

Cultivo de una cepa comercial de *Pleurotus ostreatus* en desechos de *Simmondsia chinensis* y *Jatropha macrocarpa*

Sebastián Fracchia¹

Adriana Aranda Ricker¹

Esteban Terrizzano²

¹ CRILAR, Centro Regional de Investigaciones Científicas y Transferencia Tecnológica, Mendoza y Entre Ríos s/n Anillaco, La Rioja, Argentina. ² Establecimiento Las Hifas, Olivera, Buenos Aires, Argentina

Culture of a commercial strain of *Pleurotus ostreatus* on *Simmondsia chinensis* and *Jatropha macrocarpa* residues

Abstract. The feasibility of the cultivation of a *Pleurotus ostreatus* strain was evaluated on wastes of two plant species cultivated in north-west Argentina: *Simmondsia chinensis* and *Jatropha macrocarpa*. The mycelial growth of *P. ostreatus* was analysed on Petri dishes containing different proportions of both plant species wastes. The combination 4:1 of *J. macrocarpa/S. chinensis* resulted as the most effective on the vegetative growth of *P. ostreatus*. Subsequently it was carried out the experimental culture under controlled conditions of light, temperature and humidity. Six treatments were done with different combinations of wheat straw and the plant wastes. *J. macrocarpa* and *S. chinensis* combination resulted as the most effective, with a biological efficiency of 89.7% and a production rate of 1.74%. Both substrates are a feasible alternative for the commercial production of *Pleurotus* genus in regions where no cereals crops are cultivated, like in the Province of La Rioja, Argentina.

Key words: edible mushrooms, agriculture wastes, La Rioja, Argentina.

Resumen. Se evaluó la factibilidad del cultivo de una cepa de *Pleurotus ostreatus* en desechos de dos especies vegetales cultivadas en el noroeste de Argentina: *Simmondsia chinensis* y *Jatropha macrocarpa*. Se analizó el crecimiento micelial de *P. ostreatus* en cajas de Petri contenido distinas proporciones de los desechos de ambas especies. La combinación de 4:1 de *J. macrocarpa/S. chinensis* resultó la más efectiva en el crecimiento vegetativo de *P. ostreatus*. Posteriormente se realizó el cultivo experimental en condiciones controladas de luz, temperatura y humedad. Se evaluaron seis tratamientos combinando paja de trigo y los desechos nombrados. La combinación de *J. macrocarpa* y *S. chinensis* resultó la más efectiva con una eficiencia biológica de 89.7% y una tasa de producción de 1.74%. Ambos sustratos son una alternativa viable para la producción comercial de *Pleurotus* en regiones donde no se cultivan cereales, como la provincia de La Rioja, Argentina.

Palabras clave: hongos comestibles, subproductos agrícolas, La Rioja, Argentina.

Received 11 December 2008; accepted 10 June 2009.

Recibido 11 de diciembre 2008; aceptado 10 de junio 2009.

Introducción

El cultivo de especies del género *Pleurotus* alcanzó el 24.2% de la producción mundial de hongos comestibles en el año

*Autor para correspondencia: Dr. Sebastián Fracchia
sfracchia@crilar-conicet.com.ar*

1998 (Stamets, 2000), y su importancia comercial tiende a equipararse con el tiempo al cultivo de *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. y *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler. (Cohen et al., 2002). Diferentes especies de *Pleurotus* se han cultivado en un gran número de sustratos lignocelulósicos, la mayoría de ellos subproductos agrícolas (Salusso y Moraña, 1997;

Darjania *et al.*, 1997; Obodai *et al.*, 2003; Sánchez *et al.*, 2009). La baja especificidad de las enzimas ligninolíticas excretadas por estos hongos explica su habilidad para degradar un amplio espectro de sustratos muchos de ellos tóxicos para el medio ambiente (Oduardo *et al.*; 2003; Kalmis y Sargin, 2004).

En Argentina se cultiva exclusivamente la especie *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. en paja de trigo, ya que este sustrato es abundante en la zona pampeana donde el área cultivada de trigo excede las 5×10^6 ha (Abbate *et al.*, 1998). Sin embargo, en la zona precordillerana al oeste del meridiano 66 °W no existen condiciones edafoclimáticas apropiadas para el cultivo extensivo de cereales, y tampoco iniciativas de cultivo de *Pleurotus*. En la provincia de La Rioja, ubicada en esta franja, se cultiva *Simmondsia chinensis* (Link) C.K. Schneid. para la obtención de ceras, figurando la provincia como primer productor mundial (Gayol *et al.*, 2004). Más de 1000 t de desechos de la molienda de la semilla (torta residual) se vuelcan anualmente en vertederos de la periferia de las ciudades y pueblos de la región. Altos valores de proteínas y nitrógeno caracterizan a este residuo (Gayol *et al.*, 2007).

En los últimos años se está incorporando en la zona el cultivo de algunas especies de *Jatropha* para la obtención de aceite para producción de biodiesel. Está en pleno auge el cultivo de *Jatropha curcas* L. y existen parcelas experimentales de *J. macrocarpa* Griseb., una especie autóctona con resultados auspiciosos para su cultivo a gran escala debido a su mayor adaptación a las condiciones edafoclimáticas locales. De este cultivo se aprovechan las semillas para la extracción del aceite y se desechan restos del fruto (cascarilla), que posee un pericarpio leñoso lignificado (>90% peso seco total).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la factibilidad del cultivo de una cepa comercial de *P. ostreatus* en desechos de *S. chinensis* y *J. macrocarpa*, combinados entre sí y con paja de trigo, con la finalidad de utilizar estos residuos lignocelulósicos para el cultivo de hongos, en una

provincia de muy baja productividad de cereales en Argentina.

Materiales y métodos

Material biológico

La cepa de *P. ostreatus* (código LH 8) de origen español, fue proporcionada por la compañía Las Hifas, Argentina (www.lashifas.com.ar). El inóculo para los cultivos experimentales fue elaborado con semillas de trigo colonizadas por la cepa seleccionada.

Obtención de los sustratos

El desecho del prensado de las semillas de *S. chinensis* (Sc) se obtuvo de un molino industrial de la zona de producción (Aimogasta, La Rioja). La cascarilla de *J. macrocarpa* (Jm) a partir de frutos recolectados manualmente de una parcela experimental del cultivo (Talamuyuna, La Rioja), los frutos se secaron hasta su dehiscencia y se separaron las semillas de la cascarilla. La paja de trigo se obtuvo de un productor de la zona pampeana (Olivera, Buenos Aires).

Desarrollo micelial de *P. ostreatus* en desechos de *S. chinensis* y *J. macrocarpa*

Para determinar las proporciones de los sustratos, se realizaron pruebas preliminares midiendo el desarrollo micelial de *P. ostreatus* usando desechos estériles de Sc y Jm. Para evaluar el desecho de Sc como sustrato de crecimiento, se secó en estufa a 70°C y posteriormente se trituró en un molino eléctrico hasta obtener una granulometría menor a 0.2 mm. Se probaron 5 proporciones del desecho en el medio APG (agar papa glucosado) diluido al 50% y un testigo con APG solo: 0, 5, 10, 15, 20, 25% (V/V; desecho seco de Sc/APG 50%). Se reguló el pH de cada proporción a 7.0±0,5 con el agregado de NaOH y se llenaron cajas de Petri de 10 cm con 30 mL de las distintas proporciones.

En un segundo ensayo se evaluó el crecimiento micelial de *P. ostreatus* en combinaciones de desechos de Sc y Jm. Se deshidrataron los mismos a 70°C y se molieron por separado en un molino eléctrico hasta una granulometría < 2 mm. Se realizaron 8 proporciones diferentes y un testigo con cascarilla de Jm sola: 100, 95, 90, 85, 80, 75, 70, 65 y 60% (P/P, Jm/Sc sustrato seco). Posteriormente los sustratos se rehidrataron con agua destilada hasta alcanzar una humedad de 70±5%. El pH fue de 6.4 y 6.8 para Sc y Jm respectivamente. Se prepararon cajas de Petri de 10 cm con el agregado de 25 g (peso húmedo) de los sustratos. Se seleccionaron *a priori* menores proporciones de Sc debido a su elevado contenido en proteínas y N, y a su alta capacidad de retención hídrica.

En ambos ensayos las cajas se esterilizaron a 121 °C durante 20 min; se inoculó en el centro de cada caja 1 cm² de micelio de *P. ostreatus* de 5 d de crecimiento en APG. Se realizaron 5 réplicas por cada tratamiento. Las cajas se incubaron en oscuridad a 26±1°C. A los 7 d de crecimiento (ensayo Sc/APG 50%) y a los 9 d (ensayo Jm/Sc) se midió el diámetro del micelio, tomando el promedio de tres medidas por caja.

Cultivo experimental

Los sustratos seleccionados se prepararon de la siguiente manera: la paja de trigo usada como testigo, se cortó manualmente en segmentos de 1-5 cm, la cascarilla de Jm se utilizó directamente sin moler; el desecho de Sc se dejó secar sobre una malla metálica durante 6 d a temperatura ambiente y luego se tamizó para obtener una granulometría < 2 mm.

A los seis tratamientos realizados se les agregaron 4% de CaCO₃ para ajustar el pH entre 6.5-7.0. Los tratamientos fueron: J: 96% cascarilla de Jm, P: 96% paja de trigo, PJ: 48% paja de trigo, 48% cascarilla de Jm, PS: 78% paja de trigo, 18% desecho de Sc, PJS: 39% paja de trigo, 39% cascarilla de Jm, 18% desecho de Sc, JS: 78% cascarilla de Jm, 18% desecho de Sc. Las proporciones se realizaron

respecto al peso seco de los sustratos. Las mezclas se hidrataron durante 12 h. La capacidad de retención de agua de los tratamientos fue: J: 61.6%; JS: 68.9%; P: 74.2%, PS: 78.3%; PJ: 71.4% y PJS: 73%. El desecho de Sc tuvo mayor capacidad de retención de agua por sus características granulométricas y contenido de almidón y proteínas.

Se llenaron bolsas de polipropileno de 25 x 35cm con 1.7 kg (peso húmedo) del sustrato respectivo y se pasteurizaron en autoclave industrial a vapor fluente (90°C) durante 4 h. Se realizaron 5 réplicas por cada tratamiento. Al enfriarse el sustrato se inocularon las bolsas con la cepa de *P. ostreatus* (10% peso húmedo del sustrato) distribuyéndolo manualmente agitando la bolsa. A las 24 h de la inoculación se realizaron 4 cortes equidistantes en cruz en los costados de cada bolsa.

Las bolsas se incubaron en oscuridad a 26±3°C y una humedad relativa de 80±5%. Una vez colonizado completamente el sustrato, las bolsas se trasladaron a una cámara de fructificación a 15±3°C, con una intensidad lumínica de 850 lux m², fotoperíodo natural (14h luz, 10h oscuridad) y ventilación adecuada con un extractor de aire.

Los basidiocarpos se cosecharon y pesaron inmediatamente para evitar la pérdida de humedad. Se registró el día de colonización total de la bolsa, de cosecha y al finalizar el ensayo se calculó la eficiencia biológica (peso fresco basidiocarpos/peso seco sustrato x 100) y la tasa de producción (EB%/d de producción) tomando únicamente los valores de las primeras 3 cosechas.

El cultivo experimental se llevó a cabo en las instalaciones de la compañía Las Hifas.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados por medio de un ANOVA y *a posteriori* con el test de rango múltiple de Tukey ($\alpha=0,05$) para comparar medias y determinar diferencias significativas entre tratamientos.

Resultados y discusión

Desarrollo micelial de *P. ostreatus* en desechos de *S. chinensis* y *J. macrocarpa*

En la Tabla 1 se observa el crecimiento micelial de *P. ostreatus* en el medio APG (50%) con las distintas proporciones del residuo de Sc. Al 5, 10 y 15% del agregado del desecho se observó un aumento significativo del crecimiento de *P. ostreatus* con respecto al tratamiento control; mientras que a mayores proporciones (20 y 25%) no se observaron diferencias. Proyectando la tendencia, se puede esperar que el crecimiento del micelio se vea afectado a mayores proporciones de Sc, debido a la posible presencia de compuestos tóxicos presentes en el sustrato y/o a problemas de hidratación del mismo (Bernabé-González *et al.*, 2006).

La combinación de desechos más efectiva (Tabla 2) fue de 80% y 75% (V/V Jm/Sc) aunque sin diferencias significativas respecto a las proporciones 70, 85, 90 y 95%. En ambos tratamientos se observó además un desarrollo más abundante del micelio respecto a las otras proporciones. En general, a mayores proporciones del desecho de Sc disminuyó progresivamente el crecimiento de *P. ostreatus*. Al igual que en el ensayo anterior, el aumento en la concentración de sustancias tóxicas o una mayor compactación del sustrato

Tabla 1. Crecimiento micelial de *P. ostreatus* en APG 50% con distintas proporciones del desecho de *S. chinensis* (%) luego de 7 días de crecimiento

Proporción de desecho de <i>S. chinensis</i>	Diámetro micelial* (cm ± σ)
0%	5.1 ± 0.3 c
5%	8.3 ± 0.5 a
10%	8.1 ± 0.1 a
15%	7.0 ± 0.2 b
20%	5.7 ± 0.5 c
25%	4.5 ± 0.6 c

*= Valores de las columnas con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey de rango múltiple ($\alpha=0.05$).

pueden ser los factores que afectaron el crecimiento micelial del hongo. A partir de los resultados observados se seleccionó la proporción de 80% de cascarilla de Jm para el ensayo de cultivo experimental.

Cultivo experimental

En los seis tratamientos evaluados, la combinación de los desechos utilizados permitió obtener mezclas con buena textura y con hidratación y aireación adecuadas. La colonización total del sustrato se observó a partir del día 15 en dos réplicas del tratamiento JS (Tabla 3) y a los 23 d las más tardías en dos del tratamiento P y una del J. Entre los tratamientos PS, PJS, PJ y JS no se observaron diferencias significativas en cuanto a la velocidad de colonización del sustrato.

Tabla 2. Crecimiento micelial de *P. ostreatus* en distintas proporciones de desechos de *J. macrocarpa* y *S. chinensis* a los 9 días de incubación

J. macrocarpa	S. chinensis	Proporción de sustratos* (%)		Diámetro del micelio** (cm ± σ)
		100	0	
100	0	4.2 ± 0.6	bc	
95	5	6.9 ± 0.5	ab	
90	10	6.3 ± 0.4	ab	
85	15	7.1 ± 0.5	ab	
80	20	8.7 ± 0.4	a	
75	25	8.1 ± 0.8	a	
70	30	6.7 ± 0.7	ab	
65	35	5.4 ± 0.7	b	
60	40	3.3 ± 0.5	c	

**= Base seca

**= Valores de las columnas con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey de rango múltiple ($\alpha=0.05$).

Tabla 3. Tiempos de colonización del sustrato y de aparición de primordios en las cosechas obtenidas por *P. ostreatus*

T	Proporción de sustratos (%)			Colonización* (días ± σ)	Aparición de primordios en cuatro cosechas* (días ± σ)			
	Paja	Jatropha	Simmondsia		1	2	3	4
P	100	0	0	20.4 ± 3.0 a	26.0 ± 3.6 a	40.2 ± 1.6 a	59.8 ± 3.4 a	-
PS	78	0	18	17.0 ± 1.4 b	21.2 ± 1.7 ab	38.6 ± 2.5 ab	48.0 ± 3.2 b	-
J	0	96	0	20.6 ± 2.1 a	24.6 ± 4.3 a	38.2 ± 3.9 ab	48.2 ± 1.7 b	60.2 ± 6.9 a
JS	0	78	18	16.8 ± 1.5 b	20.2 ± 1.7 ab	36.2 ± 1.4 b	47.2 ± 3.6 b	66.6 ± 8.7 a
PJ	48	48	0	17.2 ± 3.9 ab	22.4 ± 2.1 ab	39.4 ± 2.7 ab	51.4 ± 3.3 b	63.8 ± 7.2 a
PJS	39	39	18	17.6 ± 0.6 b	19.0 ± 1.0 b	37.4 ± 1.3 ab	47.8 ± 2.0 b	-

T= Tratamientos. P= Paja. S= Simmondsia. J= Jatropha.

*= Valores de las columnas con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey de rango múltiple ($\alpha=0.05$).

La contaminación con *Penicillium* sp. y *Trichoderma* sp. estuvo reducida a una réplica de los tratamientos JS, PS y PJS. La contaminación se observó tarde (>12 d) y estuvo acotada a 1 ó 2 manchas menores de 1 cm². Estas bolsas fructificaron normalmente comparadas con réplicas sin contaminar de los mismos tratamientos y fueron tenidas en cuenta para la medición de variables y posterior análisis estadístico.

Se observaron tres cosechas bien definidas en todos los tratamientos y una cuarta en los tratamientos J, JS y PJ (Tabla 3). La aparición de los primeros primordios fue a los 19 d en el tratamiento PJS y la más tardía a los 26 d en P y 24.6 d en J. En la segunda cosecha el tratamiento JS fue el primero en

desarrollar primordios pero con diferencias significativas únicamente con el tratamiento con paja de trigo (P). En la tercera cosecha este último fue el tratamiento más tardío respecto al resto. Se observó una cuarta cosecha en tratamientos con el agregado del desecho de Jm, excepto en PJS, por lo que se considera que la cascarilla lignificada del fruto podría implicar una disponibilidad de nutrientes a tiempos mayores comparado con el tratamiento P.

La Eficiencia Biológica (EB) fluctuó entre valores de 89.7 (JS) y 43.4 % (P) (Tabla 4). Los valores bajos en este último se debieron probablemente a la calidad del sustrato. Normalmente en el emprendimiento comercial los valores de EB en paja de trigo varían entre 50 y 100%.

Tabla 4. Eficiencia biológica y tasa de producción de *P. ostreatus* creciendo sobre distintas combinaciones de desechos de *S. chinensis*, *J. macrocarpa* y paja de trigo

T	Proporción de sustratos (%)			Eficiencia biológica* (% ± σ)	Tasa de producción* (% ± σ)
	Paja	Jatropha	Simmondsia		
P	96	0	0	43.4 ± 5.6 d	0.71 ± 0.22 b
PS	78	0	18	69.3 ± 4.1 c	1.46 ± 0.57 ab
J	0	96	0	49.2 ± 3.2 d	0.97 ± 0.20 b
JS	0	78	18	89.7 ± 5.2 a	1.74 ± 0.18 a
PJ	48	48	0	76.4 ± 3.1 b	1.40 ± 0.51 ab
PJS	39	39	18	76.2 ± 6.9 bc	1.59 ± 0.44 a

T= Tratamientos. P= Paja, S= Simmondsia, J= Jatropha.

*= Valores de las columnas con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey de rango múltiple ($\alpha=0.05$).

La mayor Tasa de Producción (TP) se obtuvo en el tratamiento JS (Tabla 4). Si bien se ha observado en otros trabajos que no hay una relación directa entre la velocidad de crecimiento micelial y la productividad del cultivo (Salmones *et al.*, 1997; Sastré-Ahuatzi *et al.*, 2007), en el presente trabajo observamos baja velocidad de colonización y EB en paja de trigo y alta velocidad de crecimiento y EB en la combinación de desechos de Sc y Jm utilizada en caja de Petri y el cultivo experimental.

La combinación de las variables medidas, velocidad de crecimiento micelial, tiempo de las cosechas y EB, son determinantes para decidir si un sustrato es viable para el cultivo comercial de hongos comestibles (Stamets, 2000). En el presente trabajo se han logrado tiempos de cosecha y EB aceptables utilizando la combinación de desechos de Sc y Jm, similares al cultivo de *P. ostreatus* en otros residuos agroindustriales (Darjania *et al.*, 1997; Curvetto *et al.*, 2002; Oduardo *et al.*, 2006; Cayetano-Catarino y Bernabé-González, 2008).

La comparación de la EB y TP en los tratamientos P y PJ permiten suponer que el desecho de Sc puede utilizarse también como suplemento en el cultivo de *P. ostreatus* en paja de trigo, que se utiliza habitualmente en Argentina.

Los valores observados de EB y tiempo de cultivo en el tratamiento JS nos permiten proyectar una futura planta piloto localizada en la zona de cultivo de ambas especies. El aprovechamiento de desechos agroindustriales para la obtención de alimentos es fundamental en zonas como la provincia de La Rioja, con muy baja diversificación en la producción agroalimenticia y mano de obra desocupada.

Literatura citada

- Abbate, P.E., F.H. Andrade, L. Lazaro, J.H. Bariffi, H.G. Berardocco, V.H. Inza, F. Marturano, 1998. Grain yield increase in recent Argentine wheat cultivars. *Crop Science* 38:1203-1209.
- Bernabé-Gonzalez, T., G. Mata, M. Cayetano-Catarino, G. Gutierrez Reyes, 2006. Cultivo del hongo shiitake, *Lentinula edodes*, sobre dos subproductos agrícolas en Guerrero, México. *Revista Mexicana de Micología* 23:63-68.
- Cayetano-Catarino M., T. Bernabé-González, 2008. Cultivo de *Pleurotus* sobre residuos de las cosechas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y plátano (*Musa paradisiaca*). *Revista Mexicana de Micología* 26:57-60.
- Cohen R., L. Persky, Y. Hadar, 2002. Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 58:582-594.
- Curvetto N. R., D. Figlas, R. Devalis, S. Delmastro, 2002. Growth and productivity of different *Pleurotus ostreatus* strains on sunflower seed hulls supplemented with N-NH₄⁺ and/or Mn(II). *Bioresource Technology* 84:171-176.
- Darjania L., N. Curvetto, M. Schapiro, D. Figlas, D. Curvetto, 1997. Sunflower seed hulls as a substrate for cultivation of an oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Mushroom News* 45:6-10.
- Gayol, M.F., D.O. Labuckas, J.C. Oberti, 2004. Chemical characterization of jojoba seeds (*Simmondsia Chinensis* (Link) Schneider), proceeding from "Banado de los Pantanos", La Rioja, Argentina. *The Journal of the Argentine Chemical Society* 92:59-63.
- Gayol, M.F. D.O. Labukas, J.C. Oberti, N.R. Grossi, C.A. Guzmán, 2007. Quality and chemical composition of residual cakes obtained by pressing jojoba seeds produced in La Rioja, Argentina. *The Journal of the Argentine Chemical Society* 95:39-47.
- Kalmis, E., S. Sargin, 2004. Cultivation of two *Pleurotus* species on wheat straw substrates containing olive mill waste water. *Internacional Biodeterioration & Biodegradation* 53:43-47.
- Obodai, M., J. Cleland-Oquine, K.A. Vowotor, 2003. Comparative study on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus* mushroom on different lignocellulosic by-products. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 30:146-149.
- Oduardo, N.G., R.C. Bermúdez Savón, P. Gross Cobas, M. Hernández Hechavarría, 2006. Cultivo de cepas de *Pleurotus* sp. sobre pulpa de café. *Revista Mexicana de Micología* 23:99-101.
- Salmones D., R. Gaitán-Hernández, R. Pérez, G. Guzmán, 1997. Estudios sobre el género *Pleurotus*. VIII. Interacción entre crecimiento micelial y productividad. *Revista Iberoamericana de Micología* 14:173-176.
- Salusso M. y L.B. Moraña, 1997. Cultivo de *Pleurotus laciniatocrenatus* en Argentina. *Revista Iberoamericana de Micología* 14:129-130.
- Sánchez A., M. Esqueda, R. Gaitán-Hernández, A. Córdova, M.L. Coronado, 2009. Uso potencial del rastrojo de tomate como sustrato para el cultivo de *Pleurotus* spp. *Revista Mexicana de Micología* 28:17-24.
- Sastré-Ahuatzi, M., M. Téllez-Téllez, G. Díaz-Godínez, A.M. Montiel-González, R. Díaz, C. Sánchez, 2007. Mycelial growth of strains of *Pleurotus ostreatus* developed on agar and its correlation with the productivity in pilot production farm. *Brazilian Journal of Microbiology* 38:568-572.
- Stamets, P., 2000. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Ten Speed Press, Berkeley, California.