



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE CIENCIAS

CENTRO DE AGROECOLOGÍA

MAESTRIA EN MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS

TESIS:

**PRODUCCIÓN DE INOCULO DE CEPAS NATIVAS DE *Ganoderma spp* Y SU
PERSPECTIVA DE USO EN EL SECTOR AGROINDUSTRIAL**

PRESENTA:

JULIANA VÁZQUEZ JIMÉNEZ

DIRECTOR DE TESIS

DR. ISAAC TELLO SALGADO

CODIRECTOR:

DR. OMAR ROMERO ARENAS

ASESORES:

DR. JOSÉ ANTONIO RIVERA TAPÍA

REVISOR EXTERNO:

DR. JOSÉ FILOMENO CONRADO PARRAGUIRRE LEZAMA

Puebla, Pue. Abril de 2017

PRODUCCIÓN DE INOCULO DE CEPAS NATIVAS DE *Ganoderma* spp Y SU PERSPECTIVA DE USO EN EL SECTOR AGROINDUSTRIAL

Resumen

Los hongos están involucrados en la desintegración de la materia orgánica, procesos industriales de fermentación, producción comercial de alimentos y medicamentos, así mismo, en los sistemas agroecológicos. Dentro de los hongos medicinales se encuentra el género *Ganoderma* que ocupa los primeros lugares en China, Japón y Europa. Este hongo presenta una gran demanda y no existe un sistema de cultivo que brinde las condiciones óptimas para su producción. El objetivo del presente trabajo de investigación fue identificar y evaluar las características organolépticas del inóculo de *Ganoderma* spp., en 60 días de producción, con sustratos a base de olote de maíz, maíz quebrado y grano de trigo en diferentes proporciones, además de visualizar sus perspectiva de uso en el sector agroindustrial de la región de influencia del grupo “Hongos San José”. Los resultados mostraron que las fórmulas experimentales a base de trigo y olote de maíz (T2, T3, T6 y T7) son los mejores sustratos, así mismo les confieren un buen desarrollo en la estimación de la biomasa, aportando un 100% de colonización con agradable aroma y nula contaminación; mostrando que es posible su empleo para la producción de inóculo a nivel comercial de *Ganoderma* spp.. Las variables más significativas para la evaluación del desarrollo micelial y crecimiento son el porcentaje de colonización, micelio aéreo y la textura que pueden ser utilizados como indicadores de calidad en el proceso de producción. Los fragmentos amplificados a partir de la región ITS1 e ITS4 mostraron por similitud de los registros en la red, que para la cepa G1 se describe como especie afín a *Ganoderma curtisii* mientras que para G2 y G3 solo como *Ganoderma* spp., no encontrando similitud con lo actualmente registrado en la red de datos internacional. La región que presento mejor conocimiento del género *Ganoderma* fue Xalapa y Veracruz, con más presentaciones del producto, donde Gano café y Gano shake presentaron los mayores costos del mercado.

Palabras claves: Sustrato, PCR, tasa de desarrollo, indicadores de calidad y agroindustria.

PRODUCTION OF SPAWN OF NATIVE STRAINS OF *Ganoderma* spp AND ITS PERSPECTIVE OF USE IN THE AGRIBUSINESS SECTOR

Abstract

Fungi are involved in the disintegration of organic material, industrial processes of fermentation, commercial production of food and medicines, and also in agroecological systems. Within the medicinal mushrooms is the *Ganoderma* genus that occupies the first places in China, Japan and Europe. This mushroom is in great demand and there is no cultivation system that provides the optimum conditions for its production. The main objective of the present study was identify and evaluate the organoleptic characteristics of the *Ganoderma* spp. inoculum in 60 days of production with substrates based on corn cob, broken maize and wheat grain in different proportions, besides visualizing its perspective of use in the agribusiness sector of influence region of the group "Mushrooms San José". The results showed that the experimental formulas based on wheat and maize (T2, T3, T6 and T7) are the best substrates and also gives a good development in the estimation of the biomass, providing a 100% colonization with pleasant aroma and no contamination; showing that is possible for the production of inoculum of *Ganoderma* spp., at commercial level unlike broken maize. In addition, the most significant variables for the evaluation of the mycelial development and growth of the G1 strain in substrates based on corn and agricultural grains are the percentage of colonization, aerial mycelium and texture that can be used as indicators of quality in the process of commercial seed production. The fragments amplified from the first ITS1 and ITS4 showed similarity of the records in the network, that for the G1 strain is described as a species related to *Ganoderma curtisii* while for G2 and G3 only as *Ganoderma* spp., Finding no similarity with the currently registered in the international data network. The region that presented better knowledge of the *Ganoderma* genus was Xalapa and Veracruz, with more presentations of the product, where Gano café and Gano shake presented the highest costs of the market.

Key words: Substrate, PCR, rate of development, quality indicators and agribusiness.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar a Dios por darme la vida, fuerza, fortaleza y esperanza para poder culminar esta maestría.

A mi papi, mami (R.I.P), esposo e hijos por su amor, paciencia y apoyo en este proyecto de superación personal y profesional.

A los integrantes del comité tutorial por su apoyo, paciencia y dedicación, gracias por sus opiniones, consejos, el tiempo dedicado y su amistad. Dr. Omar Romero Arenas, Dr. Isaac Tello Salgado, Dr. Antonio Rivera Tapia, Dr. Conrado Parraguirre Lezama.

A todos mis compañeros de maestría, por los bellos momentos compartidos, especialmente a Lesly y Diana por ser amigas y compañeras.

A los millones de mexicanos (as) que pagan impuestos, quienes a través del Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT), y la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) han contribuido en gran parte de mi enseñanza académica.

CONTENIDO

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES.....	5
2.1 Historia del cultivo de hongos en el mundo.....	5
2.2 Historia del cultivo de los hongos en México	5
2.3 Producción a nivel mundial	6
2.4 Producción a nivel nacional.....	6
2.5 Dimensiones de la agroecología	7
2.6 La agricultura familiar en las dimensiones ecológica, social y económica.....	7
2.7 Importancia ecológica de la producción de hongos comestibles	9
2.8 Agroindustria Rural.....	10
2.9 Cadena de valor	11
2.10 Participación de los hongos comestibles en la cadena agroalimentaria	12
2.11 Alimentos funcionales.....	12
2.12 Desarrollo la producción de inóculo	13
2.12.1 Composición de olote de maíz.....	14
2.12.2 Composición del maíz	14
2.12.3 Composición del grano de trigo.....	15
2.13 Paquete Tecnológico	15
3. JUSTIFICACIÓN.....	16
4. HIPÓTESIS.....	17
5. OBJETIVOS	17
5.1 Objetivo General:	17

5.2 Objetivos Particulares:	17
6. MATERIALES Y MÉTODOS	18
6.1 Material biológico	18
6.1.1 Cepas	18
6.2 Caracterización de las cepas	18
6.2.1 Medios y condiciones de cultivo	18
6.2.1.1 Medio agar papa dextrosa (PDA)	18
6.2.1.2 Medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA+ C).	19
6.3 Velocidad de crecimiento y tasa de desarrollo	19
6.3.1 Crecimiento y desarrollo de micelio de 3 cepas de <i>Ganoderma spp</i>	19
6.3.2 Tasa específica de crecimiento (μ) en medio sólido.....	19
6.3.3 Cinética de crecimiento	20
6.4 Identificación molecular de las cepas	20
6.4.1 Caracterización molecular de tres cepas de <i>Ganoderma spp</i>	20
6.4.1.1 Extracción de ADN genómico.....	20
6.4.2 Análisis filogenético	21
6.4.2.1 Método Máxima parsimonia.....	21
6.5 Producción de <i>Ganoderma spp</i>	22
6.5.1 Preparación de inóculo de <i>Ganoderma spp</i>	22
6.5.2 Preparación de la semilla madre (Masters).....	22
6.5.3 Preparación de semilla secundaria o comercial.....	23
6.6 Análisis de Datos	24
6.7 Producción de cuerpos fructíferos	24
6.8 Diagnóstico de la Cadena de Valor de <i>Ganoderma spp</i>	25
6.9 Técnica de recolección de información	26
6.10 Delimitación del área de estudio	27
6.11 Diseño de portafolio de clientes	30
6.12 Diseño de la entrevista semiestructurada	30
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31

7.1 Identificación de 3 cepas de <i>Ganoderma</i> spp.....	31
7.1.1 Análisis filogenético	32
7.1.1.1 Análisis de Máxima Parsimonia	32
7.2 Tasa de desarrollo y velocidad de crecimiento	35
7.3 Evaluación de semilla secundaria o comercial.....	37
7.4 Fructificación	44
7.5 Comercios y productos de <i>Ganoderma</i> spp., en el Área de influencia	44
7.6 Diseño del paquete tecnológico del cultivo de <i>Ganoderma</i> spp.....	53
8. CONCLUSIONES	56
9. BIBLIOGRAFÍA	57
10. ANEXOS.....	68
10.1 Anexo 1. Formulación experimental de los tratamientos C-Agro1 y C-Agro2, para la producción del hongo <i>Lentinula edodes</i>.	68
10.2 Anexo 2. Diagrama de flujo del proceso biotecnológico para la producción de <i>Ganoderma</i> spp.....	68
10.3 Anexo 3. Entrevista semiestructurada aplicada en el área de influencia del grupo de productores “San José”.....	69
10.4 Anexo 4. Presentaciones encontradas de productos del género <i>Ganoderma</i>.....	71
10.5 Anexo 5. Procedencia trasnacional y nacional de productos de hongo michoacano y <i>Ganoderma</i> spp.....	72
10.6 Anexo 6. Indicaciones de uso de tónico elixir del género <i>Ganoderma</i>.....	72

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Cantidad estimada de agua requerida para producir 1 kg de hongos comestibles empleando tecnologías rústicas, en comparación con otros alimentos y forrajes.	10
Tabla 2. Tipo de vegetación y lugar de recolección de las cepas nativas de <i>Ganoderma</i> spp.	18
Tabla 3. Tratamientos evaluados, así como su descripción en porcentajes y código para su identificación.	23
Tabla 4. Características organolépticas evaluadas en la producción de inóculo de las cepas G1, G2 y G3 de <i>Ganoderma</i> spp, utilizando olote de maíz y granos agrícolas.	24
Tabla 5. Combinación de tratamientos con cepas G1, G2 y G3 de <i>Ganoderma</i> spp, para la obtención de cuerpos fructíferos.	25
Tabla 6. Metodología de marco lógico en el área de estudio.	26
Tabla 7. Portafolio definido de posibles clientes de <i>Ganoderma</i>	30
Tabla 8. Análisis de distancias para las cepas estudiadas G1, G2 y G3.	34
Tabla 9. Características macroscópicas de las cepas de G1 ó <i>Ganoderma curtisii</i> , G2 ó <i>Ganoderma</i> sp1 y G3 ó <i>Ganoderma</i> sp2 , en medio PDA y medio PDA + BF®.	35
Tabla 10. Correlación de Pearson en los diferentes sustratos, utilizando olote de maíz y granos agrícolas para la producción de inóculo de <i>Ganoderma</i> spp.	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modelo del Sistema Familiar Rural (SFR) (Martínez-Carrera et al., 2012).	8
Figura 2. Región de influencia del grupo. "Hongos San José"	28
Figura 3. Mapeo hipotético de la cadena de valor de Ganoderma.	29
Figura 4. Patrón electroforético de las 3 cepas de Ganoderma spp., carril 1 marcador de peso molecular, carril 2 cepa-G1, carril 3 cepa-G2 y carril 4 cepa-G4. (peso aproximado de la banda: 600 a 700 pb).....	31
Figura 5. Filograma obtenido del análisis de las secuencias de la región ITS-1, usando como grupo externo a <i>fomes sp.</i> , el árbol consenso fue generado con un análisis de máxima parsimonia y un bootstrap de 500 réplicas, los números en las ramas indican el soporte estadístico.	33
Figura 6. Colonización de micelio de cepas <i>Ganoderma curtisii</i> (A), <i>Ganoderma sp1</i> (B), <i>Ganoderma sp2</i> (C) en medio PDA.	36
Figura 7. Cinética de crecimiento de 3 cepas de <i>Ganoderma spp</i> en medio PDA.	36
Figura 8. Cinética de crecimiento de 3 cepas de <i>Ganoderma spp</i> en medio PDA + BF®. ..	37
Figura 9. Colonización del micelio de G1 (<i>Ganoderma curtisii</i>) en diferentes sustratos....	38
Figura 10. Colonización del micelio de G2 (<i>Ganoderma spp</i>) en diferentes sustratos.	38
Figura 11. Colonización del micelio de G3 (<i>Ganoderma spp</i>) en diferentes sustratos.	39
Figura 12. Representación gráfica de los indicadores de calidad que condicionan la adopción para la producción de inóculo de G1 o <i>Ganoderma curtisii</i> . * Medias con letras diferentes en la columna indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). Textura (A), micelio aéreo (a) y Costra (a ¹).	40
Figura 13. Representación gráfica de los indicadores de calidad que condicionan la adopción para la producción de inóculo de G2 ó <i>Ganoderma sp1</i> . * Medias con letras diferentes en la columna indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). Textura (A), Micelio Aéreo(a) y Costra (a ¹).	41
Figura 14. Representación gráfica de los indicadores de calidad que condicionan la adopción para la producción de inóculo de G3 ó <i>Ganoderma sp3</i> . * Medias con letras diferentes en la columna indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). Textura (A), Micelio aéreo (a) y Costra (a ¹).	42
Figura 15. Combinación de conglomerados y vinculación Ward de sustratos a base de olote de maíz y granos agrícolas para el desarrollo de <i>Ganoderma spp</i>	44
Figura 16. Nombre y giro de comercios entrevistados.....	46
Figura 17. Nombre de suplementos alimenticios, presentación y costo localizados en la región de estudio.....	48
Figura 18. Nivel de conocimiento de <i>Ganoderma spp</i>	49
Figura 19. Propiedades para las que los entrevistados creían que servía <i>Ganoderma spp</i> . ..	50
Figura 20. Nivel de interés de adquisición en establecimientos que no vendían productos de <i>Ganoderma</i>	51

Figura 21. Tipo de presentaciones de Ganoderma que comprarían los establecimientos interesados.	51
Figura 22. Consumidores finales de productos de Ganoderma spp., y Hongo Michoacano.	52
Figura 23. Presentaciones de Ganoderma y hongo michoacano encontradas en los establecimientos entrevistados.	53
Figura 24. Diagrama de flujo del paquete tecnológico para la producción de inóculo del hongo medicinal Ganoderma spp.	55

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, con el impulso de grandes revoluciones científico-tecnológicas como la biotecnología y las telecomunicaciones dentro del proceso de globalización, ha dado origen a una verdadera crisis civilizatoria de carácter multidimensional; porque no tan sólo es social y económica, sino también ecológica, energética y alimentaria. La magnitud de la crisis afecta los pilares centrales que sustentan la supervivencia humana, sobre todo si se considera el fenómeno del inminente cambio climático (Martínez-Carrera *et al.*, 2016). El modelo de producción industrial de alimentos está dirigido a los mercados internacionales y a los cambios en los patrones alimentarios, que han ocasionado una diversidad de problemas de salud pública (Bautista *et al.*, 2016).

La creciente demanda de alimentos y productos agrícolas conduce a la necesidad de aumentar la producción agropecuaria. Este crecimiento se debe asegurar con políticas dirigidas a mejorar los rendimientos y competitividad e incluir a la agricultura familiar en las cadenas de valor (Ramírez, 2016). América Latina genera más del 60% del empleo rural de las unidades productivas y, es el principal abastecedor de la canasta básica de consumo de alimentos en todos los países (FAO, 2014). La discusión sobre la agricultura sostenible debe ir más allá de lo que sucede dentro de los límites de la unidad de producción (Altieri y Dufumier, 2013), es decir, una agricultura sostenible es aquella que mantiene en el tiempo un flujo de bienes y servicios que satisfagan las necesidades alimenticias, socioeconómicas y culturales de la población, dentro de los límites biofísicos que establece el correcto funcionamiento de los sistemas (agroecosistemas) que lo soportan (Sarandón *et al.*, 2006). Este nuevo enfoque es la “Agroecología”; que es la ciencia que se basa, por un lado, en el conocimiento tradicional campesino y utiliza también avances de la ciencia agrícola moderna, salvo la biotecnología transgénica y los pesticidas. Pero sí utiliza los avances que tienen que ver con ecología, biología del suelo, control biológico de plagas, y todo eso se incorpora en un diálogo de saberes (Altieri y Dufumier, 2013), a diferencia de lo que ocurre con la propuesta agroindustrial, donde los productores son considerados recipientes pasivos de los conocimientos provenientes de la agronomía, la agroecológica reconoce en la investigación participativa un principio fundamental de aprendizaje (Toledo, 2005).

Los hongos silvestres comestibles forman parte de la riqueza biocultural y se encuentran actualmente amenazados por el desconocimiento de pautas de aprovechamiento sostenible y la creciente demanda por sus propiedades gastronómicas y nutracéuticas. Esto aumenta la probabilidad de sobreexplotación o extinción de distintas especies, especialmente de aquellas tradicionales y más conocidas. Por lo anterior, es necesario entender el papel de los hongos silvestres comestibles dentro de los agroecosistemas, así como desarrollar tecnologías que permitan su domesticación y producción agroindustrial (Castillo *et al.*, 2015).

En México, el gobierno federal ha promovido la integración de cadenas agroalimentarias como un eje central de la política sectorial (Visser, 2004). La cadena agrolimentaria emergente de los hongos comestibles, funcionales y medicinales involucra procesos biotecnológicos rentables, controlados, intensivos, adaptables al cambio climático y desarrollados a pequeña (rústicos) y gran escala (alta tecnología) en México (Martínez-Carrera *et al.*, 2010). Los hongos comestibles constituyen una de las experiencias avanzadas del país en la producción de alimentos bajo condiciones controladas en cortos periodos de tiempo, por lo que representan una verdadera alternativa para enfrentar los efectos adversos del cambio climático global (menor disponibilidad de agua, mayores temperaturas, fenómenos meteorológicos extremos) sobre el desarrollo del país (Mayett y Martínez-Carrera, 2016).

El cultivo de hongos comestibles es un ejemplo claro del desarrollo sostenible, ya que en esta actividad las fases del crecimiento de los hongos comestibles mantienen una armonía con la naturaleza, tanto interna (los productores de hongos comestibles) como externa (pequeñas áreas que se ocupan para cultivar hongos comestibles), además de requerir poca cantidad de agua en cortos períodos de tiempo en comparación con otros productos alimenticios. Los hongos actúan como descomponedores de la materia orgánica junto a bacterias y algunos insectos y anélidos, desarrollándose frecuentemente sobre restos vegetales como cortezas, troncos, hojas, semillas e inflorescencias. A su vez, degradan alimentos y productos industriales como papel, plásticos, madera, textiles, etc. (Mena *et al.*, 2008). Además han sido parte de la vida humana desde hace miles de años, se han utilizado

como alimento, para preparar bebidas alcohólicas, en la medicina tradicional y con fines ceremoniales (Cain, 1972).

México cuenta con un amplia diversidad de hongos comestibles, funcionales y medicinales, debido a su gran variedad de climas y tipos de vegetación, lo cual representa una riqueza biológica para estudios taxonómicos, ecológicos, alimenticios, sociales, económicos y medicinales (Chang y Miles, 2004). Así mismo nuestro país puede incursionar en el mercado internacional de hongos comestibles funcionales y medicinales, así como sus productos metabólicos de importancia industrial (Yuan *et al.*, 2006).

Entre los hongos medicinales de mayor interés se encuentra *Ganoderma lucidum*, conocido comúnmente en Japón con el nombre de “Reishi” (Lakhanpal y Monika, 2005), debido a sus características y beneficios para la salud; como estimulador del sistema inmunológico y su actividad anticancerígena (Marin *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2006; Trigos y Suárez-Medellín, 2011). Además existe una tendencia en el mercado por una eficiente producción de cuerpos fructíferos, donde el éxito depende en gran medida a las fuentes de nutrientes, la composición y selección de cepas, así como, un adecuado balance en relación carbono-nitrógeno (C/N) en el inóculo (Tang y Zhong, 2002; Chang *et al.*, 2006).

En México *Ganoderma* spp., es un recurso genético nativo que tiene gran potencial para incorporarse en el mediano plazo a la producción comercial de los hongos comestibles, funcionales y medicinales (Martínez-Carrera *et al.*, 2010). Este género perteneciente a los hongos poliporales, es uno de los más amplios al contar con más de 250 especies en todo el mundo (Moncalvo *et al.*, 1994; Buchanan, 2001; Guerrero-Torres *et al.*, 2013).

El cultivo de la producción en masa del cuerpo fructífero de *Ganoderma lucidum* en sustratos sólidos fue llevado a cabo exitosamente en 1970 por Y. Naoi (Mizuno, 1997) y, los procesos se desarrollaron rápidamente desde entonces. Además de esto, los sustratos pueden ser modificados para obtener mejores resultados. Los métodos de cultivo involucran típicamente cinco etapas: a) Elaboración del inóculo, b) Siembra, c) Formación de primordios, d) Desarrollo de cuerpos fructíferos y, e) Cosecha, donde el éxito depende de la calidad del inóculo y las condiciones de producción.

En términos básicos, el inóculo es distribuido en el sustrato estéril, e incubado hasta que el micelio coloniza el sustrato. Después de esto, se disminuye la temperatura y los altos niveles de dióxido de carbono hasta la formación del píleo. Una vez que se tiene el largo del cuerpo fructífero deseado es cosechado (Stamets, 1993; Chen y Yu, 1999). El ciclo de cultivo desde la elaboración de inóculo hasta la obtención del carpóforo varía de 90 a 120 días (Stamets, 1993), dependiendo de los métodos de cultivo utilizados.

Valdez-Vázquez *et al.* (2010) establecieron que en México se producen 75.73 millones de toneladas de materia seca proveniente de 20 cultivos, de las cuales 60.13 millones de toneladas corresponden a residuos primarios, obtenidos al momento de la cosecha, entre los que están: hojas y tallos del maíz, tallos y vaina de sorgo, puntas y hojas de caña de azúcar, paja de trigo, paja de cebada y pajilla de frijol, así como cáscara de algodón. El resto, 15.60 millones de toneladas corresponden a residuos secundarios obtenidos del procesamiento post-cosecha, entre los que destacan: bagazo de caña de azúcar, bagazo de maguey o agave, mazorcas y olote de maíz, así como pulpa de café.

2. ANTECEDENTES

2.1 Historia del cultivo de hongos en el mundo

La conformación de bloques regionales ha sido una tendencia predominante en el desarrollo del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales a nivel mundial. Destacan Europa y el Sureste de Asia como centros de origen del cultivo de hongos comestibles, así como por el alto nivel científico y tecnológico que han alcanzado (Martínez-Carrera *et al.*, 2010).

La producción de hongos comestibles inició como una auténtica biotecnología tradicional, basada en técnicas sencillas de propagación, hace aproximadamente 1000-1400 años en China, con el cultivo empírico de las “orejas de ratón” (*Auricularia* spp) y del “Shiitake” *Lentinula edodes*. De la misma forma, también comenzó en Francia hace más o menos 350 años con el cultivo del champiñón (*Agaricus* spp) (Martínez-Carrera *et al.*, 2007). En 1987 Steineck menciona que fue a finales del siglo XVIII cuando se comprobó que el cultivo realizado en galerías subterráneas, bodegas y minas proporcionaban resultados excepcionales. Los resultados de las investigaciones de Constantin y Matruchot en 1894, permitieron obtener la calidad óptima que daría a la fungicultura el carácter de industria agraria (Fernández, 2009). En América: U.S.A., se remonta a 1880 y en Canadá desde 1912 (Sánchez y Royse, 2002).

2.2 Historia del cultivo de los hongos en México

Los inicios del cultivo de hongos comestibles en México tuvieron lugar en 1933, en un rancho cercano a Texcoco, Estado de México (Martínez-Carrera *et al.*, 1991) a México le siguieron posteriormente varios países de Latinoamérica como Colombia, Brasil y Chile (Naranjo *et al.*, 2012).

La población mexicana sigue la tradición de consumir hongos silvestres y cultivados, sin embargo, el mercado nacional de hongos está creciendo debido a su interés culinario, nutricional y de beneficios para la salud. En consecuencia, el cultivo comercial de hongos comestibles está desarrollando una industria nacional, que demanda un conocimiento

competitivo y recursos genéticos para consolidar la producción y satisfacer la demanda interna, así como participar en el mercado internacional (Mata *et al.*, 2010).

2.3 Producción a nivel mundial

Los datos encontrados a nivel mundial de los principales países productores de hongos comestibles y trufas durante 2013 fueron China (7, 076,842 ton), Italia (792,000 ton), Estados Unidos (406,198 ton), Holanda (323,000 ton), Polonia (220,000 ton), España (149,700 ton), Francia (104,621 ton), Irán (87,675 ton), Canadá (81,788 ton), Reino Unido con 79,500 ton por año (FAO, 2016).

Chang y Miles (2004), mencionan que las principales especies cultivadas comercialmente son: *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes*, *Volvariella volvacea*, *Flammulina velutipes*, *Auricularia* spp., *Pleurotus* spp., *Pholiota nameko* y *Tremella fuciformis*.

2.4 Producción a nivel nacional

La mayor proporción de la producción nacional de hongos comestibles, funcionales y medicinales corresponde en 95.1% a los champiñones (*Agaricus*) (59,349 toneladas), seguido de 4.5% champiñón café (2,664.5 toneladas), para setas (*Pleurotus*) 4.86% (3,000 toneladas), en menor proporción 0.04% Shiitake (*Lentinula*) (25 toneladas) y sin datos específicos de Maitake (*Grifola*) y Reishi (*Ganoderma*). Estimando una producción nacional para el 2011 de: 62,374 toneladas de hongos frescos. Siendo cultivados en los siguientes estados: Coahuila, Guanajuato, Querétaro, Jalisco, Hidalgo, México, Morelos, Michoacán, Guerrero, Puebla, Veracruz, Oaxaca y Chiapas (Martínez-Carrera *et al.*, 1991; 2000; 2002; 2007; 2010). Su valor económico supera los 200 millones de dólares anuales, permitiendo la generación de más de 25 000 empleos directos e indirectos (Martínez-Carrera *et al.*, 2016).

2.5 Dimensiones de la agroecología

Latinoamérica representa una región emergente con gran potencial de desarrollo en virtud no tan sólo de su diversidad cultural, biológica y ecológica, sino también su crecimiento económico (Martínez-Carrera *et al.*, 2010). A su vez, esto ha dado lugar a una nueva visión de desarrollo local como un proceso de crecimiento económico y de cambio estructural, que conduce a una mejora en el nivel de vida de la población local (Sevilla y Soler, 2010).

La primera dimensión de la Agroecología es la ecológica y técnico-productiva; centrada en el diseño de los agroecosistemas, siendo la agroecología el marco científico de referencia que en diálogo con el conocimiento tradicional campesino e indígena proponen la redefinición de los fundamentos técnicos de la agronomía, la veterinaria y las ciencias forestales. La segunda dimensión sociocultural y económica; se caracteriza por un fuerte contenido endógeno, prioritariamente a través del análisis sociológico y antropológico de las comunidades campesinas y rurales, las estrategias productivas y los procesos de desarrollo rural prioritarios, aunque no exclusivamente a través de técnicas de investigación-acción participativa. Finalmente, la dimensión política de la agroecología; se traduce en la implicación práctica en la construcción de opciones a la globalización agroalimentaria mediante el apoyo y acompañamiento de acciones colectivas, tanto de comercialización como de lucha política (Sevilla y Soler, 2010).

De esta forma, el desarrollo local es visto como un elemento principal del desarrollo rural sostenible y está directamente relacionado a la noción de territorio, que es multifacético y cuyo concepto es matizado dependiendo del rol que se le asigna dentro de las áreas; administrativa, política, cultural, social o económica (Boucher, 2006).

2.6 La agricultura familiar en las dimensiones ecológica, social y económica

La agricultura familiar se en un modelo que ofrece diferentes rentabilidades a lo largo del año, permite asegurar el autoconsumo familiar, la reducción de riesgos ambientales y especialmente una menor dependencia de los insumos externos. Esta diversidad productiva se debe y sostiene porque el agricultor es al mismo tiempo emprendedor y trabajador, de manera tal que el trabajo y la gestión están yuxtapuestos en la

unidad familiar. Este modelo de desarrollo rural alternativo, encuentra entonces al capital humano y a la capacidad humana más que al capital financiero, en su centro. Los seres humanos no son para este modelo de desarrollo, meros medios de producción o actores u eslabones de una cadena agroindustrial “excluyente”, sino que son la “finalidad” del proceso (FAO, 2014).

La agricultura familiar también es capaz de generar réditos y ventajas económicas para el país, siempre que logremos fortalecer la generación de cadenas económicas de valor; en las cuales se pague un precio justo por un alimento sano y nutritivo, que al mismo tiempo permita a los consumidores de México y el mundo tener acceso a ellos a un precio asequible y que se convierta en una opción viable para los jóvenes rurales. En la figura 1, se muestra el modelo del Sistema Familiar Rural (SFR) y se observa como abarca las dimensiones agroecológicas (Martínez-Carrera *et al.*, 2002).

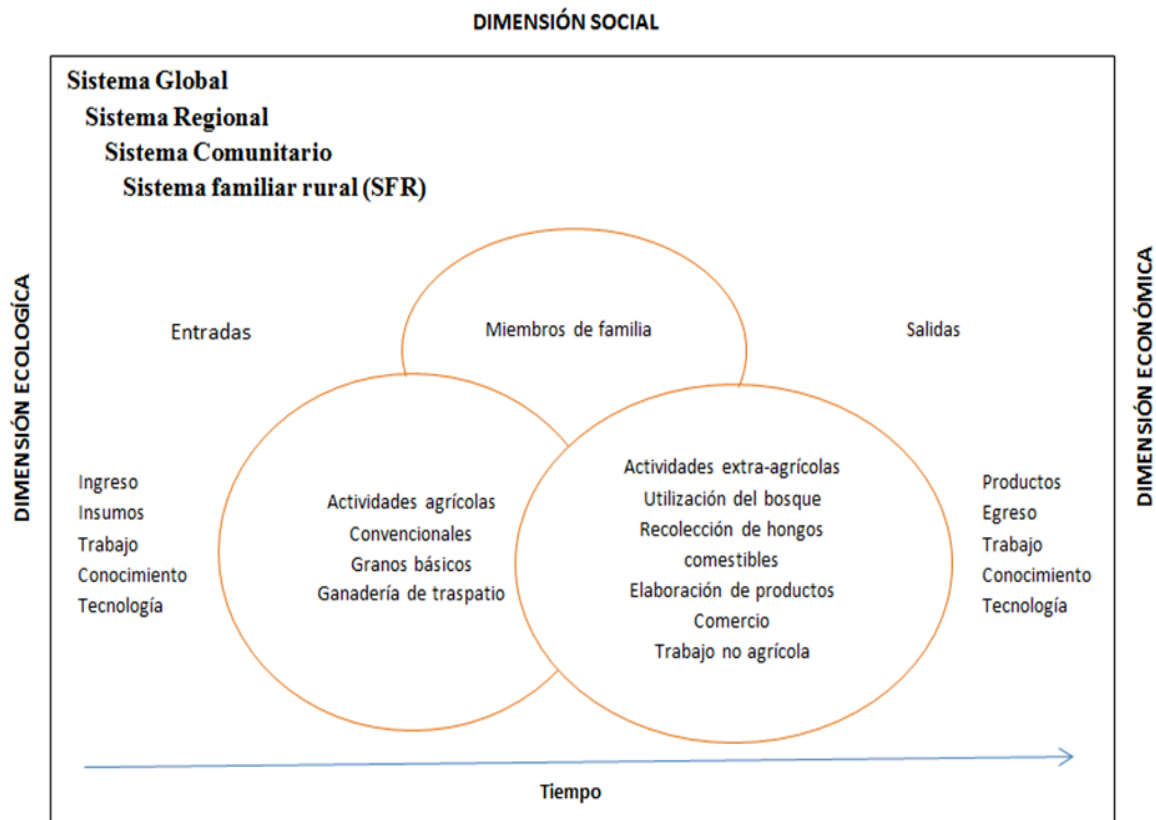


Figura 1. Modelo del Sistema Familiar Rural (SFR) (Martínez-Carrera *et al.*, 2012).

Es deseable que en el futuro, la investigación y el desarrollo tecnológico presenten alternativas de aprovechamiento en cuanto a nuevos hongos comestibles, nuevos sustratos, métodos novedosos de cultivo, así como un aprovechamiento integral de las sustancias activas de los mismos y de las partes que le constituyen o los productos que estos organismos son capaces de producir. El desarrollo de estrategias propias de la región es un tema de suma importancia para impulsar la agroindustria del cultivo de los hongos en general. La obtención de nuevas cepas adaptadas a las condiciones de cultivo y a la tecnología disponibles en los distintos países, es una de las prioridades de mayor urgencia; ya que es necesario contar con cepas con buen crecimiento en zonas subtropicales y tropicales, adaptadas a los sustratos locales y resistentes a plagas y enfermedades de la región, además de aprovechar los hongos medicinales que pueden aportar opciones de diversificación para el sector productivo e industrial (Andrade *et al.*, 2012).

Aunque en México se ha tratado de generar mayor rentabilidad, competitividad, innovación y protección de la propiedad intelectual en las empresas asociadas a las cadenas agroalimentarias, existe un notorio sesgo para atender las necesidades del mercado y posicionar al país en el contexto internacional (Porter, 1998).

Las unidades de producción dedicadas al cultivo de hongos comestibles necesitan poco espacio, lo que optimiza la producción por metro cuadrado. Por otra parte, esta forma de cultivar los hongos presenta la posibilidad de controlar todas las variables de producción. Esto es un incentivo para la producción orgánica de alimentos, siendo así, que los países iberoamericanos tiene en esta actividad una opción valiosa para su desarrollo económico, con capacidad de incidir en la alimentación, la salud, la agricultura, la biorremediación y la industria. Por otra parte, el cultivo de hongos comestibles puede ser una estrategia útil para disminuir la migración y para motivar la participación de la mujer en la vida económica de sus comunidades (Andrade *et al.*, 2012).

2.7 Importancia ecológica de la producción de hongos comestibles

La importancia ecológica de esta actividad económica radica en la utilización y reciclaje de más de 500,000 toneladas anuales de subproductos agrícolas, agroindustriales y

forestales (Martínez-Carrera *et al.*, 2012). Se estima que la producción comercial de hongos comestibles sobre subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales cuando menos se duplicará durante el siglo XXI. Otro aspecto importante, en comparación con otros cultivos convencionales y agroindustrias, es la marcada eficiencia del proceso biotecnológico de producción de hongos comestibles para utilizar y convertir el agua y la energía en alimento humano (Martínez-Carrera *et al.*, 2000), como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Cantidad estimada de agua requerida para producir 1 kg de hongos comestibles empleando tecnologías rústicas, en comparación con otros alimentos y forrajes.

Producto	Litros de agua/Kg	Contenido proteínico	Litros de agua requeridos por gramo de proteína
Setas (<i>Pleurotus</i>)	28	2.7	1.0
Papa	5000	2.1	23.8
Trigo	900	14.0	6.4
Alfalfa	900	6.0	15.0
Sorgo	1,110	11.0	10.0
Maíz	1,400	3.5	40.0
Arroz	1,912	6.7	28.5
Soya	2000	34.1	5.8
Carne de pollo	3,500	23.8	14.7
Carne de res	100,000	19.4	515.4

Martínez Carrera *et al.*, 2000.

2.8 Agroindustria Rural

Un agro negocio es un sistema integrado de negocios enfocado en el consumidor, que incluye los aspectos de producción primaria, procesamiento, transformación y todas las actividades de almacenamiento, distribución y comercialización, así como los servicios, públicos y privados, que son necesarios para que las empresas del sector operen competitivamente. Contraria a la visión tradicional, esta visión de los agro negocios considera a la agricultura como un sistema de cadenas de valor que se centra en dar

satisfacción a las demandas y preferencias del consumidor, mediante la incorporación de prácticas y procedimientos que incluyen todas las actividades dentro y fuera de la unidad de producción, es decir, considera todas las dimensiones de la agricultura y acepta que sus productos no siempre son el resultado de la simple producción de alimentos (García-Winder *et al.*, 2010).

La Agroindustria Rural (AIR) ha sido definida como la actividad que permite aumentar y retener en las zonas rurales, el valor agregado de la producción de las economías campesinas, a través de la ejecución de tareas de pos-cosecha en los productos provenientes de explotaciones silvo-agropecuarias, tales como la selección, el lavado, la clasificación, el almacenamiento, la conservación, la transformación, el empaque, el transporte y la comercialización (Boucher, 2006). En una percepción más incluyente García-Winder *et al.* (2010) mencionan que una AIR corresponde a la actividad empresarial que permite la agregación y retención del valor en las zonas rurales de los productos agrícolas, pecuarios, pesqueros y forestales, originados en unidades de economía campesina o de agricultura familiar, mediante la aplicación de prácticas de empaque, secado, almacenamiento, clasificación, transformación y conservación.

2.9 Cadena de valor

La Cadena de valor constituye un marco de análisis integral desde la provisión de insumos hasta la comercialización, orientado a mejorar la competitividad y equidad en las cadenas productivas. Analiza el contexto, los actores, el rol que juegan y sus relaciones, los puntos críticos así como las principales barreras de participación, acceso a servicios de apoyo y recursos por parte de personas en riesgo de exclusión. A partir de ahí, se diseña una estrategia o plan de acción con el que se busca añadir un valor económico y social para las personas más pobres que forman parte de la cadena y lograr un impacto sostenible (Cifuentes *et al.*, 2011).

2.10 Participación de los hongos comestibles en la cadena agroalimentaria

El caso de hongos comestibles silvestres y cultivados representan un componente marginal de la cadena agroalimentaria en México, ya que su producción natural y mercado son temporales y regionales, su recolección es llevada a cabo principalmente por comunidades indígenas y campesinas en las regiones boscosas del país, con base en su conocimiento tradicional. Parte de los hongos recolectados se destinan para autoconsumo, mientras que el resto se selecciona y prepara para su comercialización local y regional. Es probable que la recolección y producción de hongos comestibles disminuya drásticamente su relevancia dentro de la cadena agroalimentaria, debido a la pérdida del conocimiento tradicional y la falta de apoyos, servicios y acciones estratégicas para mantenerla y promoverla (Martínez-Carrera *et al.*, 2012).

La percepción generalizada sobre la importancia de los hongos comestibles, funcionales y medicinales para la sociedad aún es muy baja. Esto dificulta la obtención de financiamiento para actividades de conservación, investigación y desarrollo alrededor de los hongos, ya que es posible desarrollar estrategias integrales sobre los recursos genéticos nativos, involucrando su recolección, conservación, identificación, nuevos productos e innovaciones tecnológicas cuyo impacto sea notable; mejorando así la percepción social (Morales *et al.*, 2010).

2.11 Alimentos funcionales

Las tendencias mundiales de la alimentación en los últimos años indican un interés acentuado de los consumidores hacia ciertos alimentos, que además del valor nutritivo aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo humano. Estas variaciones en los patrones de alimentación generaron una nueva área de desarrollo en las ciencias de los alimentos y de la nutrición que corresponde a la de los alimentos funcionales (Alvídrez *et al.*, 2002). El concepto de alimento funcional, aún no consensuado científicamente, surge en el seno de la “nutrición óptima” encaminada a modificar aspectos genéticos, fisiológicos, así como para la prevención y tratamiento de enfermedades, más allá de la mera cobertura de las necesidades de nutrientes. Bajo la perspectiva de la Unión Europea,

pueden ser tanto alimentos naturales como procesados industrialmente (Silveira *et al.*, 2003).

Los alimentos funcionales tienen características particulares en cuanto a lo que aportan: nutrición (bajas calorías y grasas), vitaminas (A, B, C, E), minerales (calcio, hierro, selenio), ácido graso esencial (Omega 3), aminoácidos esenciales (lisina y triptófano), nutracéutico (cacahuete-coenzima Q₁₀) cosmético (avena – vitamina A), farmacéutico (ajo-alicina), libre de gluten, libre de lactosa, etc. Se pueden considerar que estos alimentos ayudan a un mejor funcionamiento de los órganos (corazón, riñón, piel, hígado) y como medicina preventiva contra diversos tipos de padecimientos como el cáncer, diabetes, obesidad, mal del Parkinson, Alzheimer y alergias (Bambila, 2013).

2.12 Desarrollo la producción de inóculo

El inóculo (semilla) de hongo es usado para inocular sustratos preparados. El inóculo consiste en acarrear material completamente colonizado con micelio. La historia del desarrollo de inóculo para el cultivo de *Agaricus brunnescens* ilustra como su producción ha progresado en los últimos cien años. Durante 1800 los productores de *Agaricus spp.*, obtuvieron las concentraciones de micelio desde su habidad natural. Para alentar el crecimiento micelial está “semilla virgen” fue suplementada con materiales similares a los que tenía en un medio ambiente natural (Stamets y Chilton, 1983).

El compost de los cultivos fue usado también para la producción de inóculo. Sin embargo este tipo de semilla contenía muchos contaminantes y pesticidas, precedidos también por otros hongos competidores. El compost esterilizado, cortado, lavado se convirtió en el medio preferido para la producción de inóculo y/o semilla y fueron años de estandarización de la industria del champiñón. En 1932, el Doctor James Sinden patentó un nuevo proceso de producción de inóculo usando granos de cereal como el vehículo micelial. Desde entonces el centeno ha sido el grano más común empleado, aunque también se han utilizado mijo, sorgo y trigo. El nuevo enfoque de Sinden estableció un nuevo estándar para la producción de inóculo y constituye la base para la producción más moderna de inóculo. La ventaja del inóculo de granos es el aumento del número de sitios de inoculación. Cada núcleo individual se convierte en un punto del cual el micelio puede propagarse. Por lo

tanto, un litro de semilla de granos de centeno que contiene aproximadamente 25,000 granos representa una gran mejora con respecto a los inóculos transmitidos por materiales más gruesos (Stamets y Chilton, 1983).

2.12.1 Composición de olote de maíz

El residuo del desgranado de la espiga o mazorca del maíz (*Zea mays*) se conoce como olote, un tejido esponjoso y blanco. Está compuesto en base seca por celulosa (45%), hemicelulosa (35%) y lignina (15%), de los cuales la hemicelulosa se compone mayoritariamente por xilano de olote (28-35% base seca) uno de los heteroxilanos complejos que contiene residuos de xilosa con enlaces β -1,4 (Saha y Bothast, 1999). Estas características le confieren al olote la posibilidad de ser empleado como sustrato. Actualmente en México el olote se emplea como forraje y soporte para disminuir la erosión en la tierra, ambos procesos con bajos rendimientos y poco redituables, de otra manera, los residuos del maíz son incinerados o esparcidos a la intemperie, generando contaminación ambiental (Robledo *et al.*, 2012).

2.12.2 Composición del maíz

Las partes del grano de maíz (*Zea mays*) difieren considerablemente en su composición química. La cubierta seminal o pericarpio se caracteriza por un elevado contenido de fibra cruda, aproximadamente el 87%, la que a su vez está formada fundamentalmente por hemicelulosa (67%), celulosa (23%) y lignina (0.1%) (Burge y Duensing, 1989). El endospermo, en cambio, contiene un nivel elevado de almidón (87%), aproximadamente 8% de proteínas y un contenido de grasas crudas relativamente bajo. Por último, el germen se caracteriza por un elevado contenido de grasas crudas, el 33%, por término medio y contiene también un nivel relativamente elevado de proteínas (próximo al 20%) y minerales (FAO, 2015).

2.12.3 Composición del grano de trigo

El trigo está formado por tres partes principales: endospermo, salvado y germen (Serna-Saldívar, 2009). La mayor parte del salvado la constituye el pericarpio que está formado por la epidermis, el epicarpio y el endocarpio; contiene vitaminas, minerales y gran cantidad de proteínas. Entre el salvado y el endospermo se encuentra la capa de aleurona que cumple un papel muy importante en el desarrollo del embrión durante la germinación. El endospermo, por su parte, es el depósito de alimento para el embrión y constituye el 82% del peso del grano (Ritchie *et al.*, 2000; Mabile *et al.*, 2001; Shewry y Halford, 2002). Está compuesto por almidón, proteínas y en menor proporción celulosa; además tiene una baja proporción de vitaminas y minerales. El germen de trigo es rico en vitaminas del grupo B y E, además de contener grasas, proteínas y minerales (Shewry y Halford, 2002; Gómez-Pallarés *et al.*, 2007).

2.13 Paquete Tecnológico

Un paquete tecnológico es el conjunto integrado de conocimientos tecnológicos necesarios para la producción de bienes y servicios (Tecnologías de producto, equipo, proceso, operación y organización). Un paquete tecnológico para producir y comercializar un producto o servicio nuevo o mejorado, puede contener una o varias tecnologías y normalmente incluye el detalle de equipos, instrumentación, infraestructura y otros activos complementarios. Un elemento esencial para la innovación es la integración del paquete tecnológico. Éste deberá contar de acuerdo a las necesidades del usuario, tanto conocimientos científicos y empíricos, como ingeniería básica y de detalle, además de proporcionar los ajustes necesarios para que el producto salga al mercado. La elaboración del paquete es el resultado de la participación de uno o varios organismos en conjunto, ya sean universidades, institutos de investigación o empresas. Mientras que las universidades pueden ser fuente del conocimiento tecnológico, las empresas buscan la manera de aplicar dicho conocimiento en productos viables de comercialización. Sin embargo, para que el paquete tenga éxito en el mercado deberá ofrecer un buen valor de cambio (Sihuanca, 2011).

3. JUSTIFICACIÓN

El cambio climático, el impacto humano negativo sobre los hábitats naturales, la creciente producción comercial de hongos, la pérdida de conocimiento tradicional, la biopiratería y la escasa capacidad de conservación *in situ* e *in vitro*, representan serias amenazas en el corto plazo para los recursos genéticos de hongos comestibles y medicinales en México (Morales *et al.*, 2010). La producción de hongos funcionales y medicinales es una actividad que presenta altas posibilidades de desarrollo a nivel de unidad de producción rural, con un alto impacto social, económico y ecológico en el campo mexicano (COLPOS y Fundación Produce Tlaxcala, A.C., 2003).

En México *Ganoderma* spp., es un recurso genético nativo que tiene gran potencial para incorporarse en el corto plazo a la producción comercial de los hongos comestibles, funcionales y medicinales (Martínez-Carrera *et al.*, 2010). Este género perteneciente a los hongos poliporales, es uno de los más amplios al contar con más de 250 especies en todo el mundo (Moncalvo *et al.*, 1994; Buchanan, 2001).

Valdez-Vázquez *et al.* (2010) establecieron que en México se producen 75.73 millones de toneladas de materia seca proveniente de 20 cultivos, de los cuales 60.13 millones de toneladas corresponden a residuos primarios, obtenidos al momento de la cosecha, entre los que están: hojas y tallos del maíz, tallos y vaina de sorgo, puntas y hojas de caña de azúcar, paja de trigo, paja de cebada y pajilla de frijol, así como cáscara de algodón. El resto, 15.60 millones de toneladas corresponden a residuos secundarios obtenidos del procesamiento post-cosecha, entre los que destacan: bagazo de caña de azúcar, bagazo de maguey o agave, mazorcas y olote de maíz, así como pulpa de café.

4. HIPÓTESIS

El uso de las diferentes mezclas de sustratos a base maíz, olote y trigo podrá mejorar las características de los inóculos producidos de *Ganoderma* spp.

La incorporación de inóculos para la producción de hongos de interés medicinal en un sistema de producción rural favorece la obtención de recursos económicos para incentivar el sector agrícola productivo.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General:

Proponer una estrategia en el sistema de comercialización de hongos comestibles y medicinales a través del uso de sustratos agrícolas para la producción de inóculos *Ganoderma* spp.

5.2 Objetivos Particulares:

- Identificar molecularmente las cepas de *Ganoderma* a nivel específico.
- Caracterizar las cepas G1, G2 y G3 en los sustratos a base de maíz, olote y trigo.
- Identificar la mejor formulación a base de maíz, olote y trigo para la producción de inóculo de *Ganoderma* spp.
- Investigar el uso potencial de *Ganoderma* spp., para su cultivo en el sector rural y su impacto en el sector industrial.
- Generar una estrategia para el cultivo de *Ganoderma* spp., para impulsar el desarrollo regional.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se realizó en las Instalaciones del Centro de Agroecología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

6.1 Material biológico

6.1.1 Cepas

Se estudiaron 3 cepas de *Ganoderma* spp, provenientes del Centro de México y, donadas por el Laboratorio de Micología del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad del Estado de Morelos, conservadas en un medio compuesto de agar papa y dextrosa (PDA) marca Bioxon a temperatura ambiente. La descripción de recolecta y tipo de vegetación se mencionan en la tabla 2.

Tabla 2. Tipo de vegetación y lugar de recolección de las cepas nativas de *Ganoderma* spp.

Clave de la cepa	Lugar de recolección	Tipo de vegetación
G1	Municipio: Huitzilac, Estado: Morelos	Pino-Encino
G2	Municipio: Tlaquiltenango, Estado: Morelos	Selva baja caducifolia
G3	Municipio: Tlaquiltenango, Localidad: Sierra de Huautla, Estado: Morelos.	Selva baja caducifolia

6.2 Caracterización de las cepas

6.2.1 Medios y condiciones de cultivo

6.2.1.1 Medio agar papa dextrosa (PDA)

Se preparó: 17.55 g de PDA y se aforó con 450 mL de agua destilada. La solución se esterilizó en una olla de presión a 121°C con 15 libras/pulg² de presión por 15 min. Posteriormente, el medio se vertió en cajas de Petri, y se incubaron a 28°C por 48 hrs como prueba de esterilidad. Se realizaron 5 repeticiones por cepa.

6.2.1.2 Medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA+ C).

El medio de cultivo se preparó de la siguiente manera: 17.55 g de PDA, 1.76 g de bran-flakes® (C), todo esto se aforó a 450 mL con agua destilada en un matraz Erlenmeyer, se disolvió cuidadosamente la cantidad indicada en el frasco y ajusto a un pH 6, se calentó a ebullición durante 1 minuto y esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 min., posteriormente el medio se vertió en cajas de Petri, y estas se incubaron a 28°C por 48 horas como prueba de esterilidad. Se realizaron 5 repeticiones por cepa.

Una vez que se tuvieron las cajas Petri libres de contaminantes, se inocularon con las cepas de *Ganoderma* spp.

6.3 Velocidad de crecimiento y tasa de desarrollo

6.3.1 Crecimiento y desarrollo de micelio de 3 cepas de *Ganoderma* spp.

Se suspendieron 6 g de Caldo Saboraud en 200 mL de agua destilada, cada matraz contenía 50 mL, se mezcló vigorosamente y se esterilizo en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Después de 24 horas el caldo Saboraud fue inoculado con un fragmento de medio PDA inoculado con micelio de las cepas G1, G2 y G3 y un matraz se dejó como blanco. Posteriormente se incubaron por 23 días a 28°C para que el micelio colonizara completamente la superficie del caldo Saboraud contenido en los matraces. Como siguiente paso fue extraer la capa micelio formada en los matraces y colocada en cajas Petri que contenían en el fondo papel filtro estéril, se dejaron secar por una semana y fueron macerados con 4 mL de agua destilada, y el macerado se vertió en tubos de ensayo de plástico de 5 mL para llevar a cabo la extracción del ADN.

6.3.2 Tasa específica de crecimiento (μ) en medio solido

La tasa radial de crecimiento (K_r) se utiliza frecuentemente como una forma indirecta de estimar la tasa específica de crecimiento (μ) y sus variaciones, calculándose como sigue:

$$K_r = \mu w$$

La cual indica que K_r está relacionada en forma directa con la (μ) y con la (w), siempre y cuando esta permanezca constante (Sánchez y Royse, 2002). En donde: K_r es el tiempo expresado en días y w es la zona periférica de crecimiento expresado en milímetros (mm) y μ es la tasa específica de crecimiento expresado en mm/día, como lo muestra la formula siguiente:

$$\mu = \frac{W}{K_r}$$

6.3.3 Cinética de crecimiento

La cinética de crecimiento se realizó en cajas Petri de 8.0 cm de diámetro con 30 mL de medio PDA y PDA+C. Se colocó una rodaja de 5 mm fragmento de micelio en una orilla de la caja Petri y fueron incubadas a $28^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$, hasta que el micelio cubrió completamente la placa. La cinética se realizó, con 5 réplicas y fue registrado el diámetro ocupado por el micelio cada 24 horas.

6.4 Identificación molecular de las cepas

6.4.1 Caracterización molecular de tres cepas de *Ganoderma* spp.

6.4.1.1 Extracción de ADN genómico

A partir de placas con PDA con los cultivos puros de 72 horas de incubación, se realizó un raspado para de cada una de las cepas para re-suspenderlo en buffer de lisis y se sometió a la extracción del ácido desoxirribonucleico (ADN) con el kit ZR Fungal / Bacterial DNA MiniPrep (ZIMO Research D6005). La identificación molecular se realizó por medio de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando el primer ITS 1 (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG3') que amplifican un fragmento de 600 pb (White *et al.*, 1990), realizando un ciclo de preparación de 30 segundos a 94°C , después de una etapa de 30 ciclos de desnaturalización de 30 segundos a 94°C , seguido por 45

segundos para el alineamiento del primer a 50°C, y 5 minutos para la extensión de la cadena a 72°C, finalmente 1 ciclo de término de 5 minutos a 72°C; una vez amplificados los productos se corrieron en un gel de agarosa al 2% y fueron teñidos con solución de bromuro de etidio al 0.4%, siendo analizados en un foto documentador. Una vez obtenida la amplificación para el género *Ganoderma*; se mandó a realizar la secuenciación al Centro de Detección Biomolecular de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

6.4.2 Análisis filogenético

El uso de programas filogenéticos para analizar los datos moleculares pueden darnos como resultado filogramas (árboles evolutivos genéticos) que exhiban grupos monofiléticos, unidos a un ancestro común (Buchanan, 2001).

Los métodos para realizar inferencias filogenéticas generalmente son clasificados en tres grupos principales: método de distancias, máxima probabilidad y máxima parsimonia (Nei, 1996, Nei y Kumar, 2000). En el método de distancias, una distancia evolutiva es estimada usando todos los pares de secuencias, para obtener un árbol filogenético “filograma” (Nei, 1996, Nei y Kumar, 2000). En el método de máxima probabilidad, se maximiza la probabilidad y es llevada a cabo para cada topología por separado y la topología con la más alta probabilidad es escogida como una aproximación del verdadero árbol topológico (Nei, 1996, Nei y Kumar, 2000). En el método de máxima parsimonia y bajo la hipótesis que los cambios mutacionales ocurren en todas direcciones entre los cuatro nucleótidos, se considera un grupo de secuencias de nucleótidos así como la secuencia del grupo ancestral y una topología hipotética es inferida. El número más pequeño de substituciones nucleotídicas que explique los procesos evolutivos para obtener una topología es computarizada. Así la topología que requiera de un menor número de pasos es escogida para obtener el mejor árbol (Nei, 1996; Nei y Kumar, 2000).

6.4.2.1 Método Máxima parsimonia

Para el método basado en el análisis de los caracteres discretos, se aplicó el criterio de parsimonia, en el cual cada posición en la secuencia fue tratada como carácter con cuatro

estados alternativos desordenados (T, C, G, A). El principio de la parsimonia aplicado a la evolución sostiene que la explicación más probable de un grupo de datos es la que requiere el menor número de cambios evolutivos entre los estados de los caracteres. Aplicando a la sistemática filogenética, el criterio de parsimonia conduce a la elección del cladograma que explica la filogenia de un grupo con el menor número de cambios, es decir, con la menor homoplasia posible (Hillis, 1996). Aunque este principio implica que todos los cambios en los caracteres originales tienen la misma probabilidad de ocurrencia, se ha comprobado que las secuencias varían siguiendo un patrón evolutivo. En particular, se sabe que para los genes que codifican para proteínas, las posiciones del codón evolucionan a diferente tasa, por ejemplo, la tercera posición del codón es la más variable, ya que muta con mayor velocidad en comparación con las otras posiciones. En el caso de los tipos de sustitución en un sitio, se sabe que las transversiones son más comunes que las transiciones.

6.5 Producción de *Ganoderma* spp.

6.5.1 Preparación de inóculo de *Ganoderma* spp.

Las cajas de Petri se inocularon con rodajas de 5 mm diámetro del medio de cultivo previamente colonizado con las cepas G1, G2 y G3 de *Ganoderma* spp., bajo condiciones asépticas. Las cajas de Petri inoculadas se incubaron a 25 °C por 10 días.

6.5.2 Preparación de la semilla madre (Masters)

La semilla madre, se preparó utilizando semilla de trigo (*Triticum aestivum* L.), el procedimiento consistió en hervir 9 Kg de trigo durante 20 minutos en 30 L de agua, se dejó reposar durante 30 minutos. A continuación se escurrieron en dos charolas de plástico con capacidad de 10 Kg cada una, durante 60 min, esta parte es crítica; su ejecución correcta evita semillas demasiado secas o muy húmedas que afectarán el crecimiento micelial, posteriormente se le adicionaron las cantidades de 27 g de cal y 27 g de yeso y se homogenizaron junto con el trigo para alcanzar un pH neutro. Después se colocaron 250 g de mezcla en frascos con capacidad de 500 mL y se esterilizaron durante 60 minutos a

121°C. Después de 24 hrs, se procedió a la inoculación con agar colonizado de G1, G2 y G3 y se incubaron a temperatura ambiente durante 25 días.

6.5.3 Preparación de semilla secundaria o comercial

Fueron usados granos de trigo, de maíz y el olote triturado para la producción de semilla secundaria o comercial. El procedimiento consistió en hervir 25.31 Kg de trigo, 25.31 Kg de maíz quebrado e hidratar 15.19 Kg de olote de maíz (30.38 Kg olote hidratado) durante 20 minutos, repartidos en 10 vaporeras con capacidad de 20 L de agua, se dejaron reposar durante 30 minutos. A continuación se escurrieron en 10 charolas de plástico con capacidad de 10 Kg durante 60 minutos, se le adicionaron 231 g de cal y 600 g de yeso, se homogenizaron junto con el trigo, el maíz y el olote para alcanzar un pH neutro. Después se elaboraron las mezclas a evaluar como se indica en la tabla 3, se colocaron aproximadamente 450 g de mezcla en bolsas termo resistentes con capacidad de 2 Kg, y se esterilizaron durante 60 minutos a 121 °C. Cuando las bolsas se enfriaron (24 hrs después), se procedió a la inoculación con 50 g de la semilla madre y se incubaron a temperatura ambiente durante 20 días.

Tabla 3. Tratamientos evaluados, así como su descripción en porcentajes y código para su identificación.

Tratamiento		Descripción (%)		
Complemento	Código	Grano de trigo	Grano de maíz	Olote de maíz
Trigo + Maíz	T1	50	50	
Trigo-Maíz + Olote	T2	25	25	50
Trigo-Maíz + Olote	T3	37.5	37.5	25
Trigo-Maíz + Olote	T4	12.5	12.5	75
Trigo	T5	100		
Trigo +Olote	T6	50		50
Trigo + Olote	T7	75		25
Trigo + Olote	T8	25		75
Maíz	T9		100	
Maíz + Olote	T10		50	50
Maíz + Olote	T11		75	25
Maíz + Olote	T12		25	75

6.6 Análisis de Datos

Los datos obtenidos de las áreas de crecimiento micelial en cada uno de los sustratos, fueron analizados con el método de estimación indirecta de la biomasa y cualidades organolépticas donde se asignaron diferentes escalas de valores (tabla 4) y determinaron las características de los inóculos al final de 60 días de incubación para determinar indicadores de calidad.

Tabla 4. Características organolépticas evaluadas en la producción de inóculo de las cepas G1, G2 y G3 de *Ganoderma* spp, utilizando olote de maíz y granos agrícolas.

% Colonización y micelio aéreo		Olor	Color	Textura	% Contaminación				
Abundante	4	Agradable	4	Blanco	4	Algodonosa	4	Si	4
Regular	3	Rancio	3	Gris	3	Lanosa	3		
Poco	2	Desagradable	2	Verde	2	Aterciopelada	2		
Nulo	1	Muy desagradable	1	Negro	1	*S/C	1	No	0

*S/C=Sin crecimiento

Para determinar las diferencias significativas en los valores medios de cada uno de los experimentos anteriores, se realizó una prueba de rango múltiple de correlación de Tukey y Pearson utilizando el programa informático SPSS para Windows, además del estudio comparativo de la combinación de clusters y vinculación Ward.

6.7 Producción de cuerpos fructíferos

De los mejores tratamientos de las combinaciones de maíz, trigo y olote obtenidos se seleccionaron T2, T3, T6 y T7 para las cepas G1, G2 y G3 (Tabla 5). Previamente hidratados los sustratos de crecimiento C Agro-1 y C-Agro-2 (Anexo 1) con número de solicitud MX-E-2013-071800, y con un contenido de humedad de 60-70%, se colocaron 2

Kg en bolsas de polipropileno con capacidad de 5 Kg, con filtro microbiológico, se esterilizaron a 120°C por 1.5 h. Posteriormente los tratamientos fueron inoculados en condiciones asépticas, las cuales las últimas formulas mencionadas ya han sido probadas en la producción del hongo Shitake, por el Centro de Agroecología del Instituto de Ciencias perteneciente a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) y que se producen a bajo costo por la formulación, ya que se utilizan subproductos agrícolas en su composición, como aserrín de encino, rastrojo de maíz y olote de maíz. La producción biotecnológica completa del género *Ganoderma* se describe en el Anexo 2.

Tabla 5. Combinación de tratamientos con cepas G1, G2 y G3 de *Ganoderma* spp, para la obtención de cuerpos fructíferos.

Tratamientos	Cepas
T2	G1
T3 y T6	G2
T7	G3

6.8 Diagnóstico de la Cadena de Valor de *Ganoderma* spp

Para analizar el potencial competitivo de la cadena de valor de *Ganoderma* spp., se aplicó la metodología de Marco Lógico de Ortegón *et al.* (2005) y así ordenar adecuadamente las variables e indicadores, en la metodología de campo y hacerlos coherentes con el objetivo (tabla 6), así como en la metodología de análisis de cadena de valor como lo propone Ortegón *et al.* (2005) para analizar el potencial competitivo de la cadena.

Tabla 6. Metodología de marco lógico en el área de estudio.

Objetivos	Hipótesis	Variables	Indicadores	Materiales y métodos
Investigar el uso potencial de <i>Ganoderma</i> spp., para su cultivo en el sector rural y su impacto en el sector industrial.	La cadena de <i>Ganoderma</i> puede ser competitiva en el área de influencia de productores de hongos interesados en la cadena.	1) Potencial de mercado. 2) Servicios de desarrollo empresarial presentes y potenciales.	1) Portafolio de clientes potenciales, demanda potencial. 2) Matriz y mapeo de Sistemas de Desarrollo Empresarial (SDE) existentes necesarios.	1) Diseño de entrevista semiestructurada, definición y mapeo de área de influencia. 2) Mapeo hipotético de la cadena de valor y sus puntos críticos y prospectivos.

6.9 Técnica de recolección de información

En el estudio de campo, se seleccionó la localidad de Orilla del Monte (2,484 habitantes) perteneciente al Municipio de Jalacingo Veracruz comunidad representativa de una zona rural; donde se encontró un grupo de productores de hongos comestibles, que aceptaran compartir su experiencia de cultivo de hongos comestibles y trabajar en conjunto con el Centro de Agroecología referente a capacitación a nuevos procedimientos de cultivo referente a otro hongo comestible con propiedades funcionales y medicinales como es el caso de *Ganoderma* spp.

El estudio se realizó en dos fases: la primera consistió en la observación participativa de un grupo de productores que ya tuvieran experiencia de producción comercial de hongos. Se les capacito en producción de hongo *Ganoderma* spp, en lo que respecta a fructificación, se utilizaron los tratamientos más efectivos de la prueba de sustratos:

La segunda fase consistió en aplicar entrevistas semiestructuradas (Anexo 3), en el área de influencia del grupo de productores.

El grupo de productores participante, lleva por nombre “Hongos San José” y se encuentra formado por seis miembros; dos hombres y cuatro mujeres, tienen seis años de experiencia en la producción de hongo seta (*Pleurotus*, sp), especialmente en *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus pulmonarius*, los hombres han tomado cursos de hongos en el Instituto Nacional de Ecología (INECOL), además cuentan con formación profesional en Irrigación y Horticultura, las mujeres son amas de casa.

Además de la experiencia con la que cuentan los miembros del grupo, aún se siguen actualizando y están abiertos a aprender a cultivar diferentes tipos de hongos comestibles y no comestibles que puedan llegar a ser redituables tanto para el mismo grupo como para la comunidad, ya que los insumos que utilizan para los sustratos son de la misma región, como son paja de avena y rastrojo de maíz. Otros insumos son bolsas, cal, hilo y lo consiguen en Perote Veracruz. Anteriormente utilizaban diferentes insumos para los sustratos, como rastrojo de maíz, rastrojo de avena, rastrojo de cebada olote molido, maíz quebrado, pero con los años fueron perfeccionando su formulación en lo que refiere a la producción de setas.

Cabe mencionar que por el momento solo se dedican a la producción ya que ellos compran el inóculo a otros productores de Xalapa, Ver., debido a que no cuentan con todo el equipo necesario para la producción de inóculo. Cuando realizan la inoculación para producción contratan ocho mujeres que ya han capacitado previamente.

6.10 Delimitación del área de estudio

Los productos que comercializan son bolsas inoculadas de *Pleurotus ostreatus* o *Pleurotus pulmonarius*; venden su producción en Teziutlán, Altotonga, Jalacingo, Xiutetelco, Perote y Xalapa (figura 2). También son proveedores de sustrato, y de servicios ya que dan capacitaciones en las comunidades aledañas, asesoran para el diseño y establecimiento de áreas de producción de *Pleurotus* spp.

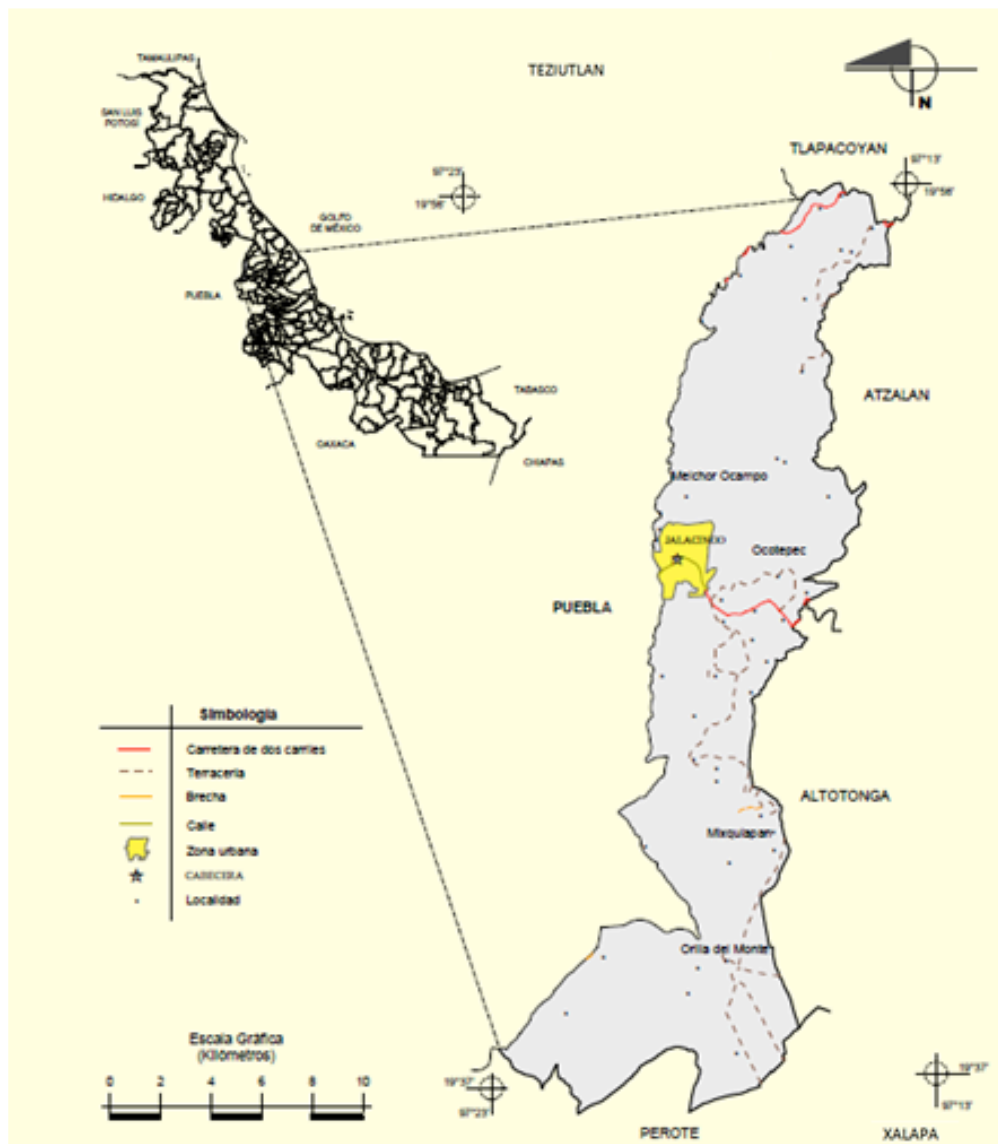


Figura 2. Región de influencia del grupo. "Hongos San José"
 Fuente: INEGI. Marco Geoestadístico Municipal 2005, versión 3.1.
 INEGI. Información Topográfica Digital Escala 1:250 000 Serie III.
 Día consultado 26 de octubre de 2015.

Para determinar el potencial de mercado, se siguió la metodología establecida por Cifuentes *et al.* (2011) elaborando un mapeo hipotético de la cadena de valor de *Ganoderma* como se muestra en la figura 3 en donde se investigaron y señalaron los aspectos principales a considerar en cada etapa de la cadena de valor, como son los insumos, producción, transformación, comercialización y consumo así como los actores que inciden en cada una de ellas, dando especial énfasis al consumidor final que pudiera influir en la cadena de valor de la región.

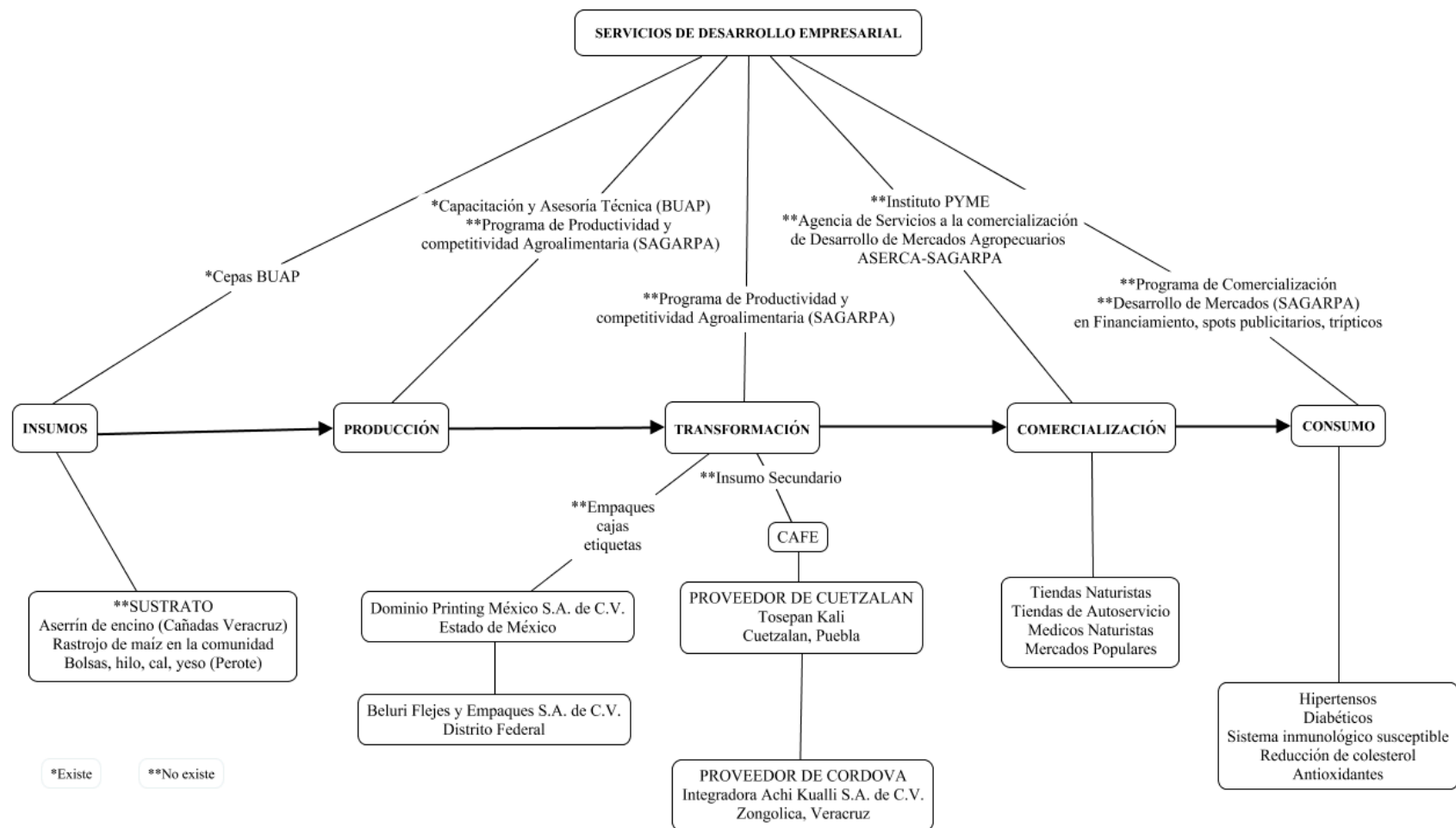


Figura 3. Mapeo hipotético de la cadena de valor de *Ganoderma* spp.

Para dicha metodología se utilizó el área de influencia del grupo de “Hongos San José” delimitando la región de estudio, la cual está conformada por cinco ciudades importantes donde se tiene una actividad comercial del nivel que requiere la cadena, las cuales son Teziutlán Puebla, Jalacingo, Altotonga, Perote y Xalapa Veracruz (que es la ciudad más importante), lo anterior fue por la información que el grupo “Hongos San José” proporcionó, ya que mencionaron que dichas ciudades eran los principales puntos de venta cercanos a Orilla del Monte.

6.11 Diseño de portafolio de clientes

Ya establecido lo anterior, se procedió a planificar un portafolio de posibles clientes o compradores de productos de *Ganoderma*, en la región de estudio (ver tabla 7).

Tabla 7. Portafolio definido de posibles clientes de *Ganoderma*.

Posibles lugares donde clientes compran <i>Ganoderma</i> spp
Centros naturistas
Consultorios naturistas
Restaurantes vegetarianos
Comercios de plantas medicinales
Centros esotéricos

6.12 Diseño de la entrevista semiestructurada

Igualmente se diseñó una entrevista semiestructurada (Anexo 3), la cual estuvo conformada por cinco bloques de preguntas. El primer bloque buscaba obtener los datos generales del entrevistado, el segundo bloque los datos generales de la empresa, negocio, giro comercial y ubicación, el tercer bloque el nivel de conocimiento del entrevistado sobre el tema de *Ganoderma* spp., el cuarto bloque el nivel de interés de adquisición del producto, y el quinto bloque quienes son los que finalmente consumen el producto. Se buscó cuantas tiendas naturistas había en los municipios de estudio (INEGI 2015), encontrando: 12 establecimientos en Teziutlán, ningún establecimiento en Jalacingo, 3 establecimientos en Altotonga, 1 establecimiento en Perote, 16 establecimientos en Xalapa.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Identificación de 3 cepas de *Ganoderma* spp

Una vez obtenido el crecimiento masivo del micelio de las cepas se llevó a cabo la extracción de ADN, la cual se realizó de acuerdo al protocolo del kit Zimo-Research. Una vez obtenido el material genético se realizó la amplificación de la región interna de transcripción ITS de la región ribosomal 5.8s, posteriormente las muestras amplificadas se visualizaron en gel de agarosa al 2%, analizándose con un fotodocumentador y donde se evidenció el fragmento amplificado (a 600pb). Figura 4.

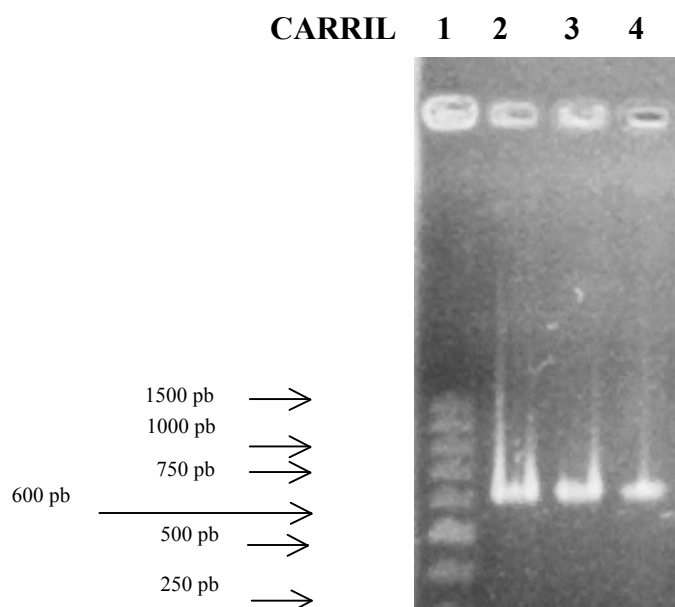


Figura 4. Patrón electroforético de las 3 cepas de *Ganoderma* spp., carril 1 marcador de peso molecular, carril 2 cepa-G1, carril 3 cepa-G2 y carril 4 cepa-G4. (peso aproximado de la banda: 600 a 700 pb).

Los fragmentos amplificados se secuenciaron a partir de los primer ITS1 e ITS4, además, se realizó una búsqueda en el genbank para identificar las cepas por similitud de los registrados en la red, sin embargo para G1 se describe como especie afín a *Ganoderma curtisii* mientras que para G2 y G3 solo como *Ganoderma* spp., no encontrando similitud con lo actualmente registrado en la red de datos internacional.

7.1.1 Análisis filogenético

En los análisis individuales de las secuencias obtenidas a partir de las regiones ITS-1 se utilizaron 7 taxa. Las secuencias de 261 nucleótidos alineados derivados de la región ITS-1 mostraron 146 sitios parsimoniosamente informativos, 72 sitios conservados y 187 sitios variables.

7.1.1.1 Análisis de Máxima Parsimonia

El método de máxima parsimonia solo considera caracteres cladísticamente informativos, los cuales son sitios en el alineamiento con menos de dos tipos diferentes de nucleótidos cada uno representado dos veces (Kumar y Dudley, 2007). Para las secuencias alineadas usando la región ITS-1 se usaron 146 sitios en el análisis de parsimonia. Para el análisis se usó la opción de *pairwise deletion* ya que las inserciones y las deleciones aportan información relevante al momento de interpretar los resultados (Nei, 1996). Se obtuvieron arboles filogenéticos por el método de máxima parsimonia y el neighborjoining, mostrando la misma topología del árbol y con soportes estadísticos similares (resultado no mostrado). El árbol obtenido del análisis de máxima parsimonia se muestra en la figura 5.

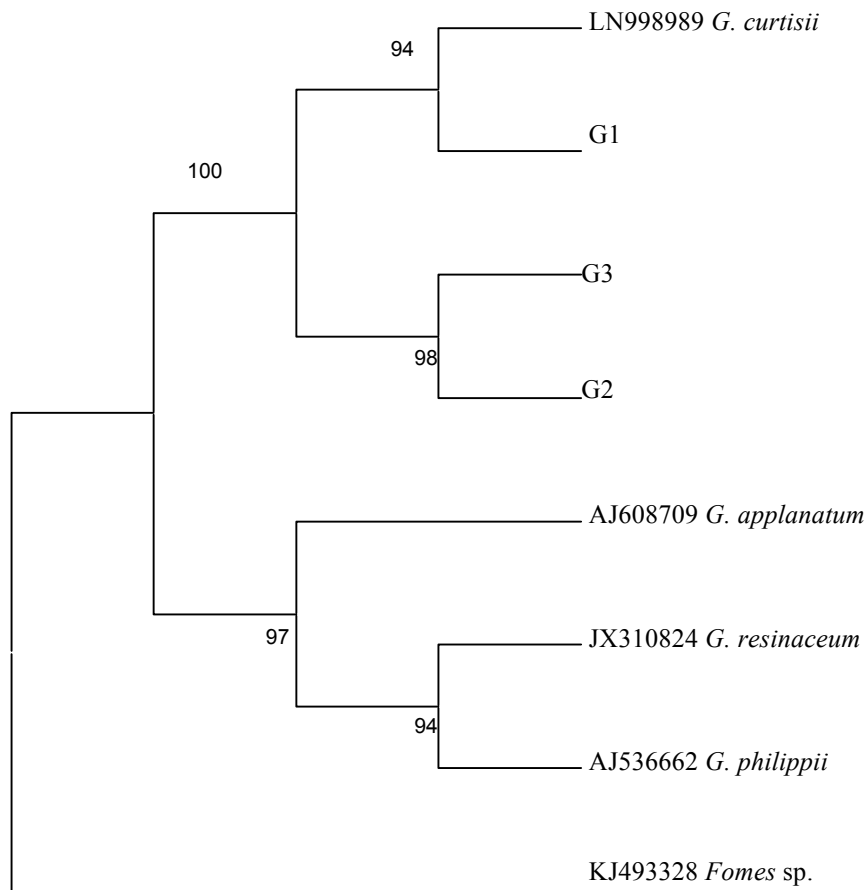


Figura 5. Filograma obtenido del análisis de las secuencias de la región ITS-1, usando como grupo externo a *Fomes* sp., el árbol consenso fue generado con un análisis de máxima parsimonia y un bootstrap de 500 réplicas, los números en las ramas indican el soporte estadístico.

En el árbol consenso obtenido se generaron dos grupos. Dentro del grupo 1 se encuentran representadas las tres cepas estudiadas, G1, G2 y G3. La cepa G1 mostro un soporte estadístico del 94% con *Ganoderma curtisii*, las secuencias de la cepas G2 y G3 se diferenciaron en un segundo subgrupo del grupo 1. Al realizar un análisis de distancia para las tres cepas se observó que la cepa G1 mostraba 0.00 por ciento de diferencias absolutas con *Ganoderma curtisii*, tabla 8, por lo que la cepa G1 se identificó plenamente como *Ganoderma curtisii*. Para las cepas G2 y G3 que mostraron un 98% del soporte estadístico al realizar el análisis de máxima parsimonia no se relacionaron con *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma resinaceum* o *Ganoderma philippii*, por lo que se consideran

como *Ganoderma* spp. En el análisis de distancia para la cepa G2 y G3 mostraron diferencias entre ellas no mayores al 0.2% por lo que según Moncalvo *et al.* (1995) para diferenciar entre especies el valor absoluto de distancia debe ser mayor a este, describiendo a la cepa G2 y G3 como probablemente la misma especie, además soportado por un valor estadístico del 98%. Dentro de los dos grupos formados en el árbol filogenético se aprecian dos subgéneros de la familia Ganodermatace, el grupo 1 representado por el subgénero *Ganoderma* en el cual se observan los basidiocarpos con presencia de laca y el grupo 2 representado el subgénero *Elfvigia* en el cual se observan basidiocarpos sin presencia de laca. Por lo tanto nuestras tres cepas obtenidas se encuentran del subgénero *Ganoderma*.

Tabla 8. Análisis de distancias para las cepas estudiadas G1, G2 y G3.

G2		0.000	0.028	0.022	0.271	0.257	0.238	0.322
G3		0.000	0.028	0.022	0.271	0.263	0.239	0.321
G1		0.148	0.148	0.005	0.213	0.209	0.189	0.284
LN998989	<i>G. curtisii</i>	0.086	0.086	0.005	0.271	0.258	0.235	0.343
AJ608709	<i>G. applanatum</i>	1.629	1.624	1.356	1.471	0.024	0.024	0.039
JX310824	<i>G. resinaceum</i>	1.546	1.559	1.386	1.461	0.112	0.013	0.031
AJ536662	<i>G. philippii</i>	1.427	1.420	1.246	1.325	0.109	0.038	0.037
KJ493328	Fomes sp.	1.800	1.819	1.664	1.763	0.209	0.168	0.190

Para la identificación de las especies se decidió realizar una búsqueda de similitud a partir de los datos depositados en la base de datos European Bioinformatics Institute (EBI), en el cual se obtuvieron similitudes con *Ganoderma curtisii* para la cepa G1, *Ganoderma resinaceum* para la cepa G2 y *Ganoderma philippii* y *Ganoderma applanatum* para la cepa G3, sin embargo al realizar el análisis filogenético la cepa G2 y G3 no mostraron similitud con las secuencias reportadas además de obtener valores superiores al 2% en análisis de distancias genéticas absolutas, Lo que nos corrobora que se trata de posibles nuevas especies.

7.2 Tasa de desarrollo y velocidad de crecimiento

La tasa de desarrollo (TD) de las cepas de *Ganoderma* spp., fue de 2.39 mm/día para G1 a 2.24 mm/día para G3 en medio PDA, sin embargo para el medio PDA+BF® la cepa G3 obtuvo 2.75 mm/día (tabla 9). En cuanto a las características macroscópicas, las 3 cepas de *Ganoderma* spp., presentaron un micelio color blanco, textura algodonosa y densidad abundante (Figura 6), los valores observados en el presente trabajo son menores a los encontrados por Tello, 2010, quien al evaluar 66 cepas de *Ganoderma* observaron rangos de 2.60 a 10.34 mm/día, en medio de cultivo de extracto de malta agar más *bran-flakes*® (EMA+BF®) y de 3.46 a 10.87 mm/día en *bran-flakes*® sólido (BFS+BF®). Por su parte, Domínguez-López (2012), reporto valores de 1.2 mm/día en medio PDA, valores inferiores a los encontrados en esta investigación.

Tabla 9. Características macroscópicas de las cepas de G1 ó *Ganoderma curtisii*, G2 ó *Ganoderma* sp1 y G3 ó *Ganoderma* sp2 , en medio PDA y medio PDA + BF®.

	Clave	Textura	Densidad	Micelio aéreo	Color	Tasa de desarrollo (mm/día)* (μ)
PDA	G1	Algodonosa	Abundante	Abundante	Blanco	2.39 b
	G2	Algodonosa	Abundante	Abundante	Blanco	2.29 a
	G3	Algodonosa	Abundante	Abundante	Blanco	2.24 a
PDA + BF®	G1	Algodonosa	Abundante	Abundante	Blanco	2.94 b
	G2	Algodonosa	Abundante	Abundante	Blanco	2.79 a
	G3	Algodonosa	Abundante	Abundante	Blanco	2.75 a

BF=Bran flakes®, *Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas con la prueba de rango múltiple de Tukey Kramer ($\alpha=0.05$).

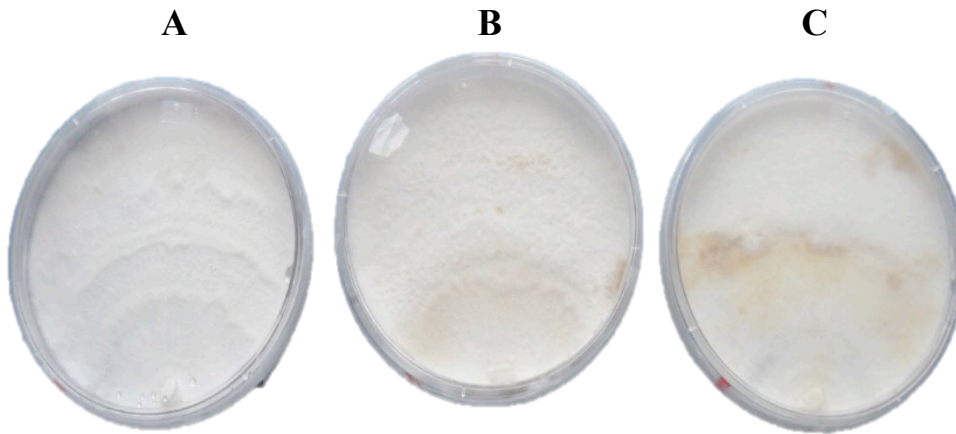


Figura 6. Colonización de micelio de cepas *Ganoderma curtisii* (A), *Ganoderma* sp1(B), *Ganoderma* sp2(C) en medio PDA.

Se registró la mayor velocidad de crecimiento micelial de 76.50 mm, en la cepa G1, seguidos por G2, y G3 con 71.10 mm y 76.16 mm a los 32, 31 y 34 días de desarrollo, respectivamente en medio PDA (Fig.7).

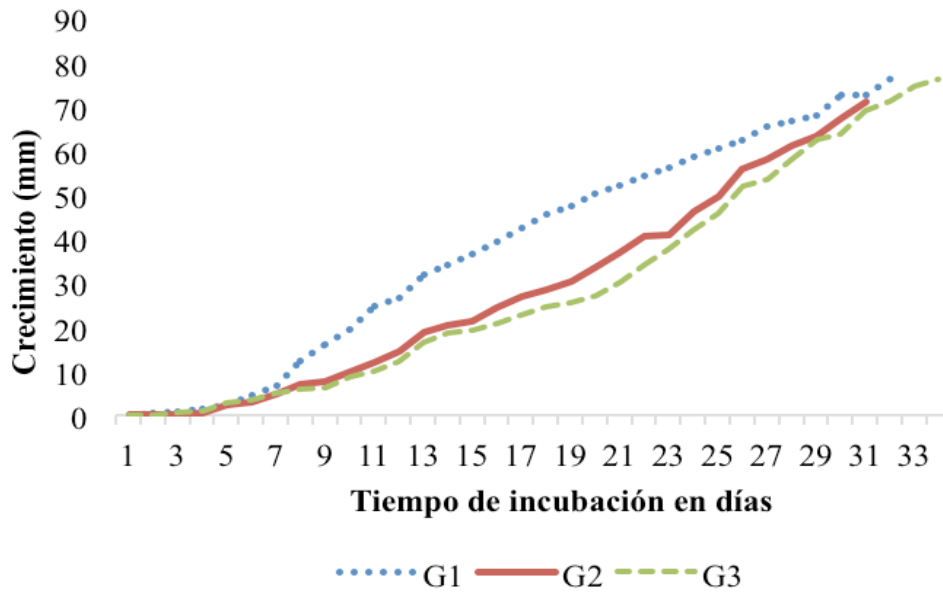


Figura 7. Cinética de crecimiento de 3 cepas de *Ganoderma* spp en medio PDA.

En los medios PDA+BF se aprecia un crecimiento acelerado con una velocidad de crecimiento micelial de 76.66 mm/día para G1 a los 26 días y la menor velocidad de crecimiento fue para G3 con 77.23 mm a los 28 días (Fig. 8). Song *et al.* (2007) reporta una velocidad de crecimiento de 17.6 +/- 0.4 mm/d, valores inferiores a los encontrados en esta investigación.

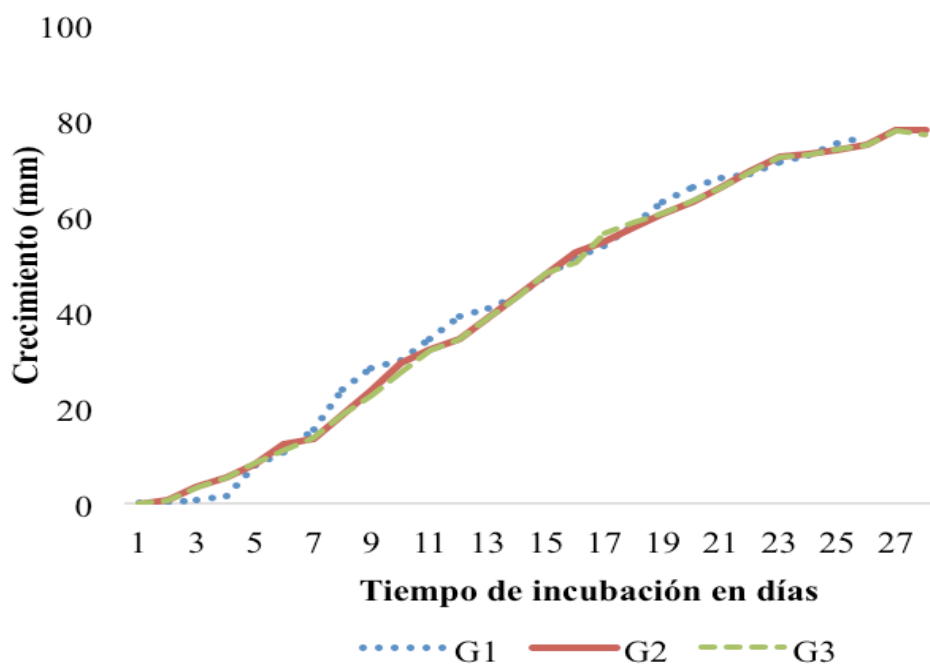


Figura 8. Cinética de crecimiento de 3 cepas de *Ganoderma* spp en medio PDA + BF®.

7.3 Evaluación de semilla secundaria o comercial

La producción de inóculo de las cepas G1, G2 y G3 de *Ganoderma* spp., se efectuó de acuerdo a la metodología descrita anteriormente y duró 60 días en las diferentes formulaciones; desde la siembra del micelio en cajas de Petri, hasta la obtención del inóculo. En la figura 9 se puede observar que el tratamiento (T2) a base de grano de Trigo-Maíz + Olote (25-25-50) obtuvo mejores características organolépticas, con un abundante micelio, olor agradable, color blanco y textura algodonosa, además no presento problemas de contaminación para la producción de semilla de G1 ó *Ganoderma curtisii*.

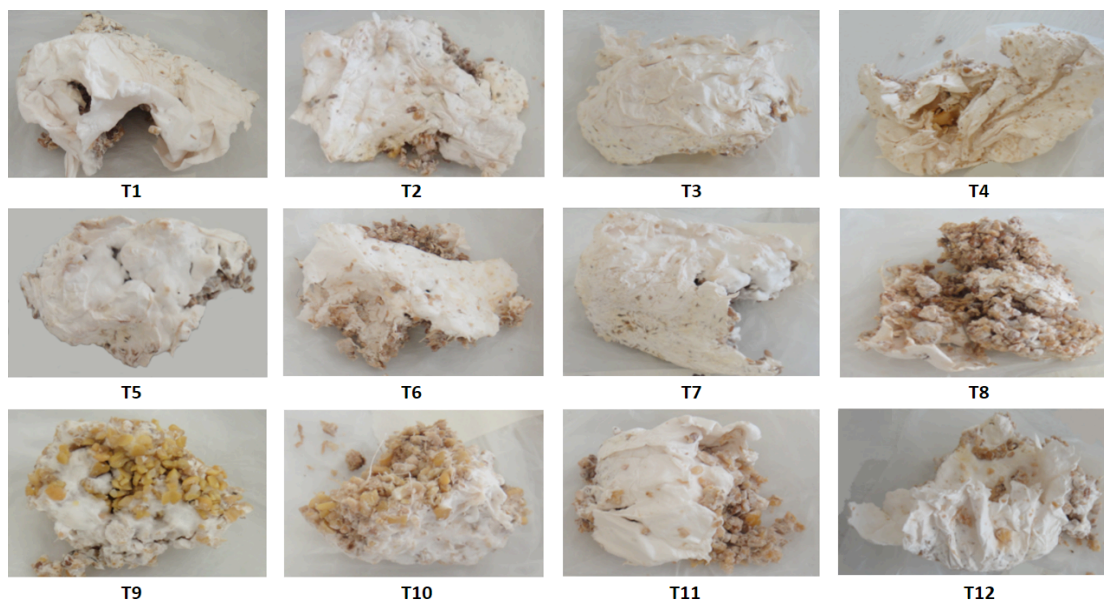


Figura 9. Colonización del micelio de G1 (*Ganoderma curtisii*) en diferentes sustratos.

En la figura 10 se puede observar que el tratamiento (T6) a base de Trigo-Maíz + Olote (37.5-37.5-25) obtuvo las mejores características organolépticas, con un abundante micelio, olor agradable, color blanco, una textura algodonosa, además no presentó problemas de contaminación para la cepa G2. Sin embargo el tratamiento (T3) a base de Trigo-olote (50-50) también presentó adecuadas características organolépticas para la cepa G2.

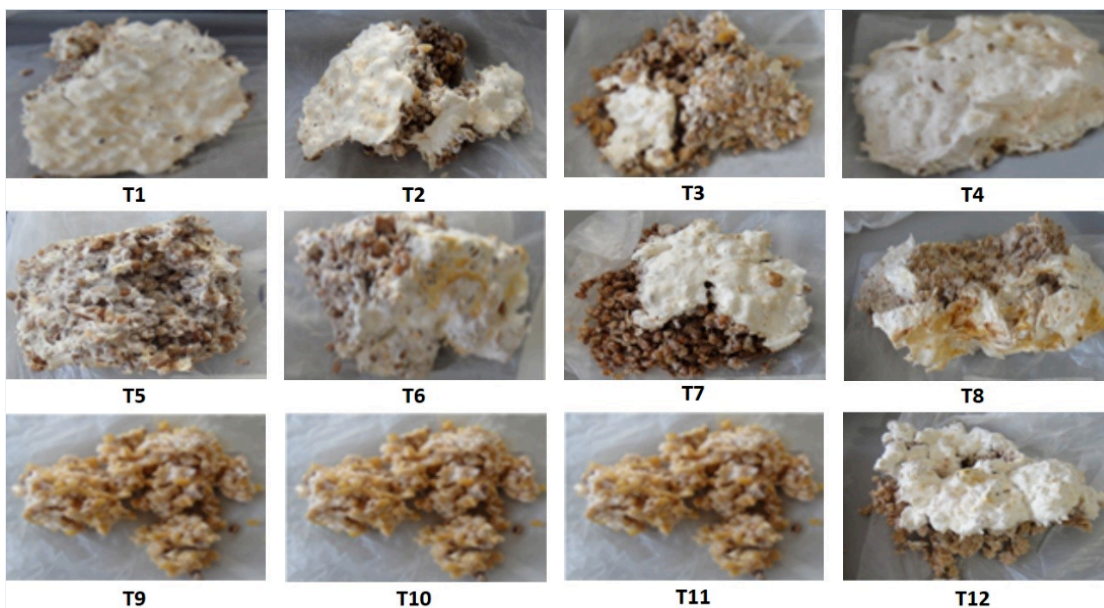


Figura 10. Colonización del micelio de G2 (*Ganoderma spp*) en diferentes sustratos.

Cabe destacar que esta investigación es pionera en proponer el uso del olote de maíz como sustrato alternativo para la producción de semilla *Ganoderma* spp. Stamets (1993) menciona que el grano de trigo es eficiente en la producción de inóculo. Este tipo de grano favorece al micelio para tener más vigor, por lo que se considera como un suplemento nutricional. Blanco *et al.* (2009) desarrollaron micelio de *Ganoderma* spp sobre los granos de trigo y maíz, llegando a colonizarlos totalmente a la tercera semana de sembrados, resultados muy similares a los que se obtuvieron en esta investigación para el Tratamiento T6 y T3 en la cepa G2.

En la figura 11 se puede observar que el tratamiento (T7) a base de grano de Trigo + Olote (75-25) obtuvo mejores características organolépticas, con un abundante micelio, olor agradable, y textura lanosa, además no presentó problemas de contaminación para la producción de semilla de G3 ó *Ganoderma* spp.

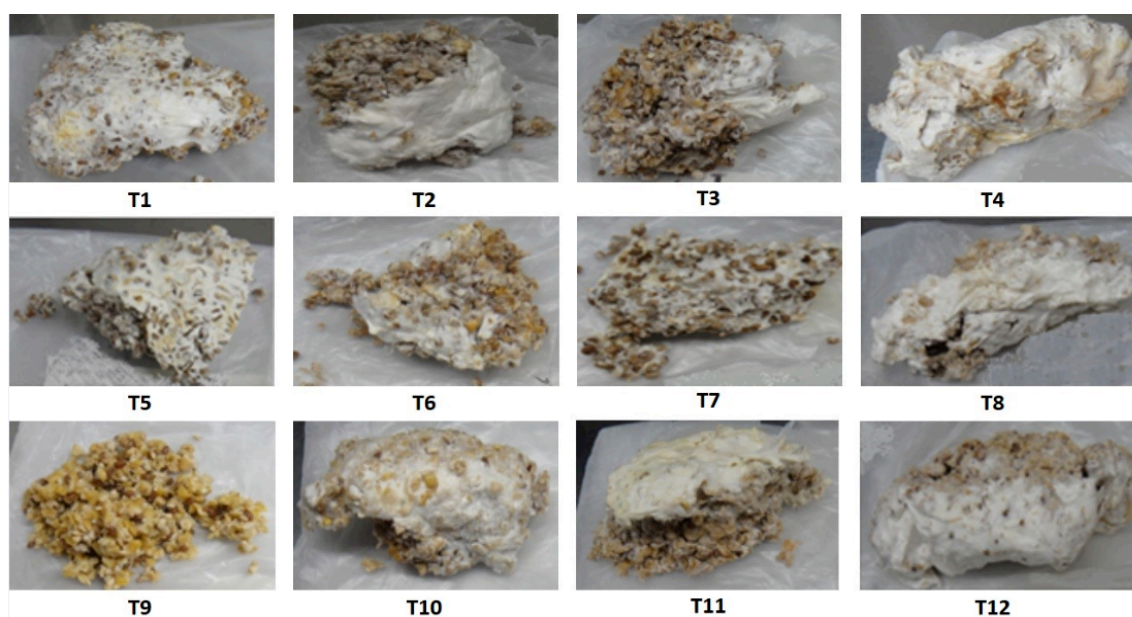


Figura 11. Colonización del micelio de G3 (*Ganoderma* spp) en diferentes sustratos.

Las variables más representativas en esta investigación fue el desarrollo del micelio aéreo y la textura para las tres cepas de *Ganoderma* spp., sin embargo para la cepa G1 ó *Ganoderma curtisii* al aplicar el análisis de varianza la variable formación de costra tuvo relevancia en los diferentes sustratos evaluados (figura 11, 12 y 13).

Los mejores tratamientos se observaron a base de maíz quebrado, grano de trigo y olote de maíz en diferentes inclusiones, además no presentan diferencias significativas entre ellos en el desarrollo de micelio aéreo en comparación a los sustratos independientes y con olote de maíz. El T9 y T10 fueron los sustratos donde no se desarrolló adecuadamente el micelio aéreo, teniendo diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) con los demás tratamientos. *Ganoderma* spp., requiere al menos 17 elementos, entre los cuales, los más relevantes son: nitrógeno, 1% del peso del sustrato húmedo; fósforo, potasio, azufre y magnesio; además, requiere en proporciones menores calcio, hierro, zinc, cobre, molibdeno, y manganeso, la diferencia entre estos componentes esenciales en el cultivo de hongos comestibles se refleja directamente proporcional entre las producción total en los diferentes sustratos aquí empleados (Arenas, 1992).

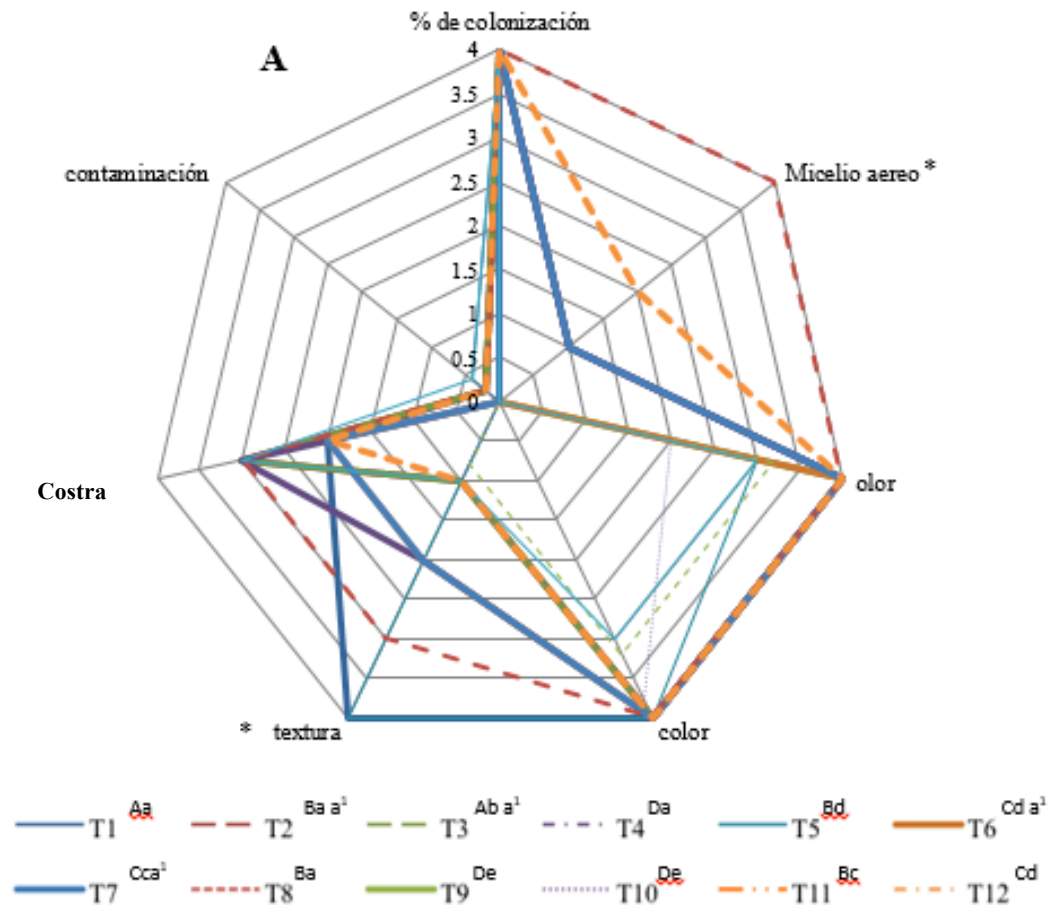


Figura 12. Representación gráfica de los indicadores de calidad que condicionan la adopción para la producción de inóculo de G1 o *Ganoderma curtisii*. * Medias con letras diferentes en la columna indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). Textura (A), micelio aéreo (a) y Costra (a¹).

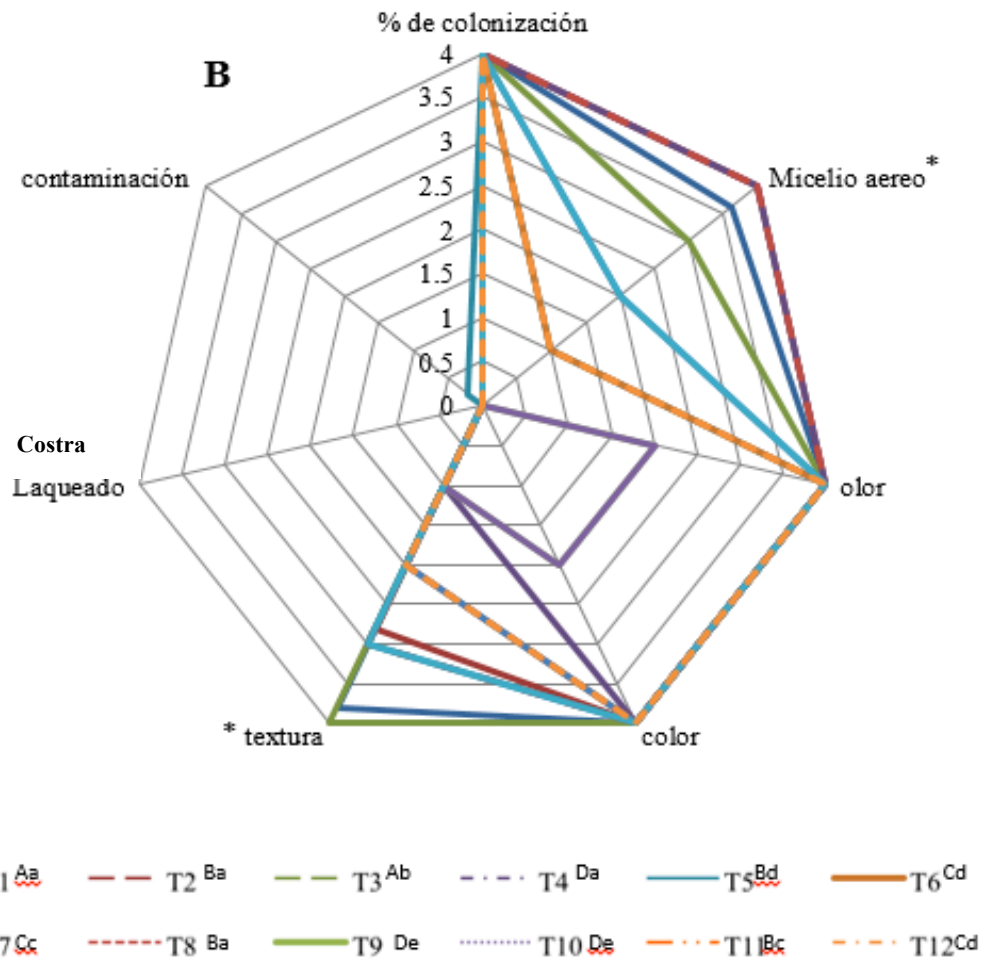


Figura 13. Representación gráfica de los indicadores de calidad que condicionan la adopción para la producción de inóculo de G2 ó *Ganoderma* sp1. * Medias con letras diferentes en la columna indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). Textura (A), Micelio Aéreo(a) y Costra (a¹).

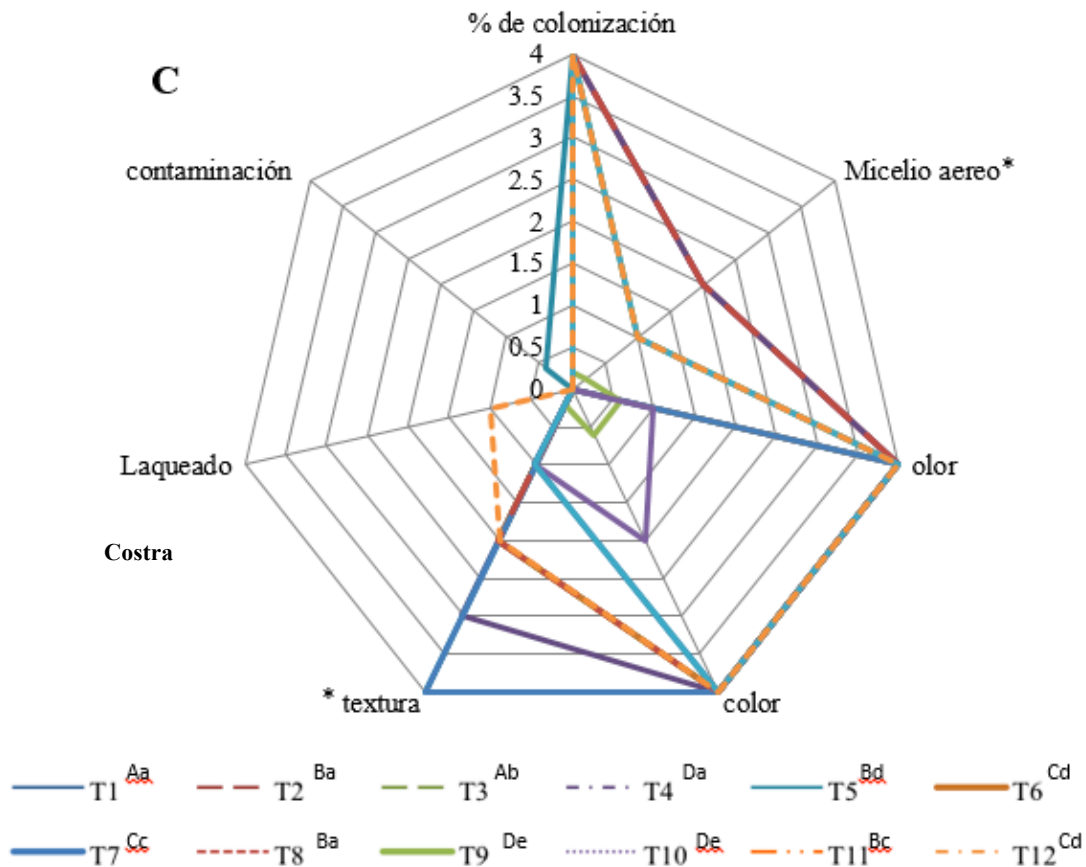


Figura 14. Representación gráfica de los indicadores de calidad que condicionan la adopción para la producción de inóculo de G3 ó *Ganoderma* sp3. * Medias con letras diferentes en la columna indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). Textura (A), Micelio aéreo (a) y Costra (a^1).

El sustrato maíz triturado y olote de maíz obtuvo las mejores características organolépticas para el desarrollo del micelio de las 3 cepas de *Ganoderma* spp., el maíz triturado presenta 2.15% de grasa en base a los porcentajes indicados por Church y Pond (1997). La correlación positiva (Tabla 10) entre el porcentaje de colonización con respecto a la textura, micelio aéreo y olor, puede establecer que a mayor contenido de grasa mejor es el desarrollo de la cepa. Además Church y Pond (1997), mencionan que el sustrato maíz triturado presenta 2.13% de fibra cruda y 12.08% de proteína, además Fuentes *et al.* (2001) reportan 6.83 % de cenizas para el olote de maíz. Con esta información se pone de manifiesto que esta cepa no es exigente en su nutrición inicial, ya que con un mínimo de nutrientes se desarrollan satisfactoriamente.

Tabla 10. Correlación de Pearson en los diferentes sustratos, utilizando olote de maíz y granos agrícolas para la producción de inoculo de *Ganoderma* spp.

	% Colonización	Micelio aéreo	Olor	Color	Textura	% Costra	% Contaminación
%	1	,429**	,674**	,674**	,410**	,091	,039
Colonización		,001 60	,000 60	,000 60	,001 60	,490 60	,766 60
Micelio aéreo		1	,636** ,000 60	,636** ,000 60	,480** ,000 60	,375** ,003 60	-,098 ,455 60
Olor			1	1,000** ,000 60	,608** ,000 60	,135 ,304 60	,058 ,659 60
Color				1	,608** ,000 60	,135 ,304 60	,058 ,659 60
Textura					1	-,410** ,001 60	,079 ,549 60
%						1	-,039
Costra							,766 60
% Contaminación							1

**La correlación es significativa al nivel 0,01.

Las variables más significativas para evaluar el desarrollo miceliar en sustratos a base de olote de maíz y granos agrícolas según el estudio comparativo de combinación de conglomerados y vinculación Ward (fig. 15), sugiere que el porcentaje de colonización, micelio aéreo y la textura son los mejores indicadores para estimar un buen crecimiento y desarrollo de *Ganoderma* spp.

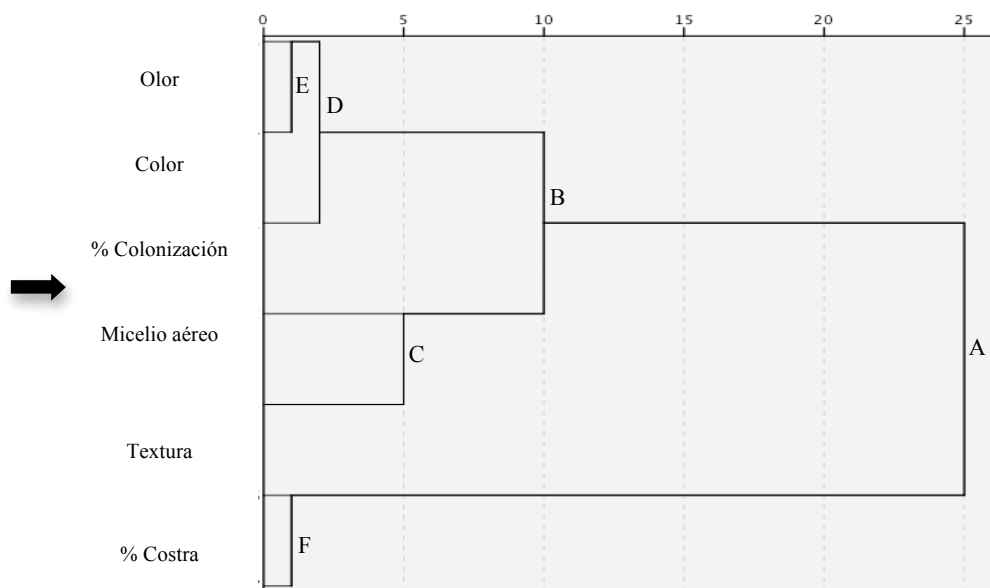


Figura 15. Combinación de conglomerados y vinculación Ward de sustratos a base de olote de maíz y granos agrícolas para el desarrollo de *Ganoderma* spp.

7.4 Fructificación

En lo que se refiere a la producción de cuerpos fructíferos, se presentó invasión del micelio en los sustratos, pero no hubo producción de carpóforos, aún usando productos agroindustriales como mencionan Guillermo *et al.*, (2001), donde se establecieron las condiciones de temperatura y humedad. Las instalaciones de los productores son muy rústicas, lo que pudo haber permitido que se diera filtración de aire y pudiera descender la temperatura, además los sustratos se contaminaron con *Tricoderma* spp., en este último caso se debió ajustar un procedimiento preventivo de inocuidad, ya que agroecológicamente, no se recomendó utilizar productos químicos, esto con la finalidad de obtener un producto inocuo y libre de contaminantes.

7.5 Comercio y productos de *Ganoderma* spp., en el Área de influencia

Se aplicaron 33 entrevistas semiestructuradas a través un muestreo no probabilístico usando el muestreo de bola de nieve descrito por Malhotra (2008), se inició en el municipio de Jalacingo Veracruz (40,747 habitantes), seguido por Altotonga Veracruz (65,548 habitantes), Teziutlán Puebla (97,590), Perote Veracruz (72,795 habitantes) y al

final Xalapa Veracruz (480,841 habitantes). En Jalacingo se seleccionaron al azar los establecimientos ubicados en el centro de dicho municipio a los cuales se les pidieron referencias sobre posibles establecimientos del portafolio de clientes elaborado previamente, ahí se encontraron 2 establecimientos, en los siguientes municipios se visitaron con base a la información proporcionada por los encuestados iniciales; en Altotonga se entrevistaron 5 establecimientos, en Jalacingo 2 establecimientos, en Teziutlán 9 establecimientos, en Perote 5 establecimientos y Xalapa con 12 establecimientos.

En los distintos puntos de venta de la región de estudio se encontraron: 4 tiendas naturistas y restaurantes vegetarianos, 1 centro naturista, 2 establecimientos de plantas medicinales, 2 consultorios médicos y naturópatas, 1 centro botánico y esotérico, 1 consultorio de nutrición, 2 consultorios y tiendas naturistas, 1 centro esotérico, 1 tienda naturista orgánica, 17 tiendas naturistas y 1 centro naturista y esotérico (fig.16).

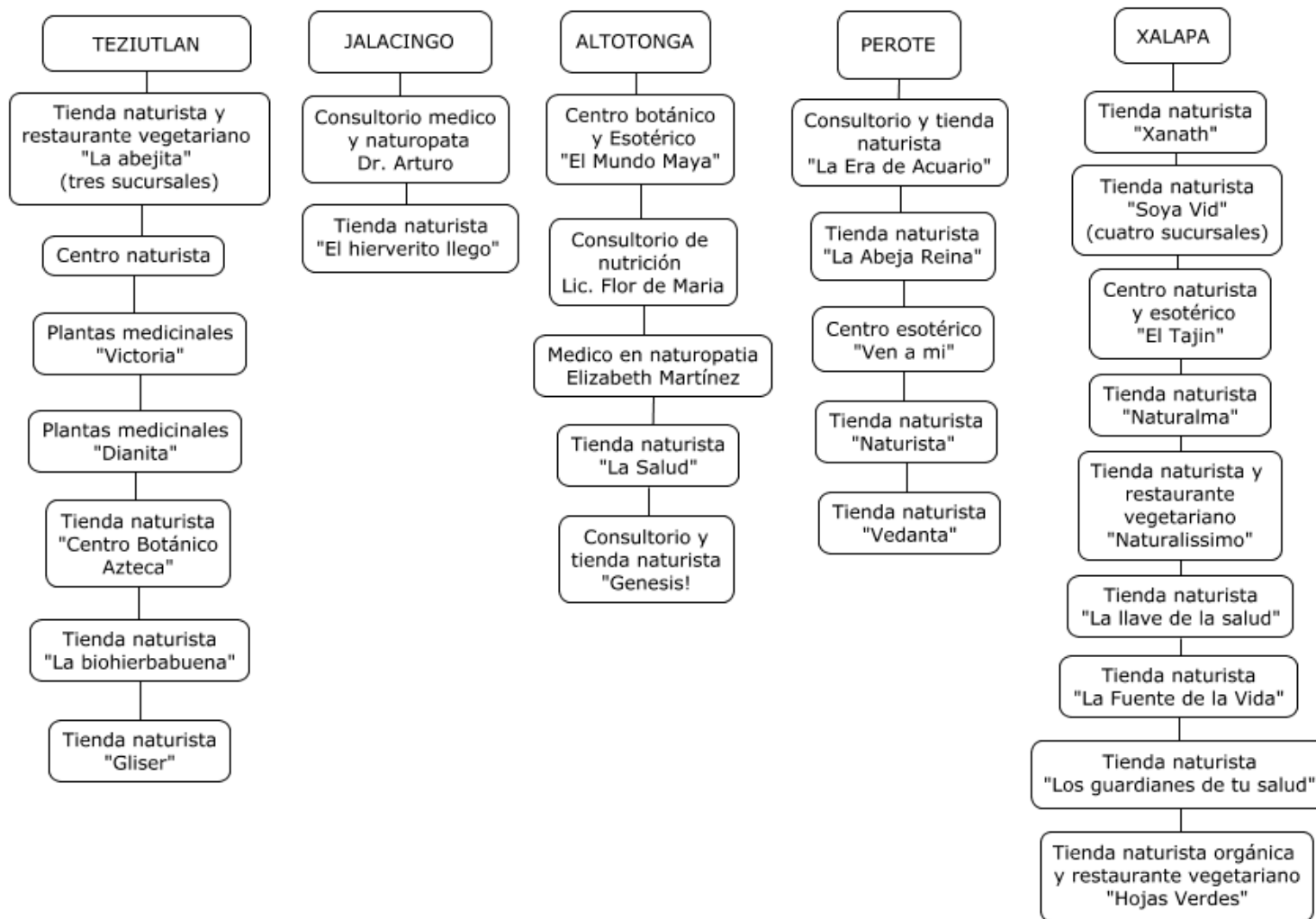


Figura 16. Nombre y giro de comercios entrevistados

De los 33 establecimientos 26 fueron atendidos por mujeres (78.79%) y 7 atendidos por hombres (21.21%), la edad promedio del personal que atendió los establecimientos naturistas fue de 42 años; presentando edades desde los 21 años hasta los 83 años. Los niveles de educación fueron 7 personas con nivel primaria (21.21%), 7 personas con nivel secundaria (21.21%), 13 personas con nivel preparatoria y/o bachillerato o carrera técnica (39.40%), 6 con nivel licenciatura (18.18%). El nivel de ocupación fue 20 personas fueron empleadas y/o empleados (60.61%), 1 persona fue licenciada en nutrición (3.03%), 5 comerciantes (15.15%), 4 médicos naturópatas (12.12%), 3 médicos naturistas (9.09%), cabe mencionar que solo fueron 2 médicos quienes tenían licenciatura en médico alópata y habían tomado cursos de medicina naturista, los otros 5 denominados médicos naturistas solo habían tomado cursos o diplomados en terapias complementarias, o solo por los años de experiencia que tenían atendiendo un establecimiento naturista se denominaban médicos naturistas, además que justificaban tener capacitación por los proveedores de productos naturistas.

En la figura 17 se muestra los productos encontrados en los municipios pertenecientes a la región de estudio y los productos encontrados con su respectiva descripción.

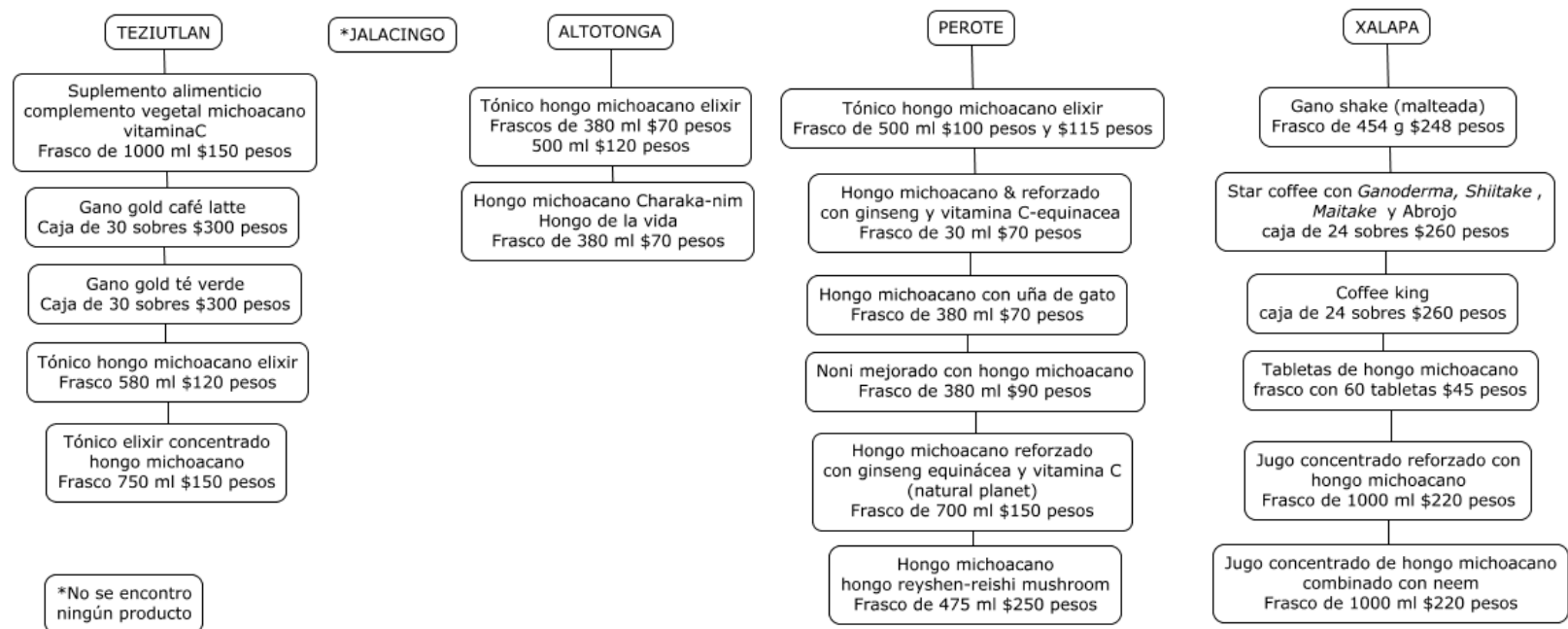


Figura 17. Nombre de suplementos alimenticios, presentación y costo localizados en la región de estudio.

El personal de 27 establecimientos dijeron haber escuchado de *Ganoderma* spp (fig. 18) y conocer algún producto (81.82%), aunque la mayoría lo relaciono con el Hongo Michoacano ya que comentaban que era lo mismo; en 6 establecimientos dijeron nunca haber oído sobre algún producto de *Ganoderma* spp (18.18%).

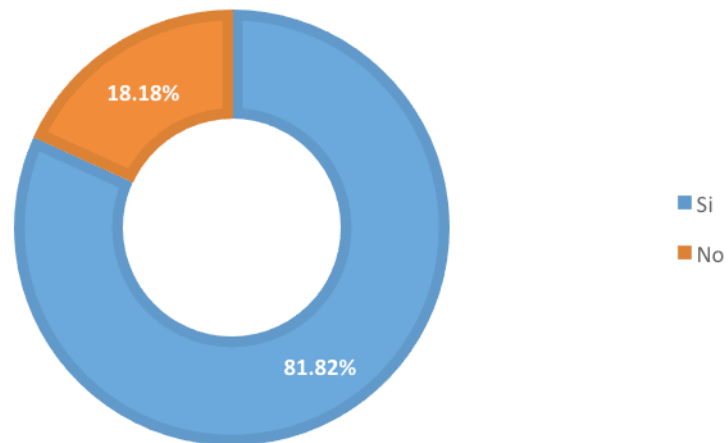
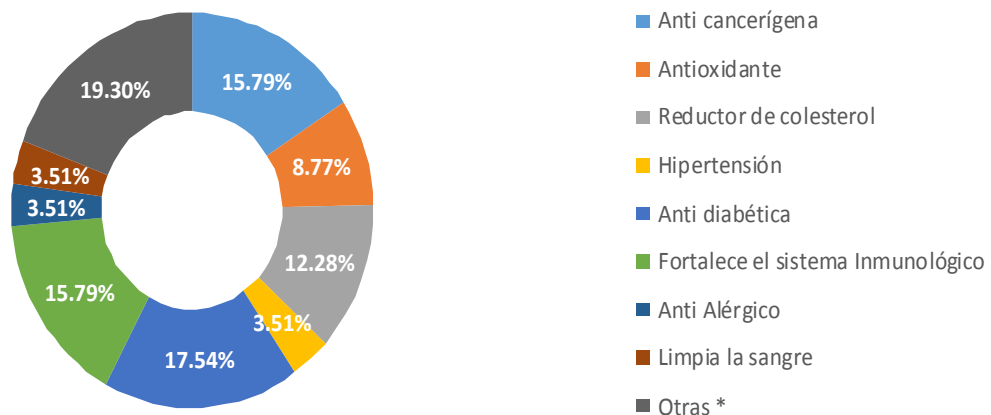


Figura 18. Nivel de conocimiento de *Ganoderma* spp.

Quienes mencionaron haber escuchado o tener conocimiento del tema, se les pregunto si sabían para que servía el hongo *Ganoderma* spp., a partir de la tipología preestablecida en la entrevista semiestructurada, pero también se hicieron anotaciones de usos adicionales que los entrevistados supieran que tenían, y están representados como "Otras"* como se muestra en la figura 19. A los 6 establecimientos que dijeron no conocer o haber oído hablar de *Ganoderma* spp., se les explicaron las propiedades de dicho hongo para que pudieran seguir el proceso de la entrevista.



*Antibiótico, relajante, pérdida de peso, regula la presión, depurativo, para los nervios, cura enfermedades crónicas, para la gastritis, muchos padecimientos, ácido úrico, infecciones urinarias.

Figura 19. Propiedades que los entrevistados creían que servía *Ganoderma spp.*

Hubo 17 establecimientos que vendían productos con *Ganoderma spp* u "hongo michoacano" (51.52%) y 16 no lo comercializaban (48.48%), y a estos se les pregunto si les interesaría adquirir algún producto de este tipo, de los cuales 6 establecimientos dijeron que si lo comprarían (37.5%), pero uno de ellos comento que se los han ofrecido en sistema de multinivel y no lo han adquirido porque dicho sistema encarece demasiado el producto por su sistema de comisiones, además de que el público no conoce los beneficios del producto y hace falta información del mismo (fig. 20); los otros 10 establecimientos (62.5%), comentaron no estar interesados debido a la mala fama que tenía el hongo michoacano al ser prohibido por COFEPRIS en el 2011 como producto milagro (Cofepris, 2011).

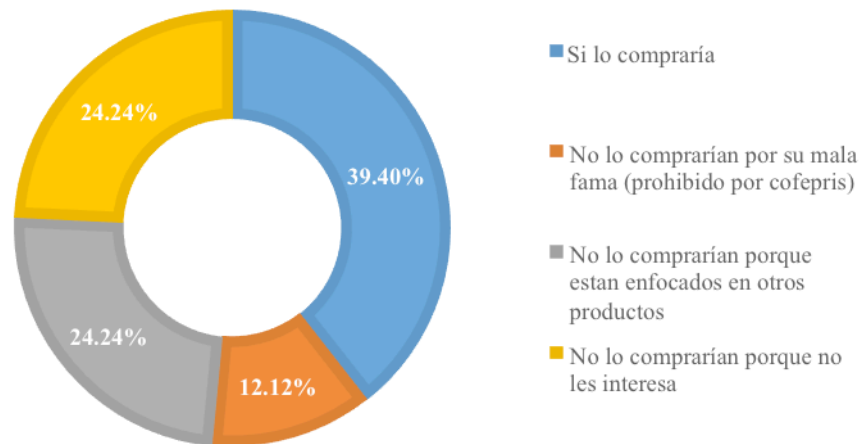


Figura 20. Nivel de interés de adquisición en establecimientos que no vendían productos de *Ganoderma*.

Al 37% de los establecimientos que manifestaron estar interesados en adquirir algún producto de *Ganoderma* spp., se les cuestionó sobre tipo de productos y cantidades potenciales que podrían demandar, además de formas para promocionar el producto, tal como trípticos y otras formas de promoción (fig. 21).

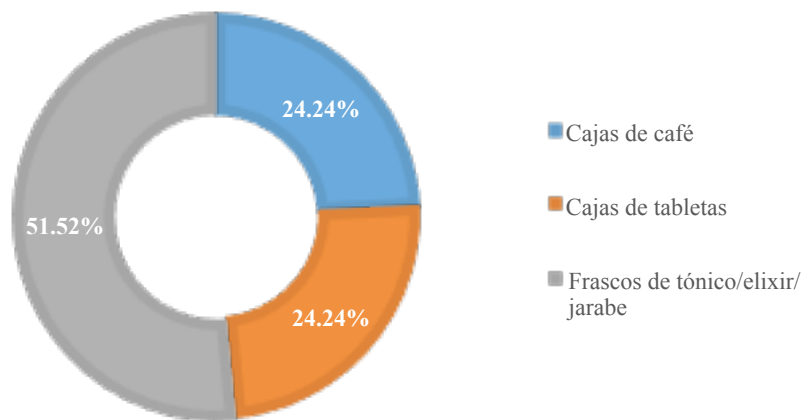


Figura 21. Tipo de presentaciones de *Ganoderma* que comprarían los establecimientos interesados.

La presentación preferida en la que les gustaría comprar productos con *Ganoderma* spp., fue la de tónico/elixir/jarabe (fig. 21), ya que mencionaron que son las presentaciones que más se desplazan, porque el precio en que oscilan los tónico/elixir/jarabe son de 70 a 120 pesos, lo que no es muy caro en comparación con el café que una caja vale 300 pesos y ambos tienen duración de un mes.

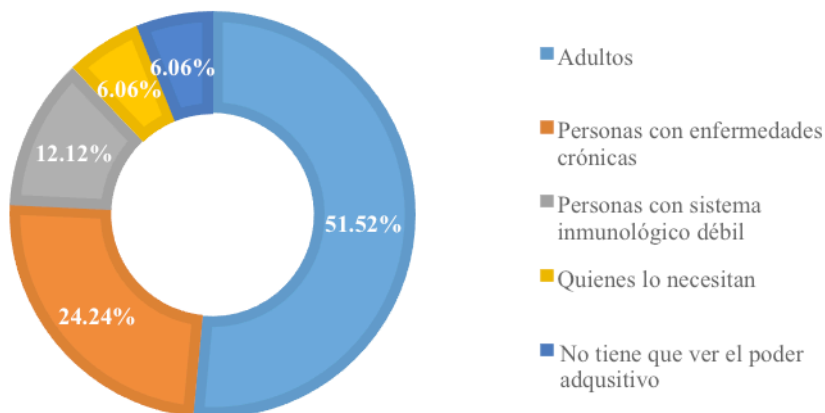


Figura 22. Consumidores finales de productos de *Ganoderma* spp., y Hongo Michoacano.

Al preguntarles a los entrevistados quienes eran las personas que preferentemente compraban productos que tuvieran *Ganoderma*; los adultos obtuvieron la mayoría y de ahí personas con enfermedades crónicas y sistema inmunológico débil. Las personas encargadas de los establecimientos que se refirieron a personas adultas en general que no mencionaban que padecimiento tenían, únicamente que querían adquirir el producto e hicieron inferencia que el producto generalmente no era suministrado a niños o adolescentes, en lo que se refirió a enfermedades crónicas hicieron inferencia como a diabetes, hipertensión, cáncer, enfermedades respiratorias (fig. 22).

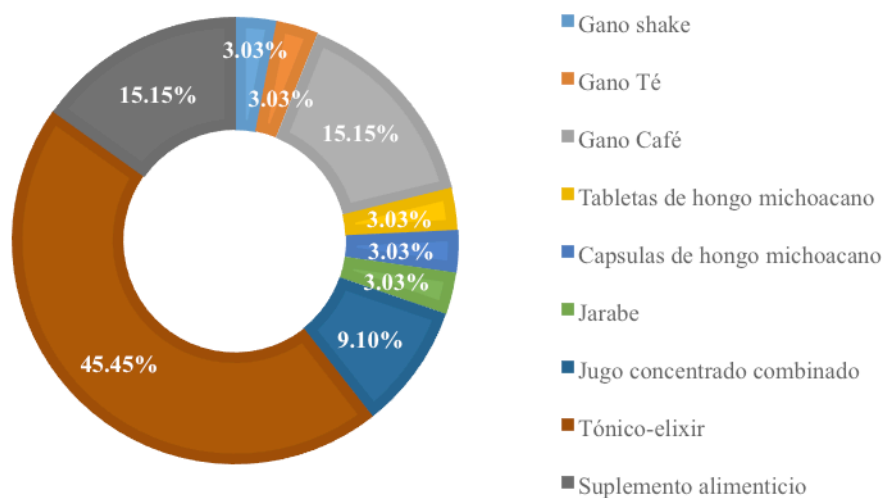


Figura 23. Presentaciones de *Ganoderma* y hongo michoacano encontradas en los establecimientos entrevistados.

La presentación de *Ganoderma* spp y hongo michoacano que más se encontró fue la de tónico, elixir y jarabe como se observa en la figura 23 (Anexo 4), fue en esta última donde más productos de hongo michoacano se encontraron como si tuvieran las propiedades funcionales de *Ganoderma* spp., en la etiqueta mencionan sus propiedades pero no la dosis de cada compuesto activo como se muestra en el anexo 6, también se encontraron productos de procedencia extranjera (Anexo 5).

7.6 Diseño del paquete tecnológico del cultivo de *Ganoderma* spp.

En la figura 24, se muestra una propuesta de paquete tecnológico para el género *Ganoderma*, el enfoque se hace desde la perspectiva de una agricultura familiar, ya que es desde ésta donde se puede fortalecer el desarrollo productivo de pequeños y medianos productores, combinando los recursos productivos y haciéndolo de manera más sostenible y equitativa.

Por lo anterior la producción de inóculo para el cultivo de *Ganoderma*, spp., es una alternativa a percibir ingresos adicionales, ya que no requiere mucha tierra y es una actividad viable y atractiva tanto para los agricultores rurales como para los habitantes periurbanos; no requiere una inversión de capital significativa y la escala de cultivo puede

ser grande o pequeña en función de la disponibilidad de capital y mano de obra, proporciona oportunidades para mejorar la sostenibilidad de los pequeños sistemas agrícolas a través del reciclaje de materia orgánica, que puede ser utilizado como un sustrato en crecimiento y luego devuelto a la tierra como fertilizante. Las mujeres, ancianos y niños pueden participar activamente en el cultivo, mejorado el empoderamiento femenino a través de la producción de hongos, dándoles la oportunidad de adquirir habilidades agrícolas, independencia financiera y autoestima (Marshall y Nair, 2009).

En lo que refiere a los productos alternativos, los productores podrían seguir trabajando en coordinación con la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, en lo referente a investigación y desarrollo de productos funcionales de *Ganoderma* spp., e impulsar estrategias de venta, en el reuso del sustrato residual del cultivo de hongos. Martínez-Carrera *et al.* (2016) mencionan que un factor importante que tendrá alto impacto sobre la diversificación de la cadena agroalimentaria microbiana emergente de los hongos comestibles, funcionales y medicinales será la innovación precedente de los recursos genéticos nativos, en virtud de la gran diversidad biológica y cultural de nuestro país; el beneficio ecológico por la reutilización de esquilmos agrícolas para la producción de sustratos. El sustrato residual del cultivo de hongos pueden ser empleado para generar abono orgánico como describen Gaitán-Hernández *et al.* (2012) implementando el proceso metodológico de la elaboración de abono tipo *bocashi*, utilizando como materia prima el sustrato residual del cultivo de *Pleurotus* spp. Y recientemente el compost residual obtenido del cultivo de champiñón, con el propósito de obtener un abono de buena calidad y con excelentes rendimientos para su utilización en la producción de plántulas bajo condiciones de vivero (Mata *et al.*, 2016).

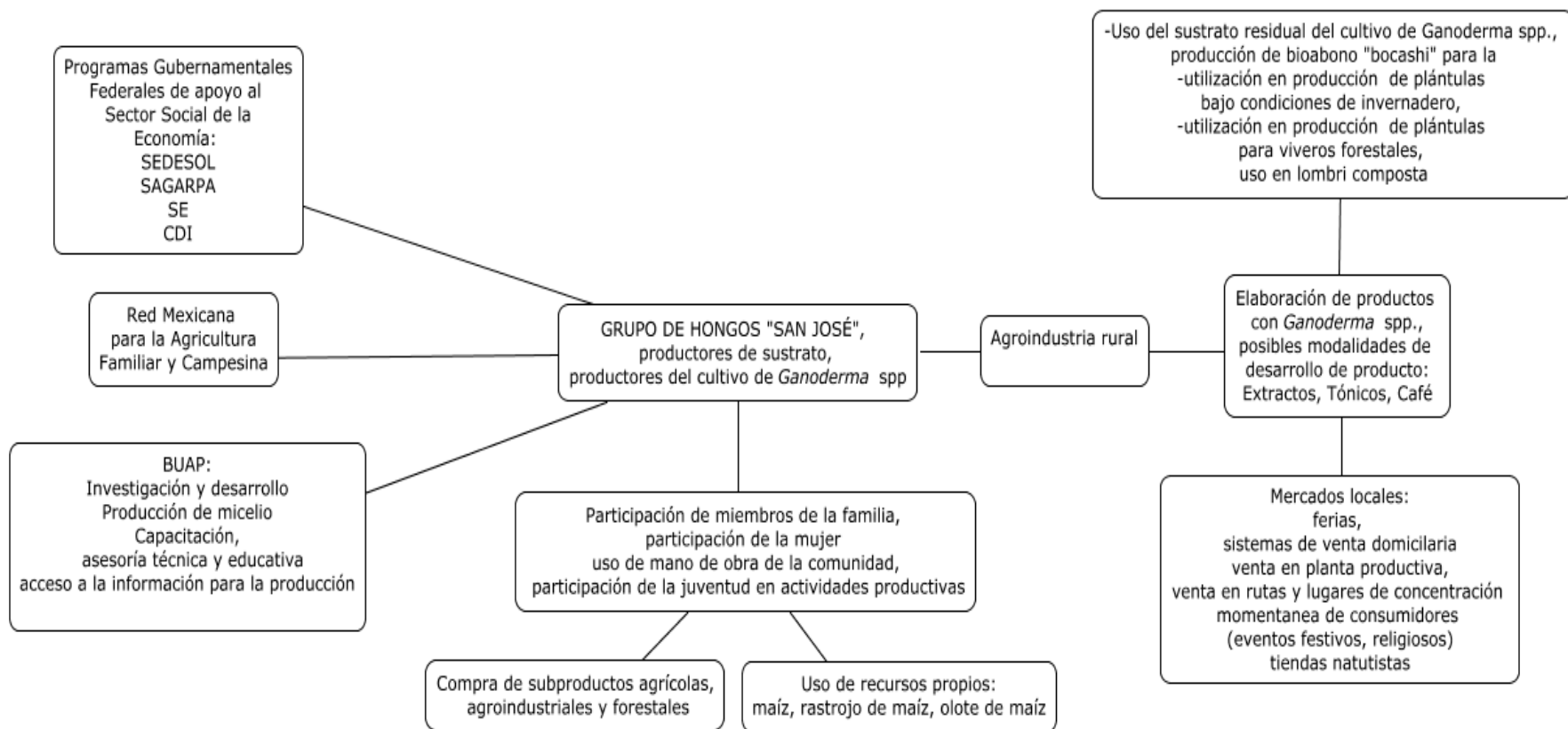


Figura 24. Diagrama de flujo del paquete tecnológico para la producción de inóculo del hongo medicinal *Ganoderma* spp.

8. CONCLUSIONES

- 1.- A través del análisis filogenético se encontró una cepa perteneciente a *Ganoderma curtisii* y dos cepas que pertenecen al género *Ganoderma*.
- 2.- Los sustratos que presentaron mejores características para la producción de inoculo de *Ganoderma* fueron T2 (Trigo 25% + Maíz 25% + Olote 50%), T3 (Trigo 37.5% + Maíz 37.5% + Olote 25%), T6 (Trigo 50% + Olote 50%) y T7 (Trigo 75% + Olote 25%).
- 3.- El sustrato a base de Trigo (37.5) + Maíz (37.5) + Olote (25%) podría considerarse la mejor opción para producción de inoculo de *Ganoderma curtisii*,
- 4.- *Ganoderma curtisii* presento mejor tasa de desarrollo y velocidad de crecimiento tanto en medio PDA y medio PDA + Bran Flakes®.
- 5.- Las mejores características organolépticas en base al estudio de conglomerados fueron porcentaje de colonización, color y micelio aéreo.
- 6.- La región que presento mejor conocimiento del género *Ganoderma* fue: Xalapa Veracruz, con más presentaciones del producto.
- 7.- El tónico o elixir es el producto que más se vende en todos los municipios de la región de estudio debido a su precio de venta.
- 8.- Los productos que presentaron un mayor costo fueron: Gano café y Gano shake.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Altieri, M., Dufumier, M. 2013. Crisis alimentaria y agroecología. *Revista de América latina en movimiento, la alternativa agroecológica*. 487(2): 1-5.
2. Alvidrez-Morales, A., González-Martínez, B.E., Jiménez-Salas, Z. 2002. Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. *Revista Salud Pública y Nutrición*. 3(3): 1-7.
3. Andrade, R., Mata, G., Sánchez, J. 2012. La producción Iberoamericana de hongos comestibles en el contexto Internacional. P. 15. *In Hongos Comestibles y Medicinales en Iberoamérica*. Eds. Sánchez, J, & Mata, G. El Colegio de la Frontera Sur. Tapachula, Chiapas. 393 p.
4. Arenas M.D. 1992. Evaluación de diferentes sustratos para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Tesis de Ingeniero Agrónomo, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. 64 p.
5. Bambila J. 2013. Alimentos del futuro. Pp. 71-77. *In De la I. M. D. L. Nuestros alimentos: una necesidad primaria para la humanidad*. Ed. D.I.Casa. Montecillo, Estado de México. 245p.
6. Bautista, J., Ramírez, J. Antonio, J. 2016. Agricultura familiar y patrones de consumo alimentario en las familias indígenas de Matatlán, Oaxaca, México. P. 394. *In Ciencia, Tecnología e Innovación en el Sistema Agroalimentario de México. Hacia un enfoque integral de la producción, la dieta, la salud y la cultura en beneficio de la sociedad*. Eds. Martínez-Carrera, D., Ramírez, J. COLPOS-AMC-CONACYT-UPAEP-IMINAP, San Luis Huexotla, Texcoco, México. 856 p.
7. Blanco, H.N., Herrera, F.S., Cabrera, N.T. 2009. Posibilidades de cultivo de *Ganoderma resinaceum* Boud. (Basidiomycetes, Ganodermataceae) en Cuba. *Acta Botánica Cubana*. 20(6): 31-33.
8. Boucher, F. 2006. *Agroindustria rural y sistemas agroalimentarios locales. Nuevos enfoques de desarrollo territorial*. Ponencia invitada en III Congreso Internacional

- de la Red SIAL “Sistemas alimentarios locales, alimentación y territorios”, 18 al 21 de octubre. Baeza, Jaén, España, pp. 1-23. Recuperado de: <http://syal.agropolis.fr>
9. Buchanan, P. K. 2001. A taxonomic overview of the Genus *Ganoderma* with special references to species of medicinal and nutraceutical importance. *Proceedings of International Symposium Ganoderma Science, Auckland*. Pp. 27-29.
 10. Burge, R.M. y Duensing, W.J. 1989. Processing and dietary fiber ingredient applications of corn bran. *Cereal Foods World. International information system for the agricultural science*. 34: 535-538.
 11. Cain, R. 1972. Evolution of the fungi. *Mycologia*. 64: 1-14.
 12. Castillo, A., Mata, G., Benítez, B.G. 2015. Importancia de la domesticación en la conservación de los hongos silvestres comestibles en México. *Valdivia*. 36(2): 151-161.
 13. Chang, M.Y., Tsai, G., Hwang, J.Y. 2006. Optimization of the medium composition for the submerged culture of *Ganoderma lucidum* by Taguchi array design and steepest ascent method. *Enzyme and Microbial Technology*. 38: 407-414.
 14. Chang S. T. and Miles, P.G. 2004. *Mushrooms: Cultivation Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact*. Second Edition. Boca Raton, FL: CRC Press. Florida. 451 p.
 15. Chen X., Hu Z., Yang X., Huang M., Gao Y., Tang W., Chan S., Dai X., Ye J., Ho P., Duan W., Yang H., Zhu Y., Zhou S. 2006. Monitoring of immune responses to a herbal immuno-modulator in patients with advanced colorectal cancer. *International Immunopharmacology*. 6: 499-508.
 16. Chen, R.Y., Yu, D.Q. 1999. Studies on the triterpenoid constituents of the spores of *Ganoderma lucidum* (Curt:Fr) P. Karst. (Aphyllophoromycetidae). *International Journal of Medicinal Mushrooms* 1:147-152.
 17. Church D.C., Pond W.G. 1997. Bases científicas para la nutrición y alimentación de los animales domésticos. Primera edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 462 p.

18. Cifuentes Álvarez, William; Pérez, María Jesús y Gil-Casares, Mónica. 2011. Metodología de análisis de cadenas productivas bajo el enfoque de cadenas de valor. Primera edición. Fundación CODESPA. Bolivia. 82 p.
19. Cofepris.2011. Productos Milagro. Recuperado de: http://www.conade.gob.mx/Documentos/Suplementos/lista_PM.pdf
20. COLPOS (Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas) y Fundación Produce Tlaxcala, A.C. 2003. Programa estratégico para el desarrollo de la producción, transformación y comercialización de hongos comestibles en el estado de Tlaxcala. Tlaxcala, Tlax. 44 p. Recuperado de: <http://www.cofupro.org.mx/cofupro/Publicacion/Archivos/penit30.pdf>
21. Domínguez-López, D. 2012. Obtención de sepas silvestres de *Ganoderma lucidum* y la caracterización de una para la cuantificación de ex polisacáridos en cultivo de células en suspensión. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Zapopan, Jal. México. 57 p.
22. FAO.2016. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, estadísticas. Recuperado de: <http://faostat.fao.org/>.
23. FAO. 2015. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, estadísticas. Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/t0395s/t0395s03.htm>
24. FAO.2014. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, estadísticas. Recuperado de: <http://faostat3.fao.org/>.
25. Fernández, M. 2009. Manual práctico de producción comercial de champiñón. [en línea].Guadalajara, México. Recuperado de: <http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/champi/champi.htm#indi>
26. Fuentes, J., Magaña, C., Suarez, L., Peña, R., Rodríguez, S., Ortiz de la R.B. 2001. Análisis químico y digestibilidad *in Vitro* del rastrojo de maíz (*Zea mays*). Agronomía Mesoamericana 12(2): 189-192.

27. Gaitán-Hernández, R., Mata-Rosas, M., Carlos, A. Muñoz, C. 2012. Elaboración de abono bocashi con la paja obtenida del cultivo *Pleurotus pulmonaris*. pp. 181-190. In: *Hongos Comestibles y Medicinales en Iberoamérica: Investigación y Desarrollo en un Entorno Multicultural*. Eds. Sánchez, J. & Mata, G. El Colegio de la Frontera Sur-Instituto de Ecología, A.C., Tapachula. 393 pp.
28. García-Winder, M., Rodríguez Sáenz, D., Lam, F., Herrera, D. Sánchez, M. 2010. Principales tendencias que afectan el estado de los agronegocios en el hemisferio americano. pp.3-20. In: *Desarrollo de los agronegocios y la agroindustria rural en América Latina y el Caribe: conceptos, instrumentos y casos de cooperación técnica*. IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura). San José Costa Rica. 260 pp. Recuperado de: <http://repiica.iica.int/docs/b1708e/B1708e.pdf>
29. Guerrero-Torres, J., Mata, G., Martínez-Carrera, C., Garibay-Orijel C., Garibay-Orijel R. 2013. Cebadores para la amplificación del gen de la (1,3)-B-Glucano sintasa y caracterización parcial de la enzima en *Ganoderma lucidum*. *Revista Iberoamericana de Micología*. 4. 267-270.
30. Guillermo, O., Urdapilleta, M., Montiel, E. 2001. Aislamiento, caracterización y cultivo de tres cepas silvestres de *Ganoderma lucidum* sobre olote de maíz, en Cuernavaca Morelos. Facultad de Ciencias Biológicas: Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del estado de Morelos. Cuernavaca , Morelos. México. P. 92.
31. Gómez-Pallarés, M., León, A.E. y Rosell, C.M. 2007. De tales harinas tales panes, Granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica. Primera edición. Ediciones Báez. Córdoba, Argentina. 473 p. Recuperado de: https://www.iseki-food.net/webfm_send/1729
32. Hillis, D.m. 1996. Inferring complex phylogenies. *Nature*. 383: 130-131.
33. INEGI, 2015 [en línea]. Recuperado de: <http://mexico.pueblosamerica.com/i/orilla-del-monte/>

34. Kumar, S., Dudley, J. 2007. Bioinformatics software for biologists in the genomics era. *Bioinformatics*, 23(14): 1713-1717.
35. Mabile, F., Grill, J., Abecassis, J. 2001. Mechanical properties of wheat seed coats. *Cereal Chemistry*, 78: 231-235.
36. Malhotra, Naresh K. 2008. Investigación de mercados. Quinta edición. Pearson Educación. México, D.F. 919 p.
37. Marin B., Jozica H., Irena Z., Branka W., Damjan H., Bojana B., Pohleven F. 2003. Submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* biomass and immunostimulatory effects of fungal polysaccharides. *Journal of Biotechnology*. 103: 77-86.
38. Marshall, E.; Nair, N. 2009. Make Money by Growing Mushrooms; Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO): Roma, Italy. 51 p. Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/011/i0522e/i0522e00.htm>.
39. Martínez-Carrera, D., Larqué-Saavedra, A., Tovar, A., Nimbe, T., Meneses, M., Sobal, M., Morales, P., Bonilla, M., Escudero, H., Tello-Salgado, I., Bernabé-González, T., Martínez, W., Mayett, Y. 2016. Contribución de los hongos comestibles, funcionales y medicinales a la construcción de un paradigma sobre la producción, la dieta, la salud y la cultura en el sistema agroalimentario de México. Pp. 581-640. In *Ciencia, Tecnología e Innovación en el Sistema Agroalimentario de México. Hacia un enfoque integral de la producción, la dieta, la salud y la cultura en beneficio de la sociedad*. Eds. Martínez-Carrera, D. & Ramírez, J. COLPOS-AMC-CONACYT-UPAEP-IMINAP, San Luis Huexotla, Texcoco, México. 856 p.
40. Martínez-Carrera, D., Morales, P., Sobal, M., Bonilla, M., Martínez, W., Mayett, Y. 2012. Los hongos comestibles, funcionales y medicinales: su contribución al desarrollo de las cadenas agroalimentarias y la seguridad alimentaria en México. pp. 449-474. In: *Memorias Reunión General de la Academia Mexicana de Ciencias: Ciencia y Humanismo (Agrociencias)*. Academia Mexicana de Ciencias, México, D.F. 750 p.

41. Martínez-Carrera, D., López-Martínez de Alva, L. 2010. Historia del cultivo comercial de hongos comestibles en México. pp. 513-551. In: *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Eds. Martínez-Carrera, D., Cuberto, N., Sobal, M., Morales, P. & Mora. M. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 648 p.
42. Martínez-Carrera, D., Morales, P., Sobal, M., Bonilla, M. Martínez, W. 2007. México ante la globalización en el siglo XXI: el Sistema de producción-consumo de los hongos comestibles. pp. 209-224. En: *El Cultivo de Setas Pleurotus spp. en México*. Eds. Sánchez, J., Martínez-Carrera, D., Mata, G. & Leal, H. El Colegio de la Frontera Sur. Tapachula de Córdoba y Ordoñez. Chiapas, México. 236 p.
43. Martínez-Carrera, D. Larqué, A., Aliphath, M., Aguilar, A., Bonilla, M., Martínez, W. 2000. La biotecnología de hongos comestibles en la seguridad y soberanía alimentaria de México. II Foro Nacional sobre Seguridad y Soberanía Alimentaria. Academia Mexicana de Ciencias-CONACYT, México, D.F. 193-207. Recuperado de: <http://www.hongoscomestiblesymedicinales.com/P/P/18.pdf>
44. Martínez-Carrera, D., Morales, P., Pellicer-González, E., León, H., Aguilar, A., Ramírez, P., Ortega, P., Largo, A., Bonilla, M., Gómez, M. 2002. Studies on the traditional mangement, and processing of matsutake mushrooms in Oaxaca, Mexico. *Micología Aplicada International*. 14:25-42.
45. Martínez-Carrera, D., Leben, R., Morales, P., Sobal, M., Larqué-Saavedra, A. 1991. Historia del cultivo comercial de los hongos comestibles en México. *Ciencia y Desarrollo*. 96: 33-43.
46. Mata, G., Salmenes, D., Gaitán-Hernández, R. 2010. Basic and applied research on mushroom cultivation at the Institute of Ecology, Xalapa, Mexico. pp. 52. In: *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Eds. Martínez-Carrera, D., Cuberto, N., Sobal, M., Morales, P., Mora. M. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 648 p.

47. Mata, G., Gaitán-Hernández, R., Salmones, D. 2016. La investigación en micología básica y aplicada: aportes para un desarrollo sustentable. pp. 695-719. *In Ciencia, Tecnología e Innovación en el Sistema Agroalimentario de México. Hacia un enfoque integral de la producción, la dieta, la salud y la cultura en beneficio de la sociedad.* Eds. Martínez-Carrera, D. & Ramírez, J. COLPOS-AMC-CONACYT-UPAEP-IMINAP, San Luis Huexotla, Texcoco, México. 856 p.
48. Mena, J., Minter, W., Herrera, S., Mercado, A., Iglesias, H., Blanco, N., Ortiz, J., Maldonado, S., Recio, G., Herrera, G., Ortiz, M., Medina, M., Maldonado, S., Recio, G., Herrera, G., Rodríguez, M., Camino, M. 2008. La estrategia para la conservación de la diversidad fúngica en Cuba: Una propuesta integradora en el ámbito Iberoamericano. pp. 106. *In Tópicos sobre diversidad, ecología y usos de los hongos microscópicos.* Ed. Heredia, G. Instituto de Ecología. Xalapa, Ver. México. 371 p.
49. Mizuno, T. 1997. Studies on bioactive substances and medicinal effect or Reishi, *Ganoderma lucidum*.in Japan. pp. 121-127. *In Proceeding 1st International Symposium Ganoderma lucidum in Japan.* Ed. A. commitee. Toyo-Igaku-sha Co., Ltd. Tokyo, Japan. Citado en: http://www.biblio.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/handle/10521/372/Tello_Salgado_I_DC_EDAR_2010.pdf?sequence=1
50. Moncalvo, J., Wang, H., Wang, H., Hseu, H. 1994. Molecular studies in the *Ganoderma lucidum* complex. In. 94 'Int.Symp. *Ganoderma*. Ed. Lin. Z. Medical University Press, Beijing. Pp. 12-13. Citado en: http://www.biblio.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/handle/10521/372/Tello_Salgado_I_DC_EDAR_2010.pdf?sequence=1
51. Morales, P., Sobal, M., Bonilla, M., Martínez, W., Ramírez-Carrasco, P., Tello, I., Spezzia, T., Lira, N., De Lima, R., Villa, S., Montiel, E., Martínez-Carrera, D. 2010. Los hongos comestibles y medicinales en México: recursos genéticos, biotecnología, y desarrollo del Sistema de producción-consumo. pp. 91-108. *In: Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos*

- Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Eds. Martínez-Carrera, D., Cuberto, N., Sobal, M., Morales, P. Mora. M. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 648 p.
52. Naranjo, J.N., Colmenero, R.A., Rosas, M.I., y Ortega, Ch. M. 2012. El cultivo de hongos comestibles para el desarrollo comunitario. *Vidsupra* 4(1): 32-34.
53. Nei, M. 1996. Phylogenetic analysis in molecular evolutionary genetics. *Annual Review in Genetics* 30: 371-403.
54. Nei, M. y Kumar, S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Primera edición. Oxford. University Press. Reino Unido. 352 p.
55. Ortigón, E., Pacheco, J. Prieto, A. 2005. Metodología del marco lógico para la planificación, el seguimiento y la evaluación de proyectos y programas. Serie Manuales 42. Instituto Latinoamericano y del Caribe de Planificación Económica y Social (ILPES). Área de proyectos y programación de inversiones. Naciones Unidas. CEPAL. Santiago de Chile. 124 p. Recuperado de: www.eclac.org/publicaciones.
56. Porter, M. 1998. *The Competitive Advantage of Nations*. Primera edición. The Free Press, MacMillan. Nueva York. 875 p.
57. Ramírez, D. 2016. *Situación de la agricultura en América Latina y el Caribe*. Pp. 221-281. In *Ciencia, Tecnología e Innovación en el Sistema Agroalimentario de México. Hacia un enfoque integral de la producción, la dieta, la salud y la cultura en beneficio de la sociedad*. Eds. Martínez-Carrera, D., Ramírez, J. COLPOS-AMC-CONACYT-UPAEP-IMINAP, San Luis Huexotla, Texcoco, México. 856 p.
58. Ritchie, S., Swanson, S.J., Gilroy, S. 2000. Physiology of the aleurone layer and starchy endosperm during grain development and early seedling growth: new insights from cell and molecular biology. *Seed Science Research*, 10: 193-212.

59. Robledo, O, A., Aguilar, C, N., Montañez, J.C. 2012. Uso del olote de maíz como sustrato microbiano para la obtención de xilanasas, *Acta Química Mexicana*. 2(7):6-11.
60. Saha B.C. y Bothast R.J. 1999. Pretreatment and enzymatic saccharification of corn fiber. *Appl Biochem Biotechnol* 76:65-77.
61. Sánchez, J.E. y D. Royse. 2002. La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. Colegio de la Frontera Sur Primera edición. Editorial Limusa. Grupo Noriega Editores. San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México. 290 p.
62. Sarandón, J., Zuluaga, S., Cieza, R., Gómez, C., Janjetic, L., Negrete, E. 2006. Evaluación de la sustentabilidad de sistemas agrícolas de fincas en Misiones, Argentina, mediante el uso de indicadores. *Revista Agroecología*. 1: 19-28.
63. Serna-Saldívar, S.R. O. 2009. Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. AGT Editor. México D.F. 521 p.
64. Sevilla, G. y Soler, M.. 2010. Agroecología y soberanía alimentaria: alternativas a la globalización agroalimentaria. *pH Cuadernos. Patrimonio cultural en la nueva ruralidad andaluza*. pp. 190-217. Recuperado de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4370237>
65. Shewry, P.R., Halford, N.G. 2002. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*. 53: 947-958.
66. Sihuana M. D. 2011. Desarrollo de un proceso biotecnológico para la producción de variedades especiales de hongos comestibles (*Pleurotus*, *Lentinula*, *Hypsizygus*), empleando bagazo de caña de azúcar y otros subproductos agrícolas y forestales como sustrato de cultivo. Tesis doctoral. Recuperado de: http://www.biblio.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/10521/444/1/Sihuana_Mendoza_D_DC_EDAR_2011.pdf

67. Silveira, M., Monereo, S., Molina, B. 2003. Alimentos funcionales y nutrición óptima ¿Cerca o lejos? *Revista Española de Salud Pública*. 77(3): 317-331.
68. Song, M., Kim, N., Lee, S., Hwang, S. 2007. Use of whey permeate for cultivating *Ganoderma lucidum* mycelia. *Journal of Dairy Science*. 90(5): 2141-2146.
69. Stamets P. 1993. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Primera edición. Ten Speed Press and Mycomedica. Olympia, Washington. 552 p.
70. Stamets, P., Chilton, J.S. 1983. The Mushroom Cultivator. A practical guide to growing mushrooms at home. Primera edición. Agarikon press. Olympia, Washington. 415 p.
71. Tang Y.J., Zhong, J. 2002. Fed-batch fermentation of *Ganoderma lucidum* for hyperproduction of polysaccharide and ganoderic acid. *Enzyme and Microbial Technology*. 31: 20-28.
72. Tello, S. I. 2010. Diversidad de los recursos genéticos mexicanos del hongo funcional *Ganoderma* (Fungi Ganodermataceae), conocido como reishi en los mercados internacionales, y su relevancia para el desarrollo regional. Tesis doctoral. 152 p.
73. Toledo. V. M. 2005. La memoria tradicional: la importancia agroecológica de los saberes locales. *LEISA Revista de Agroecología*. 20(4):16-19.
74. Trigos Á. y Suárez-Medellín, J. 2011. Biologically active metabolites of the genus *Ganoderma*: Three decades of myco-chemistry research. *Revista Mexicana de Micología*. 34:63-83.
75. Valdez-Vazquez I.J., Acevedo B., Hernández S.H. 2010. “Distribution and Potential of Bioenergy Resources from Agricultural Activities in Mexico”. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14: 2147–2153.
76. Visser, E. 2004. Enfoque internacional sobre el desarrollo de cadenas agroalimentarias. FAO-SAGARPA, México, D.F. 85 p. Recuperado de:

<http://www.sagarpa.gob.mx/programas2/evaluacionesExternas/Lists/Otros%20Estudios/Attachments/2/enfoque.pdf>

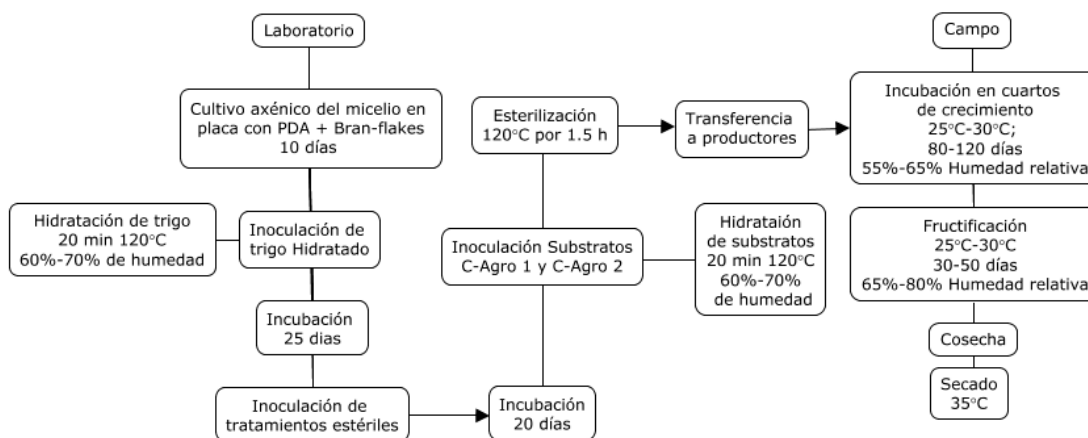
77. White, T.J., Bruns, S. y J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Eds. M. A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T. J. White. Academic Press, San Diego, CA, U.S.A. pp. 315-322.
78. Yuan, J.P., Wang, J.H., Liu, X. Kuang, H.C., Huang, X.N. 2006. Determination of ergosterol in *Ganoderma* spore lipid from the germinating spores of *Ganoderma lucidum* by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 6172-6176.

10. ANEXOS

10.1 Anexo 1. Formulación experimental de los tratamientos C-Agro1 y C-Agro2, para la producción del hongo *Lentinula edodes*.

Ingredientes	Unidades	Cantidad agregada a 100kg de sustrato fresco	
		C-Agro 1	C-Agro 2
Aserrín de encino (<i>Quercus</i> sp.)	Kg	40	60
Rastrojo de Maíz (<i>Zea mays</i>)	Kg	20	10
Olote de maíz (<i>Zea mays</i>)	Kg	38.5	28.5
Yeso [CaSo4]	Kg	1.5	1.5
Agua	L	150	150
pH del sustrato sin esterilizar	pH	8.2	8.2
pH del sustrato estéril	pH	7.5	7.5

10.2 Anexo 2. Diagrama de flujo del proceso biotecnológico para la producción de *Ganoderma* spp.



10.3 Anexo 3. Entrevista semiestructurada aplicada en el área de influencia del grupo de productores “San José”.



1. Datos generales del entrevistado

Nombre _____ Sexo _____ Edad _____ No. De entrevista _____

Cargo u Ocupación _____ Nivel de estudios: _____

Especialidad, en su caso: _____

2. Datos de la empresa o negocio, en su caso

Nombre de la Empresa o Negocio: _____

Giro (tienda naturista, clínica de medicina alternativa, etc.): _____

Ubicación

Latitud _____
_____ msnm

Longitud _____ Altitud _____

Ciudad _____ Estado _____

3. Nivel de conocimiento del tema del entrevistado

A oído hablar de *Ganoderma*?

Si _____ Para que usos sabe que sirve <i>Ganoderma</i> ? _____		No _____	
Anticancerígenas <input type="checkbox"/>	Hipertensión <input type="checkbox"/>	Anticancerígenas <input type="checkbox"/>	Hipertensión <input type="checkbox"/>
Antibióticas <input type="checkbox"/>	Antidiabéticas <input type="checkbox"/>	Antibióticas <input type="checkbox"/>	Antidiabéticas <input type="checkbox"/>
Antioxidantes <input type="checkbox"/>	Fortalece el sistema inmunológico <input type="checkbox"/>	Antioxidantes <input type="checkbox"/>	Fortalece el sistema inmunológico <input type="checkbox"/>
Reductoras del nivel de colesterol <input type="checkbox"/>	Chang & Miles, 2004 Otro: _____	Reductoras del nivel de colesterol <input type="checkbox"/>	Chang & Miles, 2004 Otro: _____

4. Nivel de interés de adquisición del producto
5. (Nota para el entrevistador: en esta parte no olvidar el tipo o tipos de productos del que estamos hablando. Especificar la presentación del producto y el precio. El producto es Ganocafe, la caja de *Ganoderma* con 40 paquetes tiene un precio de 400 pesos).

Usted estaría dispuesto a comprar el producto pero no en esta presentación en que forma le gustaría?

___ Capsulas ___ Jarabe ___ Tabletas (como aspirina) ___ Té
 _____ Otro

Lo compraría Si _____ Cuanto? _____ Cada cuándo? _____

No _____ Motivos

Le interesaría adquirir otro producto alternativo que tenga propiedades similares a *Ganoderma*?

Si _____ Como cuál? _____ En qué presentación viene? _____

Cuál es su costo? (si lo sabe) _____ No _____ Porque?

Quienes son lo que finalmente consumirán el producto? (cuando el comprador sea un intermediario de alguna manera).

___ Personas de la tercera edad

___ Personas con sistema inmunológico débil

___ Personas con alto _____ medio _____ bajo poder adquisitivo

___ Otras: _____

En caso de que ya lo esté comprando, me podría mencionar:

Procedencia _____

Presentación _____

Precios _____

Fecha: _____ Nombre del aplicador: _____

10.4 Anexo 4. Presentaciones encontradas de productos del género Ganoderma.

							
Tónico Hongo Michoacano Elixir	Tónico Elixir concentrado Hongo Michoacano	Suplemento alimenticio compuesto vegetal Michoacano - Vitamina C	Hongo Michoacano Charaka-nim Hongo de la vida	Nuevo Jarabe Hongo Michoacano & reforzado con Ginseng y Vitamina C - Echinacea	Noni mejorado con Hongo Michoacano		
							
Capsulas Hongo Michoacano	Hongo Michoacano con uña de gato	Hongo michoacano reforzado con Ginseng equinácea y vitamina C	Hongo Michoacano Hongo reyshen - Reishi Mushroom	Jugo concentrado - Reforzado Hongo Michoacano	Hongo Michoacano combinado con Neem	Hongo Michoacano & vitamina C & Elixir	
							
StarCoffee con Ganoderma, Shiitake y Maitake	Coffee King	Tabletas de Hongo Michoacano	Gano Gold Latte	Café	Gano Gold Verde	Té	Gano Shake

10.5 Anexo 5. Procedencia trasnacional y nacional de productos de hongo michoacano y Ganoderma spp.



TRANSNACIONALES

- ORGANO GOLD Malasia
- COFFEE KING Malasia
- STAR COFFEE Malasia
- GANO SHAKE USA



NACIONALES

- EL BONSAI
Nuevo León
- DRAGÓN DORADO
Tamaulipas
- YING YANG
Jalisco
- DRAGON DORADO Guanajuato
- CENTRO BOTANICO AZTECA Distrito Federal
- FUERZA Y VIDA Estado de México
- HERBOMEDI Puebla

10.6 Anexo 6. Indicaciones de uso de tónico elixir del género Ganoderma.

