

Biotecnología en hongos superiores

Parte I

Posibilidades presentes y futuras

Los hongos son organismos extraños formados por un micelio portador de “vida eterna”, que despliega frutos de vida en un sinfín de colores, formas y características especiales. Poseen interesantes propiedades como alimento y medicina y han fascinado al hombre y despertado su curiosidad desde tiempos remotos.

En la actualidad, los países industrializados destacan el papel de la micología en la economía humana por su gran potencial en aplicaciones biotecnológicas que derivan de la diversidad metabólica de los hongos. Con suficiente atención y recursos, la biotecnología fúngica, en términos de producción de alimentos e importantes productos bioactivos, incluyendo los enzimáticos, medicinales y farmacológicos, puede en un futuro no lejano contribuir a la economía de la Argentina.

Parte de esa atención desde nuestro grupo de trabajo en la Universidad Nacional del Sur (UNS) y del Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS) está enfocada, no sólo en la adopción de conocimientos y la investigación de posibilidades tecnológicas a través de la realización de proyectos de investigación, sino también en la formación de nuevos profesionales, suministrando conocimiento e información actualizada en este área poco explorada en nuestro país.

Las biotecnologías que emplean hongos incluyen la producción de alimentos como setas –hongos comestibles–, la producción de saborizantes y aromatizantes de los alimentos y la obtención de productos bioquímicos con distintas propiedades medicinales

Frecuentemente se ignora el papel positivo de la micología en el desarrollo de la biotecnología agropecuaria y sus posibilidades de aplicación en otras áreas de la actividad industrial, como la alimentaria, farmacológica, medicinal y ambiental. Sin embargo, por la importancia de su contribución al suministro de alimentos, al control de la contaminación ambiental, a la calidad de la salud y a la economía social, la bioconversión de abundantes materiales lignocelulósicos de desecho por medio de hongos comestibles y medicinales ha sido acertadamente denominada como la “revolución no-verde”.

y nutracéuticas. Y se están incorporando nuevos usos industriales, entre ellos el uso de sus enzimas para la disposición de compuestos clorados hidrocarbonados, fenólicos, anilina, etc.; la sustitución de métodos electroquímicos muy agresivos para el ambiente (como el uso de ácidos fuertes y otros compuestos altamente contaminantes) por la catálisis enzimática de oxidoreductasas de hongos superiores, así como otras aplicaciones ventajosas en el proceso de la industria papelería.

La diversidad de aplicaciones de los conocimientos derivados de la biotecnología de hongos lignocelulolíticos superiores atrae el interés de profesionales en distintas áreas del conocimiento.

El cultivo de los hongos

Actualmente la humanidad tiene la necesidad de producir en espacios cada vez más reducidos, sin que esto

afecte la cantidad ni la calidad del producto. Un ejemplo se observa en el área agrícola con los avances tecnológicos de producción en sistemas de cultivo en invernadero, los cuales garantizan mejor calidad y menores riesgos de siniestros meteorológicos. Entre estos cultivos con características de producción en invernadero, se encuentra el cultivo de los hongos.

La producción comercial de hongos en el planeta está en constante crecimiento desde hace más de 20 años, en parte debido a que las fuentes de información y difusión del cultivo están más al alcance del público. En Europa y Estados Unidos, este cultivo ha generado grandes empresas con impresionantes avances tecnológicos.

En Latinoamérica, la producción, investigación y el consumo de hongos también van en ascenso. Países como México, Colombia y Brasil trabajan activamente en proyectos de investigación y desarrollo, a la vez que participan en congresos internacionales,



Ganoderma lucidum

poniendo de manifiesto que Latinoamérica, sin duda alguna, es un mercado con un enorme potencial. En la Argentina la producción comercial de hongos y su consumo siguen siendo escasos a consecuencia de la falta de información, difusión y promoción.

Un aspecto interesante del cultivo de los hongos es que el sustrato sobre el que crecen son residuos agrícolas y animales combinados o solos, dependiendo de las distintas especies. Los materiales lignocelulósicos que se usan para el cultivo de los hongos son muy variados, ya que los residuos disponibles varían de región a región y pueden ser paja cortada de cereales, forrajes, aserrines, hojas de diferentes cultivos, café usado, residuos de algodón y cáscaras de maní, entre otros.

El proceso utiliza la llamada fermentación en estado sólido o el compostaje, dependiendo de la especie de hongo, empleando formulaciones de sustrato que además del residuo lignocelulósico y agua, incluye suplementos y aditivos para optimizar el crecimiento y fructificación, utilizando un sistema de camas, bandejas o bolsas. Particularmente, en nuestro caso, hemos desarrollado un paquete tecnológico para la biotransformación de la cáscara de la semilla del girasol residual de la industria aceitera. Esta cáscara constituye el componente principal de formulaciones de sustrato para el crecimiento de hongos del complejo *Pleurotus*, de *Shiitake* y de *Ganoderma lucidum*, todos ellos con un buen nivel de productividad comparado con los valores obtenidos usando otros materiales lignocelulósicos. También hemos desarrollado un sistema/procedimiento multipropósito para las operaciones de desinfección, siembra y mezcla de blanco o "semilla" de

hongo, realizando todas estas operaciones en el mismo recipiente, logrando así mejorar el proceso en tiempo y en calidad al permitir también una corrida más rápida del micelio.

Jun-cao, una tecnología china de producción de hongos con futuro

La tecnología Jun-cao ha sido desarrollada en China durante los últimos veinte años y fundamentalmente propone el cultivo controlado de hongos sobre plantas forrajeras. Se han seleccionado 33 forrajeras de alto rendimiento y calidad para 41 tipos de hongos comestibles y medicinales. Los hongos Jun-cao tienen un valor nutricional superior a aquellos cultivados sobre troncos o aserrines. Esta propuesta tecnológica establece un buen ciclo ecológico entre plantas, hongos y animales, y produce beneficios no sólo sociales, sino también económicos y ecológicos al constituir una manera de balance en áreas con erosión edáfica. Las ventajas de esta tecnología en las principales áreas industriales de China resultan en un alto uso de los recursos biológicos, en ciclos de producción corto y con eficiente uso de los recursos económicos.

El valor nutricional de los hongos

El contenido proteico de las especies cultivadas es de un 4%. Este valor es casi tres veces el de la cebolla y repollo (1,4%), cuatro veces el de las naranjas (1%) y 13 veces el de las manzanas (0,3%). El contenido proteico de algunos productos animales es el siguiente: carne vacuna, 12-20%; pollo, 18-20%; pescado, 18-20%; carne de cerdo, 9-16% y leche, 2,9-3,3%. Sobre una base de peso seco, los hongos contienen normalmente 19-35% proteína, comparada con 7,3% en arroz, 12,7% en trigo, 38% en soja, y 9,4% en maíz. Por consiguiente, en términos de cantidad de proteína cruda, los hongos se ubican por debajo de las carnes animales, pero muy por encima de la mayoría de los otros alimentos, incluida la leche. Además, la proteína de los hongos contiene los aminoácidos esenciales requeridos por el hombre, siendo particularmente ricos en lisina y leucina (recordemos que la mayoría de los cereales fibrosos contienen poco o son carentes).

Los hongos son relativamente ba-

jos en grasa total y contienen un alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados. Son relativamente altos en carbohidratos, y la mayoría de las especies contienen cantidades de fibras nutricionalmente valiosas, y cantidades significativas de vitaminas solubles en agua (tiamina, riboflavina, niacina y ácido ascórbico), así como de minerales.

Atributos medicinales de los hongos

Las propiedades de los hongos determinan su valor como *alimento nutraceutico*: un alimento natural de valor en la preservación de la buena salud. En efecto, se han podido extraer de los hongos ciertos metabolitos no sólo con atributos nutricionales sino medicinales con propiedades antitumorales, reguladoras del sistema inmunológico, hipocolesterolémicas, antibióticas y antiinflamatorias. Pero el rol más apreciado es el de proveer sustancias potenciadoras del sistema inmunológico. Un extracto del fruto o micelio del hongo, refinado hasta cierto grado e incorporado en una cápsula o tableta constituye un *nutricéutico de hongos* que se toma como suplemento dietario y con propósitos terapéuticos. Sirve tanto para la prevención como para el tratamiento de varias enfermedades. Actualmente, los nutricéuticos de hongos más utilizados derivan de *Ganoderma lucidum*.

El interés por los atributos medicinales de los hongos superiores está demostrado en más de 300 trabajos científicos publicados en las últimas 4 décadas, con el 65% de ellos en la última década.

Mejora de la calidad de los hongos

En la actualidad se utilizan técnicas para mejorar las calidades nutricionales y medicinales de los hongos, ya sea frescos, secos o subproductos derivados de éstos con propiedades medicinales adicionales, con lo cual aumenta la calidad y el valor del producto obtenido. Un ejemplo es la producción de hongos enriquecidos en selenio. El selenio (Se) es un elemento esencial que se necesita en pequeñas cantidades diarias (55 µg la mujer y 70 µg el hombre) para lograr un adecuado mantenimiento de la salud, especialmente por su rol en el mejoramiento de la respuesta del sistema

inmunológico. Es un componente de numerosas enzimas que actúan como protectores celulares por su acción antioxidante al secuestrar los radicales libres que producen daño celular. El Se se encuentra presente en muchos alimentos, aunque en bajas cantidades. Actualmente en USA y Eurasia se comercializan suplementos de selenio y alimentos enriquecidos en selenio, tales como leche, pollo, huevo, ajo, brócoli. En la Argentina existen caldos *diet* con Se agregado. Los hongos son una fuente natural de Se orgánico. No obstante, en los últimos años se ha intentado incrementar su contenido en los hongos por medio del agregado de sal de selenio al sustrato donde se hace crecer los hongos. Así se determinó que *Agaricus bisporus* (*champiñón*) puede absorber hasta 1,3 ppm, *Flammulina (enokitake)* 25 ppm y los hongos *ostra* 60 ppm de Se, duplicando su valor comercial al transformarse en un alimento enriquecido en este mineral esencial.

Uso de hongos para mejorar la calidad de otros alimentos

Un caso interesante es el uso de enzimas de hongos para mejorar la calidad del té negro, la cual depende de los eventos metabólicos complejos que ocurren durante el procesado de las hojas de té. Durante el mismo, la enzima polifenoloxidasa oxida los polifenoles presentes en las hojas de té produciéndose los componentes del té negro. En el método convencional, la rotura parcial de las hojas de té durante el procesamiento reduce la cantidad de peroxidasa y polifenoloxidasa presentes con lo cual disminuye la formación de los componentes del té negro. Para solucionar este problema, durante la fermentación del té se agrega en forma exógena una mezcla de enzimas: celulasa, obtenida del hongo del té *Zygosaccharomyces sp.* y polifenoloxidasa lacasa, obtenida del hongo medicinal *Trametes versicolor*. Esta mezcla, en una determinada proporción, produjo un té de mejor calidad que la celulasa purificada, incrementando su valor de mercado. Por otro lado, los polifenoles del té son antioxidantes que secuestran iones metálicos y las especies de oxígeno reactivas, con lo cual se incrementa el valor terapéutico del té.

Otro caso es la obtención de quesos con enzimas del hongo *Schizophyllum commune*, para producir quesos de sabor peculiar y mayor

contenido en beta-glucanos. Para la obtención convencional del queso se usan bacterias lácticas del género *Lactobacillus* y *Streptococcus*, que son productoras de la enzima lactato deshidrogenasa. A su vez, se necesita una enzima que coagule la leche para producir el queso y comúnmente se usan preparaciones del estómago de rumiantes. Recientemente, se descubrió que algunos hongos, entre ellos el *Schizophyllum commune*, poseen tanto la lactato deshidrogenasa como una enzima coagulante de la leche. Con este hongo se obtuvo un alimento similar al queso que contiene, además, alrededor del 0,6% de beta-D-glucanos, polisacáridos que poseen efectos preventivos contra el cáncer. Además, este alimento presenta una actividad preventiva de la trombosis, prolongando el tiempo de coagulación de la trombina 50 veces respecto de la leche y el queso fresco común y mostrando una actividad fibrinolítica que no posee la leche.

La biorremediación

Estos basidiomicetos “de la pudrición blanca” pueden degradar lignina por medio de reacciones oxidativas catalizadas por fenoloxidasas y peroxidasas. El bajo grado de especificidad que caracteriza a estas enzimas y las relaciones estructurales de muchos contaminantes aromáticos con sustratos naturales de las enzimas, ha hecho pensar en el uso de organismos ligninolíticos y de sus enzimas para esos tipos de sustratos. Un caso interesante es el de las aguas residuales de la molinera de aceituna para aceite (AMA), que es un problema ambiental mayor debido a la gran cantidad producida y a la toxicidad de los compuestos fenólicos presentes. Algunos de estos compuestos aromáticos pueden asimilarse químicamente a muchos de los componentes de la lignina. El tratamiento de AMA con *Pleurotus ostreatus* resultó en una notable detoxificación de los residuos por disminución en su contenido de fenol.

Por otro lado también es prometedora el uso de sustrato gastado (SG) del cultivo de hongos para la decontaminación de sitios con biocidas. Por ejemplo, los fenoles policlorados (PCF) son compuestos que se han usado normalmente como desinfectantes y preservantes, pero su naturaleza recal-

citante, persistencia y toxicidad los convierte en serios contaminantes. Los SG del cultivo comercial de hongos transportan, además de remanentes de enzimas extracelulares de estos hongos, diversos microorganismos que pueden contribuir a la degradación de los PCF. Se encontró que el sustrato gastado del hongo *ostra* eliminaba 19 mg PCF por gramo de SG, siendo efectivos en un amplio rango de concentraciones de PCF y requiriendo tan sólo 3 días para alcanzar su máxima capacidad de remoción en un proceso integrado con una biosorción física de PCF.

La lista de compuestos que pueden ser degradados por estos hongos de la pudrición blanca, puede extenderse a pesticidas de clordieno, incluso el clordano, preservantes de la madera como la creosota, desperdicios de municiones (incluyendo TNT y nitroglicerina), herbicidas auxínicos, bifenilos policlorados, hidrocarburos aromáticos policíclicos y colorantes sintéticos.

Los saborizantes y aromatizantes naturales

También los basidiomicetos de la pudrición blanca generan un amplio rango de compuestos saborizantes, moléculas particularmente aromáticas. Estas moléculas son metabolitos secundarios debido al hecho de que no están vinculadas a la construcción y mantenimiento de “la casa” fúngica, es decir a la generación de energía metabólica como ATP, reservas celulares y estructura. Los hongos presentan un importante potencial biotecnológico para producir saborizantes aromáticos naturales *de novo* o por biotransformación.

Por mucho tiempo las plantas fueron la mayor fuente de compuestos aromáticos, pero los producen en bajas concentraciones y por ello su aislamiento es difícil y costoso. Además, el suministro de los materiales vegetales está sujeto a las variaciones estacionales, inclemencias climáticas, riesgo de enfermedades de las plantas, estabilidad sociopolítica de las regiones productoras y restricciones de

comercio. Aun cuando hay aromatizantes/saborizantes sintéticos disponibles a precios muy bajos, los consumidores tienden a preferir los compuestos naturales, particularmente los que son consumidos frecuentemente. De manera que la biotecnología fúngica jugará un papel importante en satisfacer esta creciente demanda.

Los compuestos responsables de generar estos aromas/sabores en los hongos son idénticos a los originados por las plantas. Los hongos de la pudrición blanca son capaces de degradar la lignina, un polímero de p-cinamil alcohol sustituido, y metabolizar los monómeros fenólicos resultantes en compuestos aromáticos de interés. En comparación con todos los otros microorganismos, el espectro de los compuestos volátiles de los basidiomicetos está más cercano al de las plantas y contiene muchos compuestos diferentes: compuestos alifáticos altamente potentes como alcoholes aromáticos como la vainillina, el benzaldehído, el fenilacetaldéido, la 1-feniletanona, y metilbenzoato; y terpenoides como citronelol y linalol.

El empleo de sustrato gastado del cultivo de hongos en invernaderos de producción de plantines

En los últimos años se ha buscado con interés el uso de productos residuales alternativos baratos como aditivos para el medio de crecimiento de plantines, sustituyendo los tradicionales como turba o deyecciones de animales por otros de relativo bajo costo. En este sentido, los residuos de la producción de hongos comestibles o medicinales constituyen una buena fuente de materia orgánica, además rica en nutrientes minerales. Si bien el sustrato gastado se ha vendido para uso en jardines, su elevado contenido en sales presenta una posibilidad de toxicidad para las plantas y, por ello, una advertencia y limitación sobre su uso. En el caso de sustrato gastado de champiñones se llegó a la conclusión que no puede usarse solo como sustrato debido a su falta de estabilidad, su baja disponibilidad de agua, su alto nivel de salinidad y su pH neutro, el cual puede no ser siempre adecuada-

do para todas las plantas. En general, el contenido de sales solubles (5-8 mmho/cm) era superior al nivel de 1 mmho/cm considerado seguro para la mayoría de las plantas y se debía principalmente a un exceso en sales de potasio, sulfato de calcio, cloruros y sodio. Sin embargo, en proporciones que van de 25 a 50% se puede usar con éxito en la preparación de plantines de distintas ornamentales. La utilidad del sustrato gastado en macetas en viveros de ornamentales está relacionada a la temprana y rápida pérdida del alto contenido salino por lixiviación con el riego. Por ello se recomiendan riegos frecuentes y que no se permita que se seque el sustrato. Con la utilización de estos residuos orgánicos existe la posibilidad de obtener no sólo beneficios económicos sino ambientales, de manera que la industria del vivero puede proporcionar una vía de reciclado natural.

Enzimas fúngicas y elaboración del papel

Otra aplicación actual importante de las enzimas de hongos basidiomicetos es en la elaboración del papel durante los procesos de biopulpado (separación de fibras) y bioblanqueo (extracción de la lignina alterada y eliminación de su coloración marrón), resultando en una tecnología más amigable para el ambiente, en contraste con los métodos tradicionales que emplean tratamientos químicos muy agresivos.

La "revolución no-verde"

A pesar de que la tecnología moderna para la civilización humana mejora y se amplía día a día, el conjunto de los seres humanos todavía enfrenta tres problemas básicos: escasez de comida, contaminación del ambiente y declinación de la calidad de la salud humana.

Más del 70% de los materiales agrícolas y forestales resultan en materiales de desecho que normalmente se descartan (con el caso extremo de la extracción de la fibra de sisal que constituye sólo el 2% de la planta dejando como residuo el 98% restante), originando el grave problema de su eliminación, que comúnmente se hace por incineración, entierro y descarga en basurales sin control ni planificación.

Estos métodos producen contaminación del ambiente. Pero esa inmensa biomasa de materiales lignocelulósicos de desecho son sustratos crudos potenciales para el cultivo de hongos comestibles y medicinales que son beneficiosos para el bienestar humano de tres maneras: incrementando el suministro de alimentos, reforzando el cuidado de la salud y reduciendo la contaminación ambiental.

Por la importancia de su contribución al suministro de alimentos, al control de la contaminación ambiental, la calidad de la salud y la economía social, esta bioconversión de residuos por medio de hongos comestibles y medicinales ha sido acertadamente denominada como la "revolución no-verde".

Lecturas complementarias

Chang S.T. y P. Miles. 1989. *Edible mushroom and their cultivation*. CRC Press, Florida.

Chang S.T., J. Buswell y S.W. Chiu. 1993. *Mushroom biology and mushroom products*. The Chinese University Press. Hong Kong.

Chang, S.T. 1999. Global impact of edible and medicinal mushrooms on the human welfare in the 21 century: the non-green revolution. Intl. J. Medicinal Mushrooms 1: 1-7.

Curvetto, N.R., R. González Matute, D. Figlas, S. Delmastro. 2004. Cultivation of oyster mushrooms on sunflower seed hull substrate. In *Oyster Mushroom Growing Manual*, editado por MushWorld. pp. 101-106.

Jenning D.H. y G. Lysek. *Fungal biology. Understanding the fungal lifestyle*. Bios Scientific Publishers. 1996.

Stamets, P. 1993. *Growing gourmet and medicinal mushrooms*. Ten Speed Press. Berkeley, Ca 94707.

Yamanake, K. 1997. Production of cultivated mushrooms. Food Review International 327-333.

Zhanxi, L., L. Zhanhua. 2001. *Jun-cao technology*. China Agricultural Sciencetech Press.

Internet

www.mushworld.com
www.fungi.com
www.mycomasters.com
www.mycosource.com/info.htm