



Favolus rugulosus en Colombia: producción de micelio y basidiomas en diferentes condiciones nutricionales

Favolus rugulosus in Colombia: mycelial and basidiomata production under different nutritional conditions

Sanchez-Ocampo Sofia¹ * ; Melissa Palacio¹ ; Carolina Rios-Sarmiento¹ ; Nataly Gómez-Montoya¹ 

¹ Laboratorio de Taxonomía y Ecología de Hongos "TEHO", Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia. Calle 70 no. 52-21, Medellín, Antioquia, Colombia.

* Autor de correspondencia: <sofia.sanchezo@udea.edu.co>

RESUMEN

Las especies neotropicales del género *Favolus* (Polyporaceae, Agaricomycetes) son importantes ecológica y económicamente, causando una pudrición blanca de la madera y siendo utilizadas como alimentos en diferentes regiones. Hasta el momento, no se reportan estudios sobre cultivo, domesticación y distribución de *Favolus rugulosus*, una especie recientemente descrita para el Neotrópico. Los objetivos de este estudio fueron: evaluar el crecimiento de micelio y basidiomas bajo diferentes condiciones nutricionales y conocer mejor la distribución de *F. rugulosus* en Colombia. Se revisaron 61 materiales depositados como *Favolus* en el herbario HUA, solo seis corresponden con *F. rugulosus* y hasta el momento esta especie solo está reportada en el departamento de Antioquia. Se realizó un aislamiento a partir de un espécimen de *F. rugulosus* colectado en Medellín (Colombia). La identificación se realizó mediante estudios morfológicos y moleculares utilizando el marcador ITS. Se encontró que el agar glucosa oxite-traciclina fue el medio de cultivo más adecuado para el crecimiento micelial y que el cultivo de los basidiomas fue viable en los dos sustratos evaluados. No se encontraron diferencias significativas en la eficiencia biológica alcanzada en ambos sustratos.

Palabras clave — Cepas silvestres; crecimiento micelial; cultivo de hongos; hongos comestibles; poliporales.

► Ref. bibliográfica: Sanchez-Ocampo, S.; Palacio, M.; Rios-Sarmiento, C.; Gómez-Montoya, N. 2022. *Favolus rugulosus* en Colombia: producción de micelio y basidiomas en diferentes condiciones nutricionales. *Lilloa* 59 (Suplemento): 427-444. doi: <https://doi.org/10.30550/j.lil/2022.59.S/2022.10.01>

► Recibido: 14 de julio 2022 – Aceptado: 1 de octubre 2022 – Publicado en línea: 18 de octubre 2022.

► URL de la revista: <http://lilloa.lillo.org.ar>



► Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución – No Comercial – Sin Obra Derivada 4.0 Internacional.

ABSTRACT

Neotropical species of the genus *Favolus* (Polyporaceae, Agaricomycetes) are ecologically and economically important, causing white-rot wood decay and being used as food in different regions. So far, no studies on cultivation, domestication, and distribution of *Favolus rugulosus*, a species recently described for the Neotropics, have been reported. The aims of this study were: to evaluate mycelium and basidiomata growth under different nutritional conditions and to understand better the distribution of *F. rugulosus* in Colombia. Sixty-one specimens of *Favolus* conserved at the HUA herbarium were analyzed, only six of them were *F. rugulosus*. So far, this species is only reported in the Antioquia state. A strain of *F. rugulosus* was isolated from a specimen collected in Medellín (Colombia). Identification was performed by morphological and molecular analyses using the ITS marker. We found that oxytetracycline glucose agar was the most suitable culture medium for mycelial growth and that basidiomata culture was achievable on the two evaluated substrates. No significant differences were found in the biological efficiency achieved on both substrates.

Palavras-chave — Edible mushrooms; mushroom cultivation; mycelial growth; polypores; wild strains.

INTRODUCCIÓN

Favolus Fr. (Polyporaceae, Agaricomycetes) es un género monofilético ampliamente distribuido que agrupa hongos degradadores de madera causantes de pudrición blanca. Las especies del género se caracterizan por presentar basidiomas carnosos lateralmente estipitados y poros radialmente alargados, superficie del píleo seca, radialmente estriada y pileipellis sin sustancia glutinosa; poseen sistema hifal dimítico y basidiosporas cilíndricas, hialinas y de pared lisa y delgada (Nuñez y Ryvarden, 1995; Sotome *et al.*, 2013; Palacio *et al.*, 2021).

Nueve especies de *Favolus* han sido descritas originalmente del Neotrópico, incluyendo *Favolus brasiliensis* (Fr.) Fr., especie tipo del género. Por medio de análisis morfológicos y filogenéticos con múltiples genes, Palacio *et al.* (2021) demostró que *F. brasiliensis* representa en realidad un complejo de especies, compuesto por al menos dos linajes, uno de los cuales fue descrito como *Favolus rugulosus*, con distribución conocida para Brasil y Colombia.

Algunas especies silvestres de *Favolus* son comestibles, existiendo registros de su uso como alimento en Indonesia, Malawi (Boa, 2004), Nepal (Christensen *et al.*, 2008), Papúa Nueva Guinea (Boa, 2004), Filipinas (De Leon *et al.*, 2013), México (Ruán-Soto *et al.* 2004, 2006), Guatemala (Flores Arzú *et al.* 2012), Ecuador (Gamboa-Trujillo *et al.* 2019) y la Amazonia peruana, brasileña y venezolana (Prance, 1972, 1973, 1984; Fidalgo y Prance, 1976; Vargas-Isla *et al.*, 2013; Zent *et al.*, 2004). En particular, Sanuma *et al.* (2016) reporta que *F. brasiliensis* es parte del sistema agrícola del pueblo indígena Yanomami de la selva amazónica brasileña, y Palacio *et al.* (2021) extiende este reporte de comestibilidad también para las especies *Favolus yanomami* Palacio & Menolli y *F. rugulosus*.

Si bien se registran más de 1100 hongos silvestres comestibles (HSC), la búsqueda de nuevas especies tiene como fin ampliar el número de HSC disponibles para el consumo humano, pues son un alto complemento nutritivo de las poblaciones rurales y esto podría permitir la disponibilidad continua del producto en los mercados, favoreciendo el aprovechamiento de la diversidad local (Boa, 2005; Omarini *et al.*, 2009). Algunos de los géneros de hongos comestibles que se cultivan industrialmente son *Agaricus*, *Lentinula*, *Pleurotus*, *Auricularia*, *Volvariella*, *Flammulina* y *Tremella*, y la producción mundial comprende alrededor de 42,792,893 millones de toneladas, con un incremento en la tasa de producción anual del 11% (FAO, 2020).

Hasta el momento existen pocos reportes del cultivo de *F. brasiliensis* (= *Polyporus tenuiculus*) (Omarini *et al.*, 2009, 2010a, 2010b) y ninguno acerca de otras especies neotropicales, tales como las descritas por Palacio *et al.* (2021). Dado que *F. rugulosus* fue recientemente descrita a partir del complejo *F. brasiliensis* y que se tienen reportes de la comestibilidad de dicho complejo, que crece naturalmente sobre troncos muertos en Brasil y Colombia, el objetivo de este trabajo fue evaluar el cultivo de la cepa silvestre ZRRC en condiciones de laboratorio empleando diferentes medios y sustratos lignocelulósicos. Además, para conocer mejor la distribución de *F. rugulosus* en Colombia, se revisaron los ejemplares almacenados en el Herbario de la Universidad de Antioquia (HUA) teniendo en cuenta las modificaciones taxonómicas recientes que ha sufrido el género *Favolus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material estudiado.— Se revisaron un total de 61 colecciones del género *Favolus* depositadas en el HUA, corroborando su identificación taxonómica y en particular, la localidad de aquellas correspondientes a la especie *F. rugulosus*.

El basidioma a partir del cual se aisló la cepa ZRRC de *F. rugulosus* fue colectado en 2020 en el noroccidente de Medellín, Colombia, creciendo sobre madera en descomposición. El aislamiento de la cepa se realizó sembrando fragmentos del basidioma aún fresco en placas de Petri estériles que contenían agar papa-dextrosa (PDA) (Scharlau) y fueron incubadas a 25°C. La identificación taxonómica fue llevada a cabo a partir de análisis moleculares y caracteres macro y micromorfológicos siguiendo la clave para especies de *Favolus* del Neotrópico de Palacio *et al.* (2021).

Análisis morfológicos.— Para la revisión morfológica de los especímenes examinados se realizaron observaciones macroscópicas sobre material fresco y seco siguiendo a Robledo y Urcelay (2009). Para el estudio de las estructuras microscópicas se realizaron cortes a mano alzada y se observaron en KOH al cinco por ciento, rojo congo y azul de cresilo. Para el análisis del sistema hifal se utilizó la técnica propuesta por Decock *et al.* (2013).

Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación.— La extracción de ADN se realizó siguiendo el protocolo de Gardes y Bruns (1993), a partir de basidiomas conservados en sílica gel. La amplificación de ADN se realizó utilizando

Hot-Start GoTaq® DNA Polymerase in a Ready-to-Use Master Mix marca Promega, siguiendo las instrucciones del fabricante. Se amplificó y secuenció la región ITS usando los cebadores ITS1-F e ITS4 (White *et al.*, 1990; Gardes y Bruns, 1993). Para las condiciones del ciclo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se utilizó lo propuesto por Buyck *et al.* (2020). Los amplicones se enviaron a MacroGen Korea (Seúl, Corea del Sur) para ser purificados y secuenciados por el método de Sanger.

Análisis filogenéticos.— La secuencia generada en este estudio se depositó en la base de datos GenBank con el número de acceso ON897745 (Tabla 1). Para investigar la ubicación filogenética de esta secuencia, se descargaron secuencias adicionales del GenBank y se alinearon usando MAFFT 7 (Kato y Standley, 2013) bajo la estrategia Q-INS-I. Los alineamientos se examinaron y ajustaron manualmente en Aliview (Larsson, 2014). Se realizaron dos análisis distintos en el conjunto de datos: Inferencia Bayesiana (BI) y Máxima Verosimilitud (ML).

El análisis de BI fue realizado usando MrBayes versión 3.2.6 (Ronquist *et al.*, 2012), donde el mejor modelo evolutivo de nucleótidos se obtuvo bajo el programa jModelTest 2.1.3 (Darriba *et al.*, 2012) de acuerdo con *Akaike information criterion* (Akaike, 1974), en la plataforma CIPRES Science Gateway (Miller *et al.*, 2010); el análisis bayesiano se realizó con 5 millones de generaciones, dos corridas independientes, cuatro cadenas y frecuencias de diagnóstico, impresión y muestreo = 0,01%.

El análisis de ML se obtuvo utilizando RAXML 8.1.4 (Stamatakis, 2014) en CIPRES Science Gateway 3.1 (Miller *et al.*, 2010). El análisis realizó primero 100 búsquedas ML, cada una de ellas partiendo de un árbol de parsimonia de adición aleatoria por pasos, bajo un modelo GTRGAMMA, con todos los demás parámetros estimados por el software. Se proporcionó un archivo de partición con las particiones definidas para forzar a RAXML a buscar un modelo de evolución separado para cada partición. Se obtuvieron valores de soporte de bootstrap (BS) bajo los mismos modelos y esquemas de partición permitiendo al programa determinar automáticamente el bootstrapping usando la opción autoMRE.

Para ambos análisis se utilizó la especie *Trametes conchifer* (Schwein.) Pilát, como grupo externo siguiendo a Palacio *et al.* (2021).

Crecimiento micelial en diferentes medios de cultivo.— El crecimiento micelial se evaluó en tres medios de cultivo servidos en placas de Petri de 90 mm que contenían 20 ml de medio. Estos fueron: agar papa-dextrosa (PDA) (PanReac AppliChem), agar malta (AM) (OXOID) y agar glucosa oxitetraciclina (OGYE) (OXOID), cada uno con 12 réplicas. Los medios y las placas de Petri se esterilizaron en autoclave a 125° C, a una presión de 20 psi durante 20 min. En el centro de cada placa se colocó un disco de aproximadamente seis mm de diámetro del micelio fresco de *F. rugulosus* ZRRC. Los cultivos se incubaron durante 20 días en la oscuridad a 23°C y se tomaron fotografías cada dos días utilizando la cámara trasera de un Ulefone Armor X8. Las fotografías se analizaron con el software ImageJ (Schneider *et al.*, 2012) para obtener el área ocupada por el micelio en cada momento.

El diseño experimental fue completamente aleatorio, incluyendo tres tratamientos (PDA, AM y OGYE) y doce réplicas. Los datos se analizaron mediante un aná-

Tabla 1. Lista de taxones y secuencias utilizadas en los análisis filogenéticos, con sus correspondientes números de voucher, país de origen y números de acceso de GenBank. La secuencia generada en este trabajo se indica en negrita.

Table 1. List of taxa and sequences used in the phylogenetic analysis with their corresponding voucher numbers, GenBank numbers and country of origin. The newly generated sequence is indicated in bold.

Especie	Colección	País de origen	Nº GenBank
<i>Datronia mollis</i>	RLG6304sp	EE.UU.	JN165002
<i>Favolus acervatus</i>	Cui11053	China	KU189774
<i>Favolus acervatus</i>	Dai10749b	China	KX548953
<i>Favolus brasiliensis</i>	KellermanSN	Brasil	MN648682
<i>Favolus brasiliensis</i>	MP197	Brasil	MN648683
<i>Favolus brasiliensis</i>	MEEsnbras	Brasil	—
<i>Favolus emerici</i>	Yuan4410	China	KX548954
<i>Favolus gracilisporus</i>	BP106942	Hungría	MF401551
<i>Favolus gracilisporus</i>	SFC2013070440	Corea del Sur	KY038472
<i>Favolus ianthinus</i>	DS1677	Brasil	MN648691
<i>Favolus ianthinus</i>	DS1700	Brasil	MN648690
<i>Favolus niveus</i>	Cui11129T	China	KX548955
<i>Favolus niveus</i>	Dai13276	China	KX548956
<i>Favolus pseudobetulinus</i>	TRTC51022	Canadá	AB587629
<i>Favolus pseudobetulinus</i>	TFMF27567	Japan	AB587644
<i>Favolus pseudoemerici</i>	Cui11079	China	KX548958
<i>Favolus pseudoemerici</i>	Cui13757T	China	KX548959
<i>Favolus pseudogrammocephalus</i>	MP218	Brasil	MN648689
<i>Favolus roseus</i>	PEN33	Malasia	AB735975
<i>Favolus rugulosus</i>	228632	Colombia	ON897745
<i>Favolus rugulosus</i>	Fazolino415	Brasil	MN648685
<i>Favolus rugulosus</i>	MP191	Brasil	MN648684
<i>Favolus septatus</i>	Zhou287T	China	KX548968
<i>Favolus</i> sp.	TENN10242	Costa Rica	AB735976
<i>Favolus</i> sp.	INPA241452	Brasil	AB735977
<i>Favolus</i> sp.	MEL2382969	Australia	KP012829
<i>Favolus spatulatus</i>	Dai13615	China	KU189775
<i>Favolus spatulatus</i>	Cui8290	China	KX548969
<i>Favolus subtropicus</i>	Cui4292	China	KX548970
<i>Favolus subtropicus</i>	Li1938	China	KX548971
<i>Favolus yanomamii</i>	ACM1295	Brasil	MN648686
<i>Favolus yanomamii</i>	DS1656	Brasil	MN648687
<i>Favolus yanomamii</i>	MEEsNbras	Brasil	MN648688
<i>Lentinus tigrinus</i>	LE214778	Rusia	KM411459
<i>Lentinus badius</i>	DED07668	Tailandia	KP283480
<i>Neofavolus mikawae</i>	Dai12361	China	KX548975
<i>Neofavolus alveolaris</i>	Dai11290	China	KU189768
<i>Neofavolus subpurpurascens</i>	CG6242	Brasil	MH544277
<i>Polyporus arcularius</i>	Cui10998	China	KX548973
<i>Polyporus brumalis</i>	Cui10750	China	KU189765
<i>Polyporus philippinensis</i>	Cui10941	China	KX548976
<i>Polyporus philippinensis</i>	Dai7959	China	KX548977
<i>Polyporus squamosus</i>	Cui10595	China	KU189778
<i>Polyporus tuberaster</i>	Dai12462	China	KU507580
<i>Trametes conchifer</i>	FP106793sp	EE.UU.	JN164924

lisis de varianza (ANOVA) de una vía al cinco por ciento de probabilidad, usando Python 3 (Van Rossum y Drake, 2009).

Se midió el pH de cada medio de cultivo antes de inocularlo, utilizando un pHmetro (HACH HQ40d). Esta medición se realizó nuevamente tras 15 días de incubación, para detectar cambios en el pH posteriores a la colonización del micelio de *F. rugulosus*.

Cultivo en dos sustratos lignocelulósicos.— El inóculo en grano “semilla” se preparó utilizando granos de cebada perlada (*Hordeum vulgare* L.) o sorgo (*Sorghum* sp. Moench). El grano fue previamente hidratado por inmersión en agua del grifo durante 12 horas. Pasado este tiempo se eliminó el exceso de humedad y la semilla se llevó a bolsas de polipropileno de 34 x 25 cm de 30 μ m de espesor, obteniendo un peso final de 200 g. Las bolsas fueron autoclavadas durante 30 min a 125°C / 20 psi. Luego, en cámara de flujo laminar, se inoculó cada bolsa con la mitad del agar contenido en una caja de Petri y se incubó en oscuridad a 23°C hasta que los granos estuvieron completamente colonizados.

Teniendo en cuenta que la industria de maderas en Colombia produce como desecho viruta de madera mixta y que estos desechos son de fácil acceso y bajo costo, se formularon dos sustratos lignocelulósicos: (i) viruta de madera mixta, principalmente proveniente de los géneros *Cedrela* P. Browne, *Quercus* L. y *Tabebuia* Gomes ex DC., cortada en trozos de aproximadamente uno por dos cm, suplementada con salvado de trigo 30% p/p y (ii) fibra de coco molida, suplementada con salvado de trigo 30% p/p. Ambos sustratos fueron humedecidos hasta alcanzar un contenido de agua de aproximadamente 70% p/p (Omarini et al., 2009). El sustrato húmedo fue distribuido en bolsas de polipropileno (34 x 25 cm, 30 μ m de espesor) alcanzando un peso final de aproximadamente 650 g (equivalentes a 200 g sin humedecer), que se esterilizaron a 125° C / 20 psi durante 40 minutos. Tras un periodo de enfriamiento, las bolsas se inocularon con 15% p/p de semilla, se cerraron con un tapón compuesto por membranas de algodón sostenidas por cilindros de PVC (cloruro de polivinilo) y se incubaron en oscuridad a 23°C, hasta que el micelio colonizó completamente el sustrato formando un bloque rígido.

Para estimular la formación de basidiomas, los bloques completamente colonizados fueron sometidos a un choque térmico a cuatro grados centígrados durante dos horas y posteriormente pasaron a un fotoperíodo de nueve horas de luz de 32W / 15 horas de oscuridad. Los niveles de humedad se mantuvieron en un rango del 75 a 85% empleando un riego por aspersión, tipo bruma, durante 30 minutos cada 10 horas.

Los basidiomas maduros se colectaron después de tres días de su aparición, únicamente en la primera oleada de fructificación, registrando: (i) número de basidiomas, (ii) tiempo hasta la aparición de primordios en condiciones de fructificación y (iii) eficiencia biológica (EB), la cual se expresa en porcentaje y se calcula con la siguiente fórmula (Chang et al., 1981):

$$EB (\%) = (\text{peso de los basidiomas en fresco} / \text{peso de sustrato seco}) \star 100.$$

El diseño experimental fue completamente aleatorio, incluyendo dos tratamientos (viruta de madera y fibra de coco) y trece réplicas. Los datos se analizaron me-

diante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía al cinco por ciento de probabilidad, usando Python 3 (Van Rossum y Drake, 2009).

RESULTADOS

Los análisis morfológicos detallados de los 61 especímenes determinados bajo el género *Favolus* corroboraron que seis de estas colecciones pertenecen a la especie *F. rugulosus*. A continuación, se presenta una descripción basada en los especímenes estudiados.

Favolus rugulosus Palacio & R.M. Silveira (Fig. 1A-C)
Mycologia 113 (4): 767 (2021), MB834612.

Basidiomas anuales, laterales a excéntricamente estipitados, gregarios. Píleo de hasta 7,5 cm de diámetro y 0,3 cm de grosor, flabeliforme a espatulado; superficie del píleo amarilla a amarilla-dorada, pubescente, irregularmente arrugada o rugulosa cuando seca; margen entero; contexto de hasta 0,1 cm de grosor, amarillo pálido. Himenóforo blanco amarillento tornándose ocre cuando seco, poroide; poros angulares,

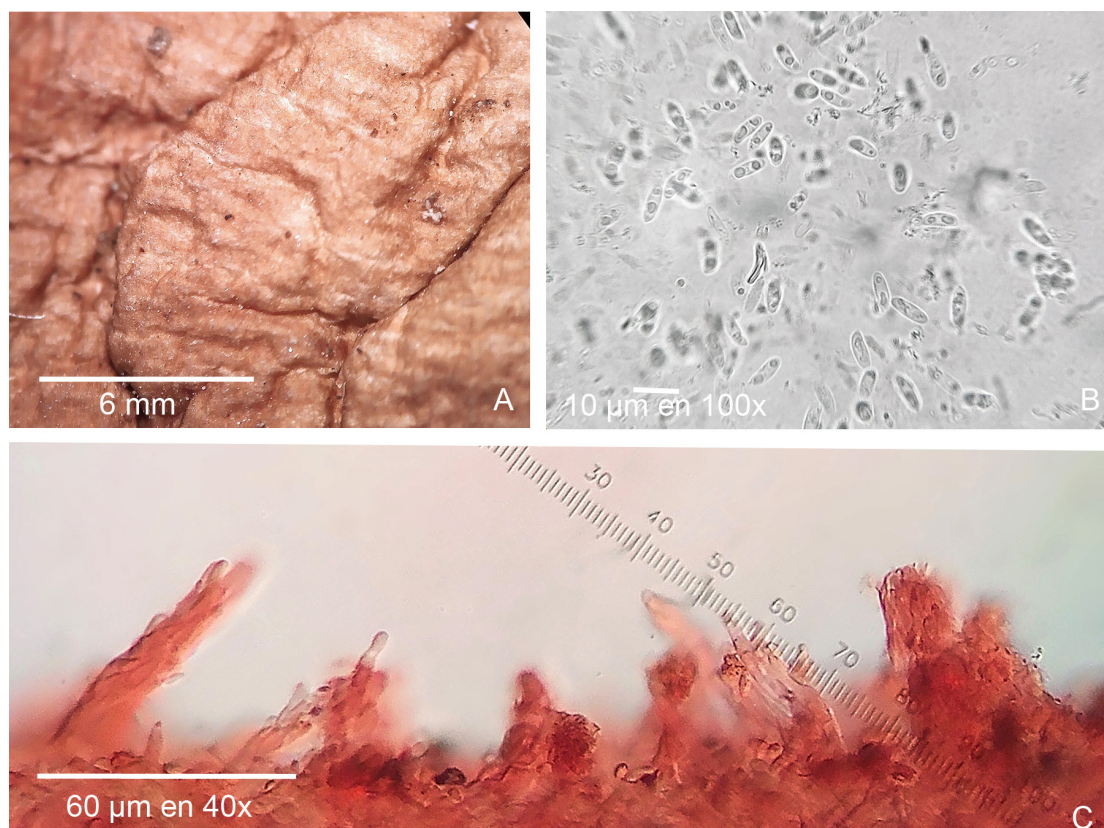


Fig. 1. *F. rugulosus* Catalina Sierra CS11 (HUA 204482). A) Superficie del píleo rugulosa. B) Basidiosporas. C) Pileipellis.

Fig. 1. *F. rugulosus* Catalina Sierra CS11 (HUA 204482). A) Rugulose pilear surface. B) Basidiospores. C) Pileipellis.

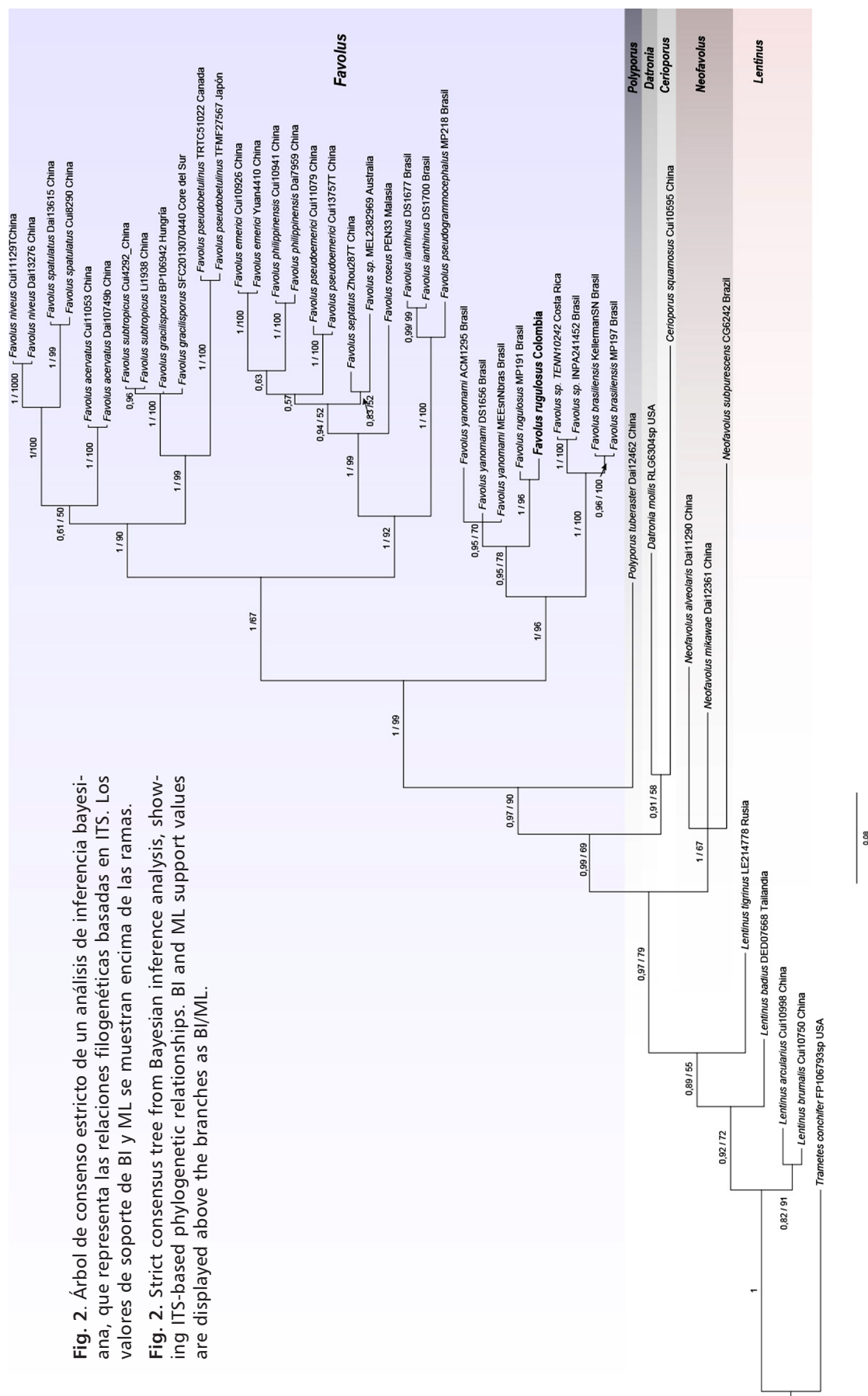
decurrentes y radialmente alargados, 0,2–0,6 x 0,1–0,3 cm; disepimientos lacerados; tubos hasta 0,2 cm de longitud, concoloros con el himenóforo. Estípites hasta 2,5 cm de longitud, 1–15 cm de diámetro, cilíndrico, macizo, de superficie arrugada, densamente pubescente, de color dorado a marrón claro. Sistema hifal dimítico con hifas generativas de 2–5 μm de diámetro, con fíbulas, hialinas, de pared delgada e hifas esqueleto-ligadoras de 3–6 μm de diámetro, de pared gruesa, flexuosas, ramificadas, IKI-; proyecciones hifales (hyphal pegs) presentes. Pileipellis plagiotricodermal. Basidios clavados, 30–40 \times 7–9 μm , tetraesterigmados. Basidiosporas cilíndricas, 7–12 \times 2,5–4 μm , de pared delgada y lisa, hialinas, IKI-.

Observaciones.— Los basidiomas de *F. rugulosus* se diferencian de otros del género por la superficie del píleo de textura pubescente con pelos cortos y débiles, la cual se torna dorada y arrugada cuando seca. Microscópicamente, presenta pileipellis plagiotricodermal (Palacio et al., 2021).

Material estudiado.— COLOMBIA. Dpto. Antioquia, Municipio Santo Domingo, 6°28'26.72" N, 75°10'20.32" O, 6-V-1992, *F. Pineda* 692 (HUA 81846); ibid., Ciudad Medellín, Universidad de Antioquia, 20-XI-1990, *F. Pineda* 551 (HUA 73119); ibid., 8-V-1987, *L. F. Velásquez* 192 (HUA 39588); ibid., 1-VIII-2004, *Carlos A. López-Q* 875 (HUA 157538); ibid., Jardín botánico de Medellín Joaquín Antonio Uribe, 6°16'7.09"N, 75°33'45.45"O, 19-IV-2013, *Catalina Sierra CS11* (HUA 204482); ibid., 6°16'18"N, 75°33'46"O, 18-V-2013, 1485 msnm, *Liliana Isaza LIJ55* (HUA 204483); ibid., El Picacho, 6°18' 31.053"N, 75°34'54.992"O, 04-IV-2021, *Zora-B ; Ríos-Sarmiento* 2 (HUA 228632, ITS:ON897745).

Análisis filogenéticos.— Los análisis realizados incluyen la secuencia del material tipo de *F. rugulosus*, y muestran que la cepa de interés en este estudio corresponde a *F. rugulosus*. Los análisis de BI y ML arrojaron topologías similares. Se presenta la topología del análisis de BI junto con los valores de soporte encontrados para ambos análisis. El género *Favolus* fue recuperado como un clado monofilético (BI = 1 / ML = 99). La nueva secuencia de *Favolus* (ON89774) formó un clado (BI = 1 / ML = 96) con la secuencia del espécimen holotipo de *F. rugulosus* (Fig. 2), lo cual es consistente con la identificación morfológica realizada previamente.

Crecimiento micelial en diferentes medios de cultivo.— La cepa ZRRC de *F. rugulosus* presentó crecimiento micelial en los tres medios de cultivo evaluados a 23°C, siendo el agar OGYE el que se colonizó en menor tiempo (Fig. 3A). Después de 20 días de incubación, el área colonizada fue significativamente mayor ($P < 0,05$) en agar OGYE (53,38 cm^2), seguido por AM (33,76 cm^2) y finalmente por PDA (20,99 cm^2) (Fig. 3B). El efecto del medio de cultivo se ve reflejado en esta misma dirección en la morfología del micelio, que varía desde textura algodonosa y densidad regular en OGYE, hasta un crecimiento irregular, con parches de micelio poco densos en PDA (Fig. 4). En los tres casos, en el centro de la placa donde se sembró el inóculo, el micelio adquirió una coloración marrón y una textura coriácea con el paso del tiempo.



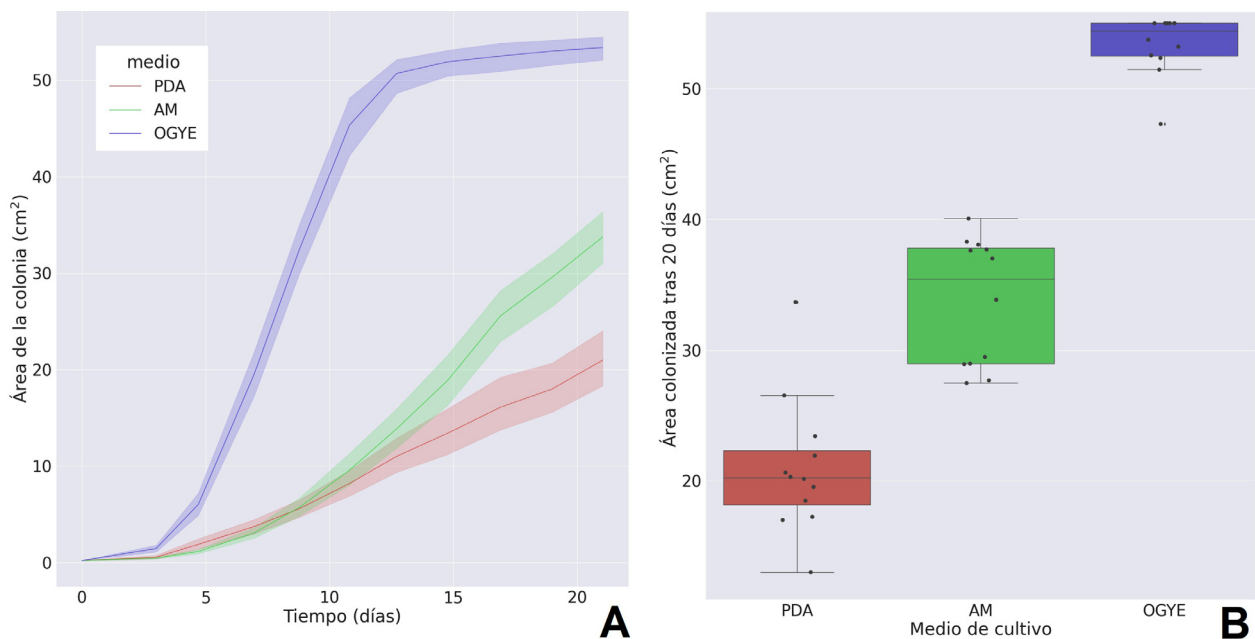


Fig. 3. A) Curva de crecimiento micelial en diferentes medios de cultivo. B) Área colonizada por el micelio de *F. rugulosus* ZRRC tras 20 días de incubación a 23°C.

Fig. 3. A) Mycelial growth curve in different culture media. B) Colonized area by the mycelium of *F. rugulosus* ZRRC after 20 days of incubation at 23°C.

Microscópicamente, no se evidenciaron diferencias morfológicas en el micelio entre los diferentes medios de cultivo. Siempre se observó la presencia de hifas esqueleto-ligadoras delgadas e hifas generativas fibuladas variables en grosor, correspondiente con el sistema hifal dimítico que caracteriza al género *Favolus*.

Cultivo en dos sustratos lignocelulósicos.— Tras 24 días de incubación, se obtuvo semilla completamente colonizada tanto de sorgo como de cebada, siendo ambas semillas útiles para inocular el sustrato en la fase siguiente. El micelio de *F. rugulosus* ZRRC colonizó completamente los bloques de sustrato en promedio en un periodo de 33 días, y los primordios comenzaron a aparecer entre 15 y 40 días después de que iniciaron las condiciones de fructificación.

El tiempo de fructificación, el número de basidiomas y la eficiencia biológica no presentaron diferencias significativas entre los dos sustratos lignocelulósicos empleados ($p > 0.05$). El peso fresco varió entre 1,7 y 99,1 g por basidioma y la eficiencia biológica de la primera oleada de fructificación varió entre 11,9 y 52,7% (Fig. 5). Después de aproximadamente 20 días desde la primera cosecha, los bloques fructificaron nuevamente dando lugar a basidiomas aunque de menor tamaño.

En ambos sustratos lignocelulósicos se obtuvieron basidiomas (Fig. 6) y, de manera interesante, la superficie externa del micelio se tornó marrón rojizo y de consistencia coriácea con el paso del tiempo, especialmente en las zonas en contacto directo con el aire.

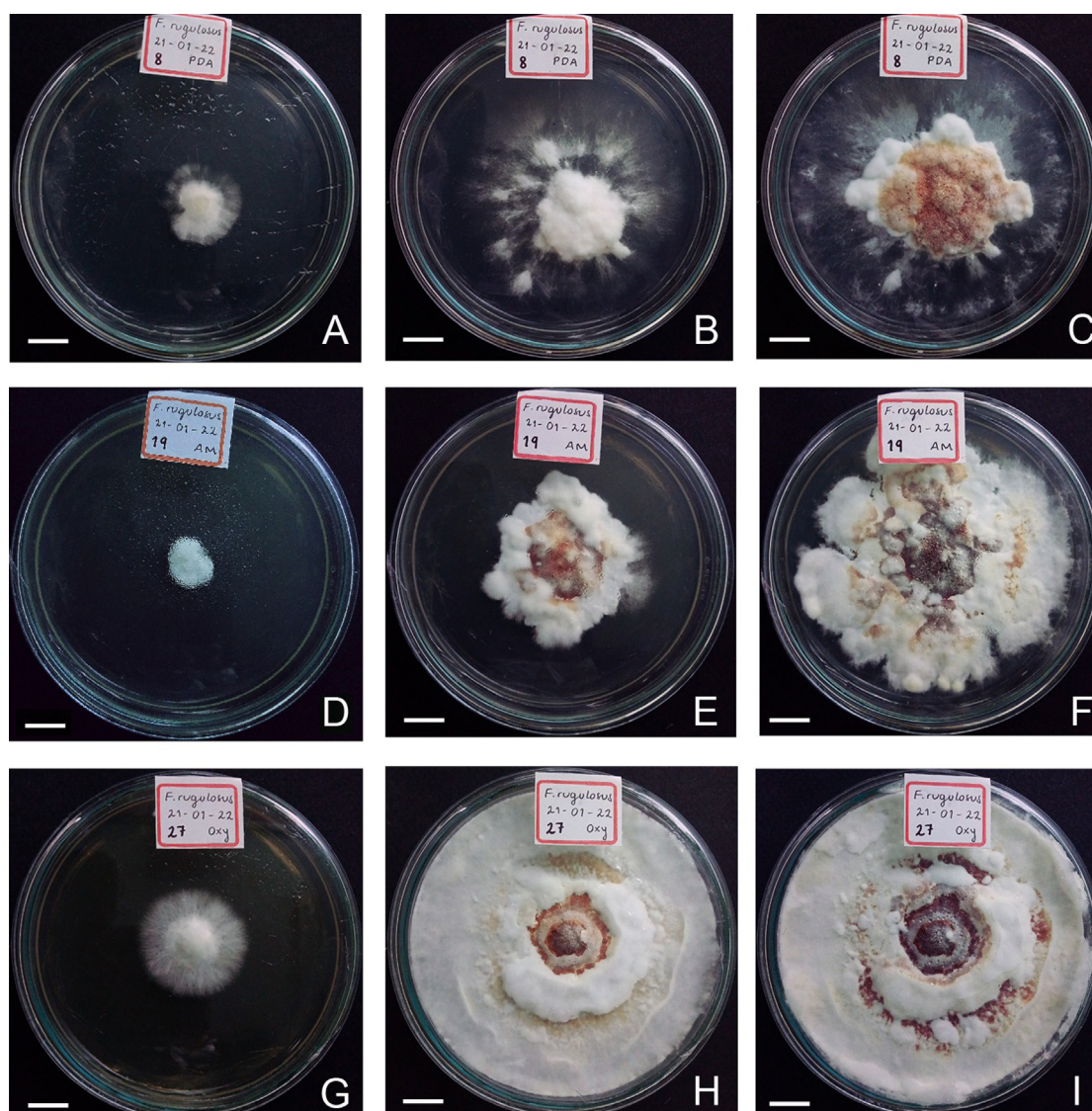


Fig. 4. Crecimiento micelial de *F. rugulosus* en diferentes medios de cultivo. A-C) Agar papa-dextrosa. D-F) Agar malta. G-I) Agar glucosa oxitetraciclina. Barras = 1 cm.

Fig. 4. Mycelial growth of *F. rugulosus* in different culture media. A-C) Potato dextrose agar. D-F) Malt agar. G-I) Oxytetracycline glucose agar. Bar = 1 cm.

DISCUSIÓN

Tras la revisión de especímenes del herbario HUA, *F. rugulosus* se registra en Colombia hasta el momento sólo con distribución para el departamento Antioquia. Según Gómez-Montoya *et al.* (2022), este es el departamento colombiano que cuenta con más reportes en el subfilo Agaricomycotina, lo que se puede deber a la falta de especialistas en los demás departamentos del país. Por lo anterior, se considera que la distribución de *F. rugulosus* posiblemente no esté limitada al departamento de Antioquia, sino que esto responde a la falta de muestreo y conocimiento en el resto del país. El análisis filogenético recuperó la topología obtenida por Palacio *et al.* (2021) y mostró que la secuencia obtenida en este estudio corresponde a *F. rugulosus*, filogenéticamente relacionada a *F. yanomami* y *F. brasiliensis*.

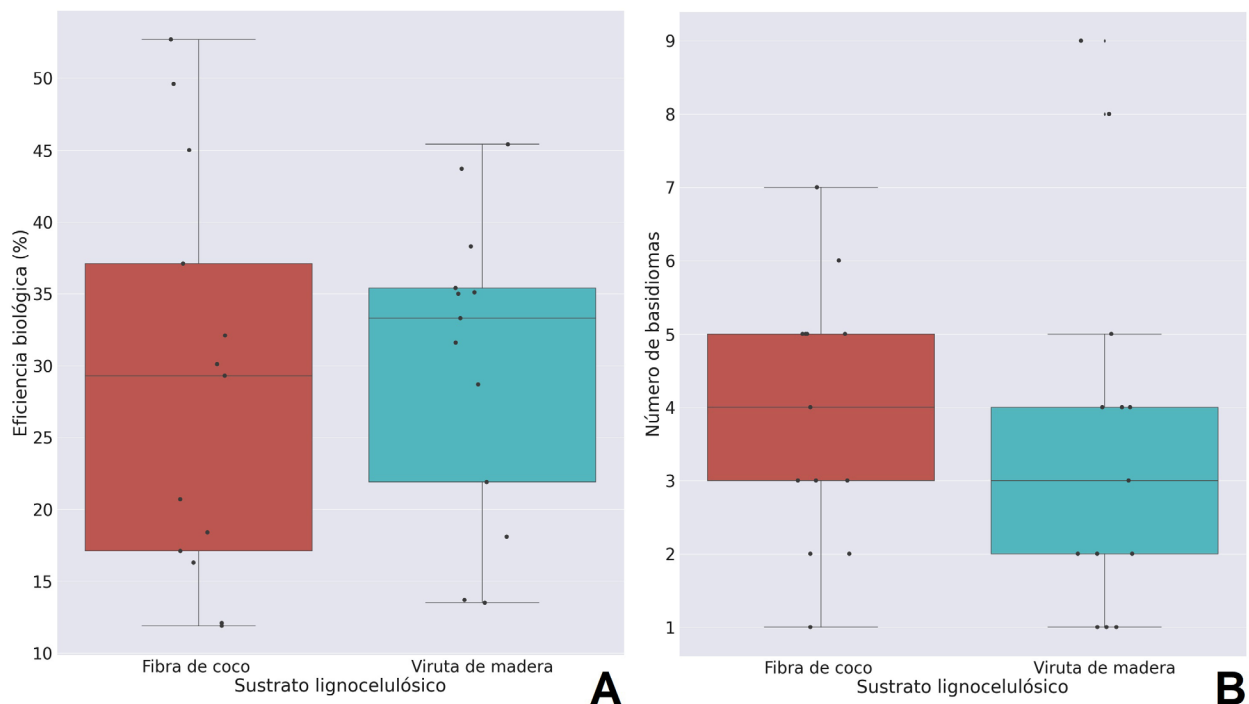


Fig 5. Características de rendimiento obtenidas al cultivar *F. rugulosus* ZRRC en dos sustratos lignocelulósicos. A) Eficiencia biológica. B) Número de basidiomas.

Fig 5. Yield characteristics obtained after *F. rugulosus* ZRRC grown on two lignocellulosic substrates. A) Biological efficiency. B) Number of basidiomata.

El agar OGYE fue el medio colonizado en menos tiempo, aunque el crecimiento del micelio fue posible en los tres medios de cultivo, lo que refleja la disponibilidad de los nutrientes necesarios para *F. rugulosus* en PDA, AM y OGYE. Algunos aspectos de la composición química del medio de cultivo, como la concentración de nitrógeno, generan un medio de control fisiológico y de regulación del metabolismo de los microorganismos (Thomas *et al.*, 1996). Por otro lado, la oxitetraciclina (OTC), componente básico del agar OGYE, es un antibiótico ampliamente utilizado en la cría de animales, que trae como consecuencia la contaminación de agua, sedimentos, suelo, generando efectos negativos sobre la comunidad microbiana del suelo (Danilova *et al.*, 2020). Migliore *et al.* (2012) demostró por medio de análisis de espectrometría de masas que *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. tiene la capacidad de absorber la OTC en el micelio, donde la molécula sufre un paso de degradación. Dado el buen crecimiento de *F. rugulosus* ZRRC en este medio, sería interesante evaluar la posible degradación de la OTC por parte de este hongo, para saber si podría ser candidato biorremediador.

Los resultados indican que la cepa de *F. rugulosus* generó cambios en el pH de los medios de cultivo respecto al valor inicial. Si bien en los tres medios hubo un cambio en el pH, el OGYE fue el medio con un cambio más drástico, pasando de un pH ácido (4,20) a uno más alcalino (6,22) (Tabla 2). Al parecer, *F. rugulosus* tiene una tendencia a alcalinizar los medios de cultivo, se hace necesario generar más estudios, dado que el pH es considerado como una de las propiedades químicas más importantes del suelo y del sustrato (Jackson, 1970).



Fig 6. Basidiomas de *F. rugulosus* ZRRC cultivados *in vitro*. A) Formación externa de una capa marrón rojiza en la superficie del cultivo. B) Detalle de la superficie del píleo de basidioma fresco. C) Detalle de la superficie del píleo de basidioma deshidratado. D) Detalle del himenóforo. Barras = 1 cm.

Fig 6. Basidiomata of *F. rugulosus* ZRRC cultured *in vitro*. A) External formation of a reddish-brown layer on the mycelium. B) Pilear surface detail on fresh basidiomata. C) Pilear surface detail on dehydrated basidiomata. D) Poroid hymenophore. Bars = 1 cm.

Tabla 2. Variación del pH antes y 15 días después de la inoculación con *F. rugulosus* en tres medios de cultivo.

Table 2. Culture medium pH variation before and after 15 days of inoculation with *F. rugulosus*.

Medio	pH inicial	pH tras 15 días de incubación	pH inicial
Agar AM	3,43	4,96	1,53
Agar PDA	3,20	4,39	1,19
Agar OGYE	4,20	6,22	2,02

Tanto la fibra de coco como la viruta de aserrín demostraron ser sustratos útiles para la producción del hongo comestible *F. rugulosus*. Esta misma capacidad de degradar sustratos lignocelulósicos fue cuantificada para *F. brasiliensis*, mostrando que en 5 meses puede causar una disminución de hasta 74,5% en el contenido de celulosa, 80,4 a 85,7% en hemicelulosa y 60,6 a 66,2% en lignina (Omarini *et al.*, 2009). De este modo, las especies del género *Favolus* podrían llegar a ser útiles no

solo como alimento, sino también en el procesamiento de residuos lignocelulósicos de industrias como la de papel y madera.

La EB fue en promedio de 30,3% para la primera oleada de fructificación en el sustrato de viruta de madera + 30% p/p de salvado de trigo, siendo menor que la EB de 51,14% obtenida por Omarini *et al.* (2009) al cultivar *F. brasiliensis* en aserrín de sauce + 15% p/p de salvado de trigo + 5% p/p harina de soja. Así mismo, la eficiencia obtenida es menor que la reportada por Liang *et al.*, (2019) en la primera oleada de cultivo de *Auricularia nigricans* (Mont.) Sacc. (= *A. polytricha*) usando residuos de madera mixta (EB = 44,63%) y la de *Pleurotus ostreatus* en aserrín (EB = 59,6% considerando dos oleadas) (Mandeel *et al.*, 2005). La EB total de *F. rugulosus* podría llegar a incrementarse considerando que se ha reportado que en el cultivo de *F. brasiliensis* se pueden alcanzar hasta 6 oleadas de fructificación en un ciclo completo de cultivo. Adicionalmente, se podría evaluar la utilización de diferentes sustratos y el rendimiento de otras cepas de *F. rugulosus*, además de establecer una temperatura óptima para maximizar el crecimiento y la calidad de los basidiomas.

No se encontraron diferencias en la morfología de los basidiomas ni en la EB al cultivarlos en estos dos sustratos, pero se conoce que las características del sustrato pueden influir en la composición química y en consecuencia en el valor nutritivo de los basidiomas cultivados (Omarini *et al.*, 2010b). Para *F. brasiliensis* se ha reportado que los atributos sensoriales de los especímenes secos pueden variar con el sustrato donde se cultiva (Omarini *et al.*, 2010a), por lo que sería interesante evaluar aspectos organolépticos y bromatológicos en el caso de *F. rugulosus*.

Las manchas marrones que se forman en la superficie del bloque (Fig. 6A) se han reportado también en el cultivo de *F. brasiliensis* y son similares al fenómeno de pardeamiento de los bloques de sustrato de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, en los que el micelio marrón actúa como barrera contra la pérdida de humedad y el ataque de organismos (Omarini *et al.*, 2009; Przybyłowicz y Donoghue, 1988). Similarmente, en especies de *Favolus* reportadas como hospederos de artrópodos micófagos (Amaringo-Cortegano *et al.*, 2013) está cubierta coriácea podría constituir un mecanismo de protección.

Finalmente, se destaca que este es el primer trabajo donde se reportan datos sobre cultivo de *F. rugulosus*. Las técnicas de cultivo empleadas son simples y los sustratos empleados son de fácil acceso y bajo costo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Antioquia, al laboratorio de Taxonomía y Ecología de Hongos (TEHO), a la Universidad del Rosario y al Centro de Investigaciones en Microbiología y Biotecnología-UR (CIMBIUR) por las instalaciones prestadas para desarrollar los experimentos y análisis de este trabajo. A Adriana Corrales, Brayan Zora, Daniela Santa, Dairon Machado, Mariana Drewinski, Laura Cano, Leticia Terzzoli y Victor Medina por las contribuciones y comentarios a lo largo de la elaboración del trabajo y al HUA por el préstamo de las colecciones revisadas.

BIBLIOGRAFÍA

- Amaringo-Cortegano, C. A., Vargas-Isla, R., de Moraes, J. W. y Ishikawa, N. K. (2013). Artrópodos asociados a seis especies de hongos comestibles de ocurrencia natural en Manaus, Amazonas, Brasil. *Biota Amazônia* 3 (3): 54-63. DOI: 10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v3n3p54-63
- Akaike, H. (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE transactions on automatic control* 19 (6): 716-723. DOI: 10.1109/TAC.1974.1100705
- Boa, E. (2005). Los hongos silvestres: Perspectiva global de su uso e importancia para la población. Serie Productos forestales no madereros. No. 17. Roma. Italia: FAO. ISBN: 9253051574
- Buyck, B., Wang, X.H., Adamčíková, K., Caboð, M., Janěvičová, S., Hofstetter, V. y Adamčík, S. (2020). One step closer to unravelling the origin of *Russula*: subgenus *Glutinosae* subg. nov. *Mycosphere* 11: 285-305. DOI: 10.5943/mycosphere/11/1/6
- Chang, S. T., Lau, O. W. y Cho, K. Y. (1981). The cultivation and nutritive value of *Pleurotus sojar-caju*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 12 (1): 58-62.
- Christensen, M., Bhattarai, S., Devkota, S. y Larsen, H. O. (2008). Collection and use of wild edible fungi in Nepal. *Economic Botany* 62 (1): 12-23. DOI: 10.1007/s12231-007-9000-9
- Danilova, N., Galitskaya, P. y Selivanovskaya, S. (2020). Veterinary antibiotic oxytetracycline's effect on the soil microbial community. *Journal of Ecology and Environment* 44 (1): 1-9. DOI: 10.1186/s41610-020-00154-x
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R. y Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9 (8): 772-772. DOI: 10.1038/nmeth.2109
- Decock, C., Amalfi, M., Robledo, G. L. y Castillo, G. (2013). *Phylloporia nouraguensis*, an undescribed species of Myrtaceae from French Guiana. *Cryptogamie Mycologie* 34: 15-27. DOI: 10.7872/crym.v34.iss1.2013.15
- De Leon, A. M., Reyes, R. G., y Dela Cruz, T. E. E. (2013). *Lentinus squarrosulus* and *Polyporus grammacephalus*: newly domesticated, wild edible macrofungi from the Philippines. *Philipp. Agric. Scientist* 96 (4): 411-418. ISSN 0031-7454
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2020). Data of global mushroom production during 2004-2020.
- Fidalgo, O. y Prance, G. T. (1976). The ethnomycology of the Sanama Indians. *Mycologia* 68 (1): 201-210. DOI: 10.1080/00275514.1976.12019902
- Flores Arzú, R., Comandini, O. y Rinaldi, A. C. (2012). A preliminary checklist of macrofungi of Guatemala, with notes on edibility and traditional knowledge. *Mycosphere* 3 (1): 1-21. DOI:10.5943/mycosphere/3/1/1
- Gamboa-Trujillo, P., Wartchow, F., Cerón-Martínez, C., Andi, D., Uwinjin, P., Grefa, G., Entza, M., Chimbo, E., Chimbo, J., Payaguaje, J., Piyaguaje, N., Payaguaje, D., Licuy, V., López, V., Mendua, M., Criollo, M., Jati, M., De La Cruz, S., Calazacón, M., Flores, S., Aules, E., Aigaje, C., De Aro, M., Morales, A., Murillo, Y., Farinango, G. y Gibertoni, T. (2019). Edible Mushrooms of Ecuador: con-

- sumption, myths and implications for conservation. *Ethnobotany Research and Applications* 18: 1-15. DOI: 10.32859/era.18.38.1-15
- Gardes, M. y Bruns, T. D. (1993). ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2: 113-118. DOI: 10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x
- Gómez-Montoya, N., Ríos-Sarmiento, C., Zora-Vergara, B., Benjumea-Aristizabal, C., Santa-Santa, D. J., Zuluaga-Moreno, M. y Franco-Molano, A. E. (2022). Diversidad de macrohongos (Basidiomycota) de Colombia: Listado de especies. *Actualidades Biológicas* 44 (116): 1-94. DOI: 10.17533/udea.acbi.v44n116a07
- Jackson, M. L. (1970). *Análisis químico de suelos*. Barcelona, España: Omega, 662 p., OCLC: 37132181.
- Katoh, K. y Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30: 772-780. DOI: 10.1093/molbev/mst010
- Larsson, A. (2014). AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics* 30 (22): 3276-3278. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu531
- Liang, C. H., Wu, C. Y., Lu, P. L., Kuo, Y. C. y Liang, Z. C. (2019). Biological efficiency and nutritional value of the culinary-medicinal mushroom *Auricularia* cultivated on a sawdust basal substrate supplement with different proportions of grass plants. *Saudi Journal of Biological Sciences* 26 (2): 263-269. DOI: 10.1016/j.sjbs.2016.10.017
- Migliore, L., Fiori, M., Spadoni, A. y Galli, E. (2012). Biodegradation of oxytetracycline by *Pleurotus ostreatus* mycelium: a mycoremediation technique. *Journal of hazardous materials* 215: 227-232. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2012.02.056
- Mandeel, Q. A., Al-Laith, A. A., y Mohamed, S. A. (2005). Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 21 (4): 601-607. DOI: 10.1007/s11274-004-3494-4
- Miller, M.A., Pfeiffer, W. y Schwartz, T. (2010) Creating the CIPRES science gateway for inference of large phylogenetic trees. In: Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE). New Orleans, Louisiana. DOI: 10.1109/GCE.2010.5676129
- Núñez, M. y Ryvardeen, L. (1995). *Polyporus* (Basidiomycotina) and related genera. *Synopsis Fungorum* 10: 1-85.
- Omarini, A., Lechner, B. E. y Albertó, E. (2009). *Polyporus tenuiculus*: a new naturally occurring mushroom that can be industrially cultivated on agricultural waste. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 36 (5): 635-642. DOI: 10.1007/s10295-009-0530-2
- Omarini, A., Nepote, V., Grosso, N. R., Zygodlo, J. A. y Albertó, E. (2010a). Sensory analysis and fruiting bodies characterisation of the edible mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Polyporus tenuiculus* obtained on leaf waste from the essential oil production industry. *International journal of food science and technology* 45 (3): 466-474. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2009.02147.x
- Omarini, A., Henning, C., Ringuelet, J., Zygodlo, J. A. y Albertó, E. (2010b). Volatile composition and nutritional quality of the edible mushroom *Polyporus tenuiculus*

- grown on different agro industrial waste. *International journal of food science and technology* 45 (8): 1603-1609. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2010.02306.x
- Palacio, M., Drechsler Dos Santos, E. R., Menolli Jr, N. y da Silveira, R. M. B. (2021). An overview of *Favolus* from the Neotropics, including four new species. *Mycologia* 113 (4): 759-775. DOI: 10.1080/00275514.2021.1878797
- Prance, G. T. (1972). An ethnobotanical comparison of four tribes of Amazonian Indians. *Acta amazónica* 2: 7-27. DOI: 10.1590/1809-43921972022007
- Prance, G. T. (1973). The mycological diet of the Yanomam Indians. *Mycologia* 65 (1): 248-250. DOI: 10.2307/3757814
- Prance, G. T. (1984). The use of edible fungi by Amazonian Indians. *Advances in Economic Botany* 1: 127-139.
- Przybylowicz, P. y Donoghue, J. (1988) Shiitake Growers handbook: The art and science of mushroom cultivation. (1ªEd). Kendall Hunt Publishing. ISBN: 0840349629
- Robledo, G.L. y Urcelay, C. (2009). *Hongos de la madera en árboles nativos del centro de Argentina*. Argentina, Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba. ISBN: 978-950-33-0689-5
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S. y Huelsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic biology* 61 (3): 539-542. DOI: 10.1093/sysbio/sys029
- Ruan-Soto, F., Garibay-Orijel, R., y Cifuentes, J. (2004). Conocimiento micológico tradicional en la planicie costera del Golfo de México. *Scientia Fungorum* 19: 57-70.
- Ruán-Soto, F., Garibay-Orijel, R., y Cifuentes, J. (2006). Process and dynamics of traditional selling wild edible mushrooms in tropical Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 2 (1): 1-13. DOI: 10.1186/1746-4269-2-3
- Sanuma, O. I., Tokimoto, K., Sanuma, C., Autuori, J., Sanuma, L. R., Martins, M. S. y Apiamö, R. M. (2016). Sanöma samakönö sama tökö nii pewö oa wi) tökö waheta: Ana amopö= Enciclopédia dos alimentos yanomami (Sanöma): cogumelos. São Paulo, Instituto Socioambiental.
- Schneider, C. A., Rasband, W. S. y Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods* 9 (7): 671-675. DOI: 10.1038/nmeth.2089
- Sotome, K., Akagi, Y., Lee, S. S., Ishikawa, N. K. y Hattori, T. (2013). Taxonomic study of *Favolus* and *Neofavolus* gen. nov. segregated from *Polyporus* (Basidiomycota, Polyporales). *Fungal Diversity* 58 (1): 245-266. DOI: 10.1007/s13225-012-0213-6
- Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313. DOI:10.1093/bioinformatics/btu033
- Thomas, K. C., Hynes, S. H. y Ingledew, W. M. (1996). Effect of nitrogen limitaton on synthesis of enzymes in *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation of high concentration of carbohydrates. *Biotechnology letters* 18 (10): 1165-1168. DOI: 10.1007/BF00128586

- Van Rossum, G. y Drake, F. L. (2009). Python 3 Reference Manual. Scotts Valley, CA: CreateSpace. ISBN: 1441412735
- Vargas-Isla, R., Ishikawa, N. K. y Py-Daniel, V. (2013). Contribuições etnomicológicas dos povos indígenas da Amazônia. *Biota Amazônia* 3 (1): 58-65. DOI: 10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v3n1p58-65
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. y Taylor, J. W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J., eds. PCR protocols: a guide to the methods and applications. New York: Academic Press. p. 315-322.
- Zent, E. L., Zent, S., y Iturriaga, T. (2004). Knowledge and use of fungi by a mycophilic society of the Venezuelan Amazon. *Economic botany* 58 (2): 214-226. DOI: 10.1663/00