

Evaluación de la eficiencia biológica de cepas de *Pleurotus pulmonarius* en paja de cebada fermentada

Rigoberto Gaitán-Hernández, Dulce Salmones,
Rosalía Pérez Merlo, Gerardo Mata

Instituto de Ecología, AC., Apartado Postal 63, Xalapa, Veracruz, México, 91000

Biological Efficiency evaluation of *Pleurotus pulmonarius* strains on fermented barley straw

Abstract. Five *Pleurotus pulmonarius* strains obtained by interbreeding of monokaryotic mycelia isolated from a commercial strain were studied. The aim was to identify germplasm adequate to industrial production. Pasteurized barley straw was used as the substrate for mushroom production. Two treatments were tested: barley straw fermented during 7 days (PCF) and unfermented straw (PC). The mean biological efficiency of the strains was 55.73% (PCP) and 71.25% (PC), while the production rate was 0.64% (PCF) and 0.92% (PC), after four flushes, with a mean production period of 66 days (PCF) and 58 days (PC). During fermentation period, the straw showed a maximum temperature (64°C) at five day. Prior to sowing, the pH of PCF was 9.4 with 74% moisture and control (PC) had a pH of 8.5 and 73% moisture. During the fermentation the initial C:N in the control was 76% (dry basis) and in the PCF decreased gradually until 47% at seven day. Some of the strains generated increased their productivity. However, their efficient use will depend on the substrate conditions on which the strain grow.

Key words: mushroom cultivation, solid state fermentation, intrastock crosses, oyster mushroom.

Resumen. Se estudiaron cinco cepas de *Pleurotus pulmonarius* obtenidas por entrecruzamiento de micelios monocarióticos de una cepa comercial, con el objetivo de identificar germoplasma adecuado para su producción industrial. Para la evaluación de la eficiencia biológica, se utilizó paja de cebada pasteurizada. Se realizaron dos tratamientos: paja de cebada fermentada durante 7 d (PCF) y paja sin fermentar (PC). La eficiencia biológica promedio fue de 55.73% (PCF) y 71.25% (PC), con una tasa de producción de 0.64% (PCF) y 0.92% (PC), después de cuatro cosechas, con un periodo de producción promedio de 66 d (PCF) y 58 d (PC). Durante la fermentación, la paja registró una temperatura máxima de 64°C al d 5. Previo a la siembra, el pH de la paja fermentada fue 9.4 con 74% de humedad, y la paja control tuvo un pH de 8.5 y 73% de humedad. La relación inicial C:N en la paja control fue de 76% (base seca) y en la sometida a fermentación disminuyó gradualmente hasta un 47% al d 7. Algunas de las cepas generadas incrementaron su productividad. Sin embargo, el eficiente aprovechamiento de las mismas, dependerá de las condiciones propias de sustrato en el cual se desarrollan.

Palabras clave: cultivo, fermentación sólida, entrecruzamiento, setas.

Received 28 August 2009; accepted 6 November 2009.

Recibido 28 de agosto 2009; aceptado 6 de noviembre 2009.

*Autor para correspondencia: Rigoberto Gaitán-Hernández
rigoberto.gaitan@inecol.edu.mx*

Introducción

Las especies de las llamadas setas (*Pleurotus* spp.) son populares como hongos comestibles cultivados y algunas de ellas se producen comercialmente, por sus propiedades nutrimentales y buen sabor. Estos hongos pueden desarrollarse en una gran variedad de sustratos lignocelulósicos (Sánchez y Royse, 2001; Chang y Miles, 2004.). Actualmente, el género ocupa el tercer lugar de los hongos cultivados a nivel mundial, después de *Agaricus* y *Lentinula* (Chang y Miles, 2004). La producción de *Pleurotus* a nivel comercial en México durante 2002 se estimó en 4,380 t (Lahman y Rinker, 2004), con un incremento gradual a más de 5,000 t para el 2005 (Gaitán-Hernández *et al.*, 2007).

El género *Pleurotus* tiene varias especies con importancia económica significativa, entre ellas *P. pulmonarius* (Fr.) Quél. (= *P. florida* Eger s. auct.; = *P. ostreatus* var. *florida* Eger). Esta especie crece en Europa, Asia y Norte América, en donde se le conoce como grey oyster mushroom y "*Pleurotus florida*" (Buchanan, 1993; Guzmán *et al.*, 1993). De las más de 20 especies reconocidas y variedades cultivadas a través del mundo (Buchanan, 1993), *P. pulmonarius* se cultiva comúnmente en regiones templadas y subtropicales (Petersen y Hughes, 1993; Iracabal *et al.*, 1995). A la fecha, existen opiniones diferentes sobre la presencia de formas silvestres de esta especie en México (Guzmán, 2000), pero su cultivo experimental sobre diversos residuos lignocelulósicos, tiene un gran desarrollo (Mata y Gaitán-Hernández, 1995; Salmones *et al.*, 1997; Salmones y Durán-Barradas, 2001; Salmones *et al.*, 2005; Sánchez *et al.*, 2008).

Con el género *Pleurotus* se han realizado una serie de ensayos para identificar y utilizar cepas mejoradas para la industria del cultivo. En los programas de mejoramiento de producción de hongos desarrollados por diversos grupos de investigación (Verma *et al.*, 2000; Kothe, 2001), se pone

énfasis en identificar o incorporar potencial genético para obtener un alto rendimiento en la producción de hongos, así como el manipular los parámetros ambientales y prácticas de manejo del cultivo. Entre las técnicas empleadas para especies de *Pleurotus* se encuentra el entrecruzamiento o hibridación, un método eficiente para obtener una combinación de características deseables. Este proceso ha sido extensamente utilizado en muchos hongos cultivados (Kumar, 1997). Por medio de la recombinación genética se pueden obtener características importantes de cepas, que puedan ser utilizadas en la industria de hongos comestibles (Chang y Miles, 2004).

Por otra parte, la escasa disponibilidad de hongos silvestres de *P. pulmonarius* ha limitado los estudios de selección genética que permitan identificar germoplasma con características deseables para satisfacer la demanda del mercado nacional, por ejemplo, alta productividad de fructificaciones, desarrollo rápido de micelio, tamaño, color y forma de los hongos, entre otros. Por ello, en este estudio se aislaron micelios a partir de una cepa comercial, con el propósito de seleccionar germoplasma que presentara una alta eficiencia biológica en paja de cebada y pudiera ser incorporado al sector productivo en México.

Materiales y métodos

Aislamiento de cultivos monospóricos y selección de dicariones

La cepa comercial de *Pleurotus pulmonarius* utilizada como parental está almacenada en el Cepario del Instituto de Ecología en Xalapa, Veracruz, México, registrada como IE-739. La cepa se mantuvo a 27 °C en medio de cultivo de agar con extracto de malta (AEM 1% de extracto de malta, 1.5 % de agar) (Bioxon, E.U.A.).

Los micelios monospóricos se aislaron a partir de basidiosporas de un cuerpo fructífero de la cepa IE-739, en

una suspensión con una concentración de 1×10^6 esporas/mL. Veinte micelios monospóricos fueron aislados y los tipos de apareamiento determinados con 12 de ellos (Eger, 1978). Diez micelios dicarióticos obtenidos, se cultivaron en unidades pequeñas de paja de cebada pasteurizada para inducir la formación de cuerpos fructíferos. Las cepas con periodos de fructificación más cortos, a partir de la inoculación (fructificación temprana), y desarrollo adecuado de hongos en tamaño y forma, fueron seleccionadas para determinar su eficiencia biológica.

Método de cultivo y fructificación

El inóculo se elaboró de manera convencional con semillas de sorgo (*Sorghum vulgare* L.) ajustadas a 55% de humedad y colocadas en bolsas de polietileno resistentes a alta temperatura, de acuerdo al método de Gaitán-Hernández *et al.* (2002).

Para la producción de fructificaciones se utilizó paja de cebada fragmentada. Fue hidratada por inmersión en agua durante 30 min y después de drenarla se realizaron dos tratamientos: 1) 320 kg de paja húmeda se fermentó durante 7 d (PCF), con aplicación de 2% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ al día 1 de fermentación para aumentar el pH inicial del sustrato. Fue utilizado un contenedor de madera de 1 m x 2 m x 0.8 m, donde la paja se mezcló diariamente para permitir la fermentación aerobia; 2) paja de cebada húmeda (PC), con aplicación de 2% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ previo a la pasteurización. En ambos tratamientos se determinó el pH y la relación C:N. El valor de la relación C:N fue obtenido de acuerdo al método de digestión modificado micro Kjeldahl, AOAC 12.1.07 (2000), y el C (%) al multiplicar el factor 0.58 por la materia orgánica.

Para ambos tratamientos (PC, PCF), la pasteurización fue por inyección de vapor a 65°C durante 11 h. La inoculación se llevó a cabo en bolsas de polietileno transparentes de 40 x 20 x 80 cm, con una mezcla de paja pasteurizada e inóculo de cada cepa. En cada bolsa, el peso fresco equivalente a 2650 g (peso seco) de paja fue inoculada

al 5%. Posteriormente, a cada bolsa se le hicieron 12 perforaciones de 1 cm de diámetro para permitir el intercambio gaseoso y favorecer el crecimiento del micelio. La paja inoculada fue incubada 20 días en oscuridad. Se determinó la temperatura del sustrato en las bolsas sembradas, la temperatura promedio del cuarto de incubación y la humedad ambiental. Transcurrido el periodo de incubación, las bolsas se colocaron en condiciones favorables de luz natural (12 h luz/12 h oscuridad), ventilación forzada (equivalente a 12 cambios/h) y con niveles bajos de CO_2 (<850 ppm), 85 a 90% de humedad relativa y una temperatura de 25 °C. La concentración de CO_2 se registró con un monitor portátil (TELAIRE 7001) y la humedad y temperatura ambiental con un termo-higrómetro digital (TAYLOR 1455). Los hongos se cosecharon en su estado adulto, cuando el píleo estuvo totalmente extendido. La producción de hongos se evaluó con base en la eficiencia biológica (EB) (peso fresco de hongos cosechados/peso seco del sustrato utilizado x 100) y tasa de producción (TP) [eficiencia biológica (%)/días transcurridos desde la inoculación hasta la última cosecha]. Adicionalmente, los hongos se clasificaron de acuerdo al diámetro de píleo desarrollado: grupo 1 (G1) <5 cm, grupo 2 (G2) de 5 a 9.9 cm, grupo 3 (G3) de 10-14.9 y grupo 4 (G4) >15 cm.

Análisis estadístico

Para cada condición se prepararon seis muestras, y a los valores obtenidos de los hongos cosechados se les aplicó un ANOVA usando un diseño en bloques completamente al azar. Las diferencias entre las medias de los tratamientos fueron identificados con la prueba de rangos múltiples de Tukey ($\alpha=0.05$).

Resultados y discusión

Cepas obtenidas por entrecruzamiento intraespecimen

Como resultado del entrecruzamiento de los 20 cultivos monocarióticos de la cepa IE-739, 1 a 5 monocariones fueron obtenidos por tipo de compatibilidad. Uno a tres micelios monocarióticos de cada tipo se seleccionaron para realizar las cruces, obteniendo 10 cultivos dicarióticos en total. En un ensayo preliminar de cultivo en paja de cebada estéril con muestras de 2 kg (peso húmedo), nueve de las cepas presentaron sus primordios entre los 22 a 27 d de incubación, y su primera cosecha entre los 27 y 34 d. La décima cepa no logró desarrollar fructificaciones morfológicamente normales. A partir de los resultados de este ensayo, se seleccionaron las siguientes cepas para la determinación de su productividad: IE-759, IE-760, IE-761, IE-762 e IE-763.

Producción de cuerpos fructíferos

Durante el periodo de fermentación, la temperatura de la paja aumentó de manera gradual desde el día 1, con un registro

máximo de 64°C al d 5, y disminución hasta el último día de fermentación de 58°C. Bajo una temperatura ambiental promedio de 22°C y con las condiciones de fermentación empleadas, al segundo día la paja ya había alcanzado 50°C (Figura 1). El pH de la paja control (no fermentada) fue de 7.9, pero en la sometida a fermentación se incrementó de manera notable al d 1 de fermentación, con la aplicación de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (pH 11.1), pero disminuyó ligeramente en el último periodo hasta 9.3, manteniendo una humedad final del 69% (Figuras 1 y 2). Sin embargo la humedad del sustrato aumentó del 69 al 74% después de su pasteurización con inyección de vapor, y el pH se mantuvo en 9.4. Por su parte, el pH de la paja control (7.9), aumentó a 12.6 por la aplicación inicial de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, pero posterior a la pasteurización disminuyó a 8.5, con una humedad del sustrato de 73% después del tratamiento térmico.

En el periodo de incubación, no hubo diferencias significativas en las temperaturas registradas en el interior de las muestras del sustrato de ambas condiciones. La temperatura máxima en bolsas sembradas con *P. pulmonarius* en PC fue de 34°C y en PCF de 32.5°C, con una temperatura

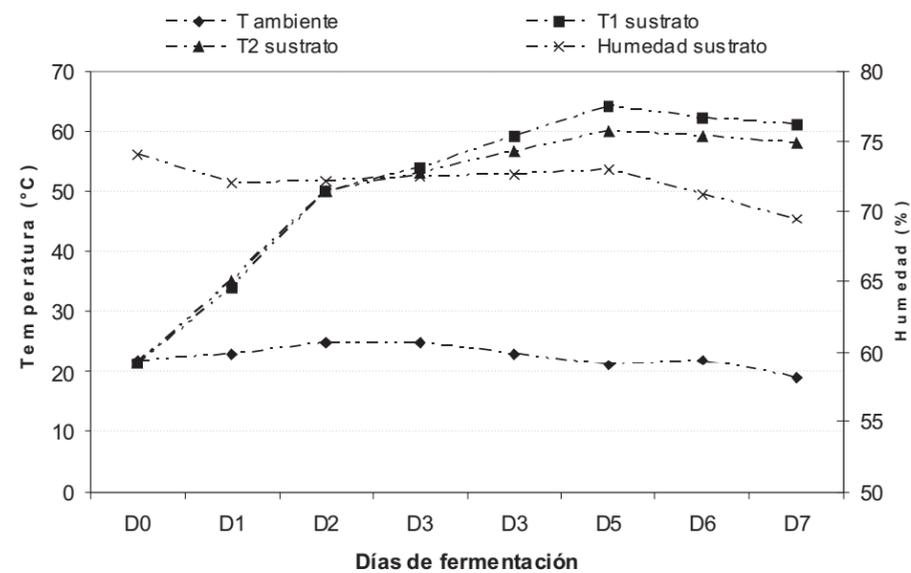


Figura 1. Variación en la temperatura y humedad durante el proceso de fermentación de la paja de cebada. T1: Temperatura de la paja en la parte media del contenedor y T2: Temperatura de la paja cerca de la superficie del contenedor.

Tabla 1. Producción de hongos por grupo de tamaño (%) y productividad (g) de las cepas de *Pleurotus pulmonarius* a 27°C, en paja de cebada

Cepa	Distribución de la producción/grupo de tamaño (g) ²⁾ (%) ³⁾					
	G1 ¹⁾	G2	G3	G4	E.B. ⁴⁾	T.P. ⁵⁾
Paja no fermentada (PC)						
IE-739	233.9(13.1)	629.8(35.6)	688.8(39.9)	183.4(11.3)	61.7±9.23 ^{c 6)}	0.76±0.13 ^c
IE-759	190.3(10.8)	790.0(45.0)	634.2(38.2)	102.4(6.0)	73.1±8.84 ^c	1.06±0.2 ^c
IE-760	267.4(10.3)	1230.9(47.9)	1014.7(39.4)	56.7(2.4)	93.6±30.15 ^c	1.32±0.48 ^c
IE-761	155.0(7.1)	725.6(32.4)	974.3(44.8)	365.9(15.7)	85.2±15.95 ^d	1.03±0.19 ^d
IE-762	158.1(10.3)	705.7(48.3)	586.5(30.0)	38.7(2.4)	57.1±8.97 ^b	0.69±0.14 ^b
IE-763	266.5(24.1)	594.8(49.3)	294.1(22.2)	44.1(4.4)	56.6±5.10 ^b	0.67±0.04 ^c
Promedio	211.9	779.5	698.8	131.9	71.2 ^b	0.92 ^b
Paja fermentada (PCF)						
IE-739	210.2(15.7)	572.5(44.3)	424.7(34.3)	71.2(5.7)	49.2±11.07 ^b	0.52±0.13 ^b
IE-759	200.8(17.3)	429.6(37.1)	459.0(39.7)	68.2(5.9)	51.4±12.00 ^b	0.62±0.14 ^b
IE-760	138.7(7.9)	847.3(48.9)	618.6(35.6)	171.2(7.7)	80.7±26.82 ^d	0.93±0.31 ^c
IE-761	192.4(15.4)	669.6(46.5)	447.0(33.5)	87.6(2.4)	53.7±34.97 ^b	0.63±0.38 ^b
IE-762	182.4(10.4)	920.7(53.7)	539.0(33.5)	45.3(2.4)	59.1±17.60 ^b	0.67±0.14 ^b
IE-763	268.9(26.0)	562.5(52.1)	234.9(20.8)	9.9(1.0)	40.1±12.46 ^a	0.64±0.15 ^a
Promedio	198.9	667.0	453.9	75.6	55.7 ^a	0.64 ^a

¹⁾ Grupo de tamaño de acuerdo al diámetro del píleo: G1 <5 cm; G2 5-9.9 cm; G3 10-14.9; G4 >15 cm. ²⁾ Peso obtenido por grupo de tamaño. ³⁾ Porcentaje de la producción de hongos, en cada grupo de tamaño. ⁴⁾ Eficiencia Biológica (%). ⁵⁾ Tasa de producción (%). ⁶⁾ Los valores son promedios ± DE. Valores en las columnas, de ambas condiciones, que no tienen al menos una letra en común son significativamente diferentes ($\alpha=0.05$, Tukey).

promedio del cuarto de incubación de 26°C y una humedad ambiental de 61 a 70%. Por su parte, el CO₂ en el ambiente fluctuó de 687 a 2500 ppm, con una concentración de 1000 ppm al final del periodo de incubación.

Los parámetros de producción de cuerpos fructíferos como eficiencia biológica, tasa de producción, número de cosechas y tamaño de hongos se observan en las Tablas 1 y 2. El ciclo de producción de fructificaciones de las cepas fue más corto en la paja de cebada sin fermentar (PC) que en la paja de cebada fermentada (PCF), con 58 y 66 d en promedio, respectivamente. El menor tiempo requerido para lograr las cuatro cosechas fue para la cepa IE-759-PC (50 d) y el más largo para el parental IE-739-PCF (73 d). En PC, solo las cepas IE-759 e IE-760 presentaron tiempos más cortos que la cepa IE-739 y en PCF, el ciclo de producción de hongos de todas las cepas fue menor que el parental (Tabla 1).

La producción total de hongos frescos de las seis muestras por cepa en PC fluctuó de 1199.5 g (IE-763) a 2596.5 g (IE-760), con un promedio de producción de

fructificaciones mayor a 1800 g/cepa, en las cuatro cosechas. En PCF la producción total fue de 1194.8 g (IE-763) a 2170.4 g (IE-760), con un promedio mayor a 1600 g/cepa (Tabla 1). En ambas condiciones, la distribución de la producción por cosecha tuvo un patrón similar, con más del 60% de la producción total de hongos ocurrida en las dos primeras cosechas y un promedio de casi 20% en la tercera, una importante condición para la explotación comercial, al aumentar considerablemente la producción de hongos hasta una tercera cosecha en periodos cortos (Tabla 1). La cepa IE-763-PC se caracterizó por presentar una producción uniforme durante las cuatro cosechas, incluso con una producción de hongos mayor al 30% en la tercera, condición similar en PCF.

En PC la EB promedio de las cepas fue de 71.25% y la TP de 0.92%. La mayor EB la obtuvo la cepa IE-760 con 93.63%, un 31% superior al parental y significativamente diferente ($p<0.05$) al resto de las cepas. En PCF la EB promedio fue de 55.73% y la TP de 0.64% y la más alta EB también se observó en la cepa IE-760 con 80.78%,

Tabla 2. Distribución de la producción de hongos frescos (g) durante cuatro cosechas de las cepas de *Pleurotus pulmonarius*, en paja de cebada

Cepa	PP ¹⁾	Distribución de la producción / cosecha (g) ²⁾ (%) ³⁾				Peso total ⁴⁾
		1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	
Paja no fermentada (PC)						
IE-739	61	786.8 (45.3)	459.9 (26.5)	273.8 (15.8)	215.4 (12.4)	1735.9 ^a
IE-759	50	873.6 (50.6)	339.3 (19.7)	362.8 (21.0)	150.4 (8.7)	1726.0 ^b
IE-760	53	527.5 (20.3)	971.4 (37.4)	719.2 (27.7)	378.4 (14.6)	2596.5 ^c
IE-761	62	1050.9 (47.3)	266.0 (12.0)	586.8 (26.4)	317.1 (14.3)	2220.8 ^c
IE-762	63	917.3 (59.3)	422.2 (27.3)	161.1 (10.4)	45.8 (3.0)	1546.4 ^a
IE-763	64	310.5 (25.9)	254.9 (21.2)	373.9 (31.2)	260.2 (21.7)	1199.5 ^a
Paja fermentada (PCF)						
IE-739	73	481.5 (32.3)	530.7 (35.6)	282.4 (19.0)	194.1 (13.0)	1488.7 ^a
IE-759	62	466.0 (33.0)	263.7 (18.7)	492.3 (34.8)	191.1 (13.5)	1413.1 ^a
IE-760	67	956.6 (44.1)	417.4 (19.2)	139.3 (6.4)	657.1 (30.3)	2170.4 ^a
IE-761	63	842.4 (59.1)	265.6 (18.6)	169.1 (11.9)	149.5 (10.5)	1426.5 ^a
IE-762	66	1085.0 (53.1)	163.7 (8.0)	303.7 (14.9)	489.5 (24.0)	2041.9 ^a
IE-763	67	349.3 (29.2)	252.9 (21.2)	338.4 (28.3)	254.2 (21.3)	1194.8 ^a

¹⁾ Período de producción (días transcurridos desde el término de la incubación hasta la cuarta cosecha). ²⁾ Peso promedio obtenido de 6 réplicas con 10 kg de paja cada una. ³⁾ Porcentaje de la producción de hongos de cada cepa, durante cada cosecha. ⁴⁾ Valores que no tienen al menos una letra en común en cada una de las cepas para ambas condiciones, son significativamente diferentes ($\alpha=0.05$, Tukey).

significativamente diferente ($p<0.05$) a las otras cepas (Tabla 1). La EB y la TP promedio en PC fue mayor y estadísticamente diferente ($p<0.05$) a PCF. El análisis de la EB de las cepas evaluadas mostró que en PC tres cruces fueron más productoras que el parental y cuatro en PCF. En general, el proceso fermentativo de la paja tuvo un efecto negativo en la producción, sin embargo, cuatro de las nuevas cepas generadas, tuvieron valores mayores de EB que el parental (IE-739), bajo esta condición (Tabla 1).

En PC y en PCF las cepas con las más altas TP coinciden con las de mayor EB. Sin embargo, el análisis estadístico determinó diferencias ($p<0.05$) entre los valores alcanzados por las cepas IE-760 e IE-761 con la cepa parental en la condición PC, y en PCF sólo una cepa (IE-760) fue mayor ($p<0.05$) en EB y dos en TP (IE-760, IE-763) (Tabla 1). Lo anterior indicó que la cepa IE-760 presenta el mayor potencial para su producción comercial.

Las EB promedio reportadas aquí para *P. pulmonarius* en PC (71.25%) y PCF (55.73%), fueron superiores a las obtenidas por otros autores para el mismo sustrato, como lo reportado por Paredes *et al.* (1996), quienes

citaron valores de EB inferiores al 50%, al cultivar cepas de *Pleurotus* spp. de diferente origen, en paja de cebada pasteurizada. Por su parte, Coutiño *et al.* (2004) obtuvieron una EB de 64.3%, lograda con una cepa de *P. pulmonarius* cultivada en un pasto (*Digitaria decumbens*) tratado con una solución de agua y Ca(OH)_2 al 0.5%. También han sido similares a las EB reportadas por Vogel y Salmones (2000), quienes evaluaron dos cepas de *P. pulmonarius* bajo condiciones de producción comercial, en paja de trigo fermentada durante dos días y suplementada con harina de soya. Asimismo, Salmones *et al.* (2005), reportaron EB de 66.4-77.1% para dos cepas de *P. pulmonarius* cultivadas en paja de trigo estéril.

Por otra parte, las EB aquí obtenidas fueron menores a las de varios autores. Lara-Herrera *et al.* (1998) reportaron EB de 105.6% en *P. pulmonarius* cultivado en paja de cebada pasteurizada por inmersión en agua caliente y Philippoussis *et al.* (2001), lograron EB de 81 a 123% con dos cepas de esta especie en paja de trigo fermentada durante 12 días.

Los hongos producidos por las cepas en paja de cebada fueron de los cuatro grupos de tamaño. El G2 (5-9.9

cm de diámetro del píleo) fue el mayoritario, con 779.5 g de hongos en promedio, representando el 43% de la producción total en PC y 667 g (47%) en PCF. El G3 (10-14.9 cm) fue el segundo mejor, con 698.8 g (35%) en PC y 453.9 g (32%) en PCF. Tanto en paja no fermentada como en la fermentada, el patrón general fue mayor producción de hongos de 5 a 14.9 cm (G2 y G3) y sólo unos pocos con diámetro del píleo mayor a 15 cm (G4) (Tabla 2).

La relación C:N registrada en la paja de cebada se presenta en la Figura 2. La relación inicial C:N en la paja control fue de 76% (base seca) y en la sometida a fermentación disminuyó gradualmente hasta un 47% al día 7. Esta disminución se da por la pérdida de materia orgánica debido al efecto de la respiración microbiana. Un baja relación C:N en el sustrato va influir de manera negativa durante la etapa de crecimiento micelial, ya que estos elementos, en la proporción adecuada, son los que más utiliza el hongo en su metabolismo inicial de desarrollo para la formación de nuevas células.

La relación C:N del sustrato fue determinante en el

desarrollo inicial de *P. pulmonarius*, dado el valor que tiene el carbono para las células. El carbono es el elemento que más se utiliza durante el crecimiento del hongo y es asimilado a partir de diferentes fuentes como polímeros, carbohidratos y lípidos (Sánchez *et al.*, 2002), en ello radica la importancia de la calidad del sustrato empleado para el cultivo de *Pleurotus*. Rajarathnam *et al.* (1986) encontraron que es necesaria una alta relación C:N para el desarrollo de *P. djamor*. Por su parte, Oei (2003) mencionó que una relación inicial alta de C:N en el sustrato, va a disminuir durante el crecimiento micelial del hongo. Esto coincide con Gupta *et al.* (1999), quienes determinaron una disminución en la relación C:N después de incubar por 25 días *P. sajor-caju* en paja de cebada (25.6%), bagazo de caña de azúcar (61.9%) y hojas de plátano (57.1%). Las variaciones pueden deberse a la cepa del hongo y al tipo de sustrato utilizado. Este factor quizá influyó en los rendimientos menores (EB, TP) observados en el sustrato sometido a fermentación en el trabajo ahora presentado, ya que se utilizó paja de cebada fermentada como ingrediente único y pobre en C:N. Por otra parte, Muez y Pardo (2002)

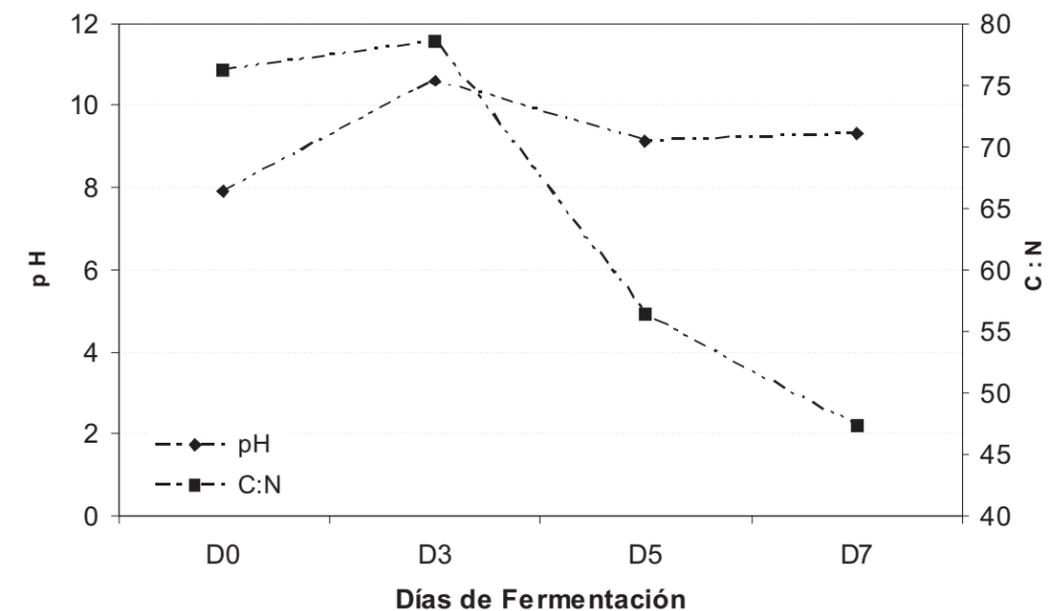


Figura 2. Valores de pH y relación C:N (%) registrados durante los siete días de fermentación de la paja de cebada.

mencionaron que para las especies del género *Pleurotus* es necesaria una selectividad biológica en el sustrato de crecimiento, ya que la flora microbiana presente debe ser protectora y no competidora de *Pleurotus* spp., esta condición no fue evaluada en este estudio. Los autores proponen un periodo más corto de fermentación, lo que permitiría una disponibilidad óptima de nutrientes favorables para el desarrollo de *P. pulmonarius*, bajo las condiciones aquí evaluadas.

En conclusión, con el entrecruzamiento intraespecimen se obtuvieron nuevos dicariones con características aceptables de producción de fructificaciones para su posible cultivo industrial. Ya que las cepas fueron evaluadas bajo las mismas condiciones de crecimiento, se asume que la mayor productividad de algunas de las nuevas cepas generadas fue en parte, a factores genéticos propios de la cepa, que permitieron la expresión de información genética favorable al desarrollo de cuerpos fructíferos bajo las condiciones evaluadas.

La fermentación aerobia aplicada al sustrato, produce cambios en su composición y estructura (Mata y Torres-Hernández, 2008), lo cual, en este caso, influyeron negativamente en los rendimientos de *P. pulmonarius*. Asimismo, se ha encontrado que los valores altos de temperatura registrados en el proceso de fermentación del sustrato, puede disminuir el contenido de azúcares solubles, debido al metabolismo de bacterias termofílicas que se desarrollan durante la fermentación y las cuales sobreviven a la pasteurización (Stölzler y Grabbe, 1991; Velázquez-Cedeño *et al.*, 2006), pero esa selectividad de sustrato tampoco favoreció la producción de hongos de las cepas evaluadas en el presente estudio.

Uno de los problemas al que se enfrentan los productores de hongos, es la limitación de espacio en los cuartos de cultivo, así también el incremento en el riesgo de plagas y contaminantes por los largos periodos de tiempo del sustrato en las áreas de producción. Por lo anterior, los

dicariones obtenidos en este trabajo son de gran interés en el contexto de su explotación comercial, ya que podrían reducir los ciclos de cultivo.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la compañía productora de hongos Prodiset (Edo. de México), la entrega de la cepa comercial, así como a las autoridades del Instituto de Ecología, A.C. y del CONACYT por el apoyo financiero para realizar esta investigación.

Literatura citada

- AOAC, 2000. Official methods of analysis. Association of official analytical chemists. Arlington.
- Buchanan, P.K., 1993. Identification, names and nomenclature of common edible mushrooms. In: Chang, S.T., J.A. Buswell, S.W. Chiu (eds.), Mushroom biology and mushroom products. The Chinese University Press, Hong Kong, pp. 21-32.
- Chang, S.T., P.G. Miles, 2004. Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. CRC Press, Boca Ratón.
- Coutiño, F., L. Jiménez, J.E. Sánchez, D.J. Royse, 2004. *Digitaria decumbens* grass substrate prepared by alkaline immersion for culture of *Pleurotus* spp. In: Romaine, C.P., C.B. Keil, D.L. Rinker, D.J. Royse (eds.), Science and cultivation of edible and medicinal fungi. The Pennsylvania State University, pp. 267-271.
- Eger, G., 1978. Biology and breeding of *Pleurotus*. In: Chang, S.T., W.A. Hayes (eds.), The biology and cultivation of edible mushrooms. Academic Press, New York, pp. 497-519.
- Gaitán-Hernández R., D. Salmones, R. Pérez Merlo, G. Mata, 2002. Manual práctico del cultivo de setas: aislamiento, siembra y producción. Instituto de Ecología, Xalapa.
- Gaitán-Hernández, R., D. Salmones, G. Mata, 2007. Como llegar a la certificación de la calidad del inóculo para la producción de *Pleurotus* spp. In: Sánchez, J.E., D. Martínez-Carrera, G. Mata, H. Leal (eds.), El cultivo de setas *Pleurotus* spp. en México. El Colegio de la Frontera Sur, Tapachula, pp. 73-79.
- Gupta, M., C.R. Sarkar, S. Gupta, 1999. Changes in contents of carbon, nitrogen, C:N ratio and weight loss of different substrates during cultivation of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. Mushroom Research 8: 39-41.
- Guzmán, G. 2000. Genus *Pleurotus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm. (Agaricomycetidae): diversity, taxonomic problems and cultural and traditional medicinal uses. International Journal of Medicinal Mushrooms 2: 95-123.
- Guzmán, G., G. Mata, D. Salmones, C. Soto-Velazco, L. Guzmán-Dávalos,

1993. El cultivo de los hongos comestibles, con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales. I.P.N. México, D.F.

- Kothe, E., 2001. Mating-type genes for basidiomycete strain improvement in mushroom farming. Applied Microbiology and Biotechnology 56: 602-612.
- Kumar, S., 1997. Traditional technique of breeding in mushrooms. In: Rai, R.D., B.L. Dhar, R.N. Verma (eds.), Advances in mushroom biology and production. MSI Solan. pp. 39-58.
- Lara-Herrera, I., G. Mata, R. Gaitán-Hernández, 1998. Evaluación del efecto de la criopresevación de cepas de *Pleurotus* spp. sobre la producción de carpóforos. Revista Iberoamericana de Micología 15: 44-47.
- Lahman, O., D.L. Rinker, 2004. Mushroom practices and production in Latin America: 1994-2002. In: Romaine, C.P., C.B. Keil, D.L. Rinker, J.D. Royse, (eds.), Science and cultivation of edible and medicinal fungi. The Pennsylvania State University, pp. 681-686.
- Martínez-Carrera, D. 2002. Current development of mushroom biotechnology in Latin America. Micología Aplicada Internacional. 14: 61-74.
- Mata, G., R. Gaitán-Hernández, 1995. Cultivo de *Pleurotus* en hojas de caña de azúcar. Revista Mexicana de Micología 11: 17-22.
- Mata, G., F.E. Torres-Hernández, 2008. Effect of aerobic fermentation substrate on *Pleurotus ostreatus* production and resistance to *Trichoderma viride*. In: Lelley, J.I., J.A. Buswell (eds.), Mushroom biology and mushroom products. Bonn, pp. 74-82.
- Muez, M.A., J. Pardo, 2001. La preparación del sustrato. In: Sánchez, J.E., D.J. Royse (eds.), La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. El Colegio de la Frontera Sur. Limusa-Grupo Noriega Editores. México, D.F. pp. 159-186.
- Oei, P., 2003. Mushroom cultivation 3rd edition. Appropriate technology for mushroom growers. Backhuys Publishers Leiden.
- Paredes P., H. Leal, R. Ramírez, A. Arias-García, 1996. Criterios de selección de cepas de *Pleurotus* spp. para mejorar la competitividad de la producción comercial. Micología Neotropical Aplicada 9: 67-79.
- Petersen, R.H., K.W. Hughes, 1993. Intercontinental interbreeding collections of *Pleurotus pulmonarius*, with notes on *P. ostreatus* and other species. Sydowia 45: 139-152.
- Philippoussis, A., G. Zervakis, P. Diamantopoulou, 2001. Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the

edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvaceae* and *Pleurotus* spp. World Journal of Microbiology and Biotechnology 17: 191-200.

- Rajaratnam, S., Z. Bano, M.V. Patwardhan, 1986. Nutrition of the mushroom *Pleurotus flabellatus* during its growth on paddy straw substrate. Journal of Horticultural Science 61: 223-232.
- Salmones, D., Z. Durán-Barradas, 2001. Obtaining and selecting highly productive strains of *Pleurotus pulmonarius* under warm environmental conditions. Mushroom Research 10: 59-65.
- Salmones, D., G. Mata, K.N. Waliszewski, 2005. Comparative culturing of *Pleurotus* spp. on coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate biodegradation. Bioresource Technology 96: 537-544.
- Salmones D., R. Gaitán-Hernández, R. Pérez, G. Guzmán, 1997. Estudios sobre el género *Pleurotus*. Interacción entre crecimiento micelial y productividad. Revista Iberoamericana de Micología 14: 173-176.
- Sánchez, J.E., D.J. Royse, 2001. La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. Limusa-Grupo Noriega Editores. México, D.F.
- Sánchez, A., F. Ysunza, M. Beltrán-García, M. Esqueda, 2002. Biodegradation of viticulture wastes by *Pleurotus*: A source of microbial and human food and its potential use in animal feeding. Journal of Agriculture and Food Chemistry 50: 2537-2542.
- Sánchez, A., M. Esqueda, R. Gaitán-Hernández, A. Córdova, M. L. Coronado, 2008. Uso potencial del rastrojo de tomate como sustrato para el cultivo de *Pleurotus* spp. Revista Mexicana de Micología 28: 17-24.
- Stölzler, S., K. Grabbe, 1991. Mechanisms of substrate selectivity in the cultivation of edible fungi. Mushroom Science 13: 141-146.
- Velázquez-Cedeño M.A., G. Mata, A.M. Farnet, J.M. Savoie, 2006. Estudio preliminar de la micoflora bacteriana termotolerante de la pulpa de café y la paja de trigo con potencial de inhibición contra *Trichoderma viride* en el cultivo de *Pleurotus* spp. Revista Mexicana de Micología 22: 33-39.
- Verma, R.N., M.C. Yadav, B.L. Dhar, R.C. Upadhyay, 2000. Strategies for genetic improvement of mushrooms – future perspectives. Mushroom Research 9: 1-10.
- Vogel F., D. Salmones, 2000. Análisis comparativo de la productividad de cepas de *Pleurotus* spp. cultivadas en una planta comercial. Revista Iberoamericana de Micología 17: 138-141.