

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES Y AGRIMENSURA

TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN

LICENCIATURA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**“Producción de hongos medicinales del género
Ganoderma spp. en residuos provenientes de la actividad
agroindustrial de la provincia de Corrientes”**

Autora: Diana Verónica Vanesa Sena

Director: Nicolás Niveiro

Codirectora: Natalia Andrea Ramirez

Lugar: Laboratorio de Micología
Instituto de Botánica del Nordeste.

Corrientes, Argentina

2023

Agradecimientos

A mis directores Nicolás Niveiro y Natalia Ramirez por su guía, apoyo y paciencia, sin quienes no hubiese sido posible este trabajo. Agradezco a Jaqueline por su ayuda, ánimo constante y brindarme su tiempo y cariño, a Alex por sus ideas y colaboración.

A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, al Instituto de Botánica del Nordeste y al Laboratorio de Micología por brindarme los materiales necesarios y permitirme desarrollar mi trabajo en sus instalaciones.

Quiero hacer una mención especial al equipo del Laboratorio de Micología, en particular a los profesores Orlando Popoff y Nicolás Niveiro, por su cálida recepción y todas las enseñanzas en el fascinante mundo de los hongos.

A mi familia, compañeros y amigos por su apoyo incondicional.

Dedicatoria

Este trabajo se lo dedico a Dios, a mis padres, a Pablo y a Cristian, con todo mi corazón.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
OBJETIVOS	4
HIPÓTESIS DE TRABAJO	4
MATERIALES Y MÉTODOS.....	5
Materiales.....	5
Cepas utilizadas	5
Semillas utilizadas para evaluar la producción de inóculo	5
Sustratos utilizados para evaluar la producción de basidiomas	5
Fases del cultivo de <i>Ganoderma</i>	5
Colección y aislamiento de cepas nativas	5
Ensayo 1. Determinación del sustrato y procedimiento óptimo para la producción de inóculo	6
Repique de cepas en placas de Petri	6
Mediciones del diámetro micelial	6
Variables evaluadas.....	7
Preparación de inóculo	7
Parámetros evaluados	8
Mediciones de los tubos de corrida	8
Ensayo 2: Evaluación de sustratos para la producción de basidiomas.....	9
Obtención de sustratos	9
Preparación de sustratos	10
Inoculación	10
Incubación de sustratos	10
Inducción de formación de primordios	11
Organización de las bolsas	11
Cosecha	12
Toma de datos postcosecha	12
Ensayo 3: Evaluación del efecto de la temperatura en la producción de basidiomas de <i>Ganoderma</i>	13
RESULTADOS.....	14
Ensayo 1- Determinación del sustrato y procedimiento óptimo para la producción de inóculo en <i>Ganoderma</i> spp.	14
Determinación del crecimiento micelial en medio APG	14
Determinación del crecimiento micelial en sustratos para la producción de inóculo.....	15
Morfología micelial	18
Contaminación de inóculo.....	18
Ensayo 2- Determinación de los sustratos locales óptimos para la producción de fructificaciones en tres cepas de <i>Ganoderma</i> spp.....	19

Producción de basidiomas	20
Contaminación de sustratos de fructificación	22
Ensayo 3- Evaluar el efecto de la temperatura en la producción de basidiomas de <i>Ganoderma</i>	23
DISCUSIÓN	25
CONCLUSIONES	27
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

RESUMEN

El hongo medicinal *Ganoderma* P. Karst. es reconocido por sus propiedades terapéuticas y se utiliza para promover la longevidad y tratar diversas enfermedades. Sin embargo, en Argentina, la producción y comercialización de estos hongos es incipiente debido a la baja popularidad de su consumo. En la provincia de Corrientes, que se basa principalmente en actividades agrícolas y forestales, se generan grandes cantidades de subproductos lignocelulósicos que podrían utilizarse como sustratos para el cultivo de *Ganoderma* spp. El objetivo de este estudio fue establecer las condiciones óptimas para la producción de dos especies de hongos *Ganoderma*, *G. lucidum* (Curtis) P. Karst. y *G. resinaceum* Boud., utilizando residuos agroindustriales de la provincia de Corrientes. Se llevaron a cabo pruebas de crecimiento micelial de diferentes cepas en diferentes sustratos, evaluando su eficiencia biológica y tasa de productividad. Además, se analizó la influencia de la temperatura en la eficiencia biológica. La elección del sustrato y las cepas tuvieron un impacto en el crecimiento micelial. Se obtuvo que las cepas comerciales presentaron parámetros más idóneos que las cepas nativas. El mijo y la avena fueron más eficientes, no se encontró diferencias significativas en el método de hidratación para la producción de inóculo. Los sustratos basados en la paja de arroz, cascarilla y salvado de arroz mostraron los mejores resultados, seguidos de la hojarasca de fresno y el aserrín de eucalipto. Por otro lado, la paja de arroz utilizada como único sustrato presentó un rendimiento bajo. La temperatura no demostró ser un factor importante, pero se observó una preferencia de *G. resinaceum* por 25 °C y de *G. lucidum* por 30 °C. Este estudio es pionero en la provincia de Corrientes, ya que utilizó los residuos disponibles como sustrato para el cultivo de *Ganoderma*. Los resultados obtenidos sientan las bases para futuros estudios que busquen optimizar la producción de *Ganoderma* en la región.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, ha habido un creciente interés en el uso de materiales lignocelulósicos provenientes de subproductos agroindustriales para el cultivo de hongos. Esto ha llevado a numerosas investigaciones a evaluar la idoneidad de diferentes sustratos. Los subproductos agroindustriales son difíciles de degradar y a menudo se incineran, lo que causa problemas ambientales y contribuye a la generación de gases de efecto invernadero. Una alternativa prometedora para estos residuos vegetales, como aserrín de madera, pajas de cereales, cascarillas, bagazo de caña y restos de poda, es utilizarlos como sustratos para el cultivo de hongos. Los hongos lignícolas desempeñan un papel importante en la estabilidad de los ecosistemas, ya que son capaces de degradar la lignocelulosa, una fuente de carbono muy abundante en la naturaleza. A través de enzimas digestivas, los hongos descomponen los compuestos lignocelulósicos en sustancias más simples, que pueden ser utilizadas como fertilizantes para los suelos. Además, durante este proceso se producen fructificaciones (basidiomas), que pueden tener usos alimentarios y medicinales (Reyes *et al.* 2004).

El género *Ganoderma* P. Karst. pertenece al phylum Basidiomycota, orden Polyporales, familia Ganodermataceae, y es un grupo de hongos cosmopolitas y versátiles que crecen en diversos ambientes. Cuenta con alrededor de 200 especies, y se les conoce con diferentes nombres como Lingzhi, Reishi o Mannentake (Du *et al.* 2019, Smith *et al.* 2002). Presentan hábito xilófago y basidiomas duros, suelen crecer en forma de abanico o de pezuña sobre troncos, vivir como saprobios en tocones y raíces en descomposición, o crecer como parásitos facultativos de árboles vivos, específicamente árboles de hoja caduca (Batra *et al.* 2013). Su relevancia radica en que incluye especies de importancia medicinal, económica y ecológica (Álvarez Burgos y Lara Hidalgo 2006).

Los cuerpos fructíferos, esporas y micelios de *Ganoderma* contienen diversos componentes activos aislados y purificados a los que se les atribuyen beneficios medicinales. Algunos de los componentes destacados son:

- **Polisacáridos:** se han identificado más de 200 polisacáridos en *Ganoderma*, principalmente homoglicanos (α/β -glucanos), glicoproteínas y heteropolisacáridos con diferentes combinaciones de glucosa, galactosa, fucosa, manosa y arabinosa (Gong *et al.* 2019). Estos polisacáridos se han asociado con propiedades antitumorales, antioxidantes (Jiang *et al.* 2012, Cör *et al.* 2018), hipoglucemiantes (Zhu *et al.* 2013, 2016) y antiinflamatorias (Vazirian *et al.* 2014).
- **Triterpenoides:** se han aislado más de 130 triterpenoides diferentes de las fracciones no polares de *Ganoderma*. Estos compuestos incluyen ácidos ganodéricos, ganoderioles, ácidos ganolúcidos, lucidonas y ácidos lucidénicos (Cole y Schweikert 2003). Los triterpenoides han mostrado propiedades anticancerígenas (Li *et al.* 2005), inhibición del óxido nítrico, actividad antioxidante, antifibrosis, antialérgica, anti-AChE, antimicrobiana y citotóxica (Gong *et al.* 2019).

- **Esteroides:** *Ganoderma* contiene ergosteroles, estigmasteroles, sitosterol y daucosterol. Los ergosteroles son los compuestos más comunes del género *Ganoderma*, y se han aislado más de 30 ergosteroles diferentes (Gong *et al.* 2019). Se ha investigado su potencial antitumoral (Yazawa *et al.* 2000).

De todas las especies de *Ganoderma*, tradicionalmente, *G. lucidum* (Curtis) P. Karst. fue considerada la más importante desde el punto de vista médico, sin embargo, estudios realizados en los últimos años descubrieron que *G. lucidum* es un complejo compuesto por numerosas especies con diferente distribución (Costa-Rezende *et al.* 2020) y que las propiedades medicinales de lo que se consideraba *G. lucidum* s.l., podrían variar según las diferentes cepas, origen, o sustratos seleccionados para su cultivo. Esta especie ha sido consumida en China, Japón, Corea y otros países asiáticos durante más de 4000 años (Zhou *et al.* 2012), para promover la longevidad, como suplemento dietético y para tratar enfermedades como hepatitis crónica, nefritis, hiperlipemia, bronquitis, asma, diabetes, cáncer, entre otras (Batra *et al.* 2013).

La especie *Ganoderma resinaceum* Boud. es menos conocida y estudiada que *G. lucidum*, se explota con mayor frecuencia en Asia y África para tratar enfermedades relacionadas con la oxidación y la inflamación, como la hipoglucemia y las enfermedades cardiovasculares y hepáticas. Estudios recientes han demostrado su actividad antioxidante, antirradical, antiedematosa y su capacidad para inhibir la desnaturalización de proteínas (Sipping *et al.* 2022).

En cuanto al cultivo de *Ganoderma*, se han realizado estudios para optimizarlo a nivel mundial (Sone *et al.* 1985, Smith *et al.* 2002, Peksen y Yakupoglu 2008, Dritsa *et al.* 2009, Zhou *et al.* 2012, Liu *et al.* 2018), utilizando tanto técnicas de fermentación en estado sólido (SSF) como en estado líquido (LSF) (Sudheer *et al.* 2019). La SSF permite convertir grandes volúmenes de residuos agrícolas y forestales en productos medicinales a bajo costo (Hsieh y Yang 2004). En Argentina, el Laboratorio de Hongos Comestibles y Medicinales (LHCM) del CERZOS (CONICET-UNS) ha llevado a cabo diversos estudios, utilizando cáscara de semilla de girasol como ingrediente principal para optimizar el crecimiento y la producción de fructificaciones de *Ganoderma* (González-Matute *et al.* 2002). También se han realizado investigaciones para mejorar las técnicas de cultivo, técnicas de conservación y producción de inóculo, así como para explorar los posibles usos de *G. lucidum* (Bidegain *et al.* 2014, Bidegain 2017, Postemsky *et al.* 2017). Sin embargo, hasta el momento, no se han realizado estudios en el norte argentino, utilizando cepas nativas adaptadas a condiciones climáticas locales y residuos agroindustriales de origen local (Albertó *et al.* 2010). La producción y comercialización de los hongos medicinales en Argentina es todavía incipiente debido a los rendimientos más bajos en comparación con otros hongos comestibles cultivables y a la menor popularidad de su consumo en la población en comparación con hongos como la gírgola o el shiitake (Bidegain 2017).

La estructura productiva de la provincia de Corrientes se basa en actividades agrícolas y forestales, así como en la industrialización de productos primarios en donde se destaca la transformación de la madera, el procesamiento de cítricos, arroz, tabaco, yerba mate y té (PISEAR 2016) que generan una inmensa biomasa de subproductos lignocelulósicos de desecho, que en

combinaciones son sustratos potenciales para el cultivo de *Ganoderma* (González-Matute *et al.* 2002, Postemsky *et al.* 2014a, Bidegain *et al.* 2014). La producción de arroz posee la mayor relación producto (arroz blanco) versus residuo (paja y cascarilla), ya que por cada kilogramo de arroz se genera 1 kilogramo de residuo, por lo tanto, la paja y la cascarilla de arroz son los agro-residuos más abundantes del mundo (Postemsky *et al.* 2014a). Son subproductos no usados en alimentación de rumiantes por su alto contenido en fibra y por problemas digestivos que ocasiona en los animales (Fernández Mayer 2020). Por otro lado, la industrialización de la madera de *Eucalyptus* deja aproximadamente un 45% de subproductos como corteza, costaneros y aserrín (Carpinetti *et al.* 1995). Algunos usos de estos residuos son la generación de energía térmica, pero generalmente no son utilizados en la región y son incinerados *in situ* (Postemsky *et al.* 2014b). Si bien cualquier residuo lignocelulósico es un sustrato factible, los estudios de Peksen y Yakupoglu (2008) o Bidegain (2017) recomiendan investigar con más detalle diferentes combinaciones y proporciones de las mezclas utilizadas (residuos de té, aserrín, paja, cascarillas, semillas, etc.), del mismo modo han planteado realizar más experimentos con diversas cepas para aumentar el rendimiento y la productividad del cultivo de *Ganoderma*.

OBJETIVOS

Objetivo General

Establecer las condiciones óptimas para la producción de hongos medicinales del género *Ganoderma* utilizando residuos agroindustriales de origen local de la provincia de Corrientes.

Objetivos Particulares

- OE1- Determinar el sustrato y procedimiento óptimo para la producción de inóculo en cuatro cepas de *Ganoderma* spp.
- OE2- Determinar los sustratos locales óptimos para la producción de fructificaciones en tres cepas de *Ganoderma* spp.
- OE3- Establecer si la producción de *Ganoderma* spp. es factible de realizar sin condiciones controladas de temperatura en Corrientes.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

- H1: La elección del sustrato y el procedimiento realizado afectarán el crecimiento micelial en la producción de inóculo.
- H2: Sustratos distintos tendrán diferentes eficiencias biológicas.
- H3: Las distintas cepas utilizadas presentarán diferencias en el crecimiento en relación a las diversas condiciones ambientales evaluadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Cepas utilizadas

- CF 50 (BG-CTES). Cepa comercial de *Ganoderma lucidum* obtenida de Fungimundo.
- CF 43 (BG-CTES). Cepa nativa de *Ganoderma lucidum* (Niveiro s/n) coleccionada en la Reserva Natural Urbana Santa Catalina, Corrientes, 11/05/2022.
- CF 23 (BG-CTES). Cepa comercial de *Ganoderma resinaceum* obtenida de Fungiar.
- CF 62 (BG-CTES). Cepa nativa de *Ganoderma resinaceum* (Sena D. 45) coleccionada en el Campus D. Roca, Corrientes, el 18/04/2023.

Semillas utilizadas para evaluar la producción de inóculo

- Arr: granos de arroz con cáscara (*Oryza sativa* L.).
- Av: granos de avena (*Avena sativa* L.).
- Mi: granos de mijo (*Panicum* sp.).

Sustratos utilizados para evaluar la producción de basidiomas

- As: Viruta de eucalipto (*Eucalyptus* sp.).
- Hj: Hojarasca de fresno (*Fraxinus* sp.).
- Parr: 100% de paja de arroz.
- Pacs: 60% de paja de arroz, 30% de cascarilla y 10% de salvado de arroz (*Oryza sativa*).

Fases del cultivo de *Ganoderma*

Los diferentes ensayos de cultivo siguieron los pasos establecidos por Albertó (2008) y Lechner *et al.* (2018). Las fases involucradas en el cultivo fueron: colección y aislamiento de cepas nativas, repique de cepas en placas de Petri, preparación del inóculo (granos de cereales), obtención de sustratos (residuos agroindustriales), preparación del sustrato para cultivo (hidratación y descontaminación), inoculación, incubación, inducción y cosecha.

Colección y aislamiento de cepas nativas

Se coleccionó un espécimen de *G. resinaceum* que se lo encontró parasitando a un árbol de Chivato [*Delonix regia* (Bojer ex Hook.) Raf.], en la ciudad de Corrientes. El mismo fue registrado como la colección Sena D. 45, la cual fue incorporada a la colección BAH de herbario CTES siguiendo los protocolos establecidos en el mismo. De acuerdo con caracteres fenotípicos se la identificó como *Ganoderma resinaceum*. A partir del basidioma fresco, se aisló parte del tejido fúngico en placas con agar papa glucosa (APG) (Fig. 1) para ser incorporadas al banco de germoplasma bajo el código CF 62 (BG-CTES), y utilizadas en el Ensayo 1.

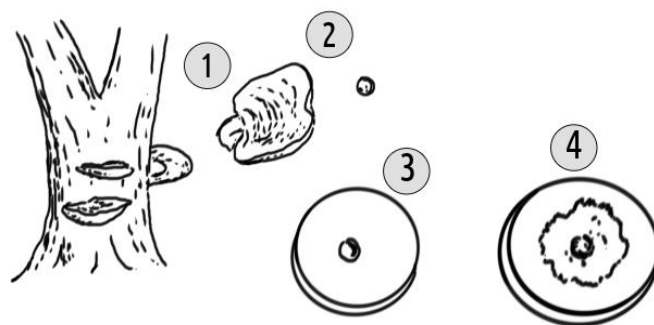


Fig. 1. Aislamiento de cepas. 1- Recolección del hongo, 2- Separación de una porción del hongo, 3- Porción implantada en placa de Petri con medio APG, 4- Crecimiento del micelio en la

Ensayos realizados

Para testear las hipótesis planteadas y cumplir los objetivos específicos, se planificaron las actividades en 3 ensayos diferentes:

Ensayo 1. Determinación del sustrato y procedimiento óptimo para la producción de inóculo

Para determinar el sustrato y procedimiento óptimo para la producción de inóculo en cuatro cepas de *Ganoderma* spp. se realizaron las siguientes actividades:

Repique de cepas en placas de Petri

El medio de cultivo agar papa glucosa (APG) tiene todos los componentes nutritivos para que los hongos se desarrollen. El extracto de papa proporciona almidón, algo de lignina y otros minerales esenciales, la glucosa es la fuente de carbono principal y el agar es adicionado como agente gelificante, su pH ($5,6 \pm 2$) es ideal para el crecimiento de hongos (Suárez y Holguín 2011). Previamente a los ensayos los materiales y medios utilizados fueron esterilizados en autoclave a 121°C durante 30 minutos. Se repicaron las cepas CF 23, CF 43, CF 50 y CF 62 en cámara de flujo laminar. En condiciones asépticas se separó un disco micelial de 7mm (\varnothing) de una placa de Petri y se implantó en el centro de otra placa de Petri de 90 mm de diámetro x 12 mm de alto con medio (APG). Cada placa fue sellada con parafilm y rotulada, y colocada en cámara de incubación a 25°C en total oscuridad (Albertó 2008). Para cada una de las cepas se realizaron 4 réplicas.

Mediciones del diámetro micelial

Debido a que el micelio cuando se propaga en agar presenta un crecimiento radial, durante la incubación se midió el avance micelial cada 24 horas en dos ejes cartesianos trazados sobre la tapa de la placa (Fig. 2).

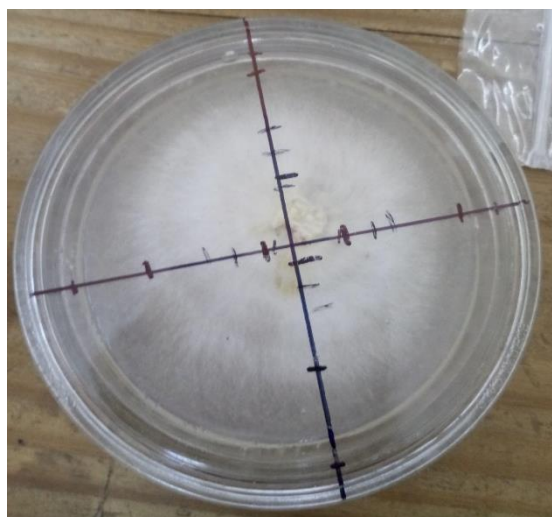


Fig. 2. Placa de Petri con crecimiento micelial en medio APG, sobre la tapa se trazaron ejes cartesianos para marcar el crecimiento.

Variables evaluadas

- Tiempo de colonización (mm/día).
- Tasa de crecimiento micelial (K_r), estimada despejando la siguiente función de crecimiento lineal:

$$y = K_r \cdot X + c$$

(y = distancia de crecimiento, X = tiempo y c = factor constante).

Por lo que $K_r = (y - c) / X$, expresado en milímetros por día (mm/d) (Zervakis *et al.* 2001).

Los valores de las repeticiones de cada cepa fueron promediados y graficados para establecer la velocidad de crecimiento de las especies y cepas analizadas.

- Densidad del micelio (Gaitán-Hernández y Báez Rodríguez 2008).

Preparación de inóculo

La elaboración de inóculo o “semilla de hongo” es la base para el cultivo de hongos y se refiere a la propagación o desarrollo vegetativo del mismo en granos de distintas gramíneas (Grassi *et al.* 2019). Se realizaron ensayos en donde se evaluaron tres sustratos y tres procedimientos o tratamientos para la elaboración de inóculo de *G. lucidum* y *G. resinaceum*. Se emplearon granos usualmente utilizados como avena (Av), mijo (Mi) y arroz (Arr) (Gaitán-Hernández *et al.* 2006). Los tratamientos de hidratación fueron tres: sustrato remojado (R) en principio con agua caliente, permaneciendo sumergido durante 24 h. (T1); sustrato hervido por 10 minutos (T2); y sustrato hervido por 20 minutos (T3). Posteriormente fueron escurridos por 6 h., pesados y mezclados con 1% de carbonato de calcio que tiene la finalidad de ajustar el pH y suministrar iones de Ca^{++} , los cuales desempeñan un papel importante en el crecimiento hifal (Rodríguez y Jaramillo 2005). Se completó en total 9 tratamientos, con 5 repeticiones cada uno.

Parámetros evaluados

- Tiempo de corrida del micelio (fase en la que el micelio crece hacia el sustrato)
- Tasa de crecimiento micelial (Zervakis *et al.* 2001, Toledo y Barroetaveña 2017).
- Tiempo de colonización (TC).
- Densidad del micelio (Gaitán-Hernández y Báez Rodríguez 2008).

Para ello se prepararon “tubos de corrida”, formados por bolsas de polipropileno de 30 x 8 cm, las cuales han sido rellenas uniformemente con 200 g de sustrato de los diferentes tratamientos. Se esterilizaron en dos ciclos de 90 minutos en autoclave a 1 atmósfera y 121°C. La inoculación se llevó a cabo a temperatura ambiente en flujo laminar (Fig. 3) empleando discos de agar con micelio de 7 mm de diámetro provenientes de las cepas evaluadas. Los tubos de corrida se cerraron en su extremo superior con tapones de algodón sostenidos por un cuello de caño de PVC de 1,3 cm de diámetro y 1,5 cm de longitud para asegurar el intercambio gaseoso (Fig. 4). Una vez inoculados los tubos de corrida fueron trasladados a una sala de incubación a 24 °C en oscuridad.



Fig. 3. Inoculación de bolsas de sustrato en cámara de flujo laminar.

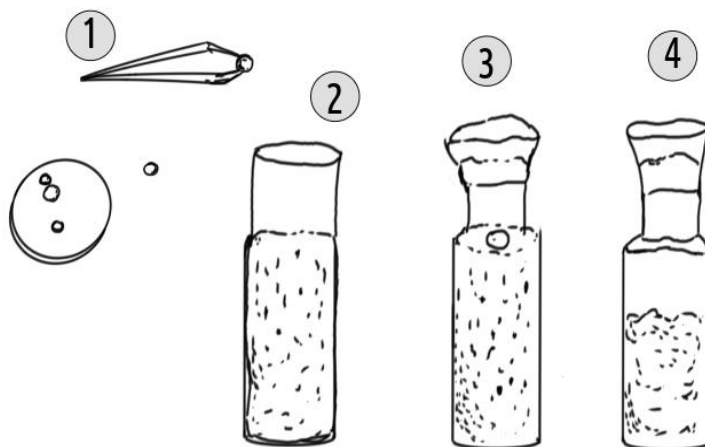


Fig. 4. Pasos de preparación de inóculo: 1- Separación de discos de micelio, 2- Introducción del disco sobre el sustrato, 3- Sellado con tubo PVC y tapón de algodón, pegado de etiqueta, 4- Incubación a 24 °C en oscuridad.

Mediciones de los tubos de corrida

Durante la incubación, se registró y midió cada 48 h el frente de avance del micelio a partir del inóculo, y promediando las medidas de dos puntos opuestos hasta alcanzar 18 cm de longitud (Fig. 5). A partir de estos datos se obtuvo la tasa de crecimiento micelial (K_r), calculada al día 16 desde la inoculación (Zervakis *et al.* 2001) y el tiempo de colonización (TC) o número de días para completar la colonización del sustrato.



Fig. 5. Bolsas de corrida con crecimiento micelial. Las mediciones se realizaron en centímetros alcanzados a lo largo de dos líneas paralelas opuestas.

Ensayo 2: Evaluación de sustratos para la producción de basidiomas

Se ensayaron cuatro residuos lignocelulósicos de la provincia de Corrientes para determinar el sustrato óptimo para la producción de basidiomas de tres cepas de *Ganoderma* spp., CF 23, CF 43 y CF 50. Para ello, se realizaron las siguientes actividades:

Obtención de sustratos

Se recolectaron los siguientes residuos: viruta de eucalipto, cascarilla de arroz y paja de arroz, provenientes de la producción local, y la hojarasca de fresno del arbolado urbano de la provincia de Corrientes (Fig. 6). La hojarasca y la paja de arroz fueron puestas en bolsas de arpillera y secadas en estufa a 60 °C durante 24 h. Los granos para inóculo: avena, arroz y mijo provienen de tiendas de venta de semillas. Todos los sustratos se almacenaron hasta su utilización.



Fig. 6. Recolección de paja de arroz y hojarasca de fresno.

Preparación de sustratos

Se utilizaron 4 sustratos: 1- Paja de arroz picada previamente (5 a 10 cm de largo) (Fig. 7); 2- hojarasca de fresno; 3- viruta de eucalipto; y 4- Paja de arroz 60 %, cascarilla 30 % y salvado de arroz 10%. Los diferentes sustratos se hidrataron y descontaminaron por tratamiento térmico utilizando un calentador de gas con quemador en forma de anillo. Los sustratos se colocaron por tandas en una olla hirviendo durante dos horas desde que en la superficie se registró 60 °C (Curvetto *et al.* 2004). Finalizado el tiempo, el sustrato fue escurrido durante 12 h, alcanzando una humedad de 60-70%. Se añadió carbonato cálcico al 2% para ajustar el pH (Stamets y Chilton 1983) (Fig. 8). El diseño experimental consistió en 12 tratamientos con 9 réplicas cada uno.



Fig. 7. Picado de la paja de arroz con Triturador eléctrico orgánico Tramontina tro25 2hp.

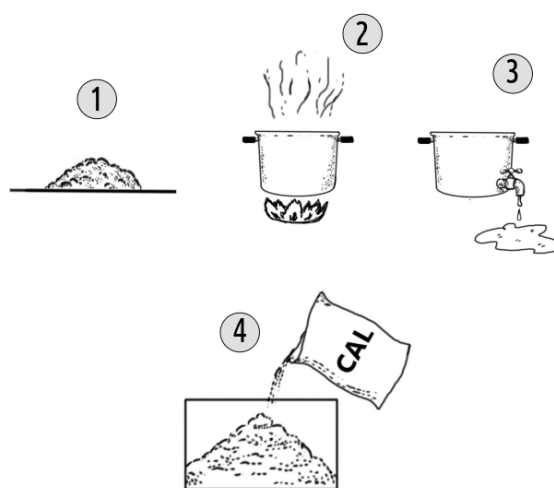


Fig. 8. Pasos para la descontaminación del sustrato 1- Pesado, 2- Hervido, 3- Escurrido, 4- Agregado de 2% de carbonato de calcio.

Inoculación

Una vez alcanzada la temperatura ambiente los sustratos se inocularon con 10% (p/p del peso fresco del sustrato) con el inóculo realizado anteriormente de las cepas CF 23, CF 43 y CF 50. Se usaron bolsas de polietileno, colocando capas de sustrato alternadas con capas de inóculo hasta completar el peso establecido de 1 Kg (Stamets y Chilton 1983). Las bolsas se cerraron en su extremo superior con tapones de algodón sostenidos por un cuello de caño de PVC de 2,5 cm de diámetro y 2,5 cm de longitud que posibilitaron el intercambio gaseoso.

Incubación de sustratos

Las bolsas con sustrato fueron puestas en una sala de incubación en oscuridad a 24 °C hasta observar la completa colonización del sustrato (Stamets y Chilton 1983, Albertó 2008).

Inducción de formación de primordios

Una vez completada la fase de incubación, se cambiaron las condiciones ambientales para provocar la inducción (Albertó 2008). Con la ayuda de un bisturí, se realizaron 3 cortes en cruz de 2,5 cm de largo en cada bolsa (Fig. 9), además de pequeñas perforaciones en la base para drenar el excedente de agua. Luego las bolsas se trasladaron a una sala de cultivo.



Fig. 9. Corte de las bolsas completamente colonizadas para la inducción de la fructificación

Organización de las bolsas

Para analizar la influencia que tiene la temperatura sobre el cultivo de *Ganoderma* se dispuso de una sala de cultivo aislada y acondicionada con fotoperiodo de 12h luz-oscuridad, humedad ambiental de 80-90% y CO₂ >0.1% (Sudheer *et al.* 2019), con extractor de aire y sistema de riego sistematizado por aspersión cada 3 horas. La temperatura se mantuvo en 25±2 °C y la organización fue por sistema de bolsas colgadas en encadenado (Cruz *et al.* 2010) (Fig. 10).



Fig. 10. Organización de las bolsas de fructificación.

Cosecha

Las fructificaciones (basidiomas) se cosecharon manualmente con ayuda de un bisturí, cuando los márgenes del píleo se tornaron levemente convexos (Fig. 11).



Fig. 11. Cosecha de basidiomas.

Toma de datos postcosecha

Se registraron los siguientes parámetros (Fig. 12):

- Precocidad: período comprendido entre la inoculación y la aparición de primordios (basidioma de 1 cm de longitud),
- Número de basidiomas,
- Número de oleadas,
- Peso fresco de los basidiomas,
- Diámetro del píleo: longitud y ancho.

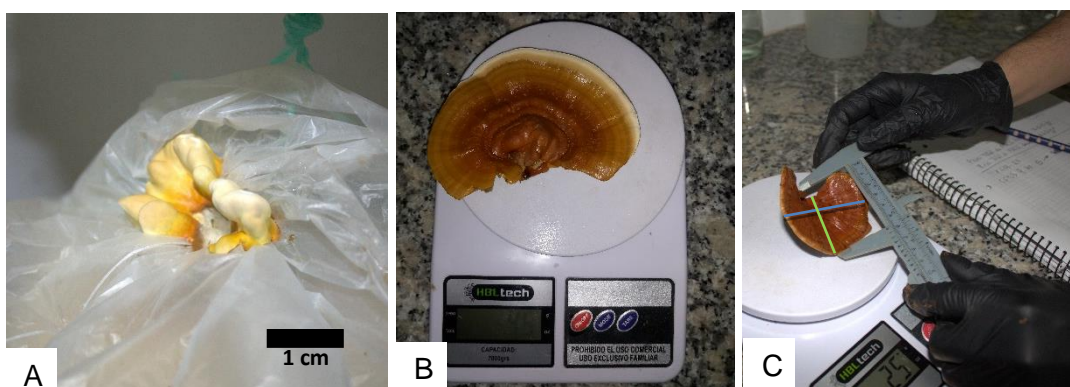


Fig. 12. Parámetros registrados: A. Aparición del primordio (1 cm de longitud), B. Peso fresco, C. Medidas del píleo, líneas: azul = longitud, verde = ancho

Análisis de datos

Para determinar la productividad se calculó el rendimiento, expresado en términos de Eficiencia Biológica (EB) mediante la fórmula:

$$EB = \frac{\text{peso fresco del basidioma}}{\text{peso seco del sustrato}} \cdot 100$$

Además, se determinó la Tasa de Productividad (TP), mediante el cociente entre la EB y el período de tiempo comprendido entre la inoculación y el último día de cosecha (PP), es decir:

$$TP = \frac{\text{eficiencia biológica}}{\text{tiempo en días (desde la inoculación a la cosecha)}}$$

Se compararon los parámetros productivos obtenidos en los cultivos entre las cepas nativas y comerciales (Albertó 2008).

Análisis estadísticos

Se realizó un análisis estadístico de los datos de los ensayos de crecimiento micelial y producción de hongos medicinales utilizando el análisis de varianza de un factor (ANOVA). La diferenciación de los valores promedio se llevó a cabo mediante el test de Duncan. Todos los análisis fueron realizados utilizando el software Infostat (Di Rienzo *et al.* 2000).

Ensayo 3: Evaluación del efecto de la temperatura en la producción de basidiomas de *Ganoderma*.

Para determinar si la producción de *Ganoderma* es factible en Corrientes se realizó la experiencia de cultivo (Ensayo 2) a 30°C de temperatura para evaluar el efecto de la temperatura afecta la producción de basidiomas.

RESULTADOS

A partir de los ensayos realizados, se obtuvo un total de 30,32 Kg de inóculo de cuatro cepas de *Ganoderma*. Utilizando 12,64 kg de residuos producidos en Corrientes, se cosecharon 3,85 Kg de basidiomas de dos cepas de *Ganoderma*. A continuación, se detallan los resultados en base a los tres ensayos realizados, que corresponden a cada objetivo particular:

Ensayo 1- Determinación del sustrato y procedimiento óptimo para la producción de inóculo en *Ganoderma* spp.

Determinación del crecimiento micelial en medio APG

El tiempo de corrida del micelio de las cepas muestra diferencias significativas. Las cepas comerciales presentaron una mayor velocidad de crecimiento en comparación con las nativas, completando la caja de Petri (90 mm) a los 5,5 (CF 50) y 6 (CF 23) días. Las cepas nativas completaron el crecimiento a los 15 días aproximadamente (Tabla 1, Fig. 13). La tasa de crecimiento micelial Kr (mm/día) indica la velocidad promedio de crecimiento del micelio de cada cepa, según la cual, *G. lucidum* CF 50 presentó el mejor valor (17,2 mm/día) mientras que *G. resinaceum* CF 23 exhibió un valor menor (16 mm/día). En relación a las cepas nativas, CF 43 tuvo una velocidad de crecimiento de 6,6 mm/día, significativamente mayor a CF 62, con 3,47 mm/día, pero, de cualquier manera, ambas son significativamente menores a las cepas comerciales (Tabla 2).

Tabla 1. Tasa de crecimiento micelial (Kr) y tiempo de colonización (TC) de *Ganoderma* en APG.

Cepa	Kr (mm/día)	TC (días)
CF 23	16	6
CF 43	6,6	15,3
CF 50	17,2	5,5
CF 62	3,47	15,7

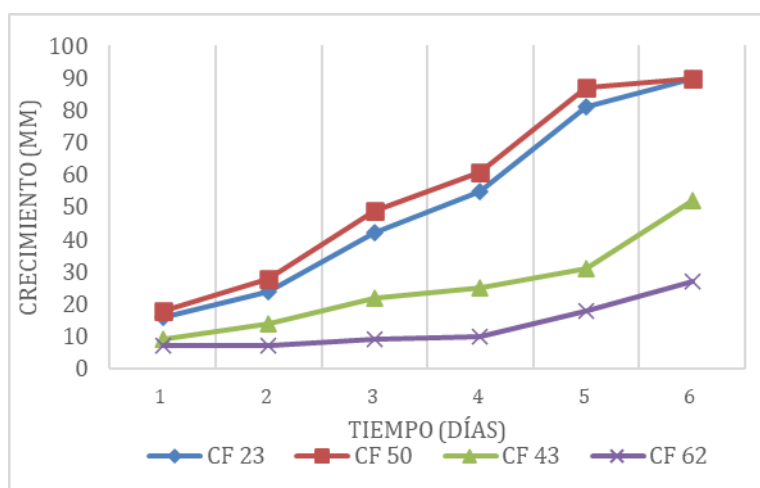


Fig. 13. Curvas de crecimiento del micelio en medio APG de las cepas de *Ganoderma* hasta el día 6.

Tabla 2. Análisis de la varianza del crecimiento de cepas de *Ganoderma* al día 6. E.E corresponde al error estándar. Letras comunes sin diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Cepas	Medias	E.E.
CF 62	18,25 A	2,19
CF 43	31,00 B	2,53
CF 23	81,00 C	2,19
CF 50	87,00 C	2,19

Las **características morfológicas del micelio** de *Ganoderma* fueron distintas entre los micelios de la misma especie. Por un lado, la textura de las cepas comerciales CF23 y CF50 fue algodonosa con densidad de hifas abundantes y de color blanco, sin presencia de exudados. En las cepas nativas CF43 y CF62 iniciaban con una textura algodonosa blanquecina con escasas hifas, con el tiempo el medio APG se volvió color marrón de bordes amarillentos y de apariencia cerosa debido a la presencia de exudados (Fig. 14).

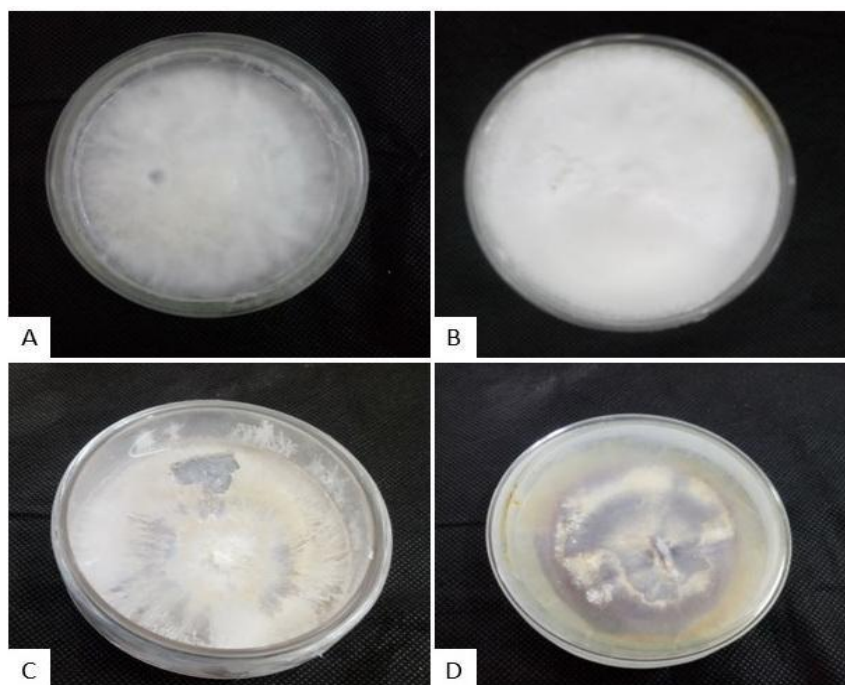


Fig. 14. Placas de Petri con crecimiento micelial completo en APG. A y B cepas comerciales, C y D cepas nativas. A: CF 23, B: CF 50, C: CF 43, D: CF 62.

Determinación del crecimiento micelial en sustratos para la producción de inóculo.

Los resultados obtenidos demostraron que tanto la elección del sustrato como las cepas utilizadas, tuvieron un impacto significativo en el crecimiento del micelio. No así, el tratamiento realizado (método de hidratación del sustrato) el cual no exhibió diferencias significativas (Tabla 3). Se observó un mayor crecimiento en las cepas comerciales sobre las nativas. El mijo resultó ser el mejor sustrato en todas las combinaciones de sustrato-cepas-tratamiento (Fig. 15). Sin embargo, al

realizar el **análisis de la varianza**, no se observaron diferencias significativas entre el mijo y la avena (Tabla 3).

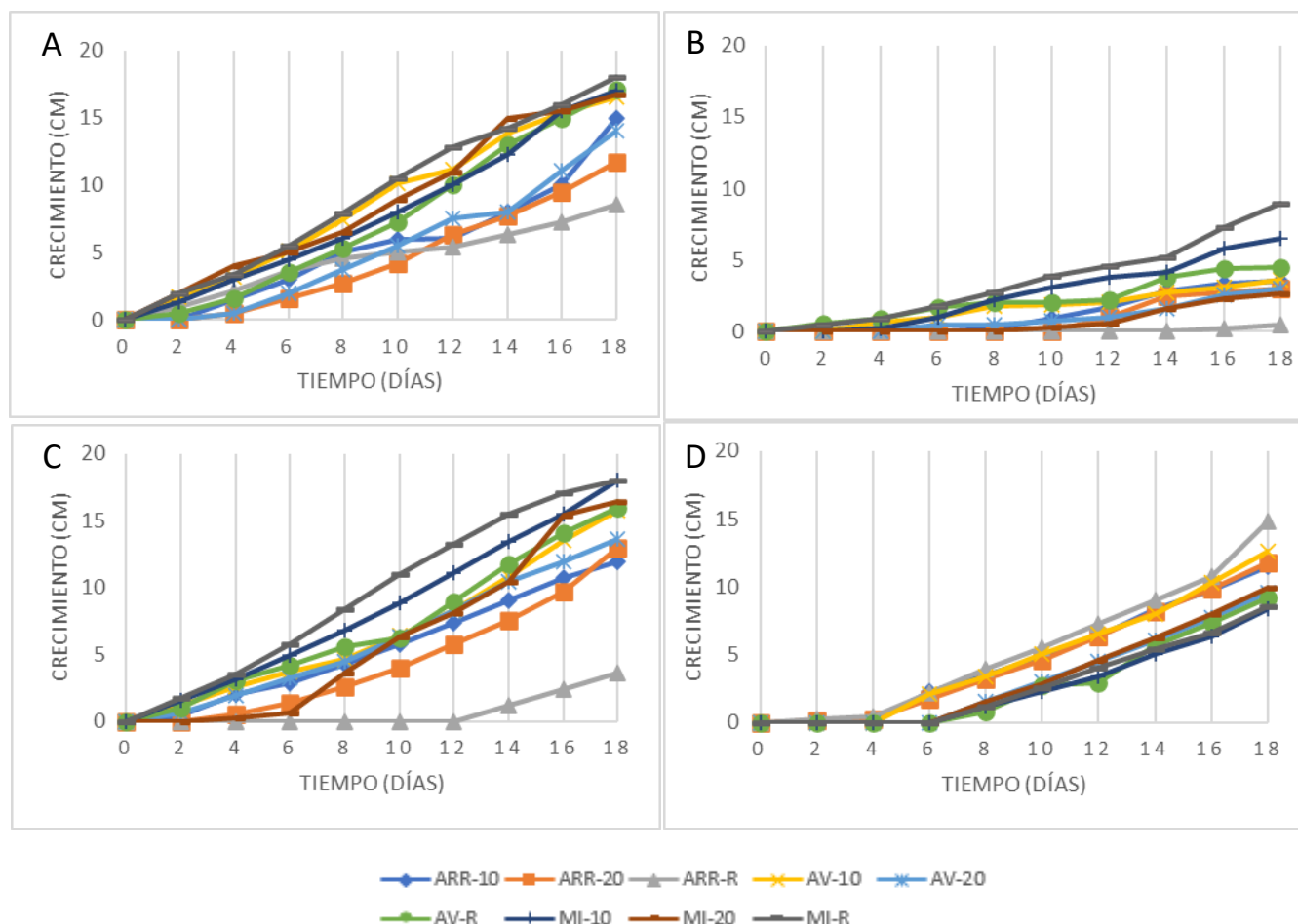


Fig. 15. Crecimiento micelial de inóculos en los sustratos ARR= arroz, AV= avena, MI= mijo y en los tratamientos 10 = 10 minutos, 20 = 20 minutos y R= remojo. A: CF 23, B: CF 43, C: CF 50, D: CF 62.

Tabla 3. Análisis de la varianza con prueba de Duncan de los ensayos de producción de inóculo de *Ganoderma* al día 16. Los valores representan las medias de las réplicas, las letras comunes indican que no hay diferencias significativas. E.E corresponde al error estándar. $p \leq 0.05$ indican diferencias significativas.

p-valor: 0,0060			p-valor: 0,0001			p-valor: 0,5549		
Sustrato	Media	E. E.	Cepa	Media	E. E.	Tratamiento	Media	E. E.
Arroz	0,15 A	0,14	CF 43	4,02 A	0,97	20 Min.	10,45 A	0,84
Avena	0,47 AB	0,14	CF 62	10,7 B	0,97	Remojo	10,64 A	0,84
Mijo	0,75 B	0,14	CF 50	14,04 C	0,97	10 Min.	11,7 A	0,84
			CF 23	14,96 C	0,97			

El tiempo de colonización (TC) fue menor para las cepas CF 23 y CF 50, ya que el 76% de las bolsas completaron el crecimiento antes del día 24. Por otro lado, la cepa CF 62 mostró que el 86% de las bolsas completaron el crecimiento entre los días 24 y 30, mientras que la cepa CF 43 tuvo el TC más alto y variable, extendiéndose entre los días 30 y 56 (Fig. 16). Lo mismo se observa en la tasa de crecimiento micelial, donde las cepas CF 50 y CF 23 tuvieron la mayor tasa en el tratamiento Mi-R con 10,63 y 10,62 mm/día respectivamente. Entre las cepas nativas, CF 62 tuvo la mayor tasa de crecimiento con 8,63 mm/día en Arr-R, mientras que para la cepa CF 43 fue de 0,49 mm/día en Mi-R (Tabla 4). Las combinaciones de cepa-sustrato-tratamiento que presentaron los mejores crecimientos, y que completaron los tubos de corrida antes del día 24 se señalan en la Fig. 16.

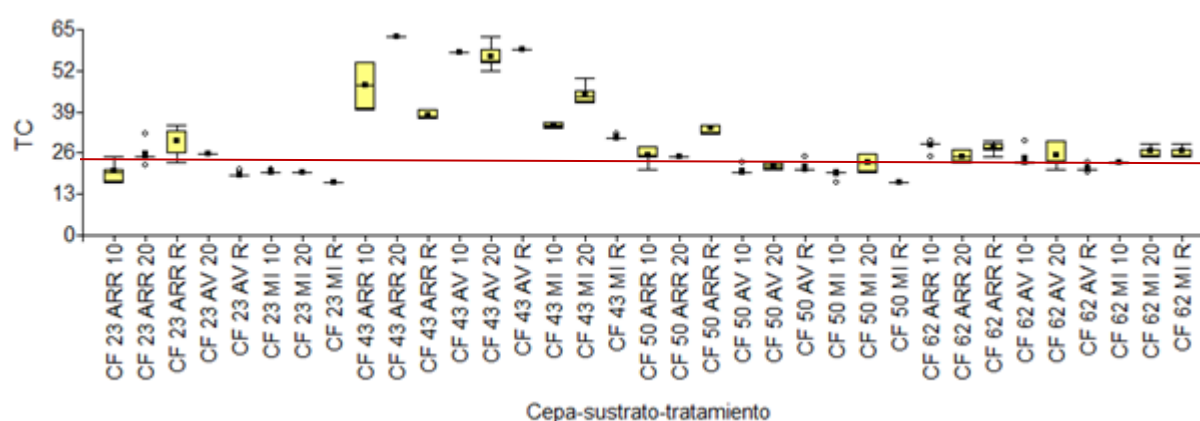


Fig. 16. Gráfico de cajas del TC de cepa-sustrato-tratamiento. La línea roja indica el TC de 24 días, los tratamientos cuya media son igual o inferiores se consideran idóneos.

Tabla 4. Tasa de crecimiento micelial Kr (mm/d) de cepas de *Ganoderma* en diferentes sustratos y tratamientos de hidratación de inóculos. En negrita se señalan los tratamientos con mayores tasas de crecimiento para cada cepa.

Tratamientos	Cepa CF 23	Cepa CF 43	Cepa CF 50	Cepa CF 62
ARR-10	5,68	0,14	6,07	5,43
ARR-20	5,33	0,11	5,47	5,53
ARR-R	4,76	0,00	1,75	8,63
AV-10	9,69	0,16	7,81	7,25
AV-20	8,13	0,13	7,86	7,26
AV-R	10,04	0,21	7,86	5,17
MI-10	10,01	0,34	10,62	4,60
MI-20	9,85	0,11	9,67	5,57
MI-R	10,62	0,49	10,63	3,51

Morfología micelial

La morfología del micelio en las bolsas de cultivo fue similar para las cepas comerciales, las cuales mostraron una alta densidad de hifas de color blanco desde el inicio del crecimiento. Sin embargo, en el caso de las cepas nativas, se observó una menor densidad de micelio debido a una generación limitada de hifas en las primeras fases de formación. Como resultado estas últimas no cubrieron completamente las semillas, lo cual requirió más tiempo para lograr una colonización adecuada, aumentar la densidad y alcanzar el color blanco característico. Durante ciertos momentos de la incubación, se observó la aparición de exudados de color marrón, amarillo o negruzco en las cuatro cepas (Fig. 17).

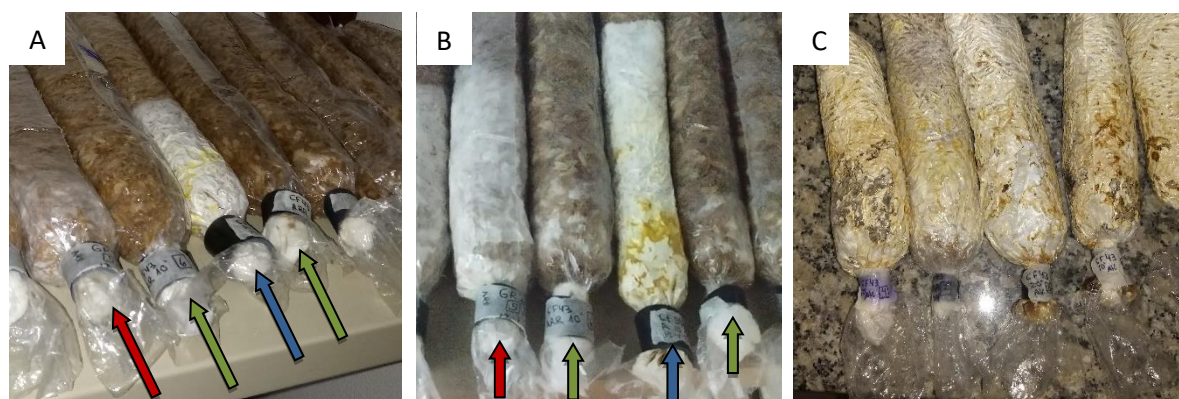


Fig. 17. Evolución de la producción de inóculo. Entre A y B hay 9 días de diferencia; flechas: roja=CF 62, verde=CF 43, azul=CF 50. En CF 50 se aprecia la alta densidad del micelio y exudados color amarillo, en CF 62 y CF 43 la densidad micelial es baja. C. Inóculos de cepa CF 43 finalizados, presentando exudados con tonalidades amarillentas y oscuras.

Contaminación de inóculo

Es importante destacar que la contaminación por bacterias/levaduras y hongos mitospóricos afectó el crecimiento del micelio de *Ganoderma* volviéndolo más lento, razón por la cual se apartaron y descartaron (Fig. 18). En el gráfico de tiempo de colonización se encuentran con valor 0 (Fig. 16). El porcentaje total de contaminación fue del 8,93%. Entre los tratamientos contaminados el 68,75% pertenece al sustrato arroz, el 18,75% a la avena y el 12,5% al mijo.



Fig. 18. Bolsas de inóculo contaminadas.

Ensayo 2- Determinación de los sustratos locales óptimos para la producción de fructificaciones en tres cepas de *Ganoderma* spp.

Se realizaron inicialmente 5 repeticiones por cada residuo analizado, sin embargo, debido a problemas de contaminación, se redujo a 3 repeticiones. El tiempo total de cultivo se extendió a 95 días, durante los cuales se obtuvieron hasta 4 oleadas.

La cepa nativa CF43 de *G. lucidum* presentó un alto porcentaje de contaminación. Solo se obtuvo una bolsa de fructificación en el sustrato Parr, produciendo 33 gramos de basidioma fresco a los 95 días (Fig. 19). Este tratamiento no se comparó estadísticamente con los demás debido a que no alcanzó la cantidad necesaria para considerarse equivalente. Por lo tanto, solo se evaluaron las cepas CF 23 de la especie *G. resinaceum* y CF 50 de la especie *G. lucidum*.

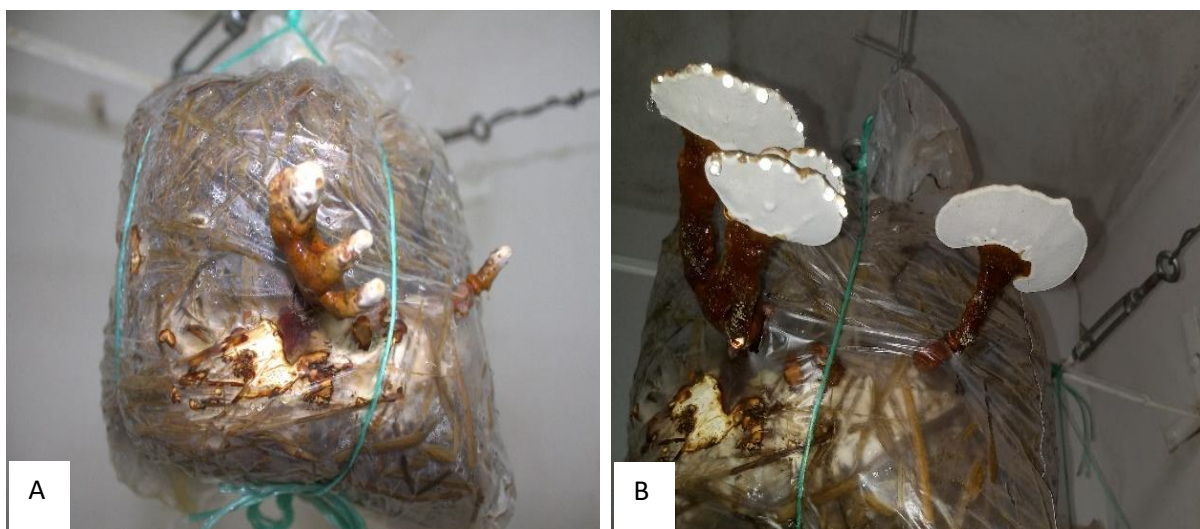


Fig 19. Fructificación de basidiomas en cepa CF 43. A. a 66 días, B. a 94 días.

Producción de basidiomas

Los resultados obtenidos revelaron una amplia variabilidad en los parámetros registrados durante los ensayos de producción de *Ganoderma* utilizando diferentes residuos como sustratos. La precocidad o tiempo de aparición de los primordios de los basidiomas varió entre 11 y 38 días. Los tratamientos de As y Hj inoculados con CF 50 fueron los que presentaron los primordios en menos tiempo (11 días). En As-CF 23, Hj-CF 23 y Pacs de ambas cepas los primordios aparecieron entre los días 26 y 36. Los primordios en el sustrato Parr tardaron más días en formarse independientemente de la cepa (Fig. 20).

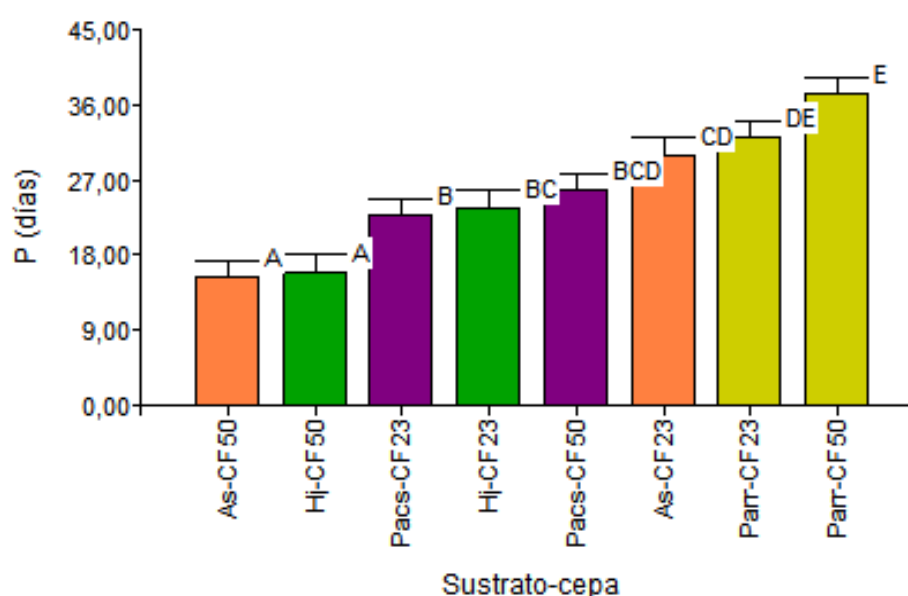


Fig. 20. Precocidad en la aparición de primordios (P), para 8 tratamientos de *Ganoderma*. Letras distintas indican diferencias significativas con la prueba de Duncan ($p \leq 0.05$).

En términos de **peso total de basidiomas** frescos, se observó que la cepa *G. resinaceum* tuvo una mayor capacidad de producción, generando un total de 1694,5 gramos, mientras que *G. lucidum* produjo un total de 1145 gramos. Los basidiomas de mayor diámetro para CF 23 se encontraron en los sustratos Hj, Pacs y As, sin encontrarse diferencias estadísticas entre ellos. Para CF 50 Parr produjo los basidiomas más grandes y los sustratos Pacs y Hj presentaron tamaños intermedios, mientras que los tamaños más pequeños se desarrollaron para CF 23 en Parr y para CF50 en As (Tabla 5).

Tabla 5. Número de basidiomas, número de oleadas, diámetro total de basidiomas y peso fresco de basidiomas de las cepas CF 23 y CF 50 en los diferentes sustratos. En negrita se resaltan los mejores resultados para cada parámetro

Sustrato	Especie	Cepa	N° de basidiomas	N° de oleadas	PF de basidiomas	$\Phi \Sigma$ de basidiomas
Aserrín de eucalipto	<i>G. resinaceum</i>	CF23	34	3-4	150	4,93
Aserrín de eucalipto	<i>G. lucidum</i>	CF50	35	4	100,33	4,82
Paja de arroz	<i>G. resinaceum</i>	CF23	8	1	27	4,82
Paja de arroz	<i>G. lucidum</i>	CF50	9	1-2	75	6,57
Paja + cascarilla + salvado	<i>G. resinaceum</i>	CF23	42	3	200,33	5,51
Paja + cascarilla + salvado	<i>G. lucidum</i>	CF50	24	2-3	134,66	6,05
Hojarasca de fresno	<i>G. resinaceum</i>	CF23	48	3-4	187,50	5,37
Hojarasca de fresno	<i>G. lucidum</i>	CF50	13	2-3	71,66	6,10

Los sustratos también mostraron diferentes **eficiencias biológicas (EB)**, confirmando la hipótesis de trabajo H2. Los valores más altos de EB para el cultivo de *G. resinaceum* se obtuvieron utilizando el sustrato Pacs, con un 64,62%, mientras que Hj y As presentaron una EB de 47,59% y 42,86%, respectivamente, sin encontrarse diferencias significativas entre ellos. El valor más bajo de EB fue registrado en el sustrato Parr, con un 7,71%. Para *G. lucidum*, también se determinó que el sustrato Pacs fue el más idóneo, presentando una EB de 43,44%. Los sustratos As, Parr y Hj no mostraron diferencias significativas entre ellos en términos de EB (Fig. 21A). En cuanto a la **tasa de productividad**, el sustrato Pacs registró el valor más alto, con 1,09 seguido de Hj con 0,79 y As con 0,54. Estos valores no presentaron diferencias significativas entre ellos. Por otro lado, el sustrato Parr mostró la menor tasa de productividad, con solo 0,12 (Fig. 21B).

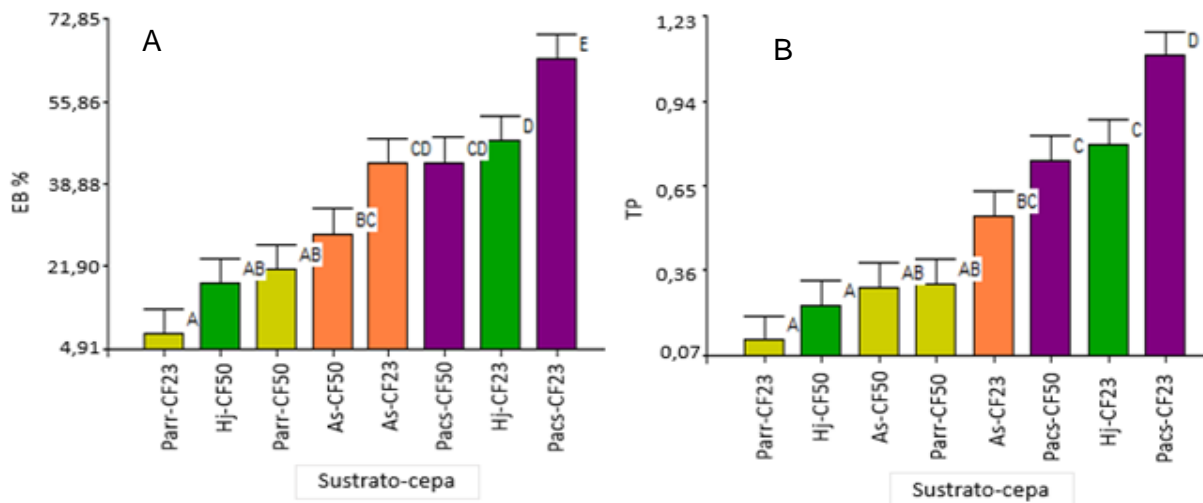


Fig. 21. Gráficos de rendimiento y productividad de las cepas CF 23 y CF 50 en los sustratos Parr = paja de arroz, Hj = hojarasca de fresno, As = aserrín de eucalipto y Pacs = paja de arroz, cascarilla y salvado. A. Eficiencia biológica (EB), B. Tasa de productividad (TP). Letras distintas indican diferencias significativas con la prueba de Duncan ($p \leq 0.05$).

Por lo tanto, a través de la evaluación de la fructificación de hongos, se determinó que el sustrato denominado Pacs presentó los valores más altos de EB y de TP, lo que indica que este sustrato proporcionó un entorno adecuado para la fructificación de los hongos (Fig. 22). Los sustratos de Hj y As también mostraron resultados favorables, aunque en menor medida que Pacs. Por otro lado, el sustrato Parr fue el que presentó los peores resultados en todos los parámetros evaluados (Fig. 21).



Fig. 22. Evolución del desarrollo de los basidiomas de la cepa CF 50 en sustrato Pacs desde la inoculación. A. 19 días, B. 32 días, C. 38 días. D. 42 días.

Contaminación de sustratos de fructificación

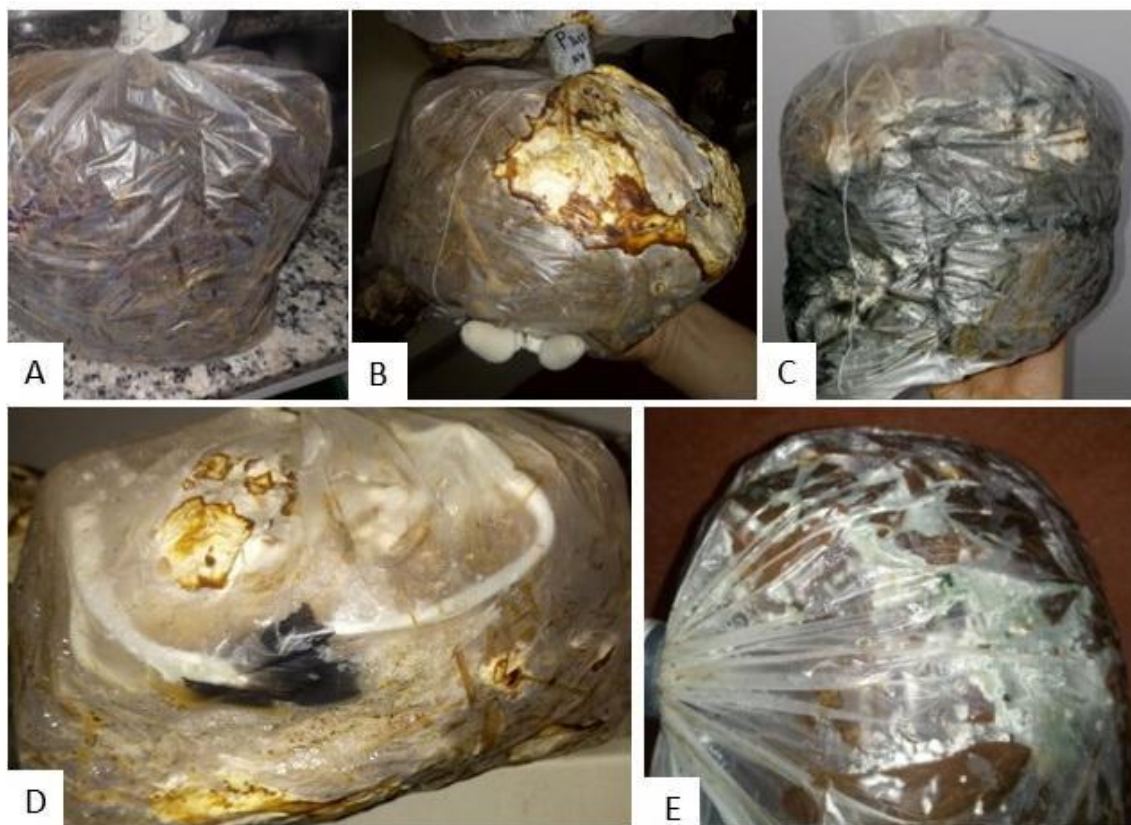


Fig. 23. Bloques de sustratos afectados - agentes contaminantes: A. Parr - bacterias, B. Parr - *Coprinus* sp., C. Parr - hongos mitospóricos, D. Pacs - *Coprinus* sp., E. Hj - bacterias.

Durante el estudio, se observó que la mayoría de las contaminaciones se presentaron durante el período de incubación, excepto las contaminaciones por *Coprinus* sp., que se produjo durante la formación de basidiomas. Las cepas CF 43, CF 23 y CF 50 registraron porcentajes de contaminación de 95 %, 10 % y 5 % respectivamente. Las contaminaciones causadas por diferentes agentes (bacterias, hongos mitospóricos y hongos basidiomicotas) se manifestaron con manchas verdes, negras, rosas y blancas. El crecimiento de los patógenos fue más rápido que el del micelio de *Ganoderma*, por lo que todos los tratamientos contaminados fueron descartados (Fig. 23).

Ensayo 3- Evaluar el efecto de la temperatura en la producción de basidiomas de *Ganoderma*.

La cepa Cf 43 fue descartado por el porcentaje elevado de contaminación y su crecimiento notablemente lento. En general la temperatura no tuvo influencia sobre el cultivo de *Ganoderma* de las dos cepas evaluadas. Los mejores %EB se observaron en el sustrato Pacs a ambas temperaturas, representando 4 de los mejores 5 tratamientos (Fig. 24). La cepa CF 23 presentó valores de %EB de 64,62 y 61,78 a 25°C y 30°C respectivamente, sin diferencias significativas (Tabla 6). Para la cepa CF 50, se observan valores altos de %EB, siendo un poco mejores los de 30°C, aunque sin diferencias marcadas. Para el resto de sustratos (Hj, As y Parr) se observa que en

general la cepa CF 23 tiene mejores rendimientos a 25°C, mientras que la cepa CF 50 los presenta a 30°C (Fig. 24).

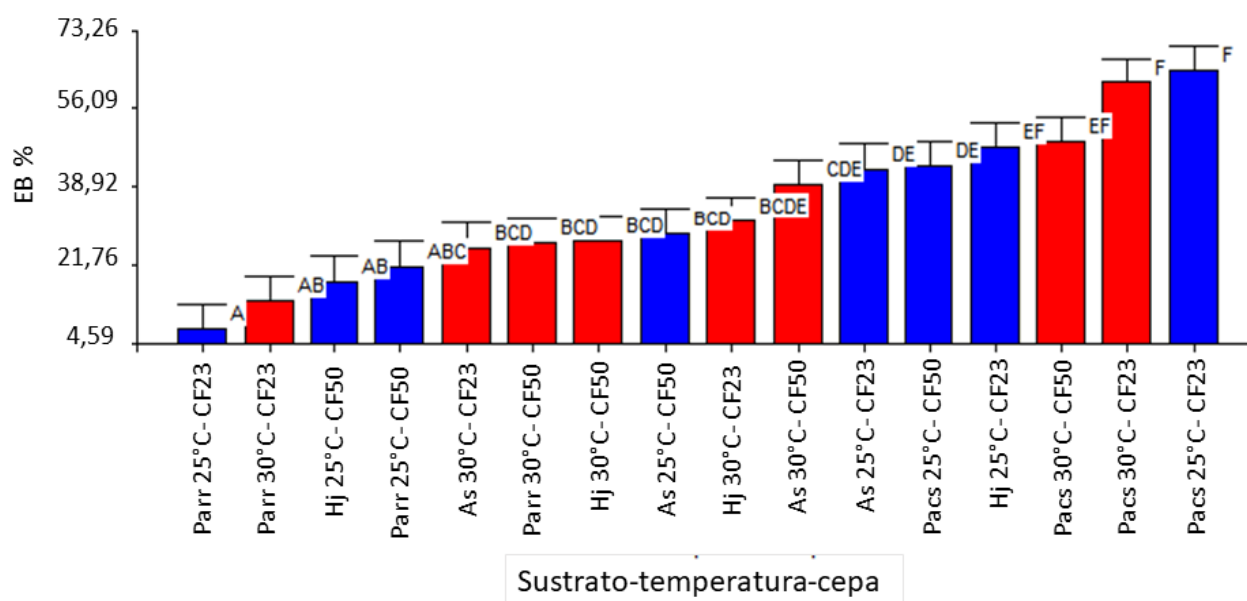


Fig. 24. Gráfico de la eficiencia biológica (EB) del cultivo de *Ganoderma* utilizando sustratos a base de residuos de la Provincia de Corrientes, en dos condiciones de temperatura distintas, =25°C y 30°C. Sustratos: Parr = paja de arroz, Hj = hojarasca, As: aserrín de eucalipto, Pacs = paja de arroz, cascarilla y salvado de arroz. En Cepas: CF 23 y CF 50 Letras distintas indican diferencias significativas con la prueba de Duncan ($p \leq 0.05$).

Tabla 6. Influencia de la temperatura sobre la eficiencia biológica (EB) de *G. lucidum* y *G. resinaceum* en diferentes sustratos.

Sustrato	Especie	Cepa	EB - 25 °C	EB - 30 °C
Aserrín de eucalipto	<i>G. resinaceum</i>	CF23	35,04	25,37
Aserrín de eucalipto	<i>G. lucidum</i>	CF50	28,66	39,43
Paja de arroz	<i>G. resinaceum</i>	CF23	7,71	23,75
Paja de arroz	<i>G. lucidum</i>	CF50	21,42	26,43
Paja + cascarilla + salvado	<i>G. resinaceum</i>	CF23	64,62	61,78
Paja + cascarilla + salvado	<i>G. lucidum</i>	CF50	43,44	48,83
Hojarasca de fresno	<i>G. resinaceum</i>	CF23	47,58	31,23
Hojarasca de fresno	<i>G. lucidum</i>	CF50	18,18	26,87

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos a partir de los ensayos realizados a partir de este trabajo final de graduación permitieron corroborar las hipótesis planteadas.

La elección del sustrato y el procedimiento realizado afectaron el crecimiento micelial en la producción de inóculo. Se observó que las cepas comerciales de *G. lucidum* y *G. resinaceum* presentaron una velocidad de crecimiento en APG entre 20 y 25 días superior a la reportada por de Madrignac y Flecha (2019). Mientras que para las cepas nativas de ambas especies el crecimiento fue notablemente más lento. Sin embargo, hay precedentes con crecimientos acelerados en cepas nativas de *G. resinaceum* de sólo 7 días (Sipping 2022). Esto sugiere la importancia de realizar una selección y mejora de cepas nativas para su uso, como se ha mencionado en otros estudios (Stamets y Chilton 1983).

Se comprobó que la elección de cepas y sustratos obtuvieron marcadas diferencias en las eficiencias biológicas. Las cepas comerciales evaluadas presentaron buenos resultados de eficiencia biológica, incluso con valores superiores a los obtenidos por Postemsky *et al.* (2014a), Morales Estrada (2015) y de Madrignac & Fecha (2019). Sin embargo, la cepa nativa de *G. lucidum* tuvo un crecimiento lento y altos niveles de contaminación. Se podría incorporar mayores proporciones de inóculo para obtener mejores resultados en la producción de basidiomas ya que Kuhar (2012) logró reducir los porcentajes de contaminación de 70 % a 8 % al aumentar un 7% la cantidad de inóculo.

Respecto a los sustratos, se encontró que independientemente de las cepas, las mezclas formadas por Paja de arroz, cascarilla y salvado (PACS) fueron las más efectivas incrementando entre 25 % y 57 % de eficiencia biológica (EB) sobre los otros sustratos. Estos resultados concuerdan con los resultados de Postemsky *et al.* (2014a) y Bidegain (2017) quienes encontraron que las mezclas de sustratos (ej. paja y cascarilla de arroz) y aditivos (salvado y aceite) incrementan notablemente la productividad. Sin embargo, se menciona que la utilización de aditivos puede aumentar el costo de producción (Bidegain 2017, de Madrignac y Fecha 2019). En este estudio no se evaluó la incorporación de aceite como aditivo. Con relación a la tasa de productividad (TP), esta fue óptima en los sustratos Pacs (1,09) y Hj (0,79) para *G. resinaceum* y en Pacs para *G. lucidum* (0,75), notablemente superior a la TP 0,12 de *G. lucidum* en viruta de vid reportada por Morales Estrada (2015).

Considerando que otros sustratos como aserrín de eucalipto (As) y hojarasca de fresno (Hj) también presentaron valores considerables de EB, entre 35 y 47 %EB para la cepa CF 23 respectivamente, es interesante investigar la suplementación de estos sustratos para equilibrar la relación C/N, por su alto contenido de nitrógeno disponible (Rodríguez y Jaramillo 2005). También se menciona la posibilidad de utilizar otros residuos, suplementos o formulaciones de sustratos compuestos, por ejemplo, borra de café, restos de yerba, entre otros (Tabares y Toro 2013, Grassi *et al.* 2019, Klotz *et al.* 2022).

En cuanto a la precocidad, se obtuvieron resultados superiores a los descritos por otros autores (Chen y Miles 1996, Herrera Arias 2023) quienes observaron una precocidad de 50 a 69 días, lo que sugiere un potencial productivo interesante para *Ganoderma* en este contexto.

Finalmente, se estableció que la producción de *Ganoderma* spp. es factible de realizar en la provincia de Corrientes. Al evaluar la influencia de la temperatura, no se observó una diferencia significativa en la eficiencia biológica en las cepas, sustratos y temperaturas analizadas. Sin embargo, se notó un mejor desarrollo de *G. resinaceum* a 25 °C y de *G. lucidum* a 30 °C. Esto se sustenta con los estudios de Gurung *et al.* (2012) quienes también observaron que *G. lucidum* presentó mejores rendimientos a 30°C. Si bien se destaca que *G. lucidum* es un hongo mesofílico con un rango de crecimiento entre 10 y 35°C (Griffin 1994), se sugiere evaluar en futuros estudios si la amplitud térmica entre el día y la noche en la provincia de Corrientes, afecta la producción de hongos, considerando que ambas especies pueden crecer en una gran amplitud térmica siempre que la humedad relativa se mantenga entre 60 y 95 % (Du *et al.* 2019).

En este trabajo se logró aportar información relevante sobre el inóculo, sustrato y temperatura óptimos para la producción de hongos medicinales *Ganoderma* en la provincia de Corrientes, proporcionando conocimientos fundamentales para su desarrollo y aprovechamiento sustentable. Sin embargo, se sugiere continuar investigando cepas nativas, sustratos y suplementos para mejorar los resultados obtenidos hasta el momento.

CONCLUSIONES

Este TFG logró establecer las condiciones óptimas para la producción de hongos medicinales del género *Ganoderma* spp. en la provincia de Corrientes utilizando residuos agroindustriales locales.

Para la producción de *Ganoderma*, se determinó que la elección del sustrato y las cepas son factores claves que influyen en el crecimiento micelial. Se estableció un protocolo eficiente para convertir el micelio de *Ganoderma* en inóculo, destacando el método de remojo (R) como una opción de hidratación preferente debido a su menor gasto energético.

En cuanto a los sustratos, se demostró que la mezcla de paja de arroz, cascarilla y salvado de arroz (Pacs) presentó los valores más altos de eficiencia biológica y tasa de productividad, lo que indica que este sustrato proporciona un entorno adecuado para la fructificación de *Ganoderma*. Los sustratos de hojarasca de fresno (Hj) y aserrín de eucalipto (As) también mostraron resultados favorables, aunque en menor medida que Pacs, pero tienen la ventaja de no generar gastos adicionales.

En cuanto a la influencia de la temperatura en la producción de basidiomas de *Ganoderma*, no se observaron diferencias significativas en la eficiencia biológica en el rango de temperatura de 25 a 30 °C. Aunque no se pudo evaluar la productividad a 20 °C para representar mejor la amplitud térmica de las estaciones de otoño-primavera en la provincia de Corrientes, estaciones que son adecuadas para *Ganoderma*. Se observó una cierta preferencia de *G. resinaceum* por 25 °C y de *G. lucidum* por 30 °C.

Estos resultados brindan conocimientos fundamentales para el desarrollo de la producción de hongos medicinales en la provincia de Corrientes y ofrecen nuevas oportunidades para el aprovechamiento sustentable de residuos agroindustriales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albertó, E. 2008. Cultivo intensivo de los hongos comestibles: cómo cultivar champiñones, gírgolas, shiitake y otras especies. Hemisferio Sur. Buenos Aires.
- Albertó, E., N. Curvetto., J. Deschamps., R. González Matute y B. Lechner. 2010. Hongos silvestres y de cultivo en Argentina: historia, regiones y sistemas de producción, hongos silvestres de valor económico, consumo, mercado interno y externo, legislación, oferta tecnológica e investigación y desarrollo hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI, pp. 333-358. IIB-INTECH(CONICET-UNSAM), Bs As.
- Álvarez Burgos, L. y M. Lara Hidalgo. 2006. Hongos en el tapete: Oportunidades y riesgos de una producción de alto valor. En: Boletín Informativo Agroalternativo (www.agroalternativo.com.ar/docs/columnahongostapete.htm)
- Batra, P., A. K. Sharma y R. Khajuria. 2013. Probing Lingzhi or Reishi Medicinal Mushroom *Ganoderma lucidum* (Higher Basidiomycetes): A Bitter Mushroom with Amazing Health Benefits. *Int. J. Med. Mushrooms* 15(2): 127-143.
- Bidegain, M. A. 2017. Optimización del cultivo de *Ganoderma lucidum*. Evaluación de actividad y desarrollo de nutraceuticos. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina. [Tesis doctoral].
- Bidegain, M. A., P. Postemsky, R. González Matute., D. Figlas, R. Devalis, S. Delmastro, C. Pereyra Huertas, N. Curvetto y M. A. Cubitto. 2014. Optimización de la producción del hongo medicinal Reishi (*Ganoderma lucidum*) para el desarrollo de nutraceuticos y fitoterápicos. V Jornadas Académicas de la RedVITEC.
- Carpineti, L. A., F. Dalla Tea, J. E. Glade, M. A. Marco. 1995. Manual para productores de Eucaliptos de la Mesopotamia Argentina. INTA. Concordia.
- Chen, A. W. y P. G. Miles. 1996. Cultivation of *Ganoderma bonsai*, In: Royse D. J. (ed.). *Mushroom biology and mushroom products*. University Park, PA: Penn State Univ. Press. Pp. 325-334.
- Cole, R. J. y M. A. Schweikert. 2003. *Handbook of Secondary Fungal Metabolites*, Vol. II, Academic Press, San Diego. 816 pp.
- Cör, D., Ž. Knez, M. Knez Hrnčič. 2018. Antitumour, antimicrobial, antioxidant and antiacetylcholinesterase effect of *Ganoderma lucidum* terpenoids and polysaccharides: A review. *Molecules* 23(3): 649.
- Costa-Rezende, D. H., G. L. Robledo, E. R. Drechsler-Santos, M. Glen, G. Gates, B. R. de Madrigal Bonzi, O. F. Popoff, E. Crespo y A. Góes-Neto. 2020. Taxonomy and phylogeny of polypores with ganodermatoid basidiospores (Ganodermataceae). *Mycological Progress* 19(8): 725-741.
- Cruz, D., E. L. de León, L. F. Pascual y M. Battaglia. 2010. Guía técnica de producción de hongos comestibles de la especie *Pleurotus ostreatus*. *Journal of Agriculture and Environment for International Development (JAEID)* 104(3/4): 139-154.
- Curvetto, N. R., R. González-Matute, D. Figlas y S. Delmastro. 2004. Cultivation of Oyster mushrooms on sunflower seed hull substrate. *Mushroom growers' handbook 1: Oyster Mushroom Cultivation*, Seúl. 104-108 p.

- De Madrignac, B. R. y Flecha, A. 2019. Evaluación del cultivo de *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes, Agaricales Polyporales) empleando sustratos alternativos presentes en el Paraguay. *Lilloa* 56(1), 1-13.
- Di Rienzo, J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada y C. W. Robledo. 2020. InfoStat versión 2020. Centro de transferencia InfoStat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Dritsa, V., F. Rigas, D. Doulia, E. J. Avramides, I. Hatzianestis. 2009. Optimization of Culture Conditions for the Biodegradation of Lindane by the Polypore Fungus *Ganoderma australe*. *Water, air, and soil pollution*, 204: 19-27.
- Du, Z., C. H. Dong, K. Wang y Y. J. Yao. 2019. Classification, Biological Characteristics and Cultivations of *Ganoderma*. En Z. Lin y Yang, B. (eds.). *Ganoderma and Health Biology, Chemistry and Industry*, pp. 15-58. © Springer Nature, Singapore.
- Fernández Mayer, A. 2020. Producción de carne con forrajes naturales: estrategias prácticas, para mejorar el futuro de la ganadería en regiones áridas, semiáridas y subhúmedas, transformando las malezas o "buenezas" en carne (incluye recetas de cocina y propiedades medicinales). Ed. INTA.
- Gaitán-Hernández, R. y I. Báez Rodríguez. 2008. Crecimiento micelial de cepas silvestres nativas de *Lepista nuda*, en medios de cultivo con diferentes suplementos orgánicos. *Rev. Mex. Micol.* 26: 41-49.
- Gaitán-Hernández, R., D. Salmones, R. Pérez, y G. Mata. 2006. Manual práctico del cultivo de setas. Aislamiento, siembra y producción. Instituto de Ecología AC, Xalapa.
- Gong, T., R. Yan, J. Kang y R. Chen. 2019. Chemical components of *Ganoderma*. *Ganoderma and Health: Biology, Chemistry and Industry*, 59-106.
- González-Matute, R., D. Figlas, R. Devalis, S. Delmastro y N. R. Curvetto. 2002. Sunflower seed hulls as a main nutrient source for cultivating *Ganoderma lucidum*. *Micol. Apl. Int.* 14(2): 1-6.
- Grassi, E., P. Álvarez y M. P. Rastelli. 2019. Guía para la producción de hongos comestibles. 1ra. Ed. Buenas prácticas de manejo y diseños de espacio de cultivo. Instituto Misionero de Biodiversidad. 14 p.
- Griffin, D. H. 1994. *Fungal Physiology*. 2nd edition. New York: Wiley Liss, Chemical requirement for growth; pp. 130-157.
- Gurung, O. K., U. Budathoki y G. Parajuli. 2012. Effect of different substrates on the production of *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) Karst. *Our nature* 10(1): 191-198.
- Herrera Arias, S. 2023. Método modificado para la producción de biomasa fúngica de *Ganoderma* spp. UAEM. [Tesis Doctoral].
- Hsieh, C. y F. Yang. 2004. Reusing soy residue for the solid-state fermentation of *Ganoderma lucidum*. *Bioresour Technol* 91: 105–109.
- Jiang, H., P. Sun, J. He y P. Shao. 2012. Rapid purification of polysaccharides using novel radial flow ion-exchange by response surface methodology from *Ganoderma lucidum*. *Food and Bioprocess Processing* 90(1): 1-8.
- Klotz, D., F. Kratzert, M. Gauch, A. Keefe Sampson, J. Brandstetter, G. Klambauer, H. Sepp y G. Nearing. 2022. Uncertainty estimation with deep learning for rainfall–runoff modeling. *Hydrology and Earth System Sciences* 26(6): 1673-1693.

- Kuhar, J. F. 2012. Cultivo de *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. y evaluación de su aplicación a la biorremediación. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. [Tesis Doctoral].
- Lechner, B. E., M. Rugolo y J. Mallerman. 2018. Hongos comestibles: el cultivo de *Flammulina velutipes* (enokitake). Eudeba.
- Li, C. H., P. Y. Chen, U. M. Chang, L. S. Kan, W. H. Fang, K. S. Tsai y S. B. Lin. 2005. Ganoderic acid X, a lanostanoid triterpene, inhibits topoisomerases and induces apoptosis of cancer cells. *Life sciences* 77(3): 252-265.
- Liu, W., Q. J. Tang, G. Y. Zhang, N. Feng y W. Han. 2018. In vitro anti-tumor and immunological activity of *Ganoderma lobatum*. *Microbiol. China* 45(4): 819-824.
- Morales Estrada, R. I. 2015. Madera de vid como sustrato potencial para el cultivo sólido de *Ganoderma* spp. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. [Tesis de Maestría].
- Peksen, A. y G. Yakupoglu. 2008. Tea waste as a supplement for the cultivation of *Ganoderma lucidum*. *World J Microbiol Biotechnol.* 25: 611-618.
- Postemsky, P. D., M. Bidegain, R. Devalis, D. Figlas, R. González-Matute, S. Delmastro, N. Curvetto y M. A. Cubitto. 2014b. Aprovechamiento de residuos agroindustriales del arroz para el cultivo del hongo medicinal *Ganoderma lucidum*. Conferencia: V Jornadas Académicas de la RedVITEC.
- Postemsky, P. D., S. E. Delmastro y N. R. Curvetto. 2014a. Effect of edible oils and Cu (II) on the biodegradation of rice by-products by *Ganoderma lucidum* mushroom. *Int. Biodeterior. Biodegradation* 93: 25-32.
- Postemsky, P. D., Bidegain, M. A., R. González-Matute, N. D. Figlas, y M. A. Cubitto. 2017. Pilot-scale bioconversion of rice and sunflower agro-residues into medicinal mushrooms and laccase enzymes through solid-state fermentation with *Ganoderma lucidum*. *Bioresource technology*, 231, 85-93.
- Reyes, G., A. Abella, F. Eguchi, T. Iijima, M. Higaki y T. Quimio. 2004. Growing paddy straw mushroom. En: mushroom grower's handbook 1; oyster mushroom cultivation. Corea. Mushroom World. 262-269 p.
- Rodríguez, N., y C. Jaramillo. 2005. Cultivo de hongos medicinales en residuos agrícolas de la zona cafetera. Programa de Investigación Científica. Colombia. Boletín técnico N° 28.
- Sipping, M. T. K., F. K. Mediesse, A. Y. N. Sombes, A. Mfopa y T. Boudjeko. 2022. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Ganoderma resinaceum* (Boud) fruiting bodies extracts. *Journal of Herbmed Pharmacology* 11(3): 348-359.
- Smith, J. E., N. J. Rowan y R. Sullivan. 2002. Medicinal mushrooms: a rapidly developing area of biotechnology for cancer therapy and other bioactivities. *Biotechnology Letters* 24: 1839-1845.
- Sone, Y., R. Okuda, N. Wada, E. Kishida, y A. Misaki. 1985. Structures and antitumor activities of the polysaccharides isolated from fruiting body and the growing culture of mycelium of *Ganoderma lucidum*. *Agricultural and biological chemistry* 49(9): 2641-2653.
- Stamets, P. y J. S. Chilton. 1983. *The Mushroom Cultivator. A Practical Guide to Growing Mushrooms at Home*. Agaricon Press, Olympia, Washington DC, 415 p.
- Suárez, C. y M. S. Holguín. 2011. Evaluación de medios de cultivo sintéticos y cereales para la producción de semilla de setas comestibles. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 5(1): 130-140.

- Sudheer, S., I. Alzorqi, S. Manickam y A. Ali. 2019. Bioactive compounds of the wonder medicinal mushroom "*Ganoderma lucidum*". *Bioactive Molecules in Food*, 1863-1893.
- Tabares, F. y C. Toro. 2013. Actividad antiinflamatoria y antioxidante del extracto etanólico del hongo *Ganoderma lucidum* cultivado en residuos de la industria cafetera y fructificado bajo radiaciones del espectro visible de longitudes de onda específica. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira. Trabajo de grado.
- Toledo, C. V. y C. Barroetaveña. 2017. Crecimiento micelial de especies silvestres de hongos comestibles de los bosques andinopatagónicos: primeros pasos para su domesticación. *Boletín de la Sociedad Argentina De Botánica* 52(3): 435–446.
- Vazirian, M., S. Dianat, A. Manayi, R. Ziari, A. Mousazadeh, E. Habibi, S. Saeidnia y Y. Amanzadeh. 2014. Anti-inflammatory effect, total polysaccharide, total phenolics content and antioxidant activity of the aqueous extract of three basidiomycetes. *Research Journal of Pharmacognosy* 1: 15-21.
- Yazawa, Y., M. Yokota y K. Sugiyama. 2000. Antitumor promoting effect of an active component of *Polyporus*, ergosterol and related compounds on rat urinary bladder carcinogenesis in a short-term test with concanavalin A. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 23(11): 1298-1302.
- Zervakis, G., A. Philippoussis, S. Ioannidou y P. Diamantopoulou. 2001. Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. *Folia microbiologica* 46: 231-234.
- Zhou, X. W., K. Q. Su y Y. M. Zhang. 2012. Applied modern biotechnology for cultivation of *Ganoderma* and development of their products. *Appl Microbiol Biotechnol* 93: 941-963.
- Zhu, K., S. Nie, C. Li, S. Lin, M. Xing, W. Li, D. Gong y M. Xie. 2013. A newly identified polysaccharide from *Ganoderma atrum* attenuates hyperglycemia and hyperlipidemia. *International journal of biological macromolecules* 57: 142-150.
- Zhu, K. X., S. P. Nie, L. H. Tan, C. Li, D. M. Gong y M. Y. Xie. 2016. A polysaccharide from *Ganoderma atrum* improves liver function in type 2 diabetic rats via antioxidant action and short-chain fatty acids excretion. *Journal of agricultural and food chemistry* 64(9): 1938-1944.