



Estudios sobre el género *Pleurotus*. VIII. Interacción entre crecimiento micelial y productividad

Dulce Salmones, Rigoberto Gaitán-Hernández, Rosalía Pérez y Gastón Guzmán

Departamento Hongos, Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, México

Resumen

Se estudió la relación entre velocidad de crecimiento micelial y producción de carpóforos de 19 cepas de *Pleurotus*. Previamente se aislaron cultivos monosporicos de cinco cepas adscritas a las especies *Pleurotus djamor* (3), *Pleurotus ostreatus* (1) y *Pleurotus pulmonarius* (1), que se entrecruzaron para obtener 25 dicariones infraespecíficos a los que se les estimó su velocidad de crecimiento micelial. Los parentales y las 14 cruas más rápidas fueron cultivadas en planta piloto sobre paja de cebada, registrándose los siguientes parámetros: días de incubación, formación de primordios, número de cosechas, eficiencia biológica, tasa de producción (TP) y tamaño de los basidiomas. Las eficiencias biológicas fluctuaron entre 16,8 a 75,6% y las TPs entre 0,34 a 1,68%. La mayoría de los basidiomas presentaron pileos de 5 a 15 cm de diámetro. Con excepción de una crua de *P. djamor*, no se observó aumento en la productividad y tamaño de los carpóforos de las cruas con respecto a los parentales, por lo que los datos sugieren que la rápida velocidad de crecimiento micelial de las cepas no repercutió en el desarrollo de las fructificaciones.

Palabras clave

Pleurotus, Hongos comestibles, Crecimiento micelial, Cultivo de hongos

Studies on genus *Pleurotus*. VIII. Interaction between mycelial growth and yield

Summary

This project studies the relationship between mycelial growth rate and production of basidiomata of 19 *Pleurotus* strains. Firstly, monosporic cultures were isolated of five strains from the following species: *Pleurotus djamor* (3), *Pleurotus ostreatus* (1) and *Pleurotus pulmonarius* (1). These were self-crossed in order to obtain 25 infraspecific dikaryons from which their mycelial growth rate was estimated. The parent strains and the 14 fastest growing crosses were cultivated in the pilot plant on barley straw with the following data recordered: days of incubation, primordia initiation, number of harvests, biological efficiency (BE), production rates (PR) and size of the basidiomes. The BE's fluctuated between 16.8 to 75.6% and the PR's between 0.34 to 1.68%. Most of the basidiomata presented a pileus diameter of 5-15 cm. With the exception of one cross with *P. djamor*, no increase was observed in the productivity and size of the carphophores of the crosses with respect to the parent strains, suggesting that the rapid mycelial growth rate of the strains was not reflected in the development of the fruiting bodies.

Key words

Pleurotus, Edible mushrooms, Mycelial growth, Mushroom cultivation

La producción mundial de *Pleurotus* spp. en 1991 superó las 900 000 toneladas métricas, lo que representó un incremento de más del 400% en tan sólo 6 años [1]. México no es ajeno a este fenómeno de expansión, ya que a pesar de que el cultivo de *Pleurotus* es una actividad reciente, restringida a la zona central del país y escasamente desarrollada, existe un creciente interés de promover su expansión en el territorio nacional [2]. Hasta ahora, la línea principal de estudio ha sido evaluar la viabilidad de la tecnología empleando gran variedad de materiales lignocelulósicos disponibles en el país, entre ellos algunos residuos agroindustriales [3], sin considerar otros factores, tanto fisiológicos como ambientales, involucrados en

la formación y desarrollo de las fructificaciones. Debido a lo anterior, los autores iniciaron estudios para obtener y seleccionar genéticamente cepas de *Pleurotus* spp. con alta productividad, adaptadas a las condiciones ambientales cálidas imperantes en gran parte del país [4].

En la presente contribución se discuten los resultados de la evaluación de la velocidad de crecimiento micelial de cepas obtenidas en el laboratorio, como parámetro de selección de germoplasma con rápida producción de carpóforos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Las cepas parentales empleadas tienen procedencia diversa (Tabla 1), las de *Pleurotus djamor* se aislaron de especímenes silvestres y las de *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus pulmonarius* se seleccionaron previamente. Todas las cepas fueron mantenidas en agar extracto de malta (EMA) e incubadas a $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Dirección para correspondencia:

Dra. Dulce Salmones
Departamento Hongos, Instituto de Ecología,
Apartado Postal 63, Xalapa, Veracruz, México.
Fax: +52 28 187 809; E-mail: hongos@sun.ieco.conacyt.mx

Aceptado para publicación el 9 de julio de 1997

Tabla 1. Procedencia y registros de las cepas estudiadas.

Especie	Procedencia y registro original	Registro Cepario IE
<i>P. djamor</i> (Fr.)	Guatemala (Lc1)	IE-11
<i>Boedjijn</i>	México (aislada del espécimen Pérez s/n)	IE-121
var. <i>djamor</i>	Cuba (JBN-19)	IE-145
<i>P. ostreatus</i> (Jacq.:Fr.) Kumm	Cruza entre INIREB-8 (europea) y DR-93 (EUA)	IE-179
<i>P. pulmonarius</i> (Fr.) Quel	Cruza entre ICIDCA-R (europea) y Lc3 (europea)	IE-180

Determinación de tipos de incompatibilidad y obtención de dicariones. A partir de esporadas se hicieron diluciones 1×10^{-3} y 1×10^{-5} en agua destilada estéril, de las que se tomaron alícuotas de 0,5 ml que se sembraron en placas de EMA e incubaron a $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Se aislaron 20 cultivos monospóricos por cada cepa, de los cuales se eligieron 12 al azar, que se entrecruzaron entre sí para determinar sus tipos de incompatibilidad, siguiendo la metodología propuesta por Eger [5]. Paralelamente, se estimó la velocidad de crecimiento de cada cultivo monospórico con base a los diámetros desarrollados por los micelios cada 48 h, durante 10 días de incubación.

Con los resultados de estimación de velocidad de crecimiento se seleccionaron de uno a tres cultivos monospóricos de cada tipo de incompatibilidad, con los que se hicieron 25 cruza infraespecíficas, estimándose el crecimiento micelial de los parentales y las cruza de manera similar a la empleada con los cultivos monospóricos y seleccionándose los más rápidos para su evaluación en la planta piloto.

Producción de basidiomas en planta piloto. El inóculo se elaboró en bolsas de polipapel conteniendo 200 g de sorgo, previamente hidratado por inmersión en agua durante 12 h, ajustado a una humedad del 50-55% y esterilizado a 121°C durante 1 h [3]. El sustrato para la siembra fue paja de cebada picada en fragmentos de aproximadamente 5 cm y pasteurizada a 80°C durante 40 min, en muestras equivalentes a 500 g de material seco. La incubación fue a $27 \pm 2^\circ\text{C}$. Para la inducción y desarrollo de las fructificaciones, las muestras se colocaron en un cuarto con iluminación natural (12 h luz/oscuridad), ventilación y humedad (75-90%). Los parámetros a evaluar fueron: tiempo de incubación, días requeridos para la formación y desarrollo de los primordios, número de cosechas, tamaño de los basidiomas, eficiencia biológica (en base húmeda y seca) y tasa de producción. Para el tamaño de las fructificaciones se siguió el criterio de Mata [6], que consistió en medir el diámetro de púleo de los basidiomas adultos y clasificarlos en 4 grupos, G1: menores de 5 cm, G2: 5 a 9,9 cm, G3: 10 a 14,9 cm y G4: 15 cm o más. La eficiencia biológica (EB) en base húmeda se determinó como la relación entre el peso fresco de los carpóforos y el peso seco del sustrato y en base seca como la relación entre los pesos secos del hongo y sustrato, mientras que la tasa de producción (TP) se calculó dividiendo la EB entre el ciclo de cultivo, considerándose éste desde el primer día de incubación del hongo en el sustrato hasta el último día de cosecha. Los valores de EBs y TPs se expresaron en porcentaje.

Análisis de datos. Se hicieron 10 réplicas en las pruebas de estimación de la velocidad de crecimiento de las cepas y 12 para la evaluación de la producción de basidiomas. Para determinar diferencias significativas entre los cepas, los datos fueron sometidos a análisis de varianza y pruebas de intervalo múltiples de Tukey.

RESULTADOS

Los 12 cultivos monospóricos de cada cepa fueron agrupados en 4 tipos de apareamiento, obteniéndose entre 1 a 5 monocariones por cada tipo (Tabla 2). Los monospóricos de *P. djamor* presentaron el crecimiento más rápido, ya que cubrieron el diámetro total de la placa de Petri entre los 10 a 16 días, mientras que los correspondientes a *P. pulmonarius* y *P. ostreatus* requirieron de 14 a 18 días de incubación. De acuerdo con el análisis estadístico, se seleccionaron de uno a tres monocariones de cada tipo para realizar las cruza infraespecíficas. En total se obtuvieron 25 dicariones, a los que se les asignó un código de identificación. Los resultados de la estimación de la velocidad de crecimiento micelial de los dicariones presentaron gran variabilidad. En *P. djamor*, la IE-11 presentó cruza más lentas que su parental (Figura 1A), no así la IE-121 y la IE-145, en donde los 10 dicariones estudiados lograron mayor velocidad media de crecimiento que el parental (Figuras 1B y 1C). En promedio los parentales requirieron de 10 a 12 días para cubrir el diámetro de la placa de Petri y las cruza de 8 a 10. Con respecto a *P. ostreatus* (IE-179), sólo una de las cruza (IE-179I) igualó la velocidad de crecimiento del parental (Figura 2A) y en *P. pulmonarius* (IE-180), tres de las cruza superaron al parental (Figura 2B), empleando estas últimas dos especies un promedio 8 a 12 días para cubrir el diámetro total de la placa de Petri.

Tabla 2. Tipo de incompatibilidad de los micelios monospóricos aislados y diámetro promedio alcanzado (mm) a los 8 días de incubación.

Cepa	TI ¹	Número de monospórico	Diámetro promedio de los micelios (mm)
IE-11	I	1, 4 ²	67,3 ³ , 88,8
	II	2, 3, 11, 12	90, 74,4, 83,3, 88,5
	III	5	90
	IV	6, 7, 8, 9, 10	50,9, 85,6, 84,7, 64,7, 79,7
IE-121	I	1, 4, 8, 11	46,6, 85,5, 72,6, 64
	II	2, 5, 6, 7, 12	52,8, 27,4, 65,5, 76,9, 49,2
	III	3, 9	51,1, 71,7
	IV	10	55,7
IE-145	I	3, 4, 9, 11	79,4, 69, 60,4, 50,6
	II	1, 2, 6	67,3, 68,6, 78,5
	III	12	79,8
	IV	5, 7, 8, 10	70,8, 67,5, 71,6, 82,6
IE-179	I	1, 2	63,8, 64,1
	II	3, 4	71,9, 73,1
	III	6, 10, 11	64,5, 84,2, 60,7
	IV	5, 7, 9, 12	30,6, 57,5, 65,4, 62
IE-180	I	1, 9	57,5, 41,1
	II	2, 7, 8, 10, 12	61,5, 32, 59,4, 50, 29,2
	III	3, 6, 11	51,5, 73,9, 61,8
	IV	4, 5	48,3, 43,7

¹ Tipos de incompatibilidad; ² Los monospóricos en negritas fueron seleccionados para la obtención de cruza; ³ Medida promedio de 10 réplicas.

En la planta piloto, las cepas de *P. djamor* presentaron el más rápido periodo de incubación (10 a 13 días), en comparación con los 15 a 35 días requeridos por los dicariones de *P. ostreatus* y los 21 a 75 días de *P. pulmonarius*. La primera cosecha en *P. djamor* se registró entre los 14 a 19 días, en *P. ostreatus* entre los 20 a 42 días y en *P. pulmonarius* entre los 25 a 80 días, lo que indica que en general los basidiomas alcanzaron su madurez entre cuatro a siete días. Con respecto al número de cosechas evaluadas, las cepas de *P. djamor* registraron de tres a cinco, y las de *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* de dos a cuatro. En

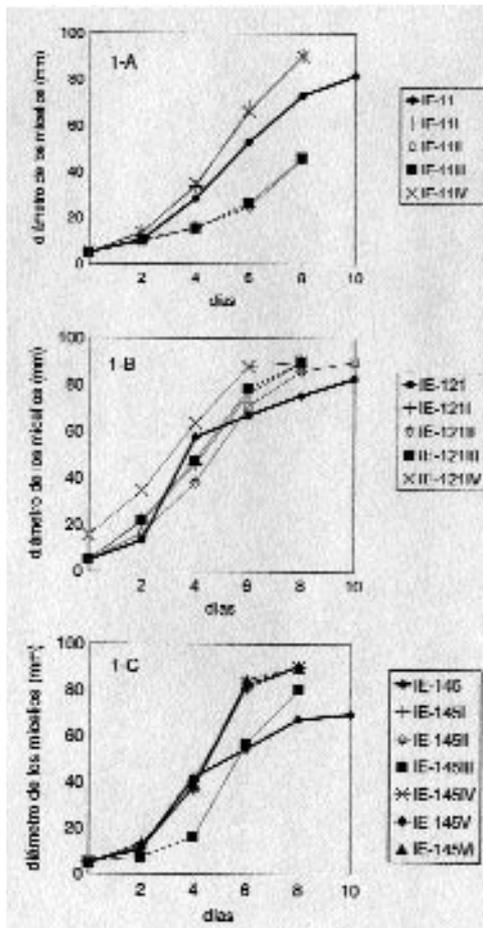


Figura 1. Velocidad media de crecimiento (mm/día) de las cepas parentales y cruza de *Pleurotus djamor* en el laboratorio.

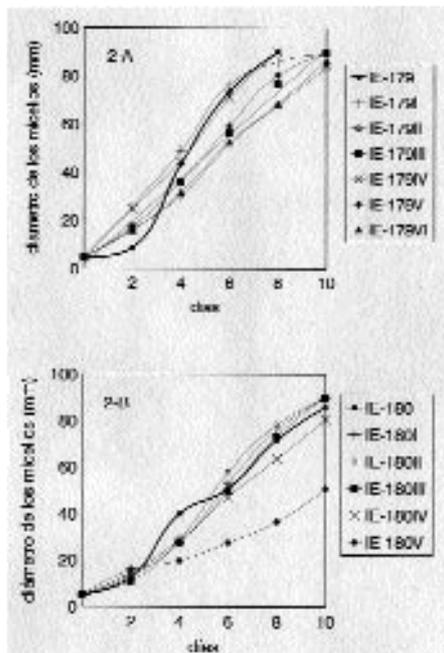


Figura 2. Velocidad media de crecimiento (mm/día) de las cepas parentales y cruza de *Pleurotus ostreatus* (2-A) y *Pleurotus pulmonarius* (2-B), en el laboratorio.

promedio los ciclos de cultivo variaron entre 35 a 108 días, siendo los más frecuentes de 38 a 56 días. Las eficiencias biológicas en base húmeda fluctuaron entre

18,4 a 72,4% para las cepas de *P. djamor*, de 16,8 a 71,9% para *P. ostreatus* y de 25,8 a 75,6% para *P. pulmonarius*, y en base seca fueron de 2,7 a 6,6%, de 2,2 a 6,8% y de 2,7 a 7,5%, respectivamente. Las TP fluctuaron entre 0,34 a 1,68% en *P. djamor*, de 0,48 a 1,38% en *P. ostrea-* *tus* y de 0,31 a 1,3% en *P. pulmonarius* (Tabla 3).

Tabla 3. Característica de productividad presentadas por las cepas de *Pleurotus* en la planta piloto.

Cepa	Peso fresco basidiomas (g)	Eficiencia biológica b.h. (%)	Eficiencia biológica b.s. (%)	Tasa de producción (%)
11	274,9	55a ¹	5,1	1,44
11I	196,7	39,3b	3,6	1,03
11IV	168,2	33,6b	3,7	0,86
121	362,2	72,4a	5,9	1,68
121III	322,9	64,6a	6,6	1,5
121I	309,9	62ab	5,3	1,26
121II	260,9	52,2b	5,1	1,08
121IV	94,3	18,9c	2,7	0,35
145	316,1	63,2a	5,2	1,12
145VI	287,1	57,4a	6,6	1,51
145IV	246,2	49,2a	5,3	1,2
145V	92	18,4b	2,9	0,34
179	359,4	71,9a	6,8	1,38
179IV	317,1	63,5b	6,4	1,38
179V	173,6	34,7c	4,2	0,7
179I	83,8	16,8d	2,2	0,48
180	378,2	75,6a	7,5	1,3
180II	171,2	34,2b	4,5	0,31
180I	129	25,8b	2,7	0,47

¹ Letras diferentes indican diferencias significativas al 95% de confiabilidad, de acuerdo a la prueba de intervalos múltiples de Tukey.

Con respecto al diámetro de píleos desarrollados, en la figura 3 se presentan los resultados de las cinco cepas parentales, siendo G1 el grupo mayoritario, con porcentajes de 50 a 75%, mientras que G2 alcanzó valores de 17,6 a 34,8%, G3 de 1,3 a 19,2% y G4 de 0,6 a 1,6% e incluso no se registró, como en la cepa IE-145.

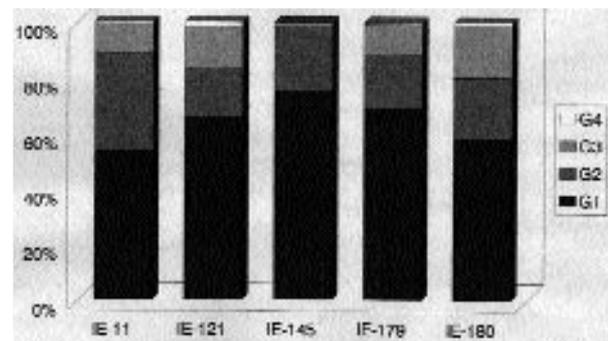


Figura 3. Porcentaje promedio de fructificaciones de las cepas parentales, agrupadas por tamaño de píleos desarrollados.

DISCUSIÓN

Los resultados de velocidad de crecimiento micelial de las cruza obtenidas en el laboratorio, coinciden con Sohi y Upadhyay [7] y Khan y Siddiqui [8] y son ligeramente inferiores a Hernández-Ibarra *et al.* [9], aunque éstos últimos autores no citan la temperatura de incubación de los micelios. El análisis estadístico mostró diferencias entre las cruza, por lo que se escogieron los parentales y las 14 cruza de más rápido crecimiento (Tabla 4), para cultivarlas en paja de cebada.

Tabla 4. Diámetro micelial (mm) de las cepas parentales y sus cruzas a los 8 días de incubación.

IE-11	IE-121	IE-145	IE-179	IE-180
111 90a ^{1,2}	121I 90,0a	145VI 84,7a	179 90a	180II 78,3a
11IV 89,9a	121III 90,0a	145IV 82,9a	179IV 90a	180I 76,1b
11 72,9b	121IV 88,1b	145V 82,4a	179I 86,1a	180III 73,5b
11III 46,1c	121II 86,2b	145I 81,2a	179V 80,4b	180 71,8b
11II 45,4c	121 75,6c	145II 81a	179III 76,6b	180IV 63,7c
		145 67,3b	179VI 68,7c	180V 36,7d
		145III 55,6c	179II 67,9c	

¹ Las cruzas en negrita fueron seleccionadas para la evaluación en planta piloto.

² Letras diferentes indican diferencias significativas al 95% de confiabilidad, de acuerdo a la prueba de comparación de medias múltiples de Tukey.

En la planta piloto, los valores de eficiencia biológica obtenidos en base húmeda coinciden con trabajos previos [7-11]. Con respecto a EB en base seca y a la TP no se tienen los valores comparativos previos, sólo Hernández-Ibarra *et al.* [9] registra TPs de 2,21% para *P. ostreatus* y de 1,18 a 2,09% para *P. djamor*, utilizando como sustrato pulpa de café. Las cruzas evaluadas en este estudio presentaron tasas de producción menores, sin embargo es probable que esto se deba más a diferencias en la composición nutricional del sustrato, que a la capacidad productora de basidiomas de las cepas.

Tabla 5. Peso fresco promedio de los basidiomas (g) desarrollados en cada cosecha por las cepas mayores eficiencias biológicas.

Cepa	Cosechas				Ciclo de cultivo(días) ¹
	1a	2a	3a	4a	
11	148,1	95,7	29,4	1,7	38
121	238,2	63,6	54,5	5,9	43
121III	234,5	43,5	36,8	-	43
121I	219,5	38,6	48,3	3,5	49
145	88,2	125,1	42,3	60,5	56
145VI	591,2	650,4	876,1	203,4	38
179	247,4	70,9	38,1	3	52
179I	161,6	119,6	43,8	50,5	46
180	2430,7	903,5	799,1	40,1	64

¹ A partir del día de siembra y hasta el último corte de basidiomas.

De acuerdo al análisis estadístico de las EBs y TPs, los dicariones con mayores productividades fueron: 121, 121I, 121III, 145VI, 179, 179I y 180. Con estas cepas se llevó a cabo un análisis de producción de basidiomas por cosechas (Tabla 5), observándose que la cepa parental de *P. djamor* IE-121 y sus cruzas 121I y 121III, así como la parental de *P. ostreatus* IE-179, alcanzaron con sus dos primeras cosechas más del 80% de la producción total de carpóforos, en aproximadamente 30-40 y 45 días de cultivo, respectivamente. Ésta es una característica de producción interesante, ya que su explotación comer-

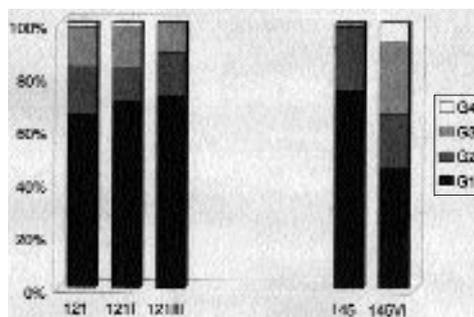


Figura 4. Producción de basidiomas en dos cepas parentales de *P. djamor* y sus tres mejores cruzas, agrupadas por tamaño de píleo. G1: menores de

cial permitiría reducir los ciclos de cultivo considerablemente. En las cepas restantes, los porcentajes variaron de 57,4 a 79,9%.

Con respecto al tamaño de las fructificaciones desarrolladas. En la figura 4 se muestran comparativamente los porcentajes de las tres mejores cruzas y su parental correspondiente. Las cepas IE-121I e IE-121III no presentaron incrementos en los tamaños de las fructificaciones, incluso la segunda cepa no produjo carpóforos del grupo 4, contrariamente a la IE-145, donde la cruce IE-145VI superó significativamente el porcentaje de hongos correspondiente a los grupos 2 y 3, y desarrolló ejemplares del grupo 4. Este incremento de tamaño de fructificaciones también se observó en la cruce IE-179I de *P. ostreatus*. Estos valores superan significativamente los diámetros registrados por Hernández-Ibarra *et al.* [9] para *P. djamor* y *P. ostreatus*.

Si bien los resultados indican que la velocidad de crecimiento micelial no estuvo relacionada con la productividad de las cepas, es importante considerar que se logró mantener rápida velocidad de crecimiento micelial, tanto en la placa de Petri como en el periodo de incubación en la planta piloto lo que favoreció la formación y desarrollo de primordios en menor tiempo y consecuentemente, redujo los ciclos de cultivo. Por otra parte y considerando que las cepas fueron evaluadas bajo las mismas condiciones ambientales, se asume que la disminución en la productividad de las cruces se debió más a factores genéticos que ambientales, ya que la heterogeneidad de alelos presentes en el proceso de selección, probablemente permitió la expresión de información genética desfavorable a la producción de los basidiomas.

Los autores agradecen a las Pas. de Biol. Verónica Alvarez, Teresa Gutiérrez y Lucía Mestizo, todas del Instituto de Ecología, por su ayuda en el laboratorio y planta piloto. Este trabajo fue financiado en parte por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (proyecto 903-52).

Bibliografía

- Chang ST. Mushroom biology, the impact on mushroom production and mushroom products. En: Chang ST, Bunsell JA y Chiu S W (Eds.) Mushroom biology and mushroom products. Hong Kong, The University of Hong Kong, 1993: 3-20.
- Martínez-Carrera D, Leber R, Morales P, Sobal M, Larqué-Saavedra A. Historia del cultivo comercial de hongos comestibles en México. Ciencia y Desarrollo 1991;16:33-43.
- Guzmán G, Mata G, Salmones D, Soto-Velazco C, Guzmán-Dávalos L. El cultivo de los hongos comestibles, con especial atención a especies tropicales y residuos agroindustriales. México DF. IPN/Centro de Ecodesarroll., 1993.
- Salmones D, Mata G, Guzmán G, Juárez M, Montoya L. Estudios sobre el género *Pleurotus* V. Producción a nivel planta piloto de ocho cepas adscritas a cinco taxa. Rev Iberoam Micol 1995; 12: 108-110.
- Eger G. Biology and breeding of *Pleurotus*. En: Chang ST, Hayes WA (Eds.) The biology and cultivation of edible mushrooms. New York, Academic Press, 1978: 497-519.
- Mata G, Guzmán G. Cultivation of *Lentinus boryanus* in wood shavings in Mexico. Crypt Bot 1993;4:47-49.
- Sohi HS, Upadhyay RC. Effect of temperature on mycelial growth of *Pleurotus* species and their yield performance on selected substrates. Mushroom Sci 1989;12:49-56.
- Khan SM, Siddiqui MA. Some studies on the cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus* spp.) on lignocellulosic by-products of textile industry. Mushroom Sci 1989;12:121-128.
- Hernández-Ibarra H, Sánchez-Vázquez JE, Calvo-Bado LA. Estudio de 5 cepas nativas de *Pleurotus* de la región de Tapachula, Chiapas, México. Rev Mex Micol 1995;11:29-38.
- Zervakis G, Balis C. *Pleurotus* species of Greece: an evaluation of their morphological and physiological characteristics. Mushroom Sci 1991;13: 537-544.
- Royse D J, Zaki S A. Yield stimulation of *Pleurotus flabellatus* by dual nutrient supplementation of pasteurized wheat straw. Mushroom Sci 1991;13:545-547.