha sido usada por los griegos, romanos, egipcios, hebreos, árabes y las culturas africanas. Su sabia o acibar es uno de los medicamentos más antiguos conocidos por el hombre. Contiene vitaminas A, C, E, B1, B2, B3, B6 y B12, Ácido fólico y minerales (calcio, magnesio, zinc, cromo, selenio, potasio, manganeso, y otros). Aminoácidos y ácidos grasos.



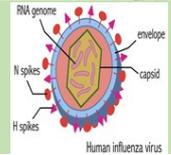
**Cicatrizante:** el aloe hidrata, nutre y suaviza la piel por su gran capacidad para retener el agua.



**Regenerador:** acelera la producción de colágeno en la piel.



**Antiviral:** contiene un polisacárido, carrisyn, que refuerza el sistema inmunitario y frena la progresión de los virus.



**Anticancerígeno:** sus polisacáridos incrementan la producción de óxido nítrico, que tiene propiedades antitumorales.



**Contra quemaduras:** algunos componentes de la planta, como el ácido acetilsalicílico, le proporcionan un efecto anestésico y analgésico.



**Digestivo:** su consumo limpia el tracto digestivo y ayuda a las personas que padecen de estreñimiento y diarrea.



**Protector del corazón:** regula la presión arterial gracias al germanio que contiene. Oxigena la sangre ayudándola a difundir los glóbulos rojos.



**Anti colesterol:** estudios sugieren que tomar 10 ml a 20 ml diarios de aloe por vía oral durante 12 semanas puede disminuir el colesterol total en alrededor de 15 %.



**Baja el azúcar:** el aloe vera funciona como agente regulador de los niveles de glucosa en personas con diabetes, según ciertas investigaciones.



**Contra la psoriasis:** la crema de aloe es igual de efectiva que el tratamiento convencional para reducir la irritación de la piel.



<sup>1</sup> <https://asocialoe.com/wp-content/uploads/2016/01/ventajas-aloe-vera-infograf%C3%ADa1.jpg>

**Misión:**

Producir y comercializar bioproductos, mediante la aplicación de las técnicas modernas de la bioingeniería, que permita el máximo aprovechamiento de los recursos de la biodiversidad ecuatoriana en el marco del Desarrollo Global Sustentable.

**Visión:**

Ofrecer un portafolio de bioproductos que contribuyan con el bienestar del ser humano y del planeta.

**Valores:**

integridad, calidad, responsabilidad, liderazgo, colaboración, diversidad.

Biodiversity® | Dirección: Periférico Sur s/n, San Antonio, [www.biodiversity.com.ec](http://www.biodiversity.com.ec), [info@biodiversity.com.ec](mailto:info@biodiversity.com.ec), Cel. 099 7589267, 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).

