

Identificación de condiciones controladas para el crecimiento del hongo

Hericum erinaceus

González López Karen (quinto semestre en Ingeniería en Biotecnología)^{1,*}, Guzmán Pérez Jimena (tercer semestre en Ingeniería en Biotecnología)¹, Carrión Gómez María del Carmen (profesor responsable)¹, Ramírez Rodríguez Rocío. (profesor asesor)¹.

¹Universidad Iberoamericana Puebla, San Andrés Cholula, Puebla, México

Resumen

El cultivo de *Hericum erinaceus* también conocido como melena de león, ha ganado la atención de investigadores debido a sus compuestos bioactivos y sus beneficios para la salud. La optimización de las condiciones ambientales de laboratorio sigue siendo un desafío, ya que el hongo requiere cierta temperatura, humedad, medio de cultivo y sustrato para el crecimiento micelial y el desarrollo del cuerpo fructífero. El objetivo fue identificar las condiciones de laboratorio óptimas para el crecimiento del hongo, centrándose en la composición del sustrato. El proceso de inoculación micelial fue en 10 cajas Petri esterilizadas con medio agar papa-dextrosa (PDA) y se colocaron en una estufa de 25°C durante 15 días, seguido se hidrataron los sustratos para cultivar en 7 frascos el micelio de las cajas Petri, se dejaron en una estufa a 27°C durante 13 días hasta que se detectó el crecimiento del cuerpo fructífero. Los resultados revelaron que el sustrato con más biomasa fue la combinación de paja de trigo con viruta y aserrín. Esta mezcla proporcionó un crecimiento del cuerpo fructífero mayor a comparación de los otros sustratos, el cual muestra que la mezcla de estos sustratos es adecuados y eficientes para el cultivo de *Hericum erinaceus*.

Palabras clave: sustrato, temperatura, micelio, compuestos bioactivos.

***Autor Corresponsal:** karen.gonzalez@iberopuebla.mx

Introducción

Hericum erinaceus comúnmente nombrado Melena de León, es una de las tantas especies que destacan dentro del reino de los hongos, gracias a sus propiedades y potenciales beneficios para la salud del ser humano.

Hericum erinaceus es un basidiomiceto que pertenece a la familia Hericiaceae, es distinguido por su cuerpo fructífero que simula una melena de león, puede alcanzar hasta 25 cm de largo sin un estúpido claramente definido y está compuesto de estructuras en forma de agujas que conforman el himenio, el himenio es la parte fértil del hongo en donde se producen y liberan sus esporas [2]. Este hongo se clasifica en la clase Agaricomycetes, en el orden Russuales, dentro de la familia Hericiaceae, en el género *Hericum*. Posee un himenio compuesto por espinas lisas y delicadas que brotan desde una base rectangular, estas espinas logran alcanzar 6 cm de longitud. Las esporas de este hongo llegan a ser redondas o elipsoidales e incoloras. El hongo presenta basidiomas hemisféricos, con colores que varían desde blanco hasta amarillo o incluso rosado, estos muestran una textura carnosa y poseen un sabor dulce. De igual manera sus hifas presentan de 3 a 20 µm de diámetro [3].

El interés de la investigación del hongo *Hericum erinaceus* ha incrementado potencialmente, debido a sus posibles utilidades en la medicina para enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer. Se ha encontrado que sus compuestos bioactivos, como los B-glucanos, heteroxilanos, trietol, arbinol, hericenonas, erinacinas y heteroglucanos, entre otros, poseen propiedades neuro protectoras que estimulan el factor de crecimiento nervioso y la permanencia de las células nerviosas, favoreciendo así la neurogénesis y la mielinización que facilita la velocidad y comunicación de los impulsos nerviosos, así como la comunicación sincronizada de las neuronas. De igual forma

contiene antioxidantes e inmunomoduladores [4]. Debido a estos descubrimientos, se ha generado un gran interés por profundizar en la investigación destinada a mejorar las condiciones ambientales de laboratorio ideales para el cultivo del hongo *Hericum erinaceus*, con el fin de mejorar su producción y calidad a gran escala, ya que de esta manera se puede llegar a facilitar su disponibilidad para fines de investigación o uso individual.

No obstante, aunque se reconocen sus grandes beneficios, el cultivo de *Hericum erinaceus*, presenta distintas dificultades significativas. Según investigaciones, el micelio del hongo comienza a aparecer 10 días después del cultivo. Esto se ve influenciado considerablemente por los factores ambientales en los que se desarrolla, tales como la temperatura. De igual manera el hongo *Hericum erinaceus* se limita a crecer en gran parte en regiones de clima templado, algunos países que presentan este clima ideal son Japón, China, Corea del Sur, Taiwán, Estados Unidos y Canadá. La información acerca de su cultivo en distintas regiones es escasa, lo cual limita su disponibilidad para distintos usos, por lo que es necesario implementar un método de cultivo meticuloso para obtener una biomasa abundante y óptima [5].

Los primeros parámetros de cultivo para el desarrollo del micelio del hongo *Hericum erinaceus*, involucran una fase de incubación a temperaturas de 20°C a 25°C durante 10 a 14 días, seguida de la formación del cuerpo fructífero a temperaturas más bajas que rondan entre los 15°C a 25°C durante 10 días. Algunas cepas pueden producir cuerpos fructíferos a temperaturas de hasta 30°C. Sin embargo, falta de información sobre el cultivo, consumo y propiedades de este hongo presentan una problemática significativa [6].

De igual forma, el medio de cultivo y sustrato que se utiliza en el cultivo del hongo desempeña un papel esencial en su desarrollo. Los hongos tienen la capacidad de descomponer desechos orgánicos mediante sistemas enzimáticos

oxidativos ligninolíticos, que incluyen enzimas como celulasas, hemicelulasas y peroxidases. Por tanto, diversos estudios indican que el medio de Papa Dextrosa Agar (PDA) permite un desarrollo favorable ya que proporciona nutrientes como almidón, proteínas, sales minerales y glucosa que actúan como fuente de energía. Mientras que el aserrín, rico en lignina y celulosa, tiene un impacto favorable en el rendimiento de su crecimiento [7][8]. También se deben considerar la exposición a la luz y el pH, investigaciones previas recomiendan evitar la exposición directa a la luz solar, ya que puede provocar que el sustrato se seque y dañe el micelio, y mantener un rango de pH de 4 a 5 para el desarrollo del micelio y de 6 para el crecimiento del cuerpo fructífero [6] [9].

Dicho esto, la investigación sobre las condiciones controladas de laboratorio presenta una gran importancia para potenciar el rendimiento y calidad del hongo *Hericium erinaceus*. Dado que estos factores influyen favorablemente en una mayor disponibilidad de compuestos bioactivos dentro del hongo, los cuales a su vez influyen en el potencial del desarrollo de nuevos tratamientos para distintas enfermedades, con un enfoque significativo en las neurodegenerativas. Además, esta investigación pretende promover prácticas sostenibles y estrategias para la gestión de recursos, basadas en metodologías eficientes para aumentar su cultivo y disponibilidad para consumidores a nivel global.

Por consiguiente, el objetivo de la investigación radica en identificar las condiciones ambientales óptimas que favorecen el crecimiento del hongo *Hericium erinaceus*, mediante el análisis de factores esenciales tales como la temperatura, pH, medio de cultivo, tipo de sustrato y cantidad de luz.

Metodología

Se adoptó un enfoque experimental y exploratorio, para esto se replicaron factores ambientales controlados dentro del laboratorio, con el fin de comprender el crecimiento del hongo *Hericium erinaceus* en cuestión de tiempo y distintas condiciones.

Análisis del hongo Hericium erinaceus

El proveedor del micelio utilizado para este proceso fue FUNSET. Se llevó a cabo el procedimiento de preparación del medio PDA (papa dextrosa), de la marca MCD LAB. Una vez listo el medio de cultivo, se esterilizó el área de trabajo y dentro de la campana de flujo laminar, se vertió dentro de 10 cajas Petri, que se sellaron con cinta Parafilm para luego ser almacenadas en refrigeración para su uso posterior. Para el cultivo del hongo *Hericium erinaceus*, se esterilizó el área de trabajo y nuevamente, dentro de la campana de flujo laminar, semillas de micelio fueron colocadas cuidadosamente con ayuda de pinzas esterilizadas, dentro de las 10 cajas Petri previamente preparadas con el medio, las cuales fueron situadas en una estufa de cultivo GCA/Precision Scientific a 25 °C con una humedad de 90% durante 2 semanas, como mencionaban investigaciones anteriores.

Propagación del micelio en distintos sustratos

Se llevó a cabo la recopilación de datos, mediante la observación continua del hongo *Hericium erinaceus*, lo que implicó monitorear regularmente el hongo cada 3 días, de esta manera se logró registrar el crecimiento y desarrollo durante el periodo de análisis.

Para la selección de sustratos, se adquirieron 305.5 g de sustrato de viruta y aserrín (S1), 1 kg de sustrato de paja de trigo (S2), una combinación de viruta y aserrín con paja de trigo (S3), regulador de pH de 6 y un suplemento de salvado del proveedor FUNSET. Dichos sustratos fueron lavados, hidratados con 500 ml de agua destilada y colados, para posteriormente ser esterilizados dentro del autoclave. Una vez eliminado cualquier microorganismo no deseado, fueron distribuidos dentro de 7 frasco de vidrio con capacidad de 400 g de la siguiente manera. En los primeros 3 frascos se colocaron 15 g de (S2), luego 3 frascos más con 7.5 g de (S1) y 7.5 g de (S2) combinados para dar lugar a (S3), y finalmente 1 frasco con 15 g de (S1) únicamente, dado que anteriormente se había inoculado una bolsa de 300 g con (S1), sin embargo, se contaminó debido a un exceso de humedad y ya no fue utilizada en la investigación.

En la siguiente etapa, dentro de la campana de flujo laminar, cada frasco fue inoculado por el micelio previamente cultivado de las 10 cajas Petri, tres semanas después de haberse observado un crecimiento favorable. Para ello se utilizó una caja por cada uno de los frascos respectivamente, el contenido de la caja que tenía el medio de cultivo con el micelio fue cortado en cubos de 2x2 cm con un bisturí esterilizado, estos cubos se fueron colocando de manera uniforme junto con el regulador de pH y suplemento.

Finalmente, los frascos fueron sellados con cinta para evitar contaminantes y fueron situados en una caja a 25 °C para resguardarlos de la luz solar directa. Tras pasar 5 días y no observar señales de crecimiento alguno, fueron reubicados en la estufa de cultivo GCA/Precision Scientific donde se mantuvieron a una temperatura constante de 27 °C y una humedad de 80% durante 13 días hasta que se detectó la aparición del cuerpo fructífero.

Resultados y Discusión

Evaluación el crecimiento del hongo Hericium erinaceus a temperatura, sustrato, pH y medio de cultivo específico (PDA).

En este estudio, se logró identificar condiciones de laboratorio óptimas para el crecimiento del hongo *Hericium erinaceus*, el cual es crucial para la propagación en medio de agar papa-dextrosa (PDA). Los resultados de la propagación en este medio pueden variar según diversos factores, incluyendo la cepa utilizada, las condiciones de cultivo y la composición exacta del medio PDA. En el transcurso de esta investigación, se observó que la cepa específica de *Hericium erinaceus* empleada tuvo un impacto significativo en la tasa de propagación y el crecimiento micelial en el medio PDA, como se muestra en la Fig. 1. Esto señala la importancia de seleccionar cuidadosamente la cepa adecuada para alcanzar los objetivos de propagación y estudio en investigaciones futuras. Además, destaca la necesidad de una comprensión detallada de cómo las características individuales de cada

cepa pueden influir en su comportamiento y rendimiento en condiciones de laboratorio.

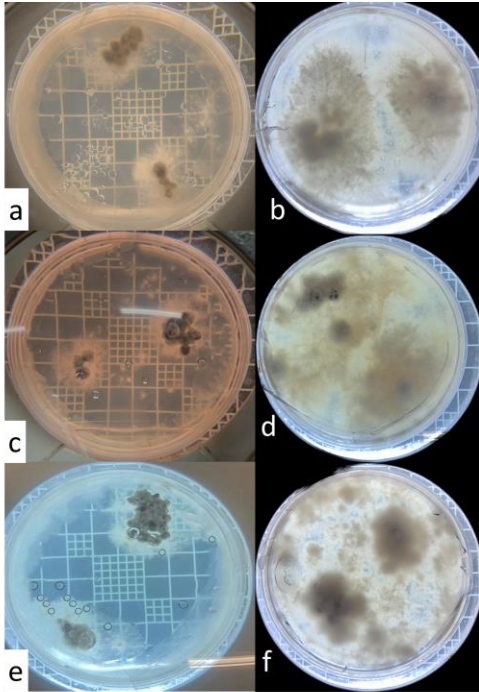


Fig. 1. Hongo *Hericium erinaceus* 25°C. Sin luz. Alto porcentaje de humedad. pH 6. 27 días después del cultivo.

Las condiciones de cultivo juegan un papel crucial en los resultados de propagación del hongo *Hericium erinaceus*. Se ha observado que la temperatura óptima de cultivo se sitúa alrededor de los 25°C, con la ausencia de luz, un pH de 6 y una humedad adecuada, condiciones que favorecen el crecimiento y la propagación exitosa de este hongo en medio PDA. Estos resultados indican la importancia de comprender la interacción entre los componentes del medio de cultivo y el crecimiento del hongo, lo que puede ser fundamental para optimizar el proceso de propagación y maximizar el rendimiento en estudios futuros. Además, resaltan la necesidad de realizar investigaciones adicionales para explorar cómo otros nutrientes y factores ambientales pueden influir en el crecimiento y desarrollo de *Hericium erinaceus*.

La metodología empleada en este estudio incluyó la utilización de una variedad de sustratos para el cultivo del hongo *Hericium erinaceus*, tales como viruta y aserrín, paja, y una combinación de paja con aserrín. Estos sustratos fueron seleccionados debido a sus propiedades beneficiosas para el crecimiento del hongo, proporcionando un entorno propicio para el desarrollo micelial al retener la humedad y permitir una adecuada circulación de aire. Investigaciones previas respaldan la eficacia de estos materiales para el cultivo de este tipo de hongo. Aunque se había identificado el aserrín como el sustrato más adecuado debido a su alta concentración de lignina y baja relación celulosa: lignina, se encontró que la combinación de paja con aserrín resultó ser más benéfica. En cuanto a los resultados obtenidos con otros sustratos, se inocularon siete frascos de vidrio, los cuales mostraron un crecimiento favorable, pero progresivamente

lento. Ninguno de los frascos presentó signos de contaminación y el micelio inoculado creció a un ritmo moderado. Estos frascos, cada uno contenía 15 gramos de sustrato y fueron almacenados a una temperatura de 25°C, sin embargo, se obtuvo una mejora en el crecimiento al cambiar la temperatura a 27°C. En consecuencia, se concluyó que el sustrato combinado resultó ser el más favorable para el crecimiento del hongo, como se mencionó anteriormente, tal como se muestra en la Fig. 2.

En relación con el primer objetivo, se logró identificar satisfactoriamente las condiciones óptimas para el crecimiento del hongo en el medio de cultivo específico PDA. Se concluyó que el control de la humedad es crucial y que una temperatura de 27°C conlleva un crecimiento favorable.



Fig. 2. Hongo *Hericium erinaceus* en sustrato combinado de viruta, aserrín y paja. 27 °C. Sin luz. 13 días después del cultivo y pH de 6

Analizar los efectos de la temperatura, el pH y el tipo de sustrato en el crecimiento y desarrollo del hongo Hericium erinaceus en condiciones controladas de laboratorio.

El segundo objetivo del estudio se enfocó en detallar los efectos de la temperatura, el pH y el tipo de sustrato en el desarrollo y crecimiento del hongo *Hericium erinaceus* en un entorno controlado de laboratorio. En esta etapa de análisis, se evidencia que el pH del micelio presente en las cajas Petri se mantuvo en 6, lo que coincidió con los registros obtenidos para los brotes iniciales del cuerpo fructífero en los frascos inoculados. Este resultado, además de corroborar resultados de investigaciones anteriores, se encontró dentro del rango de valores esperados.

Con relación a la variable de temperatura, como se mencionó en etapas anteriores del estudio, se logró un desarrollo satisfactorio del hongo en las 10 cajas Petri, manteniendo una temperatura constante de 25°C y sin exposición a la luz. Esta condición ambiental se demuestra propicia para el crecimiento del micelio, manteniendo el pH en 6. Por otro lado, se decidió mantener una temperatura de 27°C para los sustratos, a pesar de la preferencia del cuerpo fructífero del hongo por ambientes más frescos. No obstante, se observó una aceleración en el crecimiento del cuerpo fructífero en los frascos inoculados bajo estas condiciones tal como se muestra en las Fig. 3 y 4.



Fig. 3. Hongo *Hericium erinaceus* en sustrato de paja. 27 °C. Sin luz. 13 días después del cultivo y pH de 6.



Fig. 4. Hongo *Hericium erinaceus* en sustrato de viruta y aserrín. 27 °C. Sin luz. 13 días después del cultivo y pH de 6.

Los resultados de este estudio tienen profundas implicaciones en el cultivo del hongo *Hericium erinaceus*. Al confirmar la importancia de factores como la temperatura, la humedad, el pH y la composición del medio de cultivo en su desarrollo, subrayan la necesidad de un control meticuloso de estos parámetros para maximizar tanto el rendimiento como la calidad del cultivo de este hongo.

Es posible lograr un crecimiento exitoso de *Hericium erinaceus* en condiciones de laboratorio. Esto promete, ya que abre nuevas oportunidades en áreas como productos farmacéuticos derivados de este hongo, asociado con varios beneficios para la salud en estudios anteriores, como el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer.

Sin embargo, también se destacan desafíos potenciales asociados con el cultivo de *Hericium erinaceus*. La contaminación y el crecimiento lento en ciertas condiciones podrían limitar su viabilidad comercial a gran escala. Estos retos requerirán soluciones innovadoras, como el desarrollo de métodos de cultivo mejorados o la selección de cepas más

resistentes, para superarlos y aprovechar todo el potencial de este hongo en diversas aplicaciones.

Al comparar nuestros resultados con la revisión de la literatura y los datos proporcionados en el marco teórico, surge una discrepancia notable en cuanto a la temperatura y el tipo de sustrato utilizado. Investigaciones previas han enfatizado la influencia significativa de temperaturas más bajas y el uso exclusivo de aserrín como sustrato para favorecer el crecimiento de *Hericium erinaceus* [10]. Esta discrepancia subraya la necesidad de continuar la investigación en este campo para mejorar la comprensión de los requisitos de cultivo y desarrollar métodos más efectivos y eficientes.

Estos esfuerzos permitieron identificar condiciones óptimas para el crecimiento del hongo, sentando así las bases para investigaciones futuras dirigidas a mejorar su cultivo y su potencial aplicación en el área de medicina y salud humana.

Conclusiones, perspectivas y recomendaciones

La investigación sobre las condiciones controladas de laboratorio para el crecimiento del hongo *Hericium erinaceus*, determina que la temperatura óptima para el crecimiento del hongo en medio PDA y sustrato (paja de trigo y viruta con aserrín) oscila en un rango de 20°C a 25°C, para un crecimiento saludable. Además, se identifica que una alta humedad relativa del aire debe ser entre 80% a 90% para el crecimiento adecuado del hongo. El PH del sustrato, arrojó que el rango es de 4-6, para el desarrollo y la producción de compuestos bioactivos. Para lograr estas condiciones ideales se recomienda realizar un monitoreo continuo y tener un control estricto de las condiciones ambientales en el laboratorio. De igual manera, el uso de equipos especializados como lo son incubadoras, estufas, tiras de PH y autoclaves son esenciales para mantener las condiciones adecuadas. Es fundamental garantizar una ventilación idónea en el entorno de cultivo para asegurar el suministro adecuado de oxígeno (O₂) y eliminar el dióxido de carbono (CO₂) utilizando un filtro intercambiador de gases o una gasa, de esta manera se reducen problemas, como el nacimiento de un hongo no deseado y así conducir el crecimiento saludable del hongo *Hericium erinaceus*.

Referencias

- [1] J. E. Ramberg, E. D. Nelson y R. A. Sinnott, "Immunomodulatory dietary polysaccharides: a systematic review of the literature", *Nutrition J.*, vol. 9, n.º 1, noviembre de 2010. Accedido el 5 de marzo de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1186/1475-2891-9-54>
- [2] M. B. Buglione, "Macromoléculas Biológicas en el aula universitaria. Polisacáridos en 3D", *Rev. Educ. En Biol.*, vol. 20, n.º 2, diciembre de 2017. Accedido el 10 de marzo de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.59524/2344-9225.v20.n2.22516>
- [3] L. A. Páez-Olivan et al., "Studies of orphological and genetic variability of *Hericium erinaceus* from the northwest area of the Sierra madre occidental, Durango, Mexico", *Southwest. Nat.*, vol. 66, n.º 3, octubre de 2022. Accedido el 6 de marzo de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1894/0038-4909-66.3.225>
- [4] I.-C. Li et al. "Neurohealth Properties of *Hericium erinaceus* Mycelia Enriched with Erinacines". *PubMed Central (PMC)*. Accedido el 11 de marzo de 2024. [En línea]. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5987239/>

- [5] G. D, R. B, S. M, T. N, L. T y H. KD, “Hericium: A review of the cultivation, health-enhancing applications, economic importance, industrial, and pharmaceutical applications”, *Fungal Biotech*, vol. 1, n.º 2, enero de 2021. Accedido el 5 de marzo de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.5943/funbiotec/1/2/8>
- [6] D. Gonkhom, T. Luangharn, K. D. Hyde, M. Stadler y N. Thongklang, “Optimal conditions for mycelial growth of medicinal mushrooms belonging to the genus *Hericium*”, *Mycolog. Prog.*, vol. 21, n.º 9, agosto de 2022. Accedido el 5 de marzo de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1007/s11557-022-01829-6>
- [7] F. Atila, “Lignocellulosic and proximate based compositional changes in substrates during cultivation of *Hericium erinaceus* mushroom”, *Sci. Hortic.*, vol. 258, p. 108779, diciembre de 2019. Accedido el 14 de marzo de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108779>
- [8] D. Fligas, R. González y N. Curveto. “Cultivation of Culinary-Medicinal Lion's Mane Mushroom *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. (Aphyllorphomycetideae) on Substrate Containing Sunflower Seed Hulls”. *ResearchGate*. Accedido el 17 de marzo de 2024. [En línea]. Disponible: https://www.researchgate.net/publication/247855310_Cultivation_of_Culinary-Medicinal_Lion's_Man_Mushroom_Hericium_erinaceus_Bull_Fr_Pers_Aphyllorphomycetideae_on_Substrate_Containing_Sunflower_Seed_Hulls
- [9] A. Imtiaj et al., “Vegetative Growth of Four Strains of *Hericium erinaceus* Collected from Different Habitats”, *Mycobiology*, vol. 36, n.º 2, p. 88, 2008. Accedido el 14 de marzo de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.4489/myco.2008.36.2.088>
- [10] F. Atila, “Lignocellulosic and proximate based compositional changes in substrates during cultivation of *Hericium erinaceus* mushroom”, *Sci. Hortic.*, vol. 258, p. 108779, diciembre de 2019. Accedido el 25 de abril de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108779>