

# Aislamiento y producción de basidiomas de cepas nativas de *Volvariella bombycina* (Schaeff.) Singer, utilizando desechos agrícolas

*Isolation and production of basidiomes from native strains of Volvariella bombycina (Schaeff.) Singer, using agro-industrial wastes*

Julio E. Peralta-Rivera<sup>1\*</sup>, Osberth Morales<sup>2</sup>, María C. Bran<sup>2</sup>,  
Roberto Flores Arzú<sup>2</sup>, Edin F. Orozco<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Fitopatología, Facultad de Agronomía, y

<sup>2</sup>Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala

\*Autor al que se dirige la correspondencia: julioepr@hotmail.es

Recibido: 11 de julio de 2018 / Revisión: 05 de marzo 2019 / Aceptado: 27 de mayo 2019

## Resumen

*Volvariella bombycina* es una especie de hongo saprófito comestible que crece en troncos de árboles muertos y sobre la cual existe abundante información acerca de su sabor y propiedades nutricionales y medicinales. En Guatemala esta especie se consume en diversas regiones templado-cálidas del país, pero a la fecha no existe ningún estudio sobre su cultivo a nivel local. La presente investigación se realizó con el fin de conocer el comportamiento de tres cepas guatemaltecas de *V. bombycina* cultivadas en desechos agroindustriales. Las cepas fueron aisladas de basidiomas recolectados en bosques cercanos a la Ciudad de Guatemala, utilizándose medio PDA para el aislamiento y temperatura de 30 °C para incubación. En la producción de inóculo se calculó la tasa de extensión radial (RER) sobre granos de sorgo y trigo en cajas de Petri. Para la obtención de basidiomas se evaluaron seis sustratos de desechos agrícolas: pasto jaraguá, caña y olote de maíz, rastrojo de frijol, paja de trigo, paja de arroz y tronco de tonché (*Ipomoea murucoides*), en frascos de vidrio. Se encontró que no hubo diferencia estadística significativa en el análisis de la RER entre las cepas VNPNU-01 y AADM-01 ( $p > .05$ ), pero sí con la cepa VNPNU-02 ( $p < .05$ ). Se obtuvieron basidiomas de *V. bombycina* en los seis sustratos evaluados, siendo la cepa AADM-01 la más productiva. De acuerdo con este estudio, las tres cepas guatemaltecas de *V. bombycina* pueden ser utilizadas en la producción de basidiomas en desechos agrícolas, lo que permitiría obtener un alimento nutritivo y generar ingresos a quienes deseen cultivar este hongo.

Palabras claves: hongos, tonché, RER, sustratos agrícolas.

## Abstract

*Volvariella bombycina* is a species of edible saprophyte fungus that grows on logs of dead trees and about which there is information about its taste and nutritional and medicinal properties. In Guatemala this species is consumed in several warm regions of the country, but there is still no study on its cultivation locally. The present investigation was carried out in order to know the behavior of three Guatemalan strains of *V. bombycina* when cultivated in agricultural wastes. The strains were isolated from basidiomata collected in forests close to Guatemala City, using PDA medium and a temperature of 30°C for incubation. In the inoculum production, the radial extension rate (RER) was calculated using sorghum and wheat grains in Petri dishes. For obtaining basidiomata, six agricultural wastes substrates were analyzed: grazing grass, cane and corn cob, stubble of bean, wheat straw, rice straw and tonché trunk (*Ipomoea murucoides*), in glass jars. There was found no significant difference in the statistical analysis of the RER with the VNPNU-01 and AADM-01 strains ( $p > .05$ ), but it was significant with the VNPNU-02 strain ( $p > .05$ ). Basidiomata of *V. bombycina* were obtained in the six substrates evaluated, being the AADM-01 strain the most productive. According to this evaluation, the three Guatemalan strains of *V. bombycina* can be used in the production of basidiomas using agricultural wastes, what would allow the production of a nutritious food and generate another income for those who want to grow this mushroom.

Keywords fungi, tonché, RER, agricultural substrates.

## Introducción

*Volvariella bombycina* (Schaeff.) Singer, es una especie de hongo saprobio comestible que crece en troncos de árboles muertos. Se encuentra ampliamente distribuido a nivel mundial (Seok et al., 2002) y se cultiva artesanalmente por su delicado sabor, alto contenido de nutrientes y por sus propiedades medicinales anticancerígenas, antitumorales y antibacterianas (Badalyan, 2003; Jegadeesh et al., 2010; Karnan, Tamilkani, Senthilkumar, Vijayalakshmi, & Panneerselvam, 2016). Para su cultivo, se ha estudiado el uso de desechos agroindustriales, particularmente de cereales, con los que se han obtenido buenos resultados (Julián & Salmones, 2006; Karnan et al., 2016).

En Guatemala esta especie es consumida por agricultores que la conocen como “hongo del tonché”, por crecer en troncos muertos de *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult., popularmente llamada tonché o tutumuzco, la cual se distribuye desde el sur de México hasta Guatemala, principalmente en los departamentos de Chiquimula, Jalapa, Jutiapa, Santa Rosa, Guatemala, Sacatepéquez, Quiché y Huehuetenango (Standley & Steyermark, 1970). Debido a que no se ha estudiado el cultivo de *V. bombycina* en Guatemala, se considera oportuno lograr el aislamiento y cultivo de cepas nativas para ensayar la producción de basidiomas utilizando distintos desechos agroindustriales en condiciones de laboratorio. Este estudio tiene como base la importancia local de esta especie comestible, la conveniencia de mantener y promover áreas forestales con su diversidad biológica local y la necesidad de buscar alternativas para el aprovechamiento de los residuos agrícolas y reducir la contaminación ambiental.

## Materiales y métodos

### Colecta y aislamiento de cepas de *Volvariella bombycina*

Se recolectaron 35 basidiomas de *V. bombycina* en bosques de los municipios de Amatitlán y Villa Nueva, del departamento de Guatemala, durante la época lluviosa de los años 2016 y 2017. De esos especímenes se logró el aislamiento de cinco cepas, de las cuáles tres mostraron buen crecimiento en condiciones de laboratorio. Dos provienen de basidiomas recolectados en el Parque Naciones Unidas, Villa Nueva, identificadas como VNPNU-01 y VNPNU-02. La tercera fue aisla-

da de un ejemplar recolectado en la aldea Agua de la Mina, Amatitlán, identificada como AADM-01. Las cepas fueron aisladas en medio PDA en cajas de Petri e incubadas a 30°C en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia así como en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, donde se encuentran resguardadas.

### Revitalización de las cepas y producción de biomasa

Las tres cepas fueron re-sembradas en medio PDA e incubadas a 30°C durante siete días.

### Evaluación de la tasa de extensión radial (RER)

Para la evaluación de la tasa de extensión radial (RER) se emplearon granos de trigo y sorgo, los cuales fueron hidratados durante 12 h hasta alcanzar un porcentaje de humedad aproximada del 80%, la cual se determinó con un higrómetro marca Extech, No. 445815. Luego los granos fueron hervidos durante 15 min y posteriormente secados al aire libre sobre una superficie limpia, añadiendo cal ( $\text{CaCO}_3$ ) para regular el pH. Más tarde se colocaron 30 g en peso húmedo de esos granos en cajas de Petri de vidrio de 9 cm de diámetro. En ensayos preliminares se observó que al agregar cal al 1% para elevar el pH a 7.0 y estimular el crecimiento micelial, las cepas VNPNU-01 y AADM-01 no crecían, por lo que se decidió reducir la concentración de  $\text{CaCO}_3$  al 0.5% (5g/Kg) a tales cepas, mientras que se decidió mantener la concentración de  $\text{CaCO}_3$  al 1% p/p (10g/Kg) para la cepa VNPNU-02. Las cajas de Petri con granos fueron esterilizadas durante 30 min a 121°C y 1.0 kg/cm<sup>2</sup>, y se enfriaron a temperatura ambiente. Posteriormente, fueron inoculadas con un fragmento de 5 mm de diámetro de cultivo de *V. bombycina* en PDA, de cada una de las cepas. Se realizaron siete repeticiones por sustrato, cepa y se incubaron a 30°C.

El crecimiento micelial fue monitoreado cada 3 días de acuerdo con las recomendaciones de Coello-Castillo, Sánchez y Royse (2009), realizando mediciones hasta observar la colonización completa de los granos. Se calculó la tasa de extensión radial (RER) con la fórmula:  $\text{RER} = (X_2 - X_1) / (T_2 - T_1)$  (mm/día), donde  $X_1$  es el diámetro inicial de la colonia en mm,  $X_2$  el diámetro final,  $T_1$  el tiempo inicial y  $T_2$  el tiempo final de incubación en días.

## Producción del inóculo

Para la producción del inóculo, se eligió sorgo por su mayor disponibilidad en el mercado local, bajo costo y porque ha sido el más utilizado para muchas especies de hongos comestibles. Los granos fueron tratados de forma similar como se indicó para la RER, con la diferencia que estos fueron introducidos en bolsas de polipropileno conocidas como “tipo cristal”, con capacidad de tres libras, a razón de 400 g por bolsa. La esterilización se realizó en autoclave durante 30 min a 121°C y 1.0 kg/cm<sup>2</sup>, dejándose después enfriar durante 4 h. Las bolsas con granos fueron inoculadas con cada una de las cepas de *V. bombycina* aisladas y se incubaron a 30°C por 30 días.

## Producción de basidiomas

### Sustratos

Para la obtención de basidiomas de las tres cepas de *V. bombycina*, se utilizaron como sustratos: caña y olote de maíz (*Zea mays* L.), rastrojo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), paja de trigo (*Triticum aestivum* L.), pasto jaraguá (*Hyparrhenia rufa* (Nees) Stapf), paja de arroz (*Oryza sativa* L.) y tronco triturado de tonché (I. mucuroides).

## Preparación de los sustratos

La mayoría de los sustratos, a excepción del frijol, fueron cortados en trozos de aproximadamente 5 cm de longitud con la ayuda de una picadora de rastrojos marca Mactron©. Luego fueron compostados durante 20 días con un volteo semanal. Al terminar el composteo, fueron sumergidos en agua alcalina a razón de dos libras de CaCO<sub>3</sub> por cada 200 L de agua, durante dos días con la finalidad de modificar el pH y disminuir la población microbiana indeseable.

Posteriormente se utilizaron frascos de vidrio de 7 cm de alto y 5.2 cm de diámetro, los cuales se llenaron al 90% de su capacidad con cada uno de los seis sustratos a los que se les tomó el peso seco (ver Tabla 2). Luego, se esterilizaron en autoclave durante una hora a 121°C y 1 kg/cm<sup>2</sup> y se dejaron enfriar.

## Siembra e incubación

Los frascos con sustrato fueron inoculados con micelio de cada una de las tres cepas aisladas y se in-

cularon durante 25 días. Sin embargo, se dispuso una variante en la temperatura de incubación, las cepas AADM-01 y VNPNU-01 se mantuvieron a 30°C mientras que la cepa VNPNU-02 a temperatura ambiente (21-23°C), dentro de una caja de cartón. Esta variante se consideró por observación de que el micelio de la cepa VNPNU-02 no crecía a 30°C en los sustratos sino que lo hacía a temperaturas más bajas, lo cual se observó en distintas pruebas realizadas previamente.

## Inducción de la fructificación

Para inducir la formación de basidiomas del hongo, se utilizó una bandeja plástica con una lámina de agua de aproximadamente una pulgada y dentro de ella se introdujeron los frascos colonizados. Posteriormente se colocó sobre ellos una película de nylon transparente para mantener la humedad relativa e inducir el apareamiento de primordios, según lo recomendado por Guzmán y colaboradores (1993). La temperatura a la cual estuvieron los frascos inoculados fue la del ambiente, la cual fluctuaba en el día entre 21 y 23 grados y 90% de humedad relativa, la cual se controló con la ayuda de un higrómetro.

## Cosecha de los basidiomas

Los basidiomas fueron cosechados cuando alcanzaron su máximo desarrollo, es decir, al observarse púleos totalmente extendidos, con típica forma de sombrilla (Figura 4).

## Diseño y análisis de la información

Para el estudio del crecimiento micelial en granos, se utilizó un diseño factorial 3 x 2 (3 cepas y dos granos). Al finalizar los tiempos de incubación se realizó el cálculo de la media aritmética del diámetro de las colonias, la tasa de extensión radial (RER) y su desviación estándar. Se realizó análisis de varianza (ANOVA) y comparación múltiple de medias con la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) para determinar diferencias significativas entre los valores de RER de las cepas y cada uno de los dos granos evaluados en la producción de inóculo. No se analizó estadísticamente la eficiencia biológica (EB) de las cepas, únicamente estimación de la EB para la primera producción de la cepa AADM-01.

## Resultados

En cuanto al crecimiento micelial de las cepas de *V. bombycina*, se observó que de 30°C, la cepa AADM-01 tuvo mayor crecimiento en granos de trigo (10.21 mm/día), mientras la cepa VNPNU-01 en sorgo (9.21 mm/día) y la cepa VNPNU-02 en trigo (3.69 mm/día). Según el análisis estadístico realizado, hubo diferencias en el crecimiento de las cepas del hongo basado en la RER en los dos sustratos evaluados. En las cajas con sorgo las cepas VNPNU-01 y AADM-01 fueron similares en crecimiento respecto a la cepa VNPNU-02 (Tabla 1). No hubo diferencia significativa entre las cepas VNPNU-01 y AADM-01 ( $p > .05$ ) pero sí con la cepa VNPNU-02 ( $p < .05$ ) (Figura 1). Según el análisis estadístico, sin tomar en cuenta las cepas, se observó que no existió diferencia significativa entre el trigo y el sorgo ( $p > .05$ ), respecto a la RER ya que se obtuvieron datos similares por las cepas VNPNU-01 y AADM-01, (Figura 2). En cuanto al comportamiento de las cepas sin tomar en cuenta los granos utilizados, se encontraron diferencias significativas entre ellas ( $p < .05$ ), observándose que la cepa AADM-01 colonizó más rápidamente, seguido por la cepa VNPNU-01 y la que obtuvo la menor velocidad de colonización fue la cepa VNPNU-2 (Figura 3).

Al estudiar los micelios en el microscopio, se observó que las cepas VNPNU-01 y AADM-01 produjeron abundante cantidad de clamidosporas, estructuras

que estuvieron ausentes en la cepa VNPNU-02.

Para la producción de basidiomas, se realizaron pequeños ensayos paralelos a la presente investigación en donde se observó que la cepa VNPNU-01 produjo basidiomas únicamente en tronco triturado de tonché, mientras que la cepa VNPNU-02, lo hizo en paja de trigo.

La cepa AADM-01 formó primordios en los siete sustratos evaluados. La producción de basidiomas bien desarrollados únicamente fue posible en cuatro de ellos (olote de maíz, rastrojo de frijol, pasto jaragua y paja de arroz). Se estimó la eficiencia biológica para esta cepa en la primera oleada que fue la más productiva. De acuerdo con los resultados, el olote de maíz obtuvo el valor más alto y el más bajo fue para el sustrato de paja de arroz (Tabla 2). La temperatura a la cual se produjo la fructificación fue entre 21 y 23°C y una humedad relativa del 90%.

La cepa VNPNU-02 sufrió contaminación por diversos hongos patógenos, especialmente *Chaetomium* sp. y *Fusarium* sp., mientras que las cepas VNPNU-01 y AADM-01, no presentaron contaminaciones.

## Discusión

Las cepas de *V. bombycina* AADM-01, procedente de Amatitlán y VNPNU-01 de Villa nueva, crecieron vigorosamente en medio PDA a 30 °C a los 7-8 días. Esto concuerda con lo reportado por Nannapaneni y Subbiah (2016), en condiciones semejantes de temperatura, tiempo y medio de cultivo. Por el contrario, la cepa VNPNU-02 de Villa Nueva, creció menos y produjo colonias con formas irregulares.

Las cepas VNPNU-01 y AADM-01, formaron clamidosporas en PDA durante su incubación a 30°C. Chang y Yau (1971) indicaron que una cepa de alta productividad de *Volvariella* puede determinarse mediante sus caracteres morfológicos, alta tasa de crecimiento micelial, tipo de micelio y formación de hifas aéreas así como por la producción de clamidosporas. Las cepas VNPNU-01 y AADM-01, formaron clamidosporas en PDA durante su incubación a 30°C, por lo que podrían ser consideradas potencialmente adecuadas para su reproducción artesanal y semi-intensiva en Guatemala.

En la producción de inóculo, se observó que las cepas VNPNU-01 y AADM-01, colonizaron rápidamente las placas de Petri con los granos de sorgo y trigo, entre 8 y 12 días, mientras que la cepa VNPNU-02 en 19 días sin cubrir totalmente la placa. Estos datos son parecidos a los de Nannapaneni y Subbiah (2016),

Tabla 1  
Tasa de extensión radial para producción de inóculo

Cepa	Grano	R ER (mm/día) <sup>1</sup>	
VNPNU-01	Sorgo	9.21 (1.09)	a <sup>2</sup>
	Trigo	8.50 (0.00)	a
AADM-01	Sorgo	9.87 (1.77)	a
	Trigo	10.21 (1.32)	a
VNPNU-02	Sorgo	3.13 (1.17)	b
	Trigo	3.69 (0.70)	b

Nota. 1: Media  $\pm$  la desviación estándar. 2: Letras en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa, de acuerdo con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

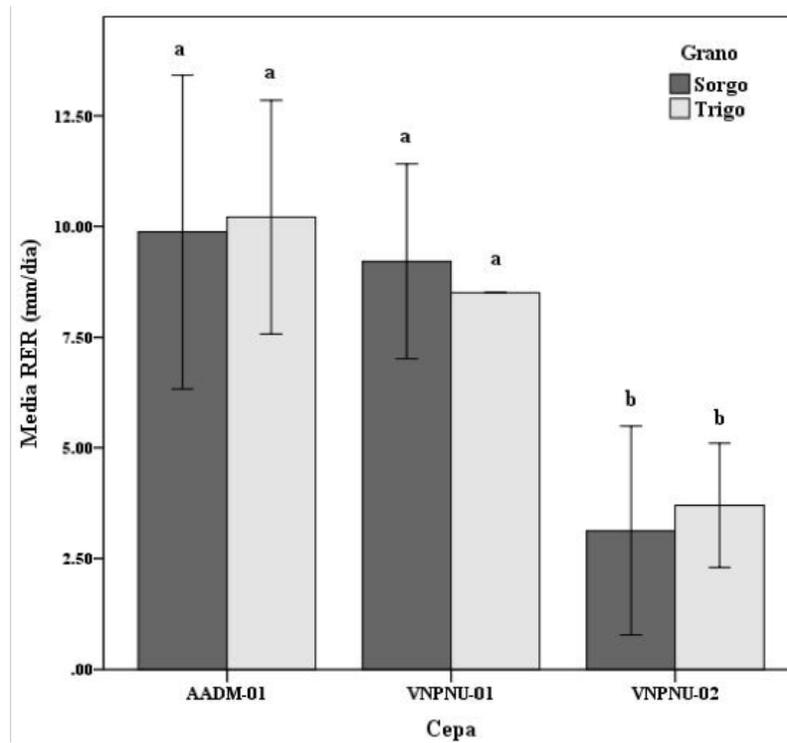


Figura 1. Efecto de las cepas sobre RER en diferentes sustratos. Las barras indican la media. Las barras de error muestran  $\pm$  la desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < .05$ ).

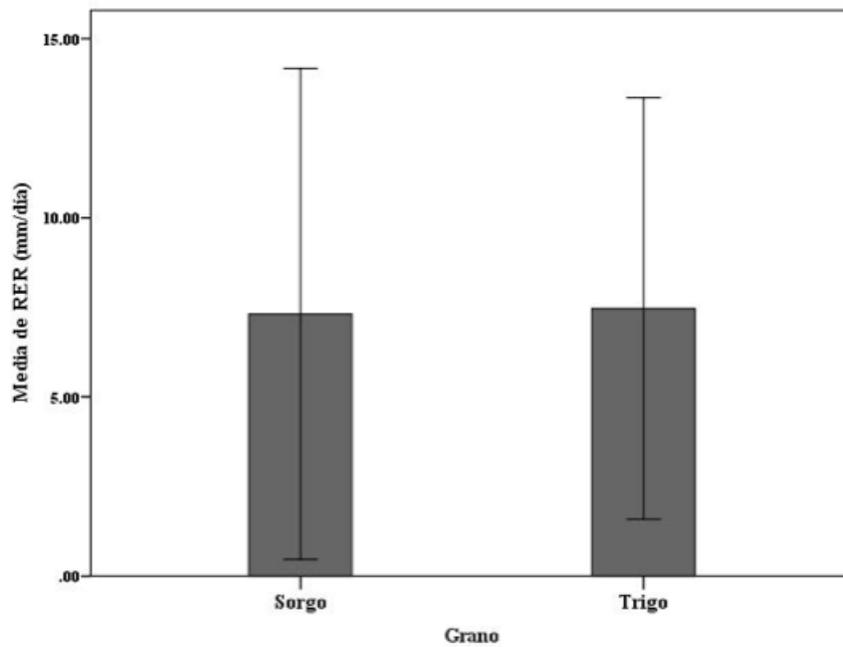


Figura 2. Comportamiento de los granos con respecto a RER sin tomar en cuenta las cepas evaluadas. Las barras indican la media. Las barras de error muestran la desviación estándar.

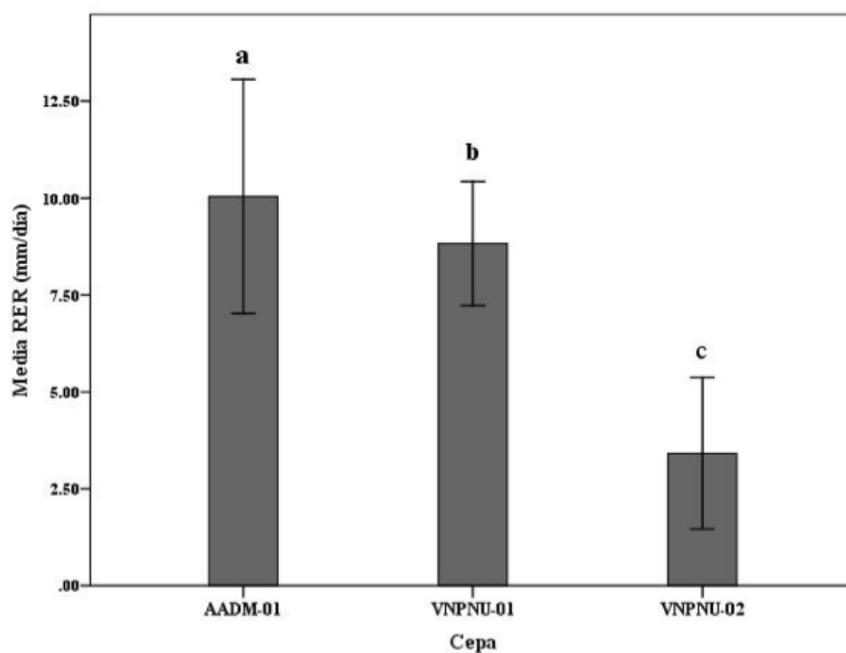


Figura 3. Comportamiento de las cepas sin tomar en cuenta los granos utilizados. Las barras indican la media. Las barras de error muestran  $\pm$  la desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < .05$ ).

Tabla 2

Eficiencia biológica (EB) estimada para una oleada de *V. bombycina*, cepa AADM-01 en distintos sustratos agroindustriales

Sustrato	PSS (g)	PFH (g)	EB (%)
Caña de maíz	41.91	0	0.00
Olote de maíz	36.69	4.34	11.83
Frijol	23.97	2.41	10.05
Paja de trigo	31.67	0	0.00
Pasto jaraguá	30.44	1.33	4.37
Paja de arroz	62.64	1.42	2.27
Tronco de tonché	57.78	0	0.00

Nota. PSS = Peso seco del sustrato. PFH = Peso fresco de los hongos. EB = Eficiencia biológica

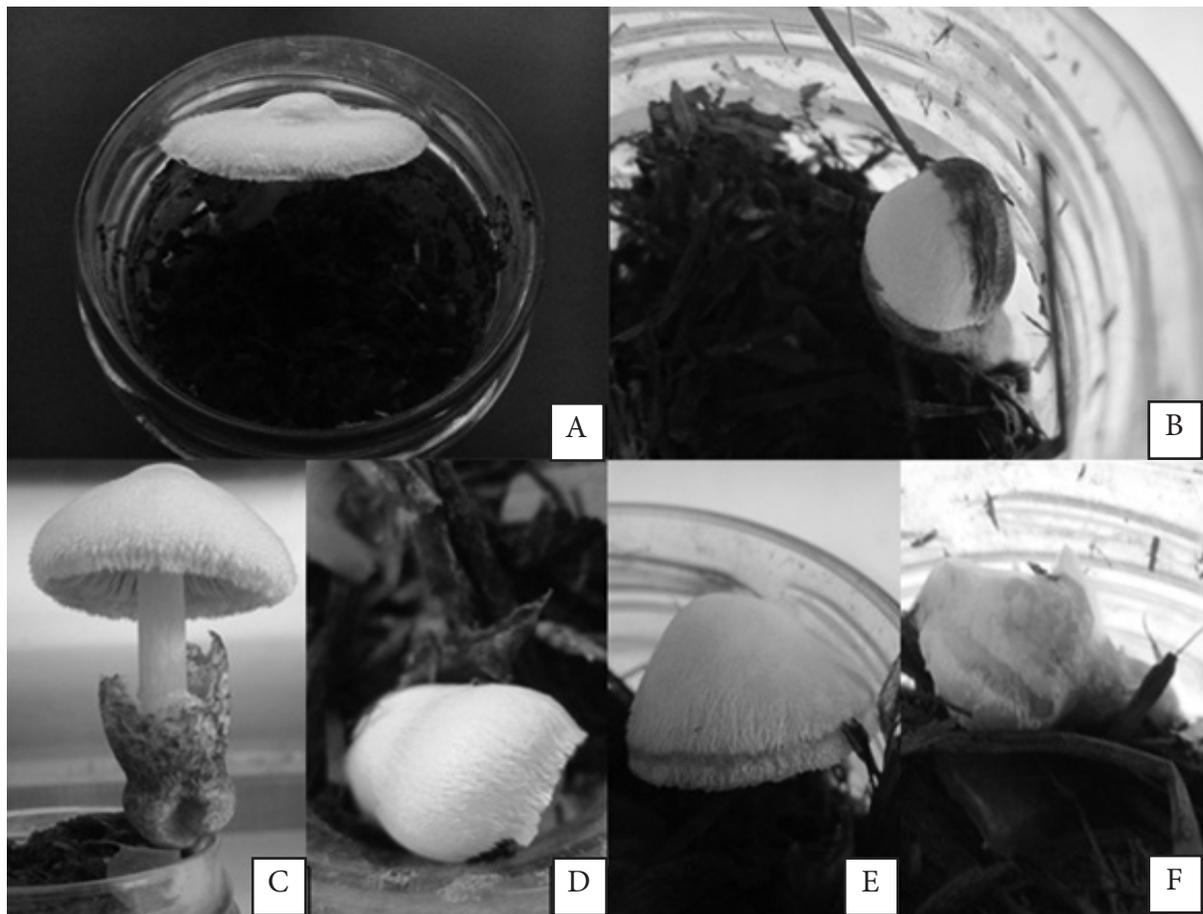


Figura 4. Fructificaciones obtenidas de diferentes cepas de *V. bombycina* en diferentes sustratos. A. Cepa VNPNU-01 en tronco de tonché. B. Cepa VNPNU-02 en paja de trigo. C-F cepa AADM-01. C. Olote de maíz. D. Rastrojo de frijol. E. Paja de arroz. F. Pasto jaraguá.

quienes obtuvieron cultivos de *V. volvacea* y *V. bombycina* en paja de arroz y serrín entre 6 a 16 días con temperaturas entre 28 y 30°C. También con los de Jonathan y Awotona (2011), quienes reportan crecimiento de cepas de *V. bombycina* desde 14°C a 38°C, siendo las mejores entre 26°C y 28°C, con buen crecimiento a 24°C, 26°C y 30°C, similares a los evaluados en la presente investigación.

Al evaluar la RER, se observó que el tipo de grano no tuvo influencia en el crecimiento micelial en ninguna de las tres cepas, lo cual es una ventaja en la selección de granos para la elaboración de inóculo. Para este fin, se trabajó únicamente granos de sorgo por ser el más utilizado a nivel mundial en la mayoría de hongos comestibles, incluyendo *V. bombycina* (Stamets, 2005).

Las fructificaciones de las tres cepas de *V. bombycina* ocurrieron a temperaturas entre 15°C y 23°C lo cual asemeja a los resultados obtenidos por Rendón (2015) con temperaturas entre 14°C y 23°C y 65% de humedad relativa. Sin embargo, la humedad relativa para la presente investigación se mantuvo entre 75 y 90%, la cual se midió con un higrómetro durante el tiempo que duró el ensayo. Nannapaneni y Subbiah (2016), mencionan que las temperaturas entre 26-30°C y los sustratos lignocelulósicos son los más adecuados para la producción extensiva de esta especie.

Cada una de las cepas fructificó en sustratos diferentes. La cepa VNPNU-01 fructificó únicamente en tronco triturado de tonché, la cepa VNPNU-02 en paja de trigo y la cepa AADM-01 fructificó en olote de maíz, rastrojo de frijol, paja de arroz y pasto jaraguá. Cuatro

de los sustratos (tronco de tonché, paja de arroz, paja de trigo y olote de maíz) fueron reportados por Guzmán y colaboradores, (1993), como materiales para el cultivo de hongos del género *Volvariella* en México. Además, concuerdan con los trabajos de Sierra-Fernández, López-Díaz y García-Garabal (2002), quienes mencionan que *V. bombycina* se puede cultivar en los mismos sustratos para *Pleurotus ostreatus*, con el de Rendón (2015) en paja de trigo humedecida y de Jonathan y Awotona (2011) con mazorcas de maíz.

La eficiencia biológica estimada para *V. bombycina* en este estudio se realizó únicamente con la cepa AADM-01, ya que fue la única que logró producir primordios en todos los sustratos evaluados y basidiomas en cuatro de ellos. La mayor EB se obtuvo en el olote de maíz, seguido por el rastrojo de frijol, paja de arroz y pasto jaraguá (Tabla 2). Sin embargo, los valores obtenidos son relativamente bajos en comparación con lo reportado por otros autores, ya que solo se logró obtener datos de una cosecha y fue en frascos pequeños. La paja de arroz es la más utilizada en países asiáticos donde se practica el cultivo de *Volvariella*, y ha dado mejores resultados comparado con otros sustratos, sin embargo Rendón obtuvo eficiencias biológicas de 33.5 y 32.5 utilizando paja de trigo y Jonathan y Awotona (2011) obtuvieron promedios de 33 y 25 cuerpos fructíferos en tres oleadas con pericarpio de palma aceitera y residuos de algodón. En este estudio, se obtuvo mayor eficiencia con el uso de olote de maíz, comparado con los demás sustratos.

Esto se convierte en una ventaja para la producción de *V. bombycina* en Guatemala, ya que la mayoría de los sustratos evaluados, se encuentran disponibles y accesibles en las áreas rurales, especialmente el olote de maíz, rastrojo de frijol y pasto jaraguá.

### Agradecimientos

Esta investigación fue cofinanciada por Digi-Usac-2017, proyecto: 4.8.63.6.02. Agradecimientos especiales a Dulce Salmenes por sus consejos para la obtención de basidiomas de *V. bombycina*. Al señor Carlos Peralta por brindar sus conocimientos en la identificación de los árboles de tonché y sitios de colecta de los especímenes de *Volvariella bombycina*. A Luis P. Pinzón, Jorge L. Peralta, Ingrid N. Pacal y Fernanda López por sus aportes al proyecto.

### Referencias

- Badalyan, S. M. (2003). Edible and medicinal higher basidiomycetes mushrooms as a source of natural antioxidants. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 5(2), 153-162.
- Chang, S. T., & Yau, C. K. (1971). *Volvariella volvacea* and its life history. *American Journal of Botany*, 58(6), 552-561.
- Coello-Castillo, M., Sanches, J., & Royse, D. (2009). Producción of *Agaricus bisporus* on substrates pre-colonized by *Scytalidium thermophilum* and supplemented at casing with protein-rich supplements. *Bioresource Technology*, 100(19), 4488-4492.
- Guzmán, G., Mata, G., Salmenes, D., Soto-Velazco, C. & Guzmán-Dávalos, L. (1993). *El cultivo de los hongos comestibles con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales*. Xalapa: Instituto Politécnico Nacional.
- Jegadeesh, R., Raaman, N., Periyasamy, K., Hariprasaath, L. Thangaraj, R., Srikumar, R., & Ayyappan, S. (2010). Proximate analysis and antibacterial activity of an edible mushroom *Volvariella bombycina*. *Internacional Journal of Microbiological Research*, 1(3), 110-113.
- Jonathan, S. & Awotona, S. (2011). Effect of different physico-chemical factors and agricultural wastes on mycelia growth and fruit bodies production of *Volvariella bombycina* (Schaeff: Ex.Fr) Singer. *Biotechnology An Indian Journal*, 5(5), 302-306.
- Julián, C. A., & Salmenes, D. (2006). Cultivo de *Volvariella volvacea* en residuos de la cosecha de plátano y paja de cebada. *Revista Mexicana de Micología*, 23, 87-92.
- Justo, A., & Castro, M. (2010). The genus *Volvariella* in Spain: *V. dunensis* comb. & stat. nov. and observations on *V. earlei*. *Mycotaxon*, 10(112), 261-270.
- MuthusamyKarnan, Tamilkani, P., Senthilkumar, G., Vijayalakshmi, S., & Panneerselvam, A., (2016). *Volvariella bombycina* of Tamil Nadu. *International Journal of Information Research and Review*, 3(4), 2175-2178.
- Nannapaneni, K., & Subbiah, K. (2016). Influence of spawn base on chlamydospores production of

- Volvariella volvaceae* (Bull. Ex Fr.) Singer and *Volvariella bombycina* (Schaeff.) Singer. *Progressive Research – An International Journal 11* (Special-III), 1802-1803.
- Rendón, G. A. (2015). *Caracterización y cultivo de diferentes recursos genéticos de hongos y su importancia en el desarrollo regional de la zona central de México* (Tesis de maestría). Colegio de Postgraduados, Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, México.
- Seok, S. J., Kim, Y. S., Weon, H. Y., Lee, K. H., Park, K. M., Min, K. H., & Yoo, K. H. (2002). Taxonomic study on *Volvariella* in Korea. *Mycobiology*, 30(4), 183-192.
- Sierra-Fernández, J., López-Díaz, T., & García-Garabal, J. (2002). *Lo que debe saber de las setas cultivadas*. España: Caja.
- Stamets, P. (2005). *Mycelium running: How mushrooms can help save the world*. Berkeley: Ten Speed Press.
- Standley, P. C., & Williams, L. O. (1970). *Flora of Guatemala* (Fieldiana: Botany, Vol. 24, part. 9, No. 1 & 2, p. 43). Chicago, Illinois: Field Museum of Natural History.