



Análisis comparativo de la productividad de cepas de *Pleurotus* spp. cultivadas en una planta comercial

Federico Vogel¹ y Dulce Salmones²

¹Forest Mushroom, Minnessota, USA; ²Departamento Hongos, Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, México

Resumen

Se describe el cultivo en una planta comercial de dos cepas de *Pleurotus pulmonarius*, seleccionadas previamente en el laboratorio por su rápido desarrollo micelial y alta producción de basidiomas y una cepa comercial de *Pleurotus ostreatus*, discutiéndose los efectos de la preparación y formulación del sustrato, incidencia de patógenos y condiciones ambientales de la nave de cultivo en la producción y calidad de las fructificaciones obtenidas.

Palabras clave

Pleurotus pulmonarius, *Pleurotus ostreatus*, Cultivo de hongos comestibles

Comparative study on the productivity of strains of *Pleurotus* spp. in commercial cultivation

Summary

This paper describes the commercial production of two strains of *Pleurotus pulmonarius*, selected in the laboratory for their rapid mycelial development and high production of basidiomata, and one commercial strain of *Pleurotus ostreatus*. Substrate preparation, impact of pathogens and environmental conditions necessary for the production and quality of the fruiting bodies required are discussed.

Key words

Pleurotus pulmonarius, *Pleurotus ostreatus*, Commercial cultivation

En los últimos años, el Laboratorio de Cultivo de Hongos del Instituto de Ecología (Xalapa, México) ha realizado diversos estudios para la obtención y selección de cepas de *Pleurotus* spp. con características deseables para su explotación comercial [1-6]. A la fecha se han cultivado más de un centenar de cepas a nivel experimental, seleccionándose germoplasma de rápido crecimiento vegetativo, ciclos de cultivo cortos y alta producción de fructificaciones. Sin embargo, no siempre se mantienen estas características deseables cuando las cepas se cultivan a nivel industrial, fundamental para que los productores decidan utilizarlas [7-8]. Es por ello que el objetivo del presente trabajo fue cultivar comparativamente dos cepas de *Pleurotus pulmonarius* (Fr.)Quél. previamente seleccionadas en el laboratorio, y una cepa comercial de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.)Kumm. con la finalidad de determinar su productividad, y adicionalmente observar su comportamiento ante la presencia de plagas y su manejo postcosecha, estos dos últimos factores muy importantes para su uso comercial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se llevaron a cabo en las instalaciones de la compañía Forest Mushrooms Inc., ubicada en Minnesota, (EUA). Las cepas de *Pleurotus pulmonarius* cultivadas (IE-226 e IE-227) resultaron del cruzamiento genético entre las cepas IE-4 (Alemania) y la IE-115 (registrada como K-200 en la Cía. Fungi Perfecti de EUA), mientras que la cepa de *P. ostreatus* (1314) proviene de EUA y ha sido explotada comercialmente en dicha planta durante varios años.

El inóculo de las cepas IE-226 e IE-227 fue preparado con trigo estéril, siguiendo la formulación y metodología recomendadas para *Pleurotus* [8], mientras el inóculo de la cepa 1314 fue comprado a una compañía comercial de EUA.

Prueba 1. Como sustrato se utilizó paja de trigo cortada en segmentos de aproximadamente 3 a 5 cm de largo, enriquecida con sulfato de calcio y harina de soya tratados con formaldehído en una proporción (peso seco) de 5,5% cada uno. Los materiales se mezclaron en un fermentador, hidratando el sustrato con agua caliente (58°C) hasta alcanzar una humedad final de 71±1%. El fermentador se programó para mezclar los ingredientes durante 30 min cada 12 h durante dos días. Al terminar la fermentación se inyectó aire frío durante 2 h aproximadamente y posteriormente se aplicó una solución acuosa de benomyl y diflubenzuron, en una proporción (peso seco) de 20 y 30 ppm, ésto con la finalidad de evitar la presencia de dípteros y mohos (principalmente *Trichoderma*) en las bolsas. Así, el sustrato listo para ser inoculado presentó una temperatura de 18,3°C, con un pH de 8 y una hidratación del 72%.

Dirección para correspondencia:

Dra. Dulce Salmones
Instituto de Ecología A.C.
Apartado Postal 63
91000 Xalapa, Veracruz, México
Tel.: +52 28 421829; Fax: +52 28 187809;
E-mail: dulce@ecologia.edu.mx

Aceptado para publicación el 30 de Junio de 2000

Para la siembra, el inóculo fue agregado al sustrato en una proporción del 6% (peso seco) y se introdujo en bolsas cilíndricas de polietileno transparentes, con 20 kg de capacidad y perforadas con orificios de 7 mm de diámetro, espaciados 10 cm entre ellos. En promedio cada contenedor contuvo 18,1 kg de la mezcla, equivalente a 6,35 kg en peso seco. Se hicieron cuatro réplicas para la cepa 1314 y 6 por las dos cepas restantes.

Los contenedores inoculados se incubaron en un cuarto oscuro, con control de temperatura y provisión de aire fresco (dos intercambios / h). La temperatura interna de los sacos fue medida, así como la presencia de organismos patógenos. El criterio para trasladar los sacos al área de fructificación fue la aparición de primordios. Esta última área cuenta con un sistema computarizado de control de humidificación ambiental, niveles de CO₂ y temperatura, por medio de sensores distribuidos a lo largo de la nave de cultivo. Los parámetros son medidos y controlados desde un ordenador ubicado en el laboratorio.

La cosecha de los hongos se realizó manualmente, registrándose los pesos frescos, tamaño y coloraciones de las fructificaciones, así como la cinética de cultivo, esto es, los días transcurridos desde la aparición de los primordios hasta la obtención de la segunda cosecha. La productividad de las cepas se expresó en términos de eficiencia biológica, o relación entre peso fresco de los basidiomas y el peso seco del sustrato expresado en porcentaje [9]. Los valores de eficiencia biológica fueron tratados por un ANOVA y posteriormente se les aplicó la prueba de clasificación de rangos múltiples de Tuckey ($\alpha=0,05\%$) para determinar diferencias significativas entre las producciones de las cepas.

Prueba 2. Se repitió la metodología de la primera prueba, sólo que en este experimento fue aplicado un suplemento comercial al sustrato fermentado, previo a la inoculación del hongo.

RESULTADOS

Prueba 1. Durante las primeras 15 h de incubación las temperaturas de los sustratos en las cepas fueron semejantes (Figura 1), alcanzando un pico máximo de 38-39°C. Sin embargo, a partir del 4° día hubo diferencias entre las especies, ya que las cepas de (IE-226 e IE-227) se mantuvieron hasta 5°C arriba de la temperatura registrada en las bolsas de la cepa 1314. Sin embargo, al 15° día los valores volvieron a igualarse y así se mantuvieron el resto del experimento.

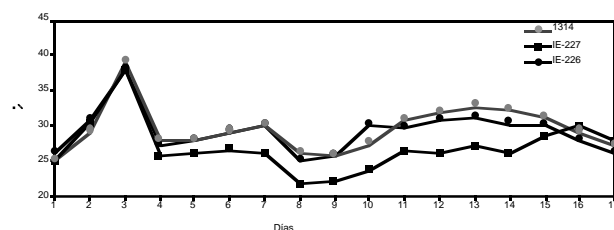


Figura 1. Temperaturas promedio registradas dentro de las bolsas inoculadas durante las primeras 15 horas de incubación de los micelios.

Con respecto a la aparición de los primordios, la IE-226 los produjo más temprano (a partir del 18° día de incubación), seguida por la 1314 (23 días), y finalmente la IE-227 con 25 días. En cuanto a la producción de basidiomas, con la cepa IE-226 se obtuvieron un promedio de 5,11 kg/contenedor en dos cosechas, lo que equivalió a una eficiencia biológica (EB) promedio de 80,47%, seguida por la 1314 con 4,12 kg/contenedor y una EB de 64,8% y finalmente la cepa IE-227 produjo la menor cantidad, 3,74 kg/contenedor, equivalente a 58,8% promedio de EB. La cinética de los cultivos dependió de la cepa, así la IE-226 con 25 días mostró el ciclo más corto, en comparación con la IE-227 y la 1314 que requirieron 37 días. Con respecto a la coloración de las fructificaciones cosechadas, la cepa IE-226 produjo basidiomas de color crema amarillentos, mientras la IE-227 los desarrolló blanquecinos a amarillentos y la 1314 color café oscuro.

No se observó ningún tipo de contaminación o plagas en las cepas 1314 e IE-226, no así con la IE-227, ya que en cerca del 30% de los hongos cosechados se observaron pequeñas manchas amorfas (0,5-1,5 cm de diámetro aprox.) sobre la parte central del píleo y en algunas ocasiones en la parte superior del estípite. Estas manchas de una coloración amarillenta, amarilla naranja a café chocolate sólo afectaron la capa superficial del píleo, aunque en los estípites las hifas más profundas también fueron dañadas.

En cuanto al tamaño de las fructificaciones, se observaron variaciones dependiendo de la cepa y el sustrato. Por otra parte, sólo los representantes de las cepas IE-226 y 1314 mostraron una textura y carnosidad aceptable para su comercialización, que incluso se mantuvo hasta siete días en refrigeración (5°C) empacado en cajas de cartón cubierto de plástico. En el caso de la cepa IE-227, los hongos fueron quebradizos y su vida de anaquel fue de sólo 4-5 días.

Tabla 1. Características de los basidiomas cosechados.

Prueba 1				
Cepas	Diámetros de píleo (cm)		Presencia de patógenos	Observaciones
	1ª cos.	2ª cos.		
IE-226	7,5	6,5	No	Crema
IE-227	7,5	7	Si	Blanco a crema, bordes quebradizos
3014	6,5	5	No	Café oscuro
Prueba 2				
Cepas	Diámetros de píleo (cm)		Presencia de patógenos	Observaciones
	1ª cos.	2ª cos.		
IE-226	7,5	6 5	No	Crema
IE-227	8	7 5,5	Si	Blanco a crema, bordes quebradizos
3014	7,5	7,5 5,5	No	Café oscuro

Prueba 2. Las muestras de la cepa IE-226 alcanzaron tres cosechas, con un total de 6,31 kg (peso fresco) de basidiomas, que representó una eficiencia biológica de 99,3%. Esta cepa presentó promedios de 5,5 kg/contenedor en dos cosechas, esto es, producción similar a la de la prueba anterior. Con respecto a la cinética de crecimiento, se disminuyeron los tiempos de incubación y producción con respecto al experimento anterior, ya que sólo se requirieron 21 días para obtener dos cosechas.

En esta prueba las cepas IE-227 y 1314 no mostraron variación en la producción de hongos por la suplementación del sustrato, ya que sólo alcanzaron dos cosechas con una eficiencia biológica promedio de 64,9% y 58,1%, respectivamente. En la cinética de cultivo no hubo variabilidad con respecto a prueba anterior, siendo de 37 días. Asimismo, la coloración, textura y carnosidad de los hongos de las tres cepas se mantuvieron constantes. No se observó ninguna contaminación o plagas en los basidiomas de la IE-226 y 1314, no así en la IE-227, que presentaron manchas pequeñas sobre el píceo, semejantes a las descritas en la prueba 1 (Tabla 1).

Durante el desarrollo de ambos experimentos, los parámetros ambientales en la nave de fructificación se mantuvieron estables, con una humedad relativa de $92 \pm 2\%$, niveles de CO_2 promedio de 600 ppm, con un pico máximo de 900 y un mínimo de 525, y una temperatura ambiental interna de 19 ± 0.2 , con un pico mínimo de $15,5^\circ\text{C}$ (Figura 2). Los porcentajes de humedad relativa y niveles de CO_2 fueron medidos cada 15 min, lo que permitió el seguimiento con mayor precisión las fluctuaciones observadas.

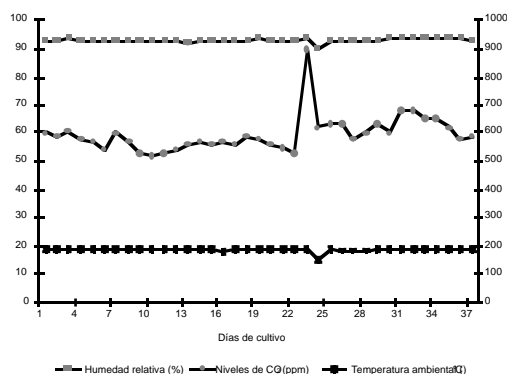


Figura 2. Condiciones ambientales registradas en la nave durante el cultivo de las cepas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La preparación del sustrato siguiendo el método y la formulación descrita permitió producir un compost adecuado para el crecimiento micelial y desarrollo de las fructificaciones, con rendimientos adecuados para su producción comercial, que deben estar cercanos al 100% de eficiencia biológica (base húmeda). Asimismo, se observó constancia en las cantidades de basidiomas cosechados en las tres cepas durante ambas pruebas, inclusive incrementada cerca del 20% en la cepa IE-226 con el sustrato enriquecido, sin embargo esta correlación no se mantuvo en las cepas restantes. Otro aspecto relacionado con la suplementación fue su influencia en la disminución del periodo de incubación, al presentarse los primordios en menor tiempo. Ésto coincide con lo citado por otros autores sobre el efecto y utilización del nitrógeno disponible por parte del micelio vegetativo para inducir la fructificación [10-12].

Sin embargo, es importante considerar que el uso de suplementaciones basadas en contenido de nitrógeno pueden afectar el incremento de las temperaturas de incubación y en algunos casos extremos ésta puede ser incontrolable, afectando seriamente el desarrollo del micelio y favoreciendo la propagación de organismos patógenos no deseables [13]. Por esta razón, es muy importante contar

con un sistema de control de temperatura en el cuarto de incubación, así como realizar seguimientos periódicos de las temperaturas durante la primera semana de desarrollo vegetativo del micelio y, de caso necesario, hacer los ajustes necesarios para mantener la temperatura del sustrato adecuada para el crecimiento del hongo, especialmente importante cuando éstos han sido fermentados. También es importante considerar que el seguimiento de las temperaturas del compost en su etapa de incubación nos permitirá caracterizar la cepa, detectar su posible origen geográfico y necesidades ambientales; como en este estudio, dónde las cepas previamente cultivadas y seleccionadas bajo las condiciones templadas de México (IE-226 e IE-227) [6,14], presentaron tolerancia al pico máximo de $38-38,5^\circ\text{C}$ de las primeras horas de incubación.

Estas pruebas permitieron también corroborar que la rapidez de crecimiento micelial asociado con el incremento de la temperatura media en el sustrato no se correlaciona con una iniciación de primordios temprana, como fue el caso de la cepa IE-227, ya que la formación de estas estructuras no sólo depende de la velocidad de crecimiento micelial, sino van implícitas otras características bioquímicas y fisiológicas del hongo que lo capacitan para degradar satisfactoriamente el sustrato donde se desarrolla [7].

Por otra parte y debido al problema constante de restricción de espacios disponibles en las naves de cultivo comerciales, así como el desarrollo de plagas (dípteros, himenópteros, etc.) en contenedores con mayor tiempo en el cuarto de fructificación, un aspecto importante para la selección de cepas es la cinética de fructificación que presente. En este sentido, la cepa IE-226 mostró el ciclo más corto entre las cepas evaluadas, siendo una característica importante para su posible uso comercial.

Con respecto al índice de contaminación y plagas de las cepas IE-226 y 1314, éstas no mostraron daño alguno durante las etapas de incubación y cosecha, sin embargo algunas fructificaciones de la 1314 conservadas en refrigeración formaron una capa viscosa delgada sobre el píceo, probablemente debido a presencia de *Pseudomonas* spp., organismos comunes en las condiciones de almacenamiento en refrigeración que aceleran el deterioro de los hongos.

En cuanto a la contaminación de los basidiomas de la IE-227 observada en la nave de cultivo, la forma y coloración de las manchas desarrolladas coincidieron con la sintomatología observada en cuerpos fructíferos de *Agaricus bisporus* y *Agaricus bisporus* infectados con *Pseudomonas* [15] por lo que será necesario profundizar los estudios con esta cepa para determinar las condiciones necesarias para inhibir el desarrollo de estas bacterias.

Por otra parte es importante citar que la temperatura ambiental de 19°C mantenida en el cuarto de cultivo durante las pruebas se debió a que dicha temperatura es la óptima para la cepa 3014 y en el periodo de experimentación la nave estaba ocupada casi en su totalidad por contenedores con esta cepa; sin embargo, la IE-226 e IE-227 responden bien a un intervalo más amplio ($19-25^\circ\text{C}$) [14], específicamente la primera cepa fue cultivada posteriormente a una temperatura del aire de 25°C , alcanzado eficiencias biológicas de hasta 105% y basidiomas promedio de 8 cm de diámetro. Pero bajo estas condiciones fueron requeridas dos sesiones de cosechas diarias y los niveles de CO_2 se vieron incrementados hasta 1000 ppm, lo que forzó a incrementar los gastos de energía al aumentar los intercambios de aire en la nave. Además, la alta cantidad de esporas producidas por las fructificaciones de esta cepa repercutió en el uso de mayor volumen intercambiable de aire y la limpieza de los equipos de filtración.

A pesar de estas desventajas y considerando que el objetivo principal del trabajo fue determinar el comportamiento de cepas de *Pleurotus*, no sólo en relación a sus características de calidad y rendimiento de fructificaciones, sino sobre todo, en relación a su resistencia de patógenos que atacan el hongo en las diferentes etapas de su

cultivo, y además, haciendo un análisis de costo-rendimiento, se concluye que la cepa IE-226 produjo fructificaciones libres de patógenos, así como rendimientos adecuados, que le permiten considerarla para su explotación comercial.

Bibliografía

1. Guzmán G, Montoya L, Salmones D, Bandala VM. Studies of the genus *Pleurotus* (Basidiomycotina) II. *P. djarmour* in Mexico and in other Latin-American Countries, taxonomic confusions, distribution and semi-industrial culture. *Crypt Bot* 1993; 3: 213-220.
2. Guzmán G, Montoya L, Mata G, Salmones D. Studies of the genus *Pleurotus*, III. The varieties of *P. ostreatus* complex-based in interbreeding strains and in the study of basidiomata obtained in culture. *Mycotaxon* 1994; 50: 365-378.
3. Guzmán G, Montoya L, Bandala VM, Salmones D. Studies in the genus *Pleurotus*, IV. Observations on the pink forms growing in Mexico based in the interbreeding of two different strains. *Mycotaxon* 1995; 53: 247-259.
4. 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.
5. Gaitán-Hernández R, Salmones D. Cultivo y selección de cepas de *Pleurotus* spp. con alto rendimiento. *Rev Mex Micol* 1996; 12: 107-113.
6. Salmones D, Gaitán-Hernández R, Pérez R, Guzmán G. Estudios sobre el género *Pleurotus*, VIII. Interacción entre crecimiento micelial y productividad. *Rev Iberoam Micol* 1997; 14: 173-176.
7. Chang ST, Miles PG. Edible mushrooms and their cultivation. Boca Ratón, CRC Press, 1989.
8. Stamets P. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Olympia, Mycomedia, 1993.
9. Tchierpe M, Hartman K. A comparison of different growing methods. *Mush Jour* 1977; 60: 404-416.
10. Royle DJ, Schisler LC. Yield and size of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* as effected by delayed-release nutrient. *Appl Microb and Biotech* 1987; 26: 191-194.
11. Royle DJ, Bahler BD. The effect of alfalfa hay and delayed-release nutrient on biological efficiency of *Pleurotus sajor-caju*. *Mush Journal for the Tropics* 1988; 8: 59-65.
12. Royle DJ, Saki SA. Yield stimulation of *Pleurotus flabellatus* by dual nutrient supplementation of pasteurized wheat straw. *Mushroom Sci* 1991; 13: 545-547.
13. Zadrazil F. Influence of ammonium nitrate and organic supplements on the yield of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. *Eur J Appl Microb Biotech* 1980; 9: 243-248.
14. Durán Z. Cultivo del hongo comestible *Pleurotus pulmonarius*: obtención de cepas por entrecruzamiento genético y evaluación de su producción a nivel planta piloto. Xalapa, Universidad Veracruzana, 1997.
15. Fletcher JT, White PF, Gaze RH. Mushroom: pest and disease control, Andover, Intercept, 1989.