

# Propiedades nutraceuticas de *Pleurotus* spp.: Aplicaciones en la ovinocultura en la Región de Amecameca

## Nutraceutical properties of *Pleurotus* spp.: Applications in sheep farming in the Amecameca Region

Virginia G. García Rubio<sup>1\*</sup>, Liliana Aguilar Marcelino<sup>2</sup>, René H. Andrade Gallegos<sup>3</sup>, José E. Sánchez Vázquez<sup>3</sup>,  
Juan J. Ojeda Carrasco<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma del Estado de México, Centro Universitario UAEM Amecameca, Cuerpo Académico “Estudios Multidisciplinarios sobre Desarrollo Endógeno para la Sustentabilidad Territorial”, México

<sup>2</sup>Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México

<sup>3</sup>Laboratorio de Hongos Tropicales, El Colegio de la Frontera Sur-Unidad Tapachula, México

Fecha de recepción: 11 de junio de 2022. Fecha de aceptación: 30 de agosto de 2022.

\*Autor de correspondencia: [vggarcia@uaemex.mx](mailto:vggarcia@uaemex.mx)

**Resumen.** Para satisfacer la creciente demanda de alimentos, es necesario impulsar estrategias encaminadas al fortalecimiento de las actividades agrícolas y pecuarias que se desarrollan en los territorios locales, como una vía factible para optimizar los recursos disponibles y generar impactos positivos tanto en lo económico, social como ambiental. Contribuir con la generación de conocimiento sobre los procesos productivos regionales, sus características, condiciones y áreas de oportunidad, permite conocer la problemática que enfrentan, como base para proponer alternativas asequibles que generen una sinergia entre procesos. Esta investigación se realizó en cuatro municipios de la Región de Amecameca, Estado de México (México), en los cuales además de localizar y caracterizar las unidades de producción de hongos comestibles *Pleurotus* spp. se recuperan los usos que se le da a los hongos y sustratos poscosecha, con el objeto de promover un mejor aprovechamiento por sus propiedades nutraceuticas en la alimentación humana y de los ovinos, respectivamente. En el trabajo de campo, se generó información cualitativa y cuantitativa de las UP mediante la aplicación de entrevistas y observación participante; de igual forma, se realizó la colecta de ejemplares que fueron identificados taxonómicamente y cultivados *in vitro* en laboratorio, para la obtención del micelio empleado para la genotipificación de las especies. La información generada se analiza de forma integral para destacar las áreas de oportunidad y las potencialidades que ofrecen estos recursos locales para la seguridad alimentaria en la región.

**Palabras clave.** Genotipificación, identificación taxonómica, nutraceuticos, ovinocultura, *Pleurotus* spp, seguridad alimentaria.

**Abstract.** To meet the growing demand for food, it is necessary to promote strategies aimed at strengthening agricultural and livestock activities that take place in local territories, as a feasible way to optimize available resources and generate positive impacts in economic, social and environmental terms. . Contributing to the generation of knowledge about regional production processes, their characteristics, conditions and areas of opportunity, allows knowing the problems they face, as a basis for proposing affordable alternatives that generate synergy between processes. This research was carried out in four municipalities of the Amecameca Region, State of Mexico (Mexico), in which, in addition to locating and characterizing the Production Units (PU) of edible mushrooms *Pleurotus* spp. the uses given to mushrooms and post-harvest substrates are recovered, in order to promote a better use for their nutraceutical properties in human and sheep feeding, respectively. In the field work, qualitative and quantitative information on the PUs was generated through the application of interviews and participant observation; In the same way, the collection of specimens that were taxonomically identified and cultivated *in vitro* in the laboratory was carried out, to obtain the mycelium used for the genotyping of the species. The information generated is analyzed comprehensively to highlight the areas of opportunity and the potential offered by these local resources for food security in the region.

**Keywords.** Genotyping, taxonomic identification, nutraceuticals, sheep farming, *Pleurotus* spp, food safety.

## 1. Introducción

Uno de los grandes desafíos que se enfrentan en la actualidad, es atender la creciente demanda mundial de alimentos para satisfacer las necesidades de las poblaciones. Esta condición ha obligado a instrumentar estrategias que fortalezcan la producción agropecuaria en las diferentes regiones, especialmente en aquellas en vías de desarrollo.

Debido a las restricciones que existen en estas regiones para integrar una mayor tecnificación en los procesos, el establecimiento de nuevos sistemas productivos o la diversificación de la base productiva, principalmente por el déficit presupuestario; una vía factible para contribuir con este objetivo, se orienta a fortalecer las actividades tanto agrícolas como pecuarias que tradicionalmente se desarrollan de forma incipiente, aislada y bajo prácticas productivas poco rentables, para promover un mejor aprovechamiento de los recursos disponibles y así generar una plusvalía no sólo en lo económico, sino en lo social y ambiental. Para ello, es necesario contribuir con la generación de conocimiento sobre los procesos productivos regionales, las características y condiciones bajo las cuales se desarrollan y sus áreas de oportunidad, con el propósito de detectar las problemáticas que enfrentan, como base para proponer alternativas asequibles que generen una sinergia entre procesos, a través de la aplicación de conocimientos generados.

Aun cuando en la Región de Amecameca el uso de los hongos *Pleurotus* spp. cuenta con una gran tradición gastronómica; en general, se desconocen las potencialidades que ofrece este recurso no sólo para la alimentación humana, sino animal. El consumo humano se asocia más al sabor, que al conocimiento de las propiedades nutraceuticas (alimentos que además de contar con cualidades nutricionales aportan beneficios a la salud). Las setas del género *Pleurotus*, cumplen con esta propiedad nutraceutica: en el aspecto nutricional, su alto contenido de proteínas y aminoácidos esenciales les confieren un alto valor biológico [1], los carbohidratos digeribles son libres de almidón, lo que implica que aportan energía pero no tienden a incrementar el peso; en los lípidos predominan ácidos insaturados con bajos contenidos de grasa, con un papel importante en el aporte energético [2]; adicionalmente, los contenidos de vitaminas (principalmente del grupo B) y minerales, aunque no aportan energía, tienen un papel crucial en el adecuado funcionamiento del organismo [3], [4], [5].

Los beneficios para la salud, se asocian a la presencia de sustancias bioactivas como compuestos fenólicos [6], β-glucanos [7], lectinas, xilanos y polisacáridos, así como una variedad de enzimas fúngicas como lacasas, amilasas, xinalasas, ligninasas, por referir algunos, que les confieren

propiedades antihiper glucémicas [8], antihipertensivas, hipocolesteromiantes, anti-bacteriales, anticancerígenas, antidiabéticas, antiinflamatorias, inmunomoduladoras, entre otras que han sido documentadas [9], [10], [11], [12].

En el caso de la alimentación animal, la integración de los hongos ha demostrado ser una fuente de alto valor nutricional; sin embargo, la tendencia es destinar los basidiomas bien desarrollados al consumo humano, y alimentar a los animales con los primordios contenidos en el sustrato, después de que la cosecha se ha agotado. Así mismo, la utilización de los sustratos en la alimentación del ganado reporta grandes beneficios; unos, asociados al enriquecimiento de los forrajes por los nutrientes aportados por los hongos y otros, por los procesos de deslignificación que producen los hongos en los sustratos empleados para el cultivo, que, en su estado natural, o procesados como paja o ensilado, son difícilmente digeridos, degradados y aprovechados por los animales [13], [14], [15].

Este aspecto es muy importante ya que el valor nutricional de los forrajes, contempla tanto la disponibilidad de nutrientes como la eficiencia de conversión en los procesos metabólicos y digestivos que se desarrollan en el tracto gastrointestinal de los rumiantes y que por lo tanto, afectan la digestibilidad al involucrar a los procesos de digestión, de absorción de nutrientes y del metabolismo animal, interrelacionados con la calidad del forraje por sus contenidos de materia seca, fibra detergente ácida (FDA), fibra detergente neutra (FDN) y proteína cruda, por lo que puede ser muy variable dependiendo de la especie del forraje, así como de la forma de manejo o suministro de que se trate [16], [17].

Al respecto, hongos como *Pleurotus* spp. han recibido especial atención por sus valiosos sistemas enzimáticos, capaces de degradar y mineralizar eficazmente las biomásas lignocelulósicas de desechos agrícolas o forestales, que a diferencia de procesos desarrollados a escala industrial con este propósito (como la hidrotermólisis, la explosión de vapor o de fibras de amonio, o los pretratamientos químicos en que se utiliza hidróxido de sodio (NaOH), o ácidos como el clorhídrico (HCl), nítrico (HNO<sub>3</sub>, o sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) que además de costosos son altamente contaminantes; brinda la ventaja de ser un proceso de pretratamiento biológico más sostenible para degradar la lignina de forma selectiva en el que se produce CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O, sin modificar y/o degradar en gran proporción la celulosa y hemicelulosa, evitando que el forraje se desperdicie, al aumentar su calidad y valor nutricional, así como su digestibilidad, además de ser un método accesible para los pequeños productores pecuarios [18], [19].

Este pretratamiento de los forrajes mediante la acción de los hongos, es un proceso crucial en la conversión de la biomasa lignocelulósica en azúcares fermentables, que facilita

su descomposición por parte de los microorganismos ruminales y, por lo tanto, representa potencialmente una tecnología de pretratamiento ecológica y energéticamente eficiente, que ofrece la ventaja de proporcionar forrajes fácilmente digeribles por los rumiantes, a la vez de reducir la cantidad de desechos que son acumulados o eliminados por otras vías, como la quema en los campos de cultivo, procurando un mejor aprovechamiento y de bajo costo, lo que representa además un proceso más conservador del medio ambiente [20]. Sin embargo, se ha observado, que dependiendo de la especie de hongo de que se trate, la conversión enzimática de los forrajes puede presentar algunas diferencias, dependiendo de los contenidos de enzimas lignilíticas como la Lignina peroxidasa (LiP), Manganese peroxidasa (MnP), Lacasas (Lac), la Peroxidasa Versatil (PV); así como las enzimas celulolíticas (endoglucanasas, celobiohidrolasas,  $\beta$ -glucosidasas y xilanasas), por lo que es necesario evaluar estos potenciales de manera específica [21], [22], [23].

En este marco, el objetivo de la presente investigación fue realizar la identificación y caracterización de unidades de producción del hongo comestible *Pleurotus* spp. en cuatro municipios de la Región de Amecameca, a fin de analizar los usos actuales de los productos y los sustratos residuales, con el fin de promover el aprovechamiento de sus propiedades nutraceuticas en la alimentación humana y animal, particularmente en los ovinos.

La relevancia es de tipo contextual, ya que la región está integrada por municipios rurales, con altos índices de pobreza en donde existe la disponibilidad de recursos para fortalecer tanto el cultivo de hongos, como la ovinocultura. No obstante, las prácticas tradicionales que perviven hacen que muchos de estos recursos, principalmente los residuos agrícolas, estén siendo subutilizados, desechados a campo abierto o quemados, impactando de forma negativa al ambiente.

En los apartados subsiguientes se recuperan los principales elementos metodológicos empleados tanto en el trabajo de campo, como en laboratorio; así como los resultados y conclusiones correspondientes.

## 2. Materiales y Métodos/Metodología

### 2.1 Diseño y tipo de investigación

La investigación fue cuali-cuantitativa, experimental, transversal y prospectiva. Integró dos fases: Fase 1: Trabajo de Campo, que se realizó en cuatro Municipios de la Región (Amecameca, Ayapango, Juchitepec y Tenango del Aire), seleccionados por muestreo por conveniencia, con base en dos criterios de inclusión: a) conocimiento previo sobre el uso de los hongos *Pleurotus* spp. y b) se realiza la ovinocultura. Fase 2: trabajo de laboratorio.

### 2.2 Delimitación espacial

La investigación se desarrolló en la Región de Amecameca, ubicada en la zona sur-oriente del Estado de México, México, a las faldas de los volcanes Iztaccíhuatl y Popocatepetl, integrada por 13 municipios (figura 1), cuya altitud sobre el nivel del mar oscila entre los 2,240 m y 2,461 m. Cuenta con una extensión territorial de 1,193.45 km<sup>2</sup>, lo que equivale al 5.31% del territorio estatal. El clima predominante es el C(w) templado con lluvia en verano, las temperaturas medias anuales oscilan entre 3.8°C y 20.5°C y la precipitación media anual entre 539 mm y 1,214 mm. Un total de 43,189 ha son empleadas para realizar actividades agrícolas a cielo abierto y bajo condiciones de temporal y 1,103 ha de forma protegida mediante riego (viveros). Los cultivos principales incluyen maíz, trigo, frijol, así como algunas verduras y hortalizas. En el aspecto pecuario, se realiza la crianza de bovinos, porcinos, ovinos y aves de corral [24], [25].



Figura 1. Municipios de la Región I Amecameca.

Fuente: Tomado de COPLADEM [24].

Los municipios integrados en la investigación presentan características principalmente rurales, excepto en la cabecera municipal de Amecameca, que tiene un estatus sub-urbano.

### 2.3 Fases de la investigación

#### 2.3.1 Trabajo de campo

Para cada municipio, se realizó la búsqueda de información para la localización de las unidades de producción (UP), tanto en reportes oficiales como los planes de desarrollo municipal e informes de gobierno, y fuentes específicas en internet [26], complementando la ubicación por recorrido directo centro-periferia en cada delegación que los integra,

seleccionando al azar a 15 personas que pudieran proporcionar información al respecto. Se incluyó principalmente a vendedoras de comida que ofrecen el hongo, para saber de dónde lo obtenían, lo que posibilitó la ubicación de algunos productores. En total se entrevistaron a 300 personas, se localizaron tres UP funcionando en Amecameca, dos en Ayapango (una sin operar), cuatro en Juchitepec (3) y una en Tenango del Aire. De las cuatro UP que no estaban operando, dos reportaron problemas de salud del productor, una suspendió por problemas en la comercialización y una está en inhabilitación temporal por desinfección de la UP por problemas de contaminación.

De los nueve productores entrevistados, ocho son mexicanos y uno de origen chino. Cuatro cuentan con formación profesional (dos ingenieros agrónomos, un ingeniero bioquímico y un psicólogo), tres con bachillerato, uno con secundaria y uno no especificó (chino). Sólo tres UP cuentan con una denominación: Agrícola Xalomi (Amecameca), Fúngika (Juchitepec) y Hongos Teposur (Tenango del Aire). El tiempo de operación para los vigentes está en un rango de 2 años a 12 años, y para los inhabilitados de 10 años a 15 años. Seis de los productores iniciaron por interés propio, dos por un curso de capacitación y uno por continuar con la actividad que realizaba en su país de origen. De los productores vigentes, para cuatro es una actividad complementaria y para dos es su fuente principal de empleo e ingresos; cinco compran la semilla y realizan el proceso de pasteurización del sustrato y siembra, uno compra las bolsas ya inoculadas. De acuerdo con los productores el precio de la semilla inoculada (en trigo) fluctúa entre MXN 38.00 y MXN 62.00, el que adquiere las bolsas inoculadas (30" x 36") paga MXN 120.00 por cada una. Cuatro conocen el procedimiento para obtener el micelio, pero no lo realizan por la falta de equipo y de condiciones de laboratorio; cinco de los seis productores cultivan principalmente *Pleurotus ostreatus* (de acuerdo con las especificaciones del proveedor) y uno además de esta especie, *P. djamor* (Juchitepec). Tres utilizan como sustrato paja de trigo, tres utilizan rastrojo de maíz, uno utiliza olote de maíz triturado, uno utiliza una mezcla de rastrojo de maíz y paja de avena y el que adquiere la bolsa, el hongo es inoculado en semillas de sorgo, sembradas en paja de avena.

De los productores que realizan la siembra, seis utilizan gas para la pasteurización, uno gas o leña y uno una esterilizador. Los tiempos de siembra son variables (semanal, quincenal, mensual) en función de las capacidades de las instalaciones. Los nueve productores refieren realizar de dos a tres cortes con basidiomas de buen tamaño, o hasta cuatro o cinco, aunque el tamaño se reduce. El promedio de producción reportado por

los productores es variable, oscilando entre 4 kg y 6 kg por bolsa, excepto para el que compra las bolsas inoculadas que refirió un rendimiento promedio de 10 kg. Todos los productores realizan la comercialización de forma directa ya sea a través de puntos de venta específicos (comercios de familiares o amigos) o por la entrega a los comerciantes que expenden productos elaborados con los hongos, sólo uno lo vende emplayado, con etiqueta de denominación y gramaje, el resto a granel. Sobre el destino de los sustratos agotados (aunque con primordios de hongos), cuatro los depositan directamente en campos de cultivo sin que medie un procesamiento de incorporación y dos elaboran composta. Solo tres refieren tener conocimiento del uso que se puede dar a los sustratos como alimento de animales, dos no lo realizan y uno señala que anteriormente su padre lo molía para dárselo de comer a los conejos.

De las seis UP vigentes, se seleccionaron dos del Municipio de Amecameca y una para los municipios restantes (Ayapango, Juchitepec y Tenango del Aire), para un total de cinco UP. El acopio de información con los productores de hongos se realizó mediante una entrevista estructurada, empleando la observación participante. Las entrevistas fueron grabadas, con base en las cuales se elaboraron las correspondientes versiones estenográficas; así mismo, se realizó el registro fotográfico y caracterización para cada UP. En términos generales, se observó que las instalaciones son poco tecnificadas, aunque en dos UP están mejor habilitadas. La UP del productor de origen chino, es la que presenta mayores deficiencias, ya que el área empleada para el cultivo de hongos es una construcción semidemolidada, en la que el techo y los muros faltantes están cubiertos con lonas y plásticos en mal estado, no existen gabinetes o entrepaños por lo que las bolsas de cultivo se encuentra de forma directa sobre el piso o suelo, ya que hay partes en que el cemento está ausente, por lo que algunos de los hongos hacen contacto con el suelo; algunas de las bolsas son apiladas sobre varillas de construcción (figura 2).



Figura 2. UP de hongos en el Municipio de Amecameca.

De acuerdo con lo observado, además de las condiciones físicas del espacio empleado para el cultivo, existen áreas de oportunidad en el proceso de siembra pues, aunque es el único que cuenta con una esterilizadora y emplea como sustrato olote triturado, éste se encuentra depositado en una plancha de concreto en el patio rodeado de maleza, expuesto al tránsito libre de los perros mostrando algunos de los montículos heces, por lo que las condiciones de higiene y asepsia no son las idóneas (figura 3).



Figura 3. Esterilizadora y montículos de sustrato.

En las otras UP cada una presenta particularidades. En Fúngika el sustrato proviene de los residuos agrícolas de campos de cultivo familiar lo que abate los costos, las pacas de rastrojo de maíz son almacenadas en un invernadero. Las otras UP adquieren el sustrato conforme lo van utilizando, o emplean el disponible de los cultivos del productor, evitando su almacenamiento.

Las áreas destinadas a la pasteurización de los sustratos varían, entre el uso de la esterilizadora empotrada en un muro del patio (figura 3), el uso de tambos dentro de construcciones con quemadores a gas, o utilizando leña en espacios al aire libre, lo que de acuerdo con el productor es un proceso más económico por el costo del gas, pero igualmente genera mayor afectación al ambiente por la tala de árboles y la contaminación producida por la quema (figura 4).



Figura 4. Áreas de pasteurización.

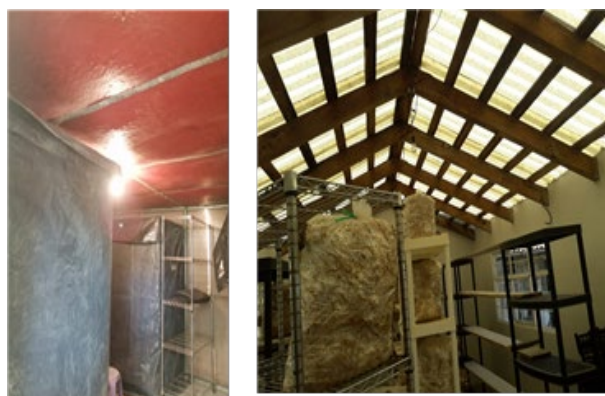
Fuente: Fotografía de la izquierda proporcionada por el productor Sergio Buendía.

Del mismo modo, hay variantes en las áreas de incubación y cultivo, usando espacios construidos o adaptando aquellos que cuentan con un techado, delimitando con lonas el área de cultivo, como en la UP de San Mateo Tepopula en Tenango del Aire (Teposur), en donde las bolsas con los cultivos son colocadas sobre tarimas de madera apilando un segundo nivel al intercalar tablas sobre las bolsas (figura 5).



Figura 5. Adaptación de áreas para el cultivo de hongos.

De las UP destacan la de la Delegación de San Pedro Nexapa, Amecameca del productor Jorge Luis Rosales y de la Delegación de Poxtla, Ayapango de Andrés Montes de Oca. En la primera, aunque la pasteurización del sustrato se realiza a campo abierto (Figura 4), las instalaciones fueron construidas *ex profeso* para la producción de hongos. El área de incubación está totalmente forrada para evitar los estragos de las bajas temperaturas, generando completa obscuridad, aunque adicionalmente los anaqueles en los que se colocan las bolsas inoculadas son cubiertas con plástico negro, en la época de calor se utiliza un ventilador. El área de cultivo, está totalmente limpia, se desinfecta previo a la colocación de las bolsas en los estantes y se mantienen controladas variables como temperatura y humedad. El techado combina láminas transparentes y traslúcidas para aprovechar la luz natural (figura 6).



**Figura 6.** Areas de incubación y crecimiento UP San Pedro Nexapa.

En la UP de Poxtla, la construcción tiene diferenciadas las áreas de incubación (obscuridad) y crecimiento. Este productor es el que adquiere las bolsas inoculadas y reporta los mayores rendimientos. Además de la asepsia de las instalaciones hay un control de la temperatura y humedad (figura 7).



**Figura 7.** Areas de incubación y crecimiento UP Poxtla.

Según se muestra, las características de las UP son muy diferentes. Las áreas de oportunidad detectadas se asocian a la insuficiencia de recursos para poder contar con instalaciones adecuadas que permitan que la producción pueda realizarse de forma sostenida. Algunos de los productores enfrentan problemas de contaminación de los cultivos, por la falta de control de variables, lo cual puede subsanarse con la asesoría correspondiente ya que salvo en dos casos en los que los productores cuentan con una formación profesional y la actualización constante, los demás han establecido los cultivos

de forma empírica, sin tener pleno conocimiento de los factores que pueden afectar no solo la productividad, sino la inocuidad de los alimentos.

En la figura 8 se muestran algunos ejemplares colectados para el procesamiento en el laboratorio.



**Figura 8.** Muestras de hongos colectadas en el trabajo de campo.

En cada UP se realizó la colecta de muestras de material biológico, que fueron debidamente etiquetadas (Municipio, UP, colector, fecha), para su posterior procesamiento en laboratorio, registrando en el momento de la colecta los datos básicos: sustrato, hábito de crecimiento, tipo de unión del cuerpo fructífero al sustrato, tamaño, forma y color del píleo (sombbrero) y estípite (pie) y del contexto (“carne”), el grosor, consistencia, olor y sabor, así como características del himenio (porción interna del píleo donde se localizan las esporas). Una vez registradas estas características, los hongos fueron desecados a temperatura ambiente, mediante luz solar indirecta; separando uno o dos ejemplares para los cultivos *in vitro*.

### 2.3.2 Trabajo de laboratorio

El trabajo de laboratorio integró cinco muestras (dos para el Municipio de Amecameca y una para los otros tres municipios) e incluyó tres procesos: a) determinación taxonómica, b) cultivo *in vitro* de micelio y c) genotipificación y secuenciación molecular (realizada por laboratorios especializados).

a) Para la determinación taxonómica de las especies, se consideraron las medidas y características tomadas en los ejemplares frescos, la observación de cortes de diferentes estructuras que se analizaron con un microscopio estereoscópico; así mismo, se elaboraron preparaciones en portaobjetos, de esporas teñidas con azul de algodón (azul

de lactofenol) para su observación en el microscopio óptico y medición con un ocular micrométrico, se midieron 20 esporas para obtener un rango.

El conjunto de estas mediciones y observaciones se utilizó para contrastarlas con las referidas en las claves dicotómicas y descripción de especies para determinar su afinidad. Cabe señalar que la plasticidad del género dificulta que los métodos taxonómicos tradicionales puedan ser precisos [27] razón por la cual fue necesaria la identificación molecular.

- b) Para la obtención del micelio requerido para la genotipificación, se realizó el cultivo *in vitro* tanto de porciones del basidioma obtenidas por cortes finos del píleo y de esporas, obtenidas por la recuperación de esporadas, colocando un ejemplar fresco con el himenio orientado y sin contacto directo sobre un papel filtro, cubierto por un vaso de precipitados para evitar la posible contaminación (figura 9).



Figura 9. Obtención de esporadas.

El cultivo se realizó en placas de Petri esterilizadas, con agar, dextrosa y papa, DIBICO® (la proporción en gramos por litro de agua es: agar: 15.0 g; dextrosa: 20.0 g y papa: 4.0 g), preparado de acuerdo con las indicaciones del proveedor que fue colocado en las placas cuando alcanzó una temperatura aproximada de 45°C para dejarlo solidificar de 30 minutos a 40 minutos. La siembra se realizó siguiendo los procedimientos de bioseguridad y de asepsia necesarios, empleando una campana de flujo laminar, mecheros Bunsen y asas de siembra estériles. Para cada UP se realizaron tres repeticiones para cada tipo de cultivo *in vitro* (a partir de porciones de basidiomas y esporas), rotulando cada placa con una etiqueta numérica asociada a cada UP muestreada. Los cultivos fueron procesados en un horno a 18°C, haciendo revisiones diarias para verificar el crecimiento del micelio y realizando los registros fotográficos correspondientes hasta que los

cultivos alcanzaron las características de tamaño y vigor requeridos para su genotipificación (figura 10).

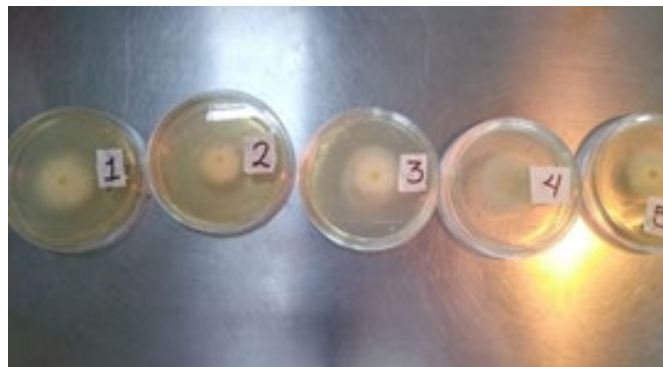


Figura 10. Cultivo de micelio *in vitro*.

- c) Genotipificación.

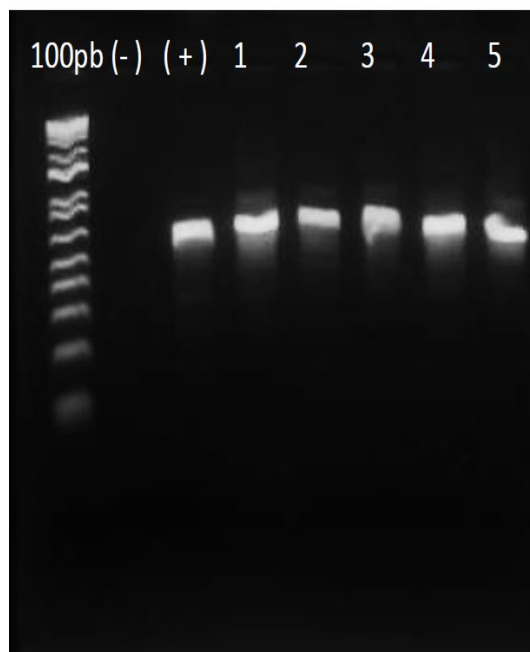
A partir de los cultivos de micelio *in vitro* realizados con porciones de basidiomas y esporadas, la genotipificación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Ambiental y Agroecología (LaBTAA) de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). Inicialmente se realizó la extracción de DNA para las cinco muestras de acuerdo con el protocolo de Karthikeyan y colaboradores [28]. Una vez obtenido fue resuspendido en 50 µL de buffer de elución, de los cuales 5 µL se utilizaron para la visualización de los ácidos nucleicos totales extraídos, por medio de electroforesis en gel de agarosa al 0.8 % a 90 V por 30 minutos. Posteriormente, se utilizó 1 µL de DNA resuspendido para realizar las PCR para cada cepa (muestra), utilizando los primers ITS-4 e ITS-5 (para una región del gen 18S ribosomal que abarca la región interespaciadora (ITS) completa), los cuales tienen la siguiente secuencia:

ITS-4.- TCCTCCGCTTATTGATATGC

ITS-5.- GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG

Las PCR, se llevaron a cabo con un volumen final de 20 µL a una concentración final de 1X y 0.2 µM de cada primer en un protocolo que incluyó 1 ciclo de desnaturalización inicial a 95°C / 5 minutos; 40 ciclos para: la desnaturalización (95°C / 1 min), alineamiento (55°C / 1 min) y extensión (72°C / 1 min), y 1 ciclo para la extensión final (72°C / 5 min). Los resultados de las PCR se analizaron en geles de agarosa al 1 %. Para las cinco muestras de los sitios de estudio, se purificó el producto único (que tuvo variaciones de 665 pb, 604 pb, 663 pb, 588 pb y 611 pb, para las M1 a M5, respectivamente), utilizando el GenElute™ Clean-Up Kit (Cat. No. NA1020, Sigma-Aldrich), para posteriormente ser verificados por electroforesis en gel de agarosa. Los productos purificados se verificaron por electroforesis en

gel de agarosa utilizando 3 de los 40  $\mu\text{L}$  de reacción para cargar el gel, después de la electroforesis se visualizaron con luz ultravioleta los resultados positivos para las cinco muestras procesadas (figura 11).



**Figura 11.** Verificación de los productos purificados por electroforesis.  
**Fuente:** Resultados del análisis proporcionados por LaBTTA.

Una vez realizados estos procedimientos, los productos únicos de PCR de cada localidad se enviaron para la secuenciación a la empresa Macrogen (Seúl, Corea del Sur). Las secuencias obtenidas se revisaron y compararon con los electroferogramas obtenidos para determinar la limpieza y confiabilidad de la señal. Posteriormente, se analizaron por medio de los algoritmos tipo BLAST de la Base de Datos de *National Center of Biotechnology Information* (NCBI BLAST) [29] y BOLD Systems Database [30], para identificar las especies con base en la secuenciación e índices de identidad/similitud.

## 2.4 Equipo e instrumentos

### 2.4.1 Equipo empleado en el trabajo de campo

Grabadora ICD-PX Series, grabadora de voz digital con micrófono integrado y USB, memoria de 4 GB. Empleada para la grabación de las entrevistas con los productores locales de hongos. Vernier Pretul VER-6PX de 6" y cinta métrica para la medición de los ejemplares.

### 2.4.2 Equipo empleado en laboratorio

Para la determinación taxonómica de los hongos, la observación macroscópica de las estructuras de los basidiomas se realizó con un microscopio estereoscópico binocular AmScope SM-1BSX-64S, con oculares WH10x y aumento de 3,5X-45X. Las preparaciones en portaobjetos de las esporas teñidas se observaron y midieron con un microscopio óptico binocular, AmScope B100B-MS con aumento 40X-2000X, provisto de un ocular micrométrico AmScope EP10X23R WF10X con retícula de 23 mm.

Para el cultivo de esporas y porciones de basidiomas, el equipo empleado fue una balanza granataria ZEIGEN de 3 pilotes, Campana de flujo laminar vertical BLVR-203, Mecheros Bunsen sencillos marca Aesa y una estufa de cultivo digital marca ECOSHEL H1-162.

## 3. Resultados y discusión

### 3.1 Determinación taxonómica de especies

Aun cuando en todos los casos los productores reportan realizar el cultivo de *Pleurotus ostreatus* (de acuerdo con las especificaciones de los proveedores de semilla o de las bolsas inoculadas), a simple vista pudieron observarse diferencias en las características macroscópicas. Con base en la información registrada como parte del trabajo de campo, las Muestras (M) relacionadas con las UP's corresponden a lo siguiente:

M1: Delegación Poxtla, Municipio de Ayapango.

M2: Delegación San Mateo Tepopula, Municipio de Tenango del Aire.

M3: Delegación San Pedro Nexapa, Municipio de Amecameca. Productor David Rivera

M4: Delegación San Matías Cuijingo, Municipio de Juchitepec.

M5: Delegación San Pedro Nexapa, Municipio de Amecameca. Productor Jorge Luis Rosales

El sustrato empleado es paja de avena (M1 y M2), rastrojo de maíz (M3 y M4) y M5 emplea ambos sustratos. En la tabla 1 se integran los rangos promedio de la medición de 15 ejemplares en fresco. Las abreviaturas corresponden a:  $L_p$ =largo píleo,  $A_p$ = ancho píleo;  $L_e$ =largo estípito y  $D_e$ =diámetro estípito. No se incluye el tipo de unión del cuerpo fructífero que en todos fue estipitado y el himenio laminado. El olor del contexto (carne) es el típico de estos hongos que sólo puede referirse por asociación, y el sabor es suave, excepto para M4 que despedía un olor avinagrado, y no fue degustado. De forma complementaria, en la tabla 2, se muestra lo relativo a la forma y color del píleo.



**Tabla 1.** Rangos de tamaño del píleo y estípite

	L <sub>p</sub> (cm)	A <sub>p</sub> (cm)	L <sub>e</sub> (cm)	D <sub>e</sub> (cm)
M1	5.9-10.3	4.8-10.5	1.5-3.4	1.8-5.0
M2	7.6-11.3	11.1-17.7	2.4-4.2	5.6-7.3
M3	8.4-14.5	9.6-17.4	2.3-3.5	4.2-7.9
M4	2.3-8.5	3.8-7.6	2.1-3.2	3.8-7.6
M5	7.9-15.0	7.9-16.3	1.1-4.5	4.6-8.0

**Tabla 2.** Forma y color del píleo

	Forma	Color
M1	Ampliamente convexa deprimida, de bordes semicirculares	Beige, casi blanco en el borde
M2	Convexa casi plana y bordes semicirculares	Beige claro
M3	Convexa con bordes semicirculares a circulares	Beige casi blanco
M4	Convexa con bordes semicirculares	Beige casi blanco
M5	Convexa y deprimida, con bordes semicirculares	Beige casi blanco

La observación al microscopio esteresocópico requirió la realización de cortes que se obtuvieron manualmente con una navaja (figura 12), así como la obtención de esporas para su tinción y medición con el ocular micrométrico del microscopio óptico.



**Figura 12.** Cortes de hongos para observación macroscópica.

La determinación de las especies se realizó a partir de la integración de las características macroscópicas de los hongos, de las estructuras desecadas de los mismos y la medición de las esporas. Aun cuando de la medición de diferentes ejemplares fue posible establecer un rango en las mediciones, la amplitud de estos refleja que a pesar de tratarse de un mismo cultivo, las formas de crecimiento de los hongos no son homogéneas, influyendo de igual forma, el corte de cosecha ya que cuando más se avanza en la producción de un mismo cultivo, el tamaño de los basidiomas tiende a reducirse, de ahí la necesidad de considerar las características de las esporas para la determinación de la afinidad de especies. Éstas incluyen la esporada, color, forma y tamaño de las esporas para determinar la especie afin. Las dos últimas variables se presentan en la Tabla 3. Las esporadas en M1 y M2 fueron blancas, en M3 y M4 beige y en M5 beige-amarillenta; para todos los casos el color de las esporas fue hialino y la forma cilíndrica con ápices visibles.

**Tabla 3.** Determinación de las especies afines de *Pleurotus* con base en las características de las esporas

	Tamaño	Especie afin
M1	(7.5) 9-10.5 x 4-4.5 µm	<i>P. ostreatus</i>
M2	9.75-10.5 (11) x 3.7 µm	<i>P. pulmonarius</i>
M3	10-10.5 (11) x 4 µm	<i>P. pulmonarius</i>
M4	10-11 (12.5) x (4) 4.5-5 µm	<i>P. populinus</i>
M5	(9) 9.5-10.5 x 3.5-4 µm	<i>P. populinus</i>

### 3.2 Genotipificación

Como se refirió, la plasticidad genética de *Pleurotus* representa un problema en términos de sistemática y particularmente, de taxonomía para este género. Las cercanías morfológicas entre las especies y las variaciones que pueden encontrarse en los tamaños dependiendo del sustrato empleado así como de la etapa de desarrollo de los basidiomas, posibilita que a través de la taxonomía convencional sólo puedan generarse determinaciones por afinidad. En general, tiende a considerarse que las técnicas moleculares resultan ser más efectivas al respecto.

A continuación, se presentan las secuencias obtenidas para cada una de las muestras y las identificaciones moleculares generadas en las bases de datos (ver tablas 4 a 8).

M1: Consenso 665pb

Secuencia:

```
CTTAAGTTCAGCGGGTAGTCCTACCTGATTGAGGTCAAATTG
TCAAATTGTCCTTGCGGACGATTAGAGAGCTGGACTCTATTCA
TGCGTGCTATTGATGAGTGATAATTATCACATCATGCGCAGAG
GCAATGAGAAGTCCTGCTAATGCATTTAAGAGGAGCCGACCT
GTCAAGGCCAGCAGCCCCAACAAATCCAAACATCACAATTGG
AAAAACCAAAGTGAGTTGAGAATTTTTGAGACTTCACAG
GCGTGCCCTCGCAAAACCCCGGGGCGCACGGTGCGTTCTAA
GATACTATGATACTGAATTCTGCACTTCTCATTACTTATCG
CACTTCTCTGCGTTCTTCTCCGATACGAGAGCCAGAGATCCC
TTGTTGAAAGTTGTATTATGGTTTATAGGCGCAAGGCGCCTTA
TATGACATTCTATACATACATTTGGGGTGTGTGAAATAAAAA
AACCGGGTTGTCCACCCGAAACCTTTAAATCCCCCAAACCA
AGTCTGACGACTGAAAGACGACTTCACAGATCTATCAAAAG
TTCAGAGGTGGTTGAAAGACTAGTGAAGCGTGACATGCCCC
TAGAGCCAGCAACAACATCCATAGTGAATTCATTAATGATCCT
TCCGACAGTTACCTACAGAAACC
```

**Tabla 4.** Identificación molecular de la especie de *Pleurotus* para la UP de Poxtla, Ayapango (M1)

Base de datos	Especie	Identidad/ Similitud	No. acceso
NCBI BLAST	<i>P. ostreatus</i>	92.71	NR_163515.1
BOLD-S	<i>P. sapidus</i>	93.37	AY540327

Fuente: Datos reportados por LaBTTA para el proyecto.

**M2: Consenso 604pb**

**Secuencia:**

GAGGTCAATTGTCAAATTGCTCTTGCAGGACGATTAGAGAGCTG  
 GACTCTATTCATGCGTGTATTGATGAGTGATAATTATCACAT  
 CATGCGCAGAGGCAATGAGAAGTCTGCTAATGCATTAAAGA  
 GGAGCCGACCTGTCAAGGCCAGCAGCCCCAACAATCCAAAC  
 ATCACAATTGAAAAAACCAGAGTGTGTTGAGAATTAAT  
 GACTCAAAACAGGCATGCCCCCGGAATACCAAGGGGCGCA  
 AGGTGCGTTCAAAGATTGATGATTCACTGAATTCTGCAATTC  
 ACATTACTATCGCATTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGA  
 GCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAAGTTGATTATGGTTTATAGGC  
 ACAAGGCCATTAAATGACATTCGTAGACATACATTTGGGGT  
 GTGTTAAGTAAATAGAATGGGTTGTACACCGAGACGTTTAA  
 ATTCCAGCAAACCAAGTCTGACGACTTGAAAGACGACTTCAC  
 AGATCTATCAAAAGTTCACAGGTGGTTGAAAGACTAGTGAAG  
 CGTGCACATGCCCTAGAGGCCAGCAACAACCTCCATAGTGA  
 TTCATTAATGT

**Tabla 5.** Identificación molecular de la especie de *Pleurotus* para la UP de Tenango del Aire (M2)

Base de datos	Especie	Identidad/ Similitud	No. acceso
NCBI BLAST	<i>P. ostreatus</i>	99.17	NR_163515.1
BOLD-S	<i>P. ostreatus</i>	99.17	FN391585

**M3: Consenso 663pb**

**Secuencia:**

GTAAAGTTACGCGGGTAGTCCTACCTGATTGAGGTCAAATTG  
 TCAAATTGCTCTTGCAGGACGATTAGAGAGCTGGACTCTATTCA  
 TCGTGTCTATTGATGAGTGATAATTATCACATCATGCGCAGAG  
 GCAATGAGAAGTCTGCTAATGCATTTAAGAGGAGCCGACCT  
 GTCAAGGCCAGCAGCCCCAACAATCCAAACATCACAATTGG  
 AAAAACCAGAGTGTGTTGAGAAATTAATGAGACTCACACAG  
 GCGTGCCTCTGAAAATCACGGGGCGCACGGGGCGTTCAA  
 GATACGATGAGACACTGAATTCTGCAATTCTCACTACTATCT  
 CATTCTTCTGCGTTCTTCTTATACGAGAGCCAAAGATCCCT  
 TGTTGAAAAGTTGATTATGTTTATAGGCGCAAGGCGCCTTAT  
 ATGAGATTCTTATACATACATTTGGGGTGTGTGAAATAAAAA  
 ACCGGGTTGCCCCCGAAAACCTTTAAATCCCCCAAACCAA  
 GTCTGACGACTTGAAAGACGACTTCACAGATCTATCAAAAGTT  
 CACAGGTGGTTGAAAGACTAGTGAAGCGTGCACATGCCCTA  
 GAGGCCAGCAACAACCTCATAGTGAATTCATTAATGATCCTTC  
 CGCAGGTTACCTACGGAAACCTGTAG

**Tabla 6.** Identificación molecular de la especie de *Pleurotus* para la UP de San Pedro Nexapa-Rivera (M3)

Base de datos	Especie	Identidad/ Similitud	No. acceso
NCBI BLAST	<i>P. ostreatus</i>	92.55	NR_163515.1
BOLD-S	<i>P. sapidus</i>	93.22	JN234846

**Fuente:** Datos reportados por LaBTTA para el proyecto.

**M4: Consenso 588pb**

**Secuencia:**

GCTTAAGTTCAGCGGGTATTCTACCTGATCCGAGGTCAACAT  
 TTCAGAAAAGTTGGGTGTTTAAACGGCTGTGGACGCGCCGCGCTC  
 CCGGTGCGAGTGTGCAAACACTACTGCGCAGGAGAGGCTGCGGC  
 GAGACCGCCACTGGATTCGGAGACGGCCCCCGAGAGGGGAG  
 GGCCGATCCCCAACGCCGACCCCCCGAGGGGTTTCGAGGGTT  
 GAAATGACGCTCGGACAGGCATGCCCGCCAGAATACTGGCGG  
 GCGCAATGTGCGTTCAAAGATTGATGATTCACTGAATTCTGC  
 AATCACATTACTTATCGCATTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGC  
 CAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAAGTTTGGATTCAATTTTCG  
 AACGCCACAGAGGGGCGCCGAGAAGGCTCAGATTATAAAAA  
 ACCCGCGAGGGGGTATAACAATAAGAGTTTGGTTGGTCTCCG  
 GCGGGCGCTTGGTCCGGGGCTGCGACGACCCGGGGCAGAG  
 ATCCCAGGAGCAACAGTTTGGTAAAGTTTACATTGGGGTTG  
 GGAGTTGTAACCTCGTAATGACGGAGACCTGTC

**Tabla 7.** Identificación molecular de la especie de hongo para la UP de Juchitepec (M4)

Base de datos	Especie	Identidad/ Similitud	No. acceso
NCBI BLAST	<i>Trichoderma pleuroti</i>	99.83	NR_134421.1
BOLD-S	<i>T. pleurotum. sapidus</i>	99.83	HM142363

**Fuente:** Datos reportados por LaBTTA para el proyecto.

En el caso de esta UP, desde la caracterización morfológica en campo se encontraron diferencias respecto al material biológico colectado: exceso de humedad, olor avinagrado que impidió su degustación, así como que durante el proceso de secado el olor que despedía era muy intenso, lo que no sucedió con el resto de los ejemplares. A pesar de que el procedimiento de cultivo *in vitro* fue el mismo y bajo las mismas condiciones, los resultados de la genotipificación evidencian una contaminación de origen. De acuerdo con éstos, en ambas bases de datos se identifica al género *Trichoderma*, (por lo que en el encabezado de la tabla se refiere la especie de hongo y no de *Pleurotus*), un hongo altamente competitivo y biofungicida, lo que significa que los hongos estaban contaminados y en proceso de descomposición, a pesar de que fueron obtenidos directamente de la cosecha. El productor refiere haber controlado estos problemas que observó inicialmente, pero estos resultados muestran que el problema no ha sido superado, afectando la inocuidad de sus productos, en los que además del olor se detectó la presencia de moscas en el himenio, representando una importante área de oportunidad que puede ser subsanada con la asesoría correspondiente.

M5: Consenso 611pb

Secuencia:

TGATTTGAGGTCAAATTGTCAAAATTGTCCTTGCGGACGATTAG  
 GAGAGCTGGACTCCTATTTCATGCGTGCTATTGATGAGTGATAA  
 TTATCACATCATGCGCAGAGGCAATGAGAAGTCCTGCTAATG  
 CATTAAAGAGGAGCCGACCTGTCAAGGCCAGCAGCCCCAAC  
 AATCCAAACATCACAATTGGAACAAAACCAAAAGTGAGTTGA  
 GAATTTAATGACACTCAAACAGGCATGCCCTCGGAATACCA  
 AGGGGCGCAAGGTGCGTTCAAAGATTGATGATTCACTGAAT  
 TCTGCAATTCACATTACTATCGCATTTCGCTGCGTTCTTCATC  
 GATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTGAAAAGTTGATTATG  
 GTTTAAAGGCACAAGGCCATTAATGACATTGTAAGACATA  
 CATTGGGGTGTGTAATAATAAAACCGGGGATTACCACCGA  
 GCGGTTAATCCCAGAAACCAAGTCTGACGACTTGAGAGAC  
 GACTTCACAGATCTATCAAAAAGTTCACAGGTGTTGAAAAGAC  
 TAGTGAAGCGTGACATGCCCTAGAGGCCAGCAACAACCTCC  
 ATAGTGAATTCATTAATGA

**Tabla 8.** Identificación molecular de la especie de *Pleurotus* para la UP de San Pedro Nexapa-Rosales (M5)

Base de datos	Especie	Identidad/ Similitud	No. acceso
NCBI BLAST	<i>P. ostreatus</i>	96.88	NR_163515.1
BOLD-S	<i>P. sapidus</i>	97.55	JN234846

Fuente: Datos reportados por LaBTTA para el proyecto.

Con base en estos resultados, la NCBI-BLAST reporta como especie a *P. ostreatus*, excepto para la M4, en tanto que BOLD-Systems sólo ratifica esta identificación para M2 y *P. sapidus* para M1, M3 y M5.

#### 4. Conclusiones

Esta investigación permitió conocer los procesos productivos, características y condiciones bajo las cuales se desarrolla el cultivo de hongos comestibles del género *Pleurotus* en cuatro municipios de la Región de Amecameca. A pesar de ser un recurso perfectamente identificado en la región, los productores y consumidores desconocen los beneficios que pueden aportar a la nutrición y salud, lo que destaca la necesidad de fortalecer este conocimiento entre la población.

La identificación y registro de las UP, sienta el precedente documental en la región, subsanando la ausencia de información que hasta el momento existe al respecto. Una de las ventajas inmediatas fue dar a conocer a los productores los usos potenciales que tienen los sustratos en la alimentación animal. Aunque existen diversos estudios que han mostrado tanto *in vitro* como *in vivo* que el pretratamiento de los forrajes y residuos agrícolas con estos hongos mejora el valor nutricional, la digestibilidad y la disponibilidad de nutrientes, promoviendo una mayor eficiencia entérica en los rumiantes

por el proceso de deslignificación producido por estos hongos [31], por este desconocimiento, los productores desechan los sustratos ya que son depositados y acumulados en terrenos de cultivo. Por la información intercambiada en las entrevistas, la mayoría de los productores que realizan de forma simultánea la crianza de ganado, mostraron interés por dar una aplicación diferente a estos sustratos.

Esta investigación, se enmarca en una más amplia en la que a partir de la identificación de las especies de *Pleurotus* que son cultivados en la región, se busca extrapolar investigaciones previas en las que se ha demostrado que dadas las propiedades nutraceuticas de estos hongos, dentro de las múltiples aplicaciones destaca su acción nematocida especialmente contra *Haemonchus contortus* [32], uno de los principales nematodos gastrointestinales (NGI) que afectan la salud de los ovinos y que es de especial importancia para la región, ya que la ovinocultura tiende a ser una actividad pecuaria estratégica para el desarrollo rural.

#### AGRADECIMIENTOS

A la Mtra. Luz Verónica García Fajardo, de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), por su asesoría en el procesamiento de muestras para la genotipificación.

Este trabajo fue financiado por el Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (Comecyt), a través del proyecto FICDTEM-2021-002 “Caracterización de los hongos comestibles cultivados en la Región de Amecameca para promover el aprovechamiento de sus propiedades nutraceuticas y evaluación *in vitro* del potencial nematocida en parásitos de ovinos”.

#### CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener algún conflicto de interés.

#### REFERENCIAS

- [1] Chambi, S.R.M. y M.P. Ichuta (2020) Evaluación de aminoácidos esenciales, relación de eficiencia proteica de la harina de setas comestibles (*Pleurotus ostreatus* y *Suillus luteus*) y elaboración de una bebida instantánea. Universidad Nacional del Altiplano. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/16334>
- [2] Lin, P., Y. Zheng-Fei, K. MooChang, L. Chang-Tian & Y. Tae-Hoo (2022) Genetic and chemical diversity of edible mushroom *Pleurotus* species. *BioMes Research Int, Vol 2022*. <https://doi.org/10.1155/2022/6068185>
- [3] Dubey S., C. Yadav, A. Bajpeyee & M.P. Singh (2020). Effect of *Pleurotus fossulatus* Aqueous Extract on Biochemical Properties of Liver and Kidney in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 13:3035-3046. <https://doi.org/10.2147/ DMSO.S265798>

- [4] Das, A.K., P.K. Nanda, P. Dandapat, S. Bandyopadhyay, P. Gullón, G.P. Krishnan, D.J. McClements, B. Gullón & J.M. Lorenzo (2021). Edible Mushrooms as Functional Ingredients for Development of Healthier and More Sustainable Muscle Foods: A Flexitarian Approach. *Molecules* 2021, 26, 2463. <https://doi.org/10.3390/molecules26092463>
- [5] Bermúdez S.R.S., N. García, Y. López, I. Mustelier y M. Serrano (2021). Evaluación del sustrato remanente de setas *Pleurotus* spp. en la producción de posturas de *Carica papaya* Lin. *Revista de Tecnología Química*, Vol. 41, No. 2. <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v41n2/2224-6185-rtq-41-02-426.pdf>
- [6] Anusiya G., U. Gowthama, N.V. Yamini, N. Sivarajasekar, K. Rambabu, G. Bharath & Fawzi Banat (2021) A review of the therapeutic and biological effects of edible and wild mushrooms. *Bioengineered*, 2021, Vol. 12, No. 2:11239–11268. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2001183>
- [7] Beltrán, D.Y., H. Morris, O. D. Domínguez, P. Batista y G. Llauro (2021). Composición microquímica y actividad antioxidante de la seta *Pleurotus ostreatus* en diferentes estados de crecimiento. *Acta Biológica Colombiana* 26(1): 89-98. <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v26n1.84519>
- [8] Odunayo, M.A. & G. Oboh (2021). Blood glucose lowering and effect of oyster (*Pleurotus ostreatus*) and shiitake (*Lentinus subnudus*)-supplemented diet on key enzymes linked diabetes and hypertension in streptozotocin-induced diabetic in rats. *Wiley Online Library*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/fft.1111>
- [9] Maity P., I.K. Sen, I. Chakraborty, S. Mondal, H. Bar, S.K. Bhanja, S. Mandal & G.N. Maity (2021). Biologically active polysaccharide from edible mushrooms: A review. *Int J Biol Macromol.* 172:408-417. <http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.081>.
- [10] Sharma A., A. Sharma & A. Tripathi (2021). Biological activities of *Pleurotus* spp. polysaccharides: A review. *J Food Biochem.* 45(6):e13748. <http://doi.org/10.1111/jfbc.13748>.
- [11] Asrafuzzaman M., M.M. Rahman, M. Mandal, M. Marjuque, A. Bhowmik, B. Rokeya, Z. Hassan & M.O. Faruque (2018) Oyster mushroom functions as an anti-hyperglycemic through phosphorylation of AMPK and increased expression of GLUT4 in type 2 diabetic model rats. *J Taibah Univ Med Sci.*, 13 (5):465-471. <http://doi.org/10.1016/j.jtumed.2018.02.009>.
- [12] Ganesan K. & B. Xu (2018) Anti-Obesity Effects of Medicinal and Edible Mushrooms. *Molecules.* 23(11):2880. <http://doi.org/10.3390/molecules23112880>.
- [13] Cardoso, W.S., P.V. Queiroz, G.P. Tavares, F.A. Santos, F.E.F. Soares, M.C.M. Kasuya & J.H. Queiroz (2018). Multi-enzyme complex of white rot fungi in saccharification of lignocellulosic material. *Braz J Microbiol*, 49(4):879-884. doi: 10.1016/j.bjm.2018.05.006.
- [14] Nayan, N., G. van Erven, M.A. Kabel, A.S.M. Sonnenberg, W.H. Wouter, H. Hendriks & J.W. Cone (2019). Improving ruminal digestibility of various wheat straw types by white-rot fungi. *J Sci Food Agric.* 99(2): 957–965. <http://doi.org/10.1002/jsfa.9320>
- [15] Datsomor, O., G.Q. Zhao & L. Miao (2022). Effect of ligninolytic axenic and coculture white-rot fungi on rice straw chemical composition and in vitro fermentation characteristics. *Sci Rep* 12(1): 1129, 2022 01 21. <https://www.nature.com/articles/s41598-022-05107-z>
- [16] Caravaca, R.F. (2018). Introducción a la alimentación y racionamiento animal. *Agroindustriales*. <https://agro.siglotel.com/introduccion-a-la-alimentacion-y-racionamiento-animal/>
- [17] Navarro-Ortiz, C.A. y M.L. Roa-Vega (2018). Comparación de la digestibilidad de tres especies forrajera estimada mediante diferentes técnicas. *Orinoquia*, Vol. 22, núm. 1: 15-33. <https://www.redalyc.org/journal/896/89660461002/html/>
- [18] van Erven, G., J. Wang, P. Sun, P. de Waard, J. van der Putten, G. E. Frissen, R.J.A. Gosselink, G. Zinoviyev, A. Potthast, W.J.H. van Berkel & M.A. Kabel (2019). Structural Motifs of Wheat Straw Lignin Differ in Susceptibility to Degradation by the White-Rot Fungus *Ceriporiopsis subvermispora*. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 7: 20032–20042. <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acssuschemeng.9b05780>
- [19] Olivera-de la Cruz, A.R., E. Ortega-Jiménez, P. Díaz-Rivera, E. Aranda-Ibáñez, J. Ramos-Juárez y G. Mendoza-Martínez (2019). Efecto de *Pleurotus ostreatus* en la degradación de residuos agrícolas. *Agrociencias* 53: 25-33, <https://agrociencia-colpos.mx/index.php/agrociencia/article/view/1748>
- [20] Kowalczyk, J.E., M. Peng, M. Pawlowski, A. Lipzen, V. Ng, V. Singan, M. Wang, I.G. Grigoriev & M.R. Mäkelä (2019). The White-Rot Basidiomycete *Dichomitus squalens* Shows Highly Specific Transcriptional Response to Lignocellulose-Related Aromatic Compounds. *Frontiers in Bioeng and Biotech. Research Topic: Biotechnological Production and Conversion of Aromatic Compounds and Natural Products*. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2019.00229/full>
- [21] Agostinho, B.C., J.L.P. Daniel, L.M. Zeoula, L.F. Ferraretto, H.F. Monteiro, M.R. Pupo, L.G. Ghizzi, M.C.N. Agarussi, C. Heinzen, R.R. Lobo, A.D. Ravelo & A.P. Faciola (2021a). Effects of lignocellulolytic enzymes on the fermentation profile, chemical composition, and in situ ruminal disappearance of whole-plant corn silage. *J Anim Sci.* 99(11): skab295. doi: 10.1093/jas/skab295.
- [22] Kaur, P., G.S. Kocher & M.S. Taggar (2019). Development of fungal consortium for the pretreatment of rice straw under optimized solid state and shake flask conditions. *Environ. Prog. Sustain. Energy* 38, 635–646, <http://doi.org/10.1002/ep.12954>

- [23] Agostinho, B.C., J.L.P. Daniel, L.M. Zeoula, C.R. Alcalde, E. Machado, J.M. Bragatto, C.R. Schneider, N.W. Santos, P.T. Matumoto-Pintro, B.R. Saraiva, J.A.C. Osorio & A.P. Faciola (2021b). Enzymatic effects of *Pleurotus ostreatus* spent substrate on whole-plant corn silage and performance of lactating goats. *J Dairy Sci.* 104(11):11660-11672. doi: 10.3168/jds.2021-20775.
- [24] COPLADEM (2017). Regiones y Municipios. Región I Amecameca. Comité de Planeación para el Desarrollo del Estado de México. [https://copladem.edomex.gob.mx/regiones\\_y\\_municipios#:~:text=REGI%C3%93N%20I%20AMECAMECA](https://copladem.edomex.gob.mx/regiones_y_municipios#:~:text=REGI%C3%93N%20I%20AMECAMECA)
- [25] GEM (2018). Programa Regional I Amecameca 2017-2023, Gobierno del Estado de México. <https://transparenciafiscal.edomex.gob.mx/sites/transparenciafiscal.edomex.gob.mx/files/files/pdf/marco-programatico-presupuestal/I-AMECAMECA.pdf>
- [26] Aguilar, M.L. (2011, Julio 1). “Cultivan hongos y detonan economía” [Online] Available: <https://www.alcaldesdemexico.com/responsabilidad-social/cultivan-hongos-y-detonan-economia/>
- [27] Guzmán, G. (2000). Genus *Pleurotus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm. (Agaricomycetidae): Diversity, Taxonomic Problems and Cultural and Traditional Medicinal Uses. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, Vol. 2: 95-123, [https://inacol.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1005/95/1/8324\\_2000-502.pdf](https://inacol.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1005/95/1/8324_2000-502.pdf)
- [28] Karthikeyan, V., S. Patharajan, P. Palani, D. Spadaro, M.L. Gullino and A. Garibaldi (2010). Modified simple protocol for efficient fungal DNA extraction highly suitable for PCR based molecular methods, *Global Journal of Molecular Sciences* 5(1): 37-42. [https://www.idosi.org/gjms/gjms5\(1\)/6.pdf](https://www.idosi.org/gjms/gjms5(1)/6.pdf)
- [29] NCBI (s.f.). Herramienta básica de búsqueda de alineación local. *National Center of Biotechnology Information* <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
- [30] BOLD (s.f.). Barcode of Life Data System. [https://www.boldsystems.org/index.php/IDS\\_Blast](https://www.boldsystems.org/index.php/IDS_Blast)
- [31] García, R.V.G. y J.J. Ojeda (2022). Etnoveterinaria y bioeconomía para el impulso de la ovinocultura local y la sustentabilidad ambiental, *Albéitar* No. 253-Marzo/Abril: 32-37, [https://issuu.com/editorialservet/docs/albeitar253\\_mr/1](https://issuu.com/editorialservet/docs/albeitar253_mr/1)
- [32] Colmenares-Cruz, S., M. González-Cortazar, G.S. Castañeda-Ramírez, R.H. Andrade-Gallegos, J.E. Sánchez y L. Aguilar-Marcelino. Nematocidal activity of hidroalcoholic extracta of spent substrate of *Pleurotus djamor* on L<sub>3</sub> larvae of *Haemochus contortus*. *Vet. Parasitol. Vol 300*, <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109608>