

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA BIOLÓGICA EN EL CULTIVO DEL HONGO *SCHIZOPHYLLUM COMMUNE* EMPLEANDO RESIDUOS AGROINDUSTRIALES

Juan C. Henao-Rojas¹, Sandra Montoya-Barreto¹, Belarmino Segura Giraldo²

RESUMEN

El *Schizophyllum commune* es un hongo con características alimentarias relevantes, dado su valor nutritivo y su bajo contenido calórico; posee además, minerales como calcio, potasio y hierro. No obstante, este hongo también tiene atributos medicinales por su contenido de β -glucanos, el más relevante, el *Schizophyllano*, con efecto antitumoral sobre cáncer cervical. En este trabajo se evaluó la eficiencia biológica del cultivo del hongo empleando residuos agroindustriales del departamento de Caldas-Colombia, donde se probaron dos formulaciones basadas en cascarilla de café, aserrín de madera, y salvado de maíz, ambas llevadas hasta 65% de humedad. Se utilizaron dos unidades de producción de sustrato, de 1Kg y 3Kg respectivamente. El material formulado fue empacado en bolsas de polipropileno biorientado y esterilizado a 121°C por una hora, e inoculado al 4% en base húmeda con semilla del hongo. La semilla fue producida utilizando trigo hidratado (40% de humedad) e inoculado con micelio del hongo extendido en agar papa dextrosa (PDA). El sustrato inoculado y empacado en bolsas se llevó a salas de cultivo a condiciones controladas de temperatura, humedad, concentración de aire y bióxido de carbono, e intensidad de luz, para las fases de colonización y compactación, formación de primordios, crecimiento y maduración. Esto, hasta la obtención de dos cosechas de cuerpos fructíferos, durante 60 días. Las eficiencias biológicas obtenidas fueron de 20 al 30%. Con este trabajo se busca contribuir con la investigación y desarrollo sobre el cultivo de hongos macromicetos de uso medicinal, como alternativas de aprovechamiento de los residuos agrícolas y agroindustriales de Colombia.

Palabras clave: *Schizophyllum commune*, residuos agroindustriales, eficiencia biológica, unidad de producción.

¹ Instituto de Biotecnología Agropecuaria, Planta de Bioprocesos, Facultad de ingeniería,

² Universidad de Caldas. Calle 65 No. 26-10, Manizales (Caldas), Colombia.

juan.2561322909@ucaldas.edu.co,

sandra.montoya@ucaldas.edu.co; ⁴bsegura@autonoma.edu.co

ABSTRACT

The *Schizophyllum commune* is a fungus with relevant food characteristics, given its nutritional value and low caloric content; it also possesses minerals such as calcium, potassium and iron. However, this fungus also has medicinal attributes for their content of β -glucans, the most relevant, the Schizophyllano with antitumor effect on cervical cancer. In this paper the biological efficiency of mushroom cultivation was evaluated using agroindustrial waste of Caldas state (Colombia), where two formulations based on coffee husk, sawdust and corn bran were tested, both carried up to 65% moisture two units of substrate production of 1kg and 3kg respectively were used. The formulated material was bagged in biaxially oriented polypropylene and sterilized at 121°C for one hour, and inoculated to 4% on a wet basis with fungus seed. The seed was produced using hydrated wheat (40% moisture) and inoculated with mushroom mycelium spread in potato dextrose agar (PDA). The inoculated and bagged substrate was taken to the cultivation rooms in controlled conditions of temperature, humidity, air concentration and carbon dioxide, and light intensity, for the phases of settlement and compaction, primordia formation, growth and maturation. The above, until obtaining two crops of fruit bodies, for 60 days. Biological efficiencies were obtained from 20 to 30%. This paper seeks to contribute to the research and development mushrooms macromycetes cultivation of medicinal purposes as alternative uses of agricultural and agro-industrial residues of Colombia.

Keywords: *Schizophyllum commune*, agro-industrial wastes, biological efficiency, production unit

INTRODUCCION

El *Schizophyllum commune* es un hongo basidiomiceto saprofita comúnmente encontrado en los territorios de centro y sur américa. Si bien este hongo no es reportado como un hongo comestible, presenta ciertas características de interés dado su alto valor nutritivo y su bajo valor calórico, siendo una fuente de minerales como hierro, potasio, y calcio. Sin embargo el *Sch. commune* cobra

importancia no por su calidad nutricional, sino por su utilidad farmacológica, al poseer glucanos que actúan como antitumorales e inmunomoduladores, y los cuales han sido objeto de estudios acerca de la producción de exopolisacaridos (EPS) y su posible relación con la actividad biológica. El polisacárido más investigado del *Sch. Commune* es el Schizophyllano, el cual es un homopolisacarido soluble en agua no

iónico, que consiste en una cadena lineal de β -D-1,3-glucopiranosil producida por la fermentación sumergida de *Sch. Commune* (Figura 1). Este componente cuenta con múltiples reportes de acción biológica, entre los que se pueden mencionar: actividad citostática sobre tumores senográficos en modelos murinos, aumento de la media de supervivencia en pacientes terminales de cáncer gástrico, como un agente

inmunoterapéutico auxiliar en el tratamiento de la cabeza y el cuello y, especialmente, uso como co-adyudante en el tratamiento del Cáncer de cuello uterino en etapa II y cáncer cervical (Lee, Lee et al. 2011). Es de resaltar que este glucano se comercializa en Japón y China como un fármaco avalado por la legislación de dichos países, bajo los nombres de SPG, Sizofiran, Sonifilan, y Sizofilan (Vannucci, Krizan et al. 2013).

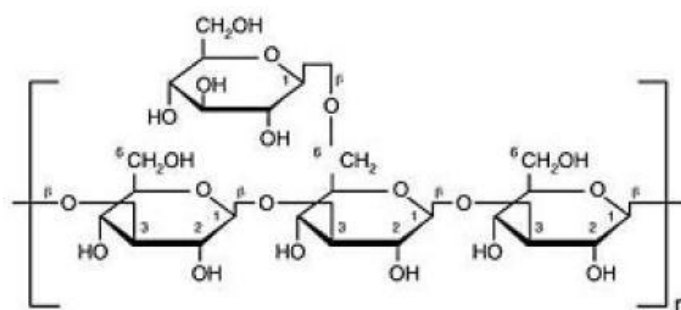


Figura 1. Estructura química de Schizophyllano.

Otros componentes bioactivos presentes en el *Sch. commune* son las Lectinas, las cuales un grupo heterogéneo de proteínas o glucoproteínas de origen no inmune que se unen de manera específica y reversible a carbohidratos. En el caso particular de la lectina de *Sch. commune* (SCL), estudios de Chumkhunthod, Rodtong et al. (2006) demostraron que como glicoproteína tiene una actividad citotóxica contra células de carcinoma epidermoide.

En cuanto al tratamiento de material lignocelulósico mediante bioconversión fúngica, ofrece una oportunidad para la utilización de una gran cantidad de residuos fotosintéticos. Estos residuos se estiman en 1010 millones de toneladas por año, lo cual presenta una fuente de recursos relevante. Sin embargo, la gran mayoría de estos no son sintetizables directamente por los seres humanos o animales, y se convierten en una fuente

de graves problemas medioambientales. Su disposición actual se restringe únicamente a quemas controladas en campo, o como alimentación en calderas para generación de vapor en industrias, o la simple disposición no controlada en zonas verdes, las cuales aportan a la generación de gases de efecto invernadero o la acidificación de suelos. Es así como el cultivo por fermentación sólida de hongos micromicetos se convierte en una alternativa viable para la generación de productos de alto valor agregado a partir de residuos lignocelulósicos (Montoya, 2012).

En el presente trabajo de investigación se determinaron los rendimientos de cultivo de *Sch. commune* en dos formulaciones de sustrato elaboradas a partir de cascarilla de café, aserrín de madera y salvado de maíz, variando además la unidad de producción de 1 Kg y 3Kg, con el fin de encontrar las condiciones más adecuadas para el aprovechamiento de residuos y la producción de basidiomas de este hongo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Organismo

Para esta investigación se utilizó la cepa de *Schizophyllum commune* MW 99, disponible en la Planta de bioprocesos de la Universidad de Caldas- Colombia,

proveniente del banco de cepas de la Universidad de Pensilvania-USA. Fue extendida y mantenida mediante repiques periódicos en agar PDA (Papa dextrosa Agar) e incubadas a 25°C hasta su colonización completa la cual duró entre seis a ocho días.

Preparación de la semilla

Para la elaboración de la semilla del hongo *Sch. commune* se adaptó el protocolo de Montoya, Orrego et al. (2012), usando trigo entero hidratado hasta 40% de humedad, empacado en unidades de 200 g y en bolsas de polipropileno biorientado con tapón de algodón, llevados a esterilización a 121°C, 21 psi y 30 minutos, utilizando el método Thyndall. El grano fue inoculado con 4 trozos (0.5 cm x 0.5 cm) de agar PDA (Papa Dextrosa Agar), colonizado con el hongo e incubado a 25°C hasta la colonización total del grano en un tiempo de siete a nueve días.

Formulación y elaboración del sustrato

Para la formulación del sustrato se utilizaron materiales lignocelulósicos residuales de empresas de la región cafetera de Caldas-Colombia. Las materias primas fueron Aserrín de Madera con humedad promedio de 14.51%, Salvado de Maíz con humedad promedio de 13.86%, Cascara de Café con un contenido de agua promedio 11.62%,

azúcar con humedad promedio de 1.82% y Carbonato de Calcio. El sustrato final fue llevado hasta un porcentaje de agua de 63.75%. La descripción de las dos formulaciones estudiadas se encuentra consolidada en la Tabla 1. El sustrato fue homogenizado de manera manual, y empacado en bolsas de 1 y 3 kilogramos de polipropileno bi-orientado para su

posterior esterilización a 121°C, 21 psi y durante una hora. Posterior a esto, las bolsas con sustrato fueron inoculadas en condiciones estériles con la semilla anteriormente descrita al 4% en masa total. Las bolsas inoculadas se incubaron en salas de cultivo con condiciones controladas de luz, humedad relativa y relevos de aire.

Tabla 1. Porcentajes de participación de dos formulaciones para el cultivo de basidiomas de *Schizophyllum commune* por fermentación en estado sólido.

Materia Prima	Formulación 1	Formulación 2
	% participación	% participación
	(base seca)	(base seca)
Aserrín de madera	77	50
Cascarilla de Café	0	27
Salvado de maíz	20	20
Azúcar	1	1
Carbonato de Calcio	2	2

Análisis de los factores ambientales involucrados en la fructificación de *Schizophyllum commune*.

La totalidad del tiempo de cultivo de este hongo se realizó en salas de cultivo con condiciones controladas de Humedad relativa entre 65% y 90 %, Temperatura 16-25°C, ventilación entre 60 y 120 minutos diarios e intensidad lumínica entre 0-270 luxes. Los cuales fueron

ensayados y son cruciales para el éxito de la formación y maduración de carpóforos sanos (Chang and Hayes, 2013).

Determinación de la eficiencia biológica (EB).

Los cuerpos fructíferos fueron cosechados en el momento posterior a la formación de esporas para garantizar su madures (Chang and Hayes, 2013), y la

eficiencia biológica fue determinada según Shen and Royse (2001), la cual refiere la masa de hongos fresco respecto a la masa de sustrato seco al momento de la siembra en porcentaje.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis del ciclo de crecimiento del hongo *Schizophyllum commune*:

En la totalidad del cultivo de este hongo se lograron identificar siete fases de crecimiento en las cuales las 2 formulaciones evaluadas, no tuvieron diferencia en los tiempos, ni variaciones trascendentales en el cultivo. Estas fases fueron: Colonización y compactación, primera formación de primordios, crecimiento y maduración 1, esporada y cosecha 1, Inducción de primordios segunda cosecha, crecimiento y maduración 2, y finalmente esporada y cosecha 2. A las cuales se les determinó condiciones de: Tiempo, Humedad relativa, necesidad de concentración de CO₂, ventilación e intensidad lumínica. Las condiciones se encuentran en detalle en la Tabla 2. En el diseño realizado se obtuvieron con éxito basidiomas de *Sch. commune* con morfología característica para esta especie. El ciclo de producción se puede observar en la Figura 2.

El proceso de preparación de la semilla es una parte fundamental del cultivo de este organismo, dado que es este proceso se produce una fase de adaptación del hongo a un material con menor contenido de azúcares libres y en el cual es necesario hacer uso de su mecanismo enzimático. Este proceso disminuye el tiempo de adaptación del hongo en el sustrato formulado, lo cual acelera los tiempos de colonización y compactación. En el caso de *Sch. commune* los periodos de colonización de grano son cortos entre siete y nueve días hasta su colonización total en bolsas de 200 gr, y los tiempo de colonización y compactación de sustrato entre 18 y 22 días. Posterior a la compactación del sustrato no fue necesario realizar ninguna perturbación para inducir la formación de primordios en las bolsas, la cual sucedió de manera espontánea. Una variable clave en el crecimiento y la maduración de los carpóforos fue la humedad relativa del ambiente, la cual se mantuvo entre 75% y 80% para evitar la deshidratación e incentivar el adecuado crecimiento de los basidiomas.

El control concentraciones de CO₂ con relevos de aire en las diferentes fases de crecimiento, mostro ser adecuado ya que no se presentaron contaminaciones o malformaciones indeseables de los

carpóforos como lo reportan Hu, Wu *et al.* (2013). En particular el incremento de la concentración de CO₂ para incentivar la formación de primordios para la segunda cosecha (Chang and Hayes, 2013) se

realizó re-embolsando los sustratos –agotados para concentrar el CO₂ metabólico y sometiéndolos a una humedad relativa de 80% a 90%.

Tabla 2. Fases de crecimiento y condiciones de cultivo de *Schizophyllum commune*.

Condiciones de producción <i>Schizophyllum commune</i>						
Fases de crecimiento	Tiempo (Días)	Temperatura °C	Humedad relativa (% HR)	Concentración de CO ₂	Ventilación	Luz Blanca (luxes)
Colonización y compactación	(18-22)	16-20	60-65	No requerida	No requerida	No requerida
Formación de primordios 1	23	22	75-85	No requerida	30 min/12 horas	No requerida
Crecimiento y maduración	(43-46)	16-25	75-80	No requerida	60 min/12 horas	270
Esporada y cosecha 1	49	22-25	No requerida	No requerida	No requerida	270
Inducción de primordios segunda cosecha	53	16-20	85-90	Alta	No requerida	270
Crecimiento y maduración segunda cosecha	(54-62)	16-25	75-80	No requerida	60 min/12 horas	270
Esporada y cosecha 2	63	22-25	No requerida	No requerida	No requerida	270

La exposición a la luz en las fases de crecimiento, maduración y fructificación es usual en el cultivo de varios

macromicetos como *Grifola frondosa*, *Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus* (Chang and Wasser,

2012). Para el cultivo de *Sch. commune* fue de 270 luxes y mostro ser una condición adecuada para incentivar el crecimiento de basidiomas saludables. Lo

anterior se explica por la influencia que tiene la luz sobre los procesos de reproducción sexual en basidiomicetos descritos por Eger-Hummel (1980)



Figura 2. Ciclo de producción de *Schizophyllum commune* Manizales- Caldas, Colombia.

a. Semilla de trigo colonizada totalmente por *Sch. Commune* (escala: 1.5 cm); b. sustrato inoculado con 5 días de incubación (escala: 5 cm); c. colonización del sustrato nueve días de incubación (escala: 5cm); d. formación de primordios 13-15 días de incubación (choque lumínico, ventilación, humedad relativa 75-85%)(escala: 1cm); e. Basidioma 24 días de incubación ; f.,g. Basidioma 32 días de incubación(escala: 2cm); h. Basidioma 42 días de incubación (escala: 2 cm); i,j. Esporada y cosecha de cuerpos fructíferos; k,l. Basidiomas cosechados (escala: 1cm).

Efecto de la formulación del sustrato y la unidad de producción sobre la eficiencia biológica del cultivo.

Para el análisis de las dos formulaciones evaluadas y las unidades de producción de 1 y 3 kg se utilizó como variable de respuesta la eficiencia biológica según Shen and Royse (2001), los cuales la expresan como una relación entre la masa de hongos frescos obtenidos frente a la masa de sustrato seca al momento de la siembra. Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla 3. Como complemento se elaboró un análisis bromatológico de los dos sustratos evaluados (Tabla 4).

Se obtuvo mayor eficiencia biológica en las bolsas de 1Kg en comparación a las bolsas de 3Kg, lo cual es debido a que en una unidad producción más pequeña puede haber menor compactación de los sustratos, lo que facilitara la difusión de las enzimas del hongo y ayudar a la síntesis de los nutrientes necesarios, además de permitir mayor permeabilidad del oxígeno en el material sólido. Una unidad de producción pequeña también aumenta el área de irradiación de la luz en los momentos donde es necesaria y esta se encuentra directamente relacionada con la formación de cuerpos reproductivos (Eger-Hummel, 1980).

En cuanto a la eficiencia biológica en correlación con la composición del sustrato se obtuvo mayor eficiencia biológica en la formulación 2, lo cual puede ser debido a las cantidades de metales como hierro y manganeso, los cuales pueden actuar como cofactores o activadores de enzimas involucradas en su metabolismo. Por otra parte, reportes de Montoya, Orrego et al. (2012) relacionan los contenidos de Zinc con problemas durante la fructificación o incluso inhibición de la misma en hongos basidiomicetos.

CONCLUSIONES

Es posible el cultivo de carpóforos de *Schizophyllum commune* mediante la utilización de residuos lignocelulósicos de la región de Caldas-Colombia. La cascarilla de café constituye una materia prima viable y prometedora para el cultivo de *Schizophyllum commune* para el territorio cafetero de Colombia. Se obtiene mayor eficiencia biológica en el cultivo por fermentación sólida de *Sch. commune* con una unidad de cultivo de 1Kg en comparación a la unidad de 3Kg. Estos resultados contribuyen al estudio de *Sch. commune* en Colombia y permiten el desarrollo de proyectos futuros como la bio-actividad de extractos de sus carpóforos y micelio. En conclusión

general este trabajo contribuye a ampliar el conocimiento del cultivo de hongos medicinales por fermentación en estado sólido en Sur América.

Tabla 3. Eficiencias biológicas en los tratamientos 1 y 2 para bolsas de 1Kg y 3Kg.

FORMULACION 1		
	Bolsas 3Kg	Bolsas 1 Kg
Eficiencia biológica	8,656 %	24,119 %
FORMULACION 2		
Eficiencia biológica	18,904 %	28,356 %

Tabla 4. Análisis bromatológico de sustratos evaluados para cultivo de *Sch. commune*.

Análisis	Unidades	Formulacion 1	Formulacion 2
Materia seca	%	43.72	33.52
Nitrógeno Total	%	1.02	0.64
Proteína Bruta	%	6.38	4.02
Cenizas Totales	%	3.93	3.51
Fósforo	%	0.15	0.10
Potasio	%	0.31	0.20
Calcio	%	1.06	0.89
Magnesio	%	0.07	0.05
Sodio	%	0.01	0.01
Hierro	mg/kg	343.55	389.5
Cobre	mg/kg	4.98	2.80
Manganeso	mg/kg	39.85	40.83
Zinc	mg/kg	29.5	22.83

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Chang, S.-t. and W. A. Hayes (2013). The biology and cultivation of edible mushrooms, Academic press.
- Chang, S.-T. and S. P. Wasser (2012). "The role of culinary-medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health." International journal of medicinal mushrooms **14**(2).
- Chumkhunthod, P., et al. (2006). "Purification and characterization of an N-acetyl-D-galactosamine-specific lectin from the edible mushroom *Schizophyllum commune*." Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, **1760**(3): 326-332.
- Eger-Hummel, G. (1980). Blue-light photomorphogenesis in mushrooms (Basidiomycetes). The blue light syndrome, Springer: 555-562.
- Hu, S.-H., et al. (2013). "Effect of Light and Atmosphere on the Cultivation of the Golden Oyster Culinary-Medicinal Mushroom, *Pleurotus citrinopileatus* (Higher Basidiomycetes)." International journal of medicinal mushrooms, **15**(1).
- Lee, J., et al. (2011). "Macrophage and anticancer activities of feed additives on β -glucan from *Schizophyllum commune* in breast cancer cells." Journal of The Korean Society of Food Science and Nutrition.
- Montoya, S., et al. (2012). "Growth, fruiting and lignocellulolytic enzyme production by the edible mushroom *Grifola frondosa* (maitake)." World Journal of Microbiology and Biotechnology, **28**(4): 1533-1541.
- Montoya., S. (2012). Obtención de enzimas lignocelulolíticas y polisacáridos a partir de residuos lignocelulósicos del departamento de caldas empleando macromicetos de pudrición blanca por fermentación sumergida y fermentación en estado sólido. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas: 200 pp.
- Shen, Q. and D. Royse (2001). "Effects of nutrient supplements on biological efficiency, quality and crop cycle time of maitake (*Grifola frondosa*)." Applied microbiology and biotechnology, **57**(1-2): 74-78.
- Vannucci, L., et al. (2013). "Immunostimulatory properties and antitumor activities of glucans (Review)." International journal of oncology, **43**(2): 357-364.