

20
20j

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS

CULTIVO DE LOS HONGOS COMESTIBLES DEL GÉNERO
PLEUROTUS SOBRE LIRIO ACUÁTICO Y
DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS EN
LAS MUESTRAS OBTENIDAS

Tesis que para obtener el grado de
Maestría en Ciencias (Biología)

presenta
1a Química Bióloga

Ruth Argentina De León Chocooj

México, D.F. 1990

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

I.	RESUMEN	8
II.	INTRODUCCION	9
III.	ANTECEDENTES	13
IV.	OBJETIVOS	16
V.	MATERIALES Y METODOS	17
VI.	RESULTADOS	24
VII.	DISCUSION DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES	30
VIII.	LITERATURA CITADA	34

I. RESUMEN

Se presentan los resultados del cultivo de *Pleurotus ostreatoroseus* y *Pleurotus ostreatus* var. *florida* sobre lirio acuático con 1, 4 y 6 días de fermentación. La eficiencia biológica más alta se obtuvo cuando el sustrato fue fermentado 6 días, la cual fue de 120.41 y 170.69% para *P. ostreatoroseus* y de 110.48% para *P. ostreatus* var. *florida*. Se determinó la concentración de metales pesados (cadmio, cobre, plomo y zinc) en los cuerpos fructíferos obtenidos de los hongos estudiados y en el lirio acuático desmenuzado. Los resultados de las muestras analizadas mostraron valores muy bajos en la concentración de dichos metales.

II. INTRODUCCION

El lirio acuático, *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms ocupa grandes extensiones en México. En 1982 se calculó que cubría una superficie de 43000 hectáreas (Delgado, 1982), área que sigue creciendo debido al asolve de lagunas y ríos. Esta planta provoca muchos problemas, como disminución de la aereación del agua y dificultad en la navegación; su control es sumamente difícil y costoso, debido a su rápido crecimiento. Por otra parte, su aprovechamiento hasta ahora ha sido casi nulo.

En el presente trabajo se discute un nuevo aprovechamiento del lirio acuático, mediante el cultivo de hongos comestibles, con técnicas sencillas y de bajo costo, con la ventaja de que los residuos pueden emplearse posteriormente como abono o forraje.

Los hongos comestibles en México se han cultivado últimamente sobre diversos residuos agro-industriales, con resultados favorables (Guzmán y Martínez-Carrera, 1985; Martínez-Carrera, 1987; Guzmán-Dávalos et al., 1987a; Guzmán-Dávalos et al., 1987b; Guzmán-Dávalos y Soto-Velazco, 1989). Se han utilizado sustratos tales como pulpa de café, paja de cebada, bagazo de caña de azúcar, bagazo de maguey tequilero y olote de maíz, principalmente. Sin embargo, no se ha experimentado sobre el lirio acuático, debido a que existe la idea de que esta planta tiene alta concentración de metales pesados. Poco se ha estudiado sobre la acumulación de metales pesados en los hongos y en los sustratos que se utilizan para esta actividad.

Los metales pesados se caracterizan porque permanecen en el ambiente de manera indefinida y porque producen diversos daños a los seres vivos. Los principales metales pesados son cadmio, cobre, cobalto, hierro, mercurio, níquel, plomo, uranio y zinc. Se les da el nombre de metales pesados debido a su densidad, la cual es cinco veces mayor a la del agua. Se han utilizado desde la antigüedad por sus ventajosas características físicas, como son maleabilidad, ductibilidad, buena conducción del calor y electricidad; actualmente se utilizan en diversos procesos industriales, como en la síntesis de nuevos compuestos, con lo que se incrementa su presencia en el ambiente (UNEP, 1980). Esta contaminación puede ocasionar a largo plazo la destrucción parcial o total de los ecosistemas (Stromgren, 1982).

En un ecosistema dulceacuícola, los metales pesados provienen generalmente del arrastre por los ríos de materiales contaminados. Estos elementos se pueden unir a la biomasa muerta (plantas, peces, microorganismos, etc.) y llegar a asentarse en los sedimentos. Por otra parte, son absorbidos por algunas plantas acuáticas. Esto promueve que el contenido de metales en el agua disminuya (Förstner y Wittman, 1979), por lo que las plantas acuáticas pueden ser usadas parcialmente para eliminar agentes químicos nocivos, ya que tienen la propiedad de remover y concentrar estos elementos; encontrándose en algunos casos concentraciones de 4,000 a 20,000 veces más sustancias nocivas en las plantas que en el agua (N.A.S., 1976)

El lirio acuático es una planta originaria del Amazonas brasileño y se introdujo a México a principios de siglo como una planta ornamental por la belleza de sus flores; posteriormente se propagó en todo el país como plasa (SARH, 1984). Esta planta se conoce en México con los nombres populares de lirio acuático, Jacinto, cucharilla y flor de huachinango (Sánchez-Sánchez, 1979).

La reproducción del lirio es sexual (por formación de semillas) y asexual (vegetativamente por medio de estolones); esta última es la forma más frecuente de propagación en México. Se reproduce generalmente entre 65 y 70 días y en condiciones ambientales propicias de 10 plantas se puede llegar a tener una población de 600,000 en un periodo de 8 meses. Se ha calculado que cada planta puede llegar a evotranspirar un promedio de 3 litros de agua diarios (Weldon et al., 1973). Debido a su acelerado crecimiento en los lagos y ríos y su resistencia a los métodos utilizados para su eliminación, representa un grave problema en los sistemas lacustres y fluviales de América Latina.

Para su aprovechamiento, se han propuesto diferentes alternativas, las cuales no han dado resultados favorables. Algunas de ellas son el consumo por ganado porcino y vacuno; otra ha sido utilizar hongos celulolíticos que lo desreden para obtener posteriormente alimento forrajero de mejor digestibilidad y contenido protéico adecuado, con métodos costosos y difíciles de llevar a la práctica; otra es la de producción de celulosas pero tampoco se han encontrado las metodologías apropiadas (Prescott, 1980; Revah et al., 1982).

Referente a los metales pesados en el lirio acuático Stawinski y Monroy (1982a) analizaron el contenido de cinco metales considerados como los más peligrosos (arsénico, mercurio, plomo, cadmio y cobre) de muestras provenientes de once lugares de la República Mexicana. Los resultados obtenidos revelaron que el lirio acuático acumula principalmente mercurio y plomo en cantidades consideradas tóxicas por las normas mundiales para alimentos. Los metales con un peso atómico menor se acumulan en las hojas, los que poseen peso atómico mediano se acumulan en los brotes y los metales más pesados como plomo y mercurio se acumulan en la raíz (Stawinski y Monroy 1982b).

Sin embargo, como se discutirá más adelante, en los estudios realizados en el presente trabajo, las concentraciones de metales pesados encontrados en las muestras de lirio acuático utilizados en el cultivo de hongos, mostraron valores muy bajos, lo mismo que en las fructificaciones de los hongos.

III. ANTECEDENTES

El cultivo de hongos comestibles ha tomado mucho auge desde la década pasada (Martínez et al., 1984). Hasta ahora se ha investigado el crecimiento y producción de cuerpos fructíferos en una variedad de residuos agro-industriales, sin tomar en cuenta los procesos químicos o físicos a los que estos han sido sometidos antes de convertirse en residuos.

En hongos cultivados, uno de los primeros estudios para determinar la acumulación de metales pesados, tales como plomo, cadmio, cobre, zinc y mercurio, fue realizado por Grabbe y Domsch (1974) utilizando composta de desechos municipales. Ellos observaron que estos metales se acumularon en los hongos cultivados.

Bano et al. (1981) cultivaron cuatro diferentes especies de *Pleurotus* utilizando paja de arroz como sustrato y analizaron el contenido de metales pesados, tanto del sustrato como de los cuerpos fructíferos obtenidos; los resultados revelaron que las cantidades determinadas están dentro del límite superior máximo permitido por la FPO (Fruit Product Order) y FFA (Prevention of Food Adulteration).

Kueller et al. (1981) analizaron el contenido de cadmio, cobre, mercurio, níquel, plomo y zinc en muestras de residuos provenientes de la pulpa de papel y posteriormente cultivaron *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. sobre estos residuos, observando que no hubo bio-acumulación anormal de los metales pesados mencionados anteriormente en los hongos cultivados.

Son muy escasas las investigaciones que se han realizado acerca del cultivo de hongos sobre lirio acuático. En México, Leal-Lara et al. (1982) estudiaron la capacidad de *Volvariella volvacea* (Bull. ex Fr.) Sing. para crecer en el lirio y observaron que el desarrollo del micelio es mínimo en este sustrato.

En lo referente a los estudios con otras plantas acuáticas, Jain et al. (1988a) utilizaron *Ipomoea aquatica* Forsk., *Lemna minor* L. y *Azolla pinnata* R.Br. como sustrato para el cultivo de *Pleurotus sajor-caju*, y obtuvieron una eficiencia biológica de 9.3, 6.3 y 7.4% en cada uno de los sustratos mencionados anteriormente.

Jain et al. (1988b) determinaron la absorción de metales pesados, tales como plomo, cadmio, zinc, manganeso, cobalto, cobre, níquel y hierro en *Lemna minor* y la transferencia de estos metales hacia los cuerpos fructíferos de *Pleurotus sajor-caju*; los resultados obtenidos indican que los metales absorbidos en mayor cantidad por *Lemna minor* son el plomo y el cadmio y en los cuerpos fructíferos la mayor absorción fue de zinc.

Pleurotus ostreatoroseus Sing. es una especie comestible tropical y sub-tropical de amplia distribución pero no abundante. Se conoce desde Brasil, de donde Singer (1961) la describió. Posteriormente Singer (1962) la citó con el nombre de '*Pleurotus roseopilatus*' Sing.; en 1969 lo recolectó en México (Los Tuxtlas, Ver.) y el material lo depositó en ENCB y MEXU con el nombre de '*P. roseopilatus*' como lo citaron Guzmán y Guzmán-Dávalos (1984), quienes hicieron ver que '*P. roseopilatus*' puede considerarse como nomen dubium por no haberse descrito, ya que el epíteto *ostreatorosus* es el correcto. Dichos autores citaron la

especie de Morelos y Veracruz.

Guzmán-Dávalos y Soto (1987) citaron a este hongo de tres localidades del Estado de Jalisco: Yahualica, Chiquilistlán y Guadalajara. A partir de los especímenes de la última localidad que crecían sobre un tocón de *Yucca*, se obtuvieron cepas de origen multisférico, las que fueron aisladas en asar extracto de malta.

Dos de estas cepas de *P. ostreatoroseus* fueron estudiadas por Cedano et al. (1988), quienes las desarrollaron y caracterizaron en cuatro medios sólidos de cultivo bajo condiciones de obscuridad y a temperaturas de 28° y 30°C.; posteriormente cultivaron este hongo en bagazo de maguey tequilero y obtuvieron la primera cosecha a los 17 días de inoculación. Esta fue la primera vez que se cultivó la especie y de ahí la importancia práctica del presente trabajo. Recientemente, Sosa Melgarejo (1989) aisló una cepa de *P. ostreatoroseus* nativa de Veracruz.

Con respecto a los estudios de *P. ostreatus* var. *florida*, la cepa fue aislada por Eser en 1959 a partir de un espécimen colectado en Florida (E.U.A.) (según Sinder y Harris, 1987); es un hongo que ha sido estudiado a nivel genético (Eser et al., 1979; Bresinsky et al., 1987) y a nivel de cultivo en diferentes sustratos, tales como paja de trigo, bagazo de maguey, bagazo de caña de azúcar y pulpa de café (Zedrazil, 1978; Guzmán-Dávalos et al., 1987a; Guzmán-Dávalos et al., 1987b; Martínez-Carrera, 1987), por ser esta especie más estudiada, se utilizó en el presente trabajo para comparar su comportamiento con *P. ostreatoroseus* que es una especie poco conocida.

IV. OBJETIVOS

Este trabajo tiene como objetivos desarrollar una tecnología apropiada para cultivar los hongos *Pleurotus ostreatoroseus* Sins. y *P. ostreatus* var. *florida* sobre lirio acuático; además estudiar las características que este sustrato necesita para obtener una máxima producción de hongos; por otra parte determinar las concentraciones de metales pesados, como cadmio, cobre, plomo y zinc en el lirio acuático antes y después del cultivo del hongo y también de los cuerpos fructíferos cultivados.

V. MATERIALES Y METODOS

En la figura 1 se representa el proceso de la investigación sesuido en el presente trabajo, el cual consistió en la obtención del lirio acuático y su tratamiento para el cultivo del hongo, su inoculación con las cepas seleccionadas, desarrollo del micelio y cosecha de las fructificaciones y análisis químico de metales pesados, tanto de los hongos como de las muestras del lirio.

Las cepas de *Pleurotus ostreatoroseus* empleadas en este trabajo son la IBUG 7-0 y la 7-2 y fueron aisladas a partir de un espécimen colectado en Guadalajara, como se indicó en los antecedentes. Además se utilizó como comparación una cepa de *P. ostreatus* var. *florida* Exer de origen norte americano (donada por el Dr. Zadrzil del Instituto Bodenbiologie der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft, en Braunschweig, Alemania Federal, al entonces Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos en Xalapa, Ver., ahora Instituto de Ecología) (cepa INIREB-4).

Todas las cepas fueron mantenidas en aser extracto de melta (Bioxon), entre 37° y 27°C. Al medio de cultivo de las cepas de *P. ostreatoroseus* IBUG 7-0 y 7-2 se les añadió además extracto de trigo, como lo propuso Cedano et al. (1988).

El inóculo fue preparado aproximadamente con 300 g de granos de trigo contenidos en frascos de vidrio de 13 x 7 cm con boca ancha y esterilizados a 121°C por 30 minutos, como lo recomienda Sinden (según Stamets y Chilton, 1983). La colonización completa del micelio en el trigo tomó de 1 a 2 semanas.

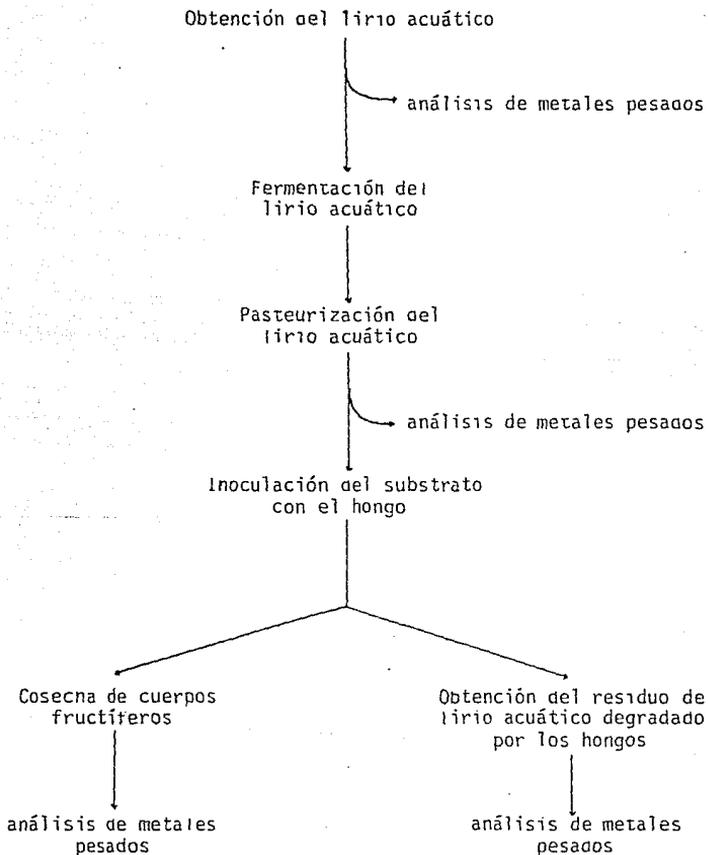


Fig. 1: Proceso de investigación en el cultivo de hongos comestibles sobre lirio acuático y el análisis de metales pesados.

El lirio acuático utilizado se obtuvo de la presa de La Vega, ubicada a 50 Km de la ciudad de Guadalajara en la carretera de Tala a Ameca, en el Estado de Jalisco. La forma de extracción del lirio fue manual y se eliminó la raíz, pues como lo citan Stewinski y Monroy (1982b), los metales pesados se acumulan más en la misma, razón por la que se utilizaron únicamente tallos y hojas. Dicho material, aproximadamente 800 Kg, se secó al sol y fue trasladado a las instalaciones del Instituto de Botánica; posteriormente se fragmentó en pedazos de aproximadamente 10 cm de largo, con la ayuda de una podadora de pastos, para facilitar su manejo. Luego se hidrató, aplicándole agua hasta obtener una humedad más o menos de 70 a 80%.

A continuación, el lirio acuático se fermentó para hacerlo más asimilable y aumentar su capacidad de retención de humedad. Se colocó en forma de pila piramidal de 2 m de largo por 1 m de alto y se cubrió con plástico. El periodo de fermentación fue de 1 a 6 días y el sustrato se removió cada 2 días para mantener una fermentación aeróbica uniforme. Durante este periodo, se tomaron muestras del lirio los días 1, 4 y 6 de fermentación para determinar la mayor eficiencia biológica del hongo en el sustrato, como lo recomienda Soto-Velazco (1985).

El lirio ya fermentado se pasteurizó, sumergiéndolo en agua a 75°C por 30 minutos; se extrajo, se escurrió el agua y se dejó enfriar aproximadamente por 20 minutos.

La inoculación del micelio en el sustrato se hizo cuando éste alcanzó una temperatura aproximada de 30°C. Se mezclaron 6 Kg de lirio acuático húmedo con aproximadamente 240 gr del inóculo de cada cepa y se introdujo en bolsas plásticas de 40 x 60 cm. Las tres cepas empleadas se

sembraron en ocho bolsas para cada uno de los periodos de fermentación antes señalados, lo que hizo un total de 72 bolsas, 48 para *P. ostreatoroseus* y 24 para *P. ostreatus* var. *florida*.

Durante el experimento se realizó una variante y fue el uso de paja de trigo sin fermentar para comparar el comportamiento de la cepa de *P. ostreatoroseus* IBUG 7-0 con respecto al lirio, en éste último sustrato como se explicará posteriormente en los resultados, la cepa IBUG 7-0 presentó deformaciones morfológicas. La paja de trigo se dejó previamente en remojo aproximadamente 24 horas, luego se pasteurizó siguiendo lo indicado en el lirio y se sembraron 8 bolsas con un peso de 6 Kg cada una.

Las bolsas ya inoculadas fueron colocadas al azar en los estantes de la planta piloto, con luz natural tenue para promover el crecimiento rápido del micelio y la producción de los cuerpos fructíferos siguiendo las recomendaciones de Kurtzman y Zadrazil (1982). La temperatura de la planta se registró durante el tiempo que duró el experimento con un termómetro de máximas y mínimas (marca Brannan). Para que las condiciones fueran homogéneas, los factores luz, temperatura y humedad fueron exactamente los mismos para todas las bolsas.

Para determinar el peso húmedo y seco de los cuerpos fructíferos después de cada cosecha, se empleó una balanza tipo comercial (marca Justa) con capacidad de 12.5 ks. Se tomaron muestras al azar de los cuerpos fructíferos de cada bolsa y serie y se introdujeron a un horno (marca J. M. Ortiz) a 100°C por 16 horas para determinar el % de humedad de los carpóforos. Con estos datos se obtuvo la eficiencia biológica, que es la relación del peso de hongos secos entre

el del sustrato seco, siguiendo a Jain et al. (1988a), quienes modificaron la técnica de Tchierpe y Hartman (1977), que empleaban el peso de los hongos frescos entre el del sustrato seco.

El peso del sustrato húmedo después de cuatro o cinco cosechas se tomó en una balanza con capacidad de 22 Kg (marca Torino). Posteriormente se tomaron muestras para determinar el peso seco del sustrato degradado por el hongo. Para esto se utilizó una secadora de hongos fabricada de madera, con una fuente de calor eléctrica y permanente (cuatro focos de 100 w). Las muestras ya secas fueron almacenadas en bolsas plásticas con su respectiva identificación para utilizarlas posteriormente en la determinación de los metales pesados.

La determinación de los metales pesados (cadmio, cobre, plomo y zinc) en el lirio acuático y en los cuerpos fructíferos de las cepas utilizadas se efectuó en un laboratorio especializado del Instituto de Ecología y solo se realizó de las muestras obtenidas a los 6 días de fermentación, ya que en este periodo se obtuvo la máxima eficiencia biológica. Las muestras analizadas fueron:

- 1 muestra de lirio acuático recién extraído de la presa de La Vesa
- 1 muestra de lirio acuático con 6 días de fermentación y después de su pasteurización
- 15 muestras de lirio acuático degradado por la cepas estudiadas (de cada cepa se tomaron cinco muestras al azar)
- 15 muestras de los cuerpos fructíferos de las cepas estudiadas que se obtuvieron en la primera cosecha sobre lirio acuático con 6 días de fermentación (de cada cepa se

tomaron 5 muestras que coincidían con las del sustrato analizado).

Se analizaron un total de 32 muestras, además se examinaron 5 duplicados de lirio acuático (uno recién extraído, otro con 6 días de fermentación y después de la pasteurización y 3 muestras de lirio desgranado), 3 duplicados de los cuerpos fructíferos de cada cepa y 24 muestras llamadas de recuperación, que fueron el control de calidad para determinar si hay errores durante el proceso de análisis que sufren las muestras.

Todo el material de laboratorio de análisis (vasos de precipitados, mortero, pistilo, varillas de vidrio para agitar, pipetas Pasteur, matraces esforados, bandejas y espátulas de teflón) fué lavado con una solución de detergente neutro (marca Extran) al 2%; después se enjuagó con agua de la llave y se sumergió en una solución de ácido nítrico (HNO_3) al 10% durante 16 horas aproximadamente; se lavó con agua destilada-desionizada. El material de vidrio se secó en una estufa a 100°C y el material de teflón se secó a temperatura ambiente. Finalmente, cuando el material quedó seco, se cubrió cada objeto con plástico autoadherible (marca Eze-Pac). Todo esto según lo sugerido por Aldana-Torres et al. (1981).

Se prepararon soluciones patrón de: Sulfato de cadmio octahidratado ($3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$), Sulfato de cobre (CuSO_4), Nitrato de plomo ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) y Sulfato de zinc heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), todas a una concentración de 1000 ppm.

A partir de estas soluciones patrón, se elaboraron las soluciones de concentración conocida para realizar la curva de calibración de cada metal en el espectrofotómetro de absorción atómica.

Las concentraciones fueron las siguientes:

- Cadmio: 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 3.0 ppm
- Cobre: 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 y 10.0 ppm
- Plomo: 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 y 25.0 ppm
- Zinc: 0.6, 0.9, 1.2, 1.6 y 2.0 ppm

Estas diluciones son recomendadas por Varian (1979) y Aldana-Torres et al. (1981).

Para la eliminación de la humedad y maceración de las muestras, éstas se colocaron en bandejas de teflón y se introdujeron en un horno a 60° C por 16 horas aproximadamente, para extraerles la humedad que adquirieron durante el tiempo de almacenamiento. Ya secas fueron maceradas en un mortero de vidrio y con la ayuda de un pistilo. Posteriormente fueron almacenadas en bolsas plásticas debidamente identificadas.

Para la digestión de las muestras, se pesó 1.0 g de cada una en la balanza analítica (marca Sauter) y se colocaron en vasos de precipitados de 100 ml. A las muestras de lirio acuático se les añadieron 10 ml de ácido nítrico (HNO_3) al 62% y 10 ml de ácido perclórico (HClO_4) al 70%. A los cuerpos fructíferos se les agregó 19 ml de HNO_3 al 62% y 1 ml de HClO_4 al 70%. Se tapó cada vaso con plástico adherible al que se le hicieron perforaciones para llevar a cabo una digestión lenta de las muestras. Se calentaron en una parrilla hasta sequedad y al terminar la digestión se enfriaron los vasos a temperatura ambiente. Posteriormente se lavó cada vaso escrupulosamente con HNO_3 al

10% y los lavados se recosieron en matraces aforados de 10 ml.

Para el análisis de las muestras se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica (marca Varian AA-1275) con las respectivas lámparas de cátodo hueco de cadmio, cobre, plomo y zinc. La metodología empleada en la determinación de los metales pesados es la sugerida por Aldana-Torres et al. (1981), Stratton (1981) y Varian (1979).

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente siguiendo un diseño de bloques en donde se tienen 3 cepas y tres tiempos de fermentación para el sustrato. Se realizó un análisis de varianza con base en el peso seco de los cuerpos fructíferos cosechados de *P. ostreatoroseus* y de *P. ostreatus* var. *florida*, cultivados sobre lirio acuático con 1, 4 y 6 días de fermentación; se compararon los resultados entre la misma cepa a diferentes periodos de fermentación y entre diferentes cepas al mismo periodo de fermentación; luego se aplicó la prueba de rango múltiple de Duncan (Kendall, 1980; Reyes, 1983).

VI. RESULTADOS

Durante el proceso de fermentación, la temperatura del substrato para el primer día fue de 40°C, para el segundo y tercer días de 48°C, para el cuarto de 54°C y para el quinto de 39°C. El lirio tenía el primer día una consistencia fácilmente separable, el quinto día se empezó a compactar; el substrato se dejó fermentar únicamente 6 días para evitar una mayor compactación ya que sería difícil su manejo. El primer día el lirio presentó un pH de 7.5, el cuarto día fue de 8.0 y al quinto para evitar una mayor alcalinidad del substrato se le mezcló agua; el sexto día el pH fue de 7.9.

En lo que corresponde a la colonización del micelio en el lirio acuático, la cepa de *P. ostreatoroseus* IBUG 7-0 colonizó el substrato con un día de fermentación de una manera deficiente, ya que presentó un crecimiento de poco vigor y lento; 15 días después de la siembra hubo una elevada contaminación por moscas y por mohos, lo que provocó la eliminación de 3 bolsas de las 8 sembradas al inicio del experimento. La primera cosecha se obtuvo el día 26 después de la siembra; la segunda fue el día 42. La eficiencia biológica obtenida fue de 47.67% con base en el peso fresco y de 4.77% con base en el peso seco de los cuerpos fructíferos.

La cepa de *P. ostreatoroseus* IBUG 7-2 y la de *P. ostreatus* var. *florida* INIREB-4 colonizaron de una manera rápida y con mayor vigor el substrato de un día de fermentación. Con la cepa IBUG 7-2 se obtuvo la primera cosecha a los 25 días después de la siembra; se tuvo un total de tres cosechas durante 62 días, con una eficiencia biológica de 113.24% con base en el peso fresco y de 9.69%

con base en el peso seco de los cuerpos fructíferos. La cepa de *P. ostreatus* var. *florida* INIREB-4 dio la primera cosecha a los 67 días después de la siembra y en total se obtuvieron cuatro cosechas en 97 días con una eficiencia biológica de 41.55 y 5.31% con base en el peso húmedo y seco de las fructificaciones, respectivamente.

En el lirio acuático con 4 días de fermentación las tres cepas colonizaron el sustrato de una manera rápida y con mayor visor; la cepa de *P. ostreatoroseus* IRUG 7-0 produjo la primera cosecha el día 26 y hubo cuatro cosechas durante 59 días, con una eficiencia biológica de 89.18% y de 9.48% con base en el peso fresco y seco, respectivamente. La primera cosecha de la cepa 7-2 fue el día 24 después de la siembra y se obtuvieron cuatro cosechas en 62 días, con una eficiencia biológica de 145.02 y 12.60% con base en el peso de los carpóforos frescos y secos, respectivamente. La cepa de *P. ostreatus* var. *florida* dio la primera cosecha 70 días después de la siembra y en total se obtuvieron cuatro cosechas en 100 días, con una eficiencia biológica de 58.71% y de 7.29% con base en peso fresco y seco de las fructificaciones, respectivamente (tablas 1 y 2).

En lirio acuático con 6 días de fermentación, el desarrollo micelial de las cepas estudiadas fue muy visoroso y rápido. La cepa de *P. ostreatoroseus* IRUG 7-0 dio la primera cosecha el día 26 después de la siembra, se obtuvo un total de cuatro cosechas en 64 días con una eficiencia biológica de 120.41 y 13.31% con base en el peso húmedo y seco de los hongos, respectivamente. La otra cepa de *P. ostreatoroseus* (IRUG 7-2) produjo la primera cosecha el día 23, fueron un total de 5 cosechas en 70 días con una eficiencia biológica de 170.69 y 15.99% con base en el peso

Tabla 1

Producción promedio de los cuerpos fructíferos de las cepas de *P. ostreatoroseus* y de *P. ostreatus* var. *florida* sobre lirio acuático a diferentes periodos de fermentación

Cepas	1'	2'	3'	Producción promedio					9'	10'	Eficiencia biológica (%)	
				4'	5'	6'	7'	8'			A	B
IBUG 7-0	1	6	0.823	377	17	---	---	---	394	90.03	47.87	4.77
	4	6	0.804	384	196	106	31	---	717	89.31	89.18	9.48
	6	6	0.887	313	243	301	211	---	1068	88.95	120.41	13.31
IBUG 7-2	1	6	0.823	760	148	24	---	---	932	91.45	113.24	9.69
	4	6	0.804	662	314	116	74	---	1166	91.32	145.02	12.60
	6	6	0.887	630	453	266	119	46	1514	90.63	170.69	15.99
INIREB-4	1	6	0.823	115	91	84	52	---	342	87.23	41.55	5.31
	4	6	0.804	198	230	38	6	---	472	87.57	58.71	7.29
	6	6	0.887	331	321	257	56	15	980	90.33	110.48	10.41

IBUG 7-0 y 7-2: *P. ostreatoroseus*

INIREB-4: *P. ostreatus* var. *florida*

- 1' = Periodo de fermentación (días)
- 2' = Peso húmedo del sustrato (Kg)
- 3' = Peso seco del sustrato (Kg)
- 4' = Primera cosecha (gr)
- 5' = Segunda cosecha (gr)
- 6' = Tercera cosecha (gr)
- 7' = Cuarta cosecha (gr)
- 8' = Quinta cosecha (gr)
- 9' = Producción total en base al peso húmedo (gr)
- 10' = Humedad de los cuerpos fructíferos (%)
- A = Con el peso de los hongos frescos
- B = Con el peso de los hongos secos

Tabla 2

Días transcurridos para obtener cuerpos fructíferos de *P. ostreatoroseus* y *Pleurotus ostreatus* var. *florida* sobre lirio acuático a diferentes periodos de fermentación

Cepas	Días de fermentación	Cosechas				
		1	2	3	4	5
		Días transcurridos				
IRUG 7-0	1	26	42	---	---	---
	4	26	41	55	59	---
	6	26	36	46	64	---
IRUG 7-2	1	25	42	62	---	---
	4	24	39	51	62	---
	6	23	37	48	64	70
INIREB-4	1	67	79	84	97	---
	4	70	84	90	100	---
	6	49	62	79	95	105

IRUG 7-0 y 7-2: *P. ostreatoroseus*
 INIREB-4: *P. ostreatus* var. *florida*

húmedo y seco de las fructificaciones. Con la cepa INIREB-4 de *P. ostreatus* var. *florida* se obtuvo la primera cosecha el día 49 después de la siembra y en total fueron 5 cosechas en 105 días, con una eficiencia biológica de 110.48% con base en el peso de los carpoforos húmedos y de 10.41% con base en el peso seco de los mismos (tablas 1 y 2).

Durante todo el experimento la cepa IBUG 7-0 presentó cuerpos fructíferos deformes tanto en el lirio acuático fermentado durante 1, 4 y 6 días, como en la paja de trigo. En este último sustrato se obtuvo una cosecha de 459.6 g con una eficiencia biológica de 32.20% con base en el peso fresco y de 2.58% con base en el peso seco de las fructificaciones.

El peso fresco del lirio acuático en cada réplica, al inicio del experimento, fue de 6 Kg. Posteriormente se determinó el peso seco, que fue de 0.823, 0.804 y 0.887 Kg cuando se fermentó 1, 4 y 6 días, respectivamente. Al terminar las cosechas en las tres variables del experimento se pesó nuevamente cada réplica y se le determinó el peso seco para hacer una comparación entre el peso inicial y el peso final del sustrato. Se obtuvo que el lirio acuático con 1 día de fermentación perdió un peso de 18.71, 31.94 y 29.89% con las dos cepas de *P. ostreatoroseus* y con *P. ostreatus* var. *florida* INIREB-4. La mayor pérdida de peso fue cuando se fermentó 6 días, siendo la diferencia en pérdida de peso para la cepa IBUG 7-0 de 41.26%, para la IBUG 7-2 de 43.97% y para la INIREB-4 de 49.94% (tabla 3).

Tabla 3

Deshidratación del lirio acuático en los diferentes periodos de fermentación, después de cosechados los cuerpos fructíferos de *P. ostreatoroseus* y *P. ostreatus* var. *florida*

Cepas	1*	2*	3*	\bar{X}	4* \pm DS	5*	6*
IBUG 7-0	1	6	0.823	4.46	0.77	0.669	18.71
	4	6	0.804	4.16	0.73	0.600	24.38
	6	6	0.887	3.47	0.47	0.521	41.26
IBUG 7-2	1	6	0.823	3.74	0.51	0.560	31.96
	4	6	0.804	3.85	0.37	0.579	27.99
	6	6	0.887	3.31	0.38	0.497	43.97
INIREB-4	1	6	0.823	3.98	0.49	0.577	29.89
	4	6	0.804	3.62	0.39	0.507	36.94
	6	6	0.887	2.90	0.42	0.444	49.94

IBUG 7-0 y 7-2: *P. ostreatoroseus*

INIREB-4: *P. ostreatus* var. *florida*

1* = Periodo de fermentación (días)

2* = Peso húmedo del lirio antes de la siembra (Kg)

3* = Peso seco del lirio antes de la siembra (Kg)

4* = \bar{X} = Peso húmedo promedio del lirio después de las cosechas (Kg), DS = desviación estándar

5* = Peso seco del lirio después de las cosechas (Kg)

6* = Porcentaje de deshidratación del lirio

La humedad del lirio acuático antes de la siembra fue aproximadamente de 86.03%, al final de las cosechas fue de 85.19%. La paja de triso antes de la siembra presentó una humedad de 76.20%. La conservación de la humedad por el lirio hizo que se le resara con menos frecuencia en comparación con la paja de triso, que se secaba con más rapidez.

Con respecto al análisis de metales pesados (cadmio, cobre, plomo y zinc) éste se determinó en las muestras obtenidas del lirio acuático con 6 días de fermentación por ser éste tiempo cuando se obtuvieron los valores más altos de producción.

El valor más alto de cadmio se obtuvo en el lirio acuático sin ningún tratamiento y fue de 0.073 mg/Kg; la concentración de este metal disminuyó a 0.011mg/kg después de la fermentación y pasteurización. En el lirio en donde se desarrollaron las cepas de *P. ostreatoroseus* IBUG 7-0 y 7-2 y la de *P. ostreatus* var. *florida* las concentraciones oscilaron entre 0.067 a 0.069 mg/Kg. En los cuerpos fructíferos los valores fueron de 0.048 a 0.052 mg/Kg (tabla 4).

Para el caso del cobre, en el lirio acuático sin tratamiento se encontraron 0.4 mg/Kg, los que disminuyeron a 0.22 mg/Kg después de la fermentación y pasteurización. Luego se incrementó cuando el lirio fue desradado por el micelio de las cepas estudiadas, obteniéndose valores de 0.55 y 0.77 mg/Kg. En los cuerpos fructíferos hubo bioacumulación, pues las concentraciones fueron de 1.06 a 1.71 mg/Kg (tabla 4).

Tabla 4

Análisis de metales pesados en el lirio acuático y en los cuerpos fructíferos de *P. ostreatoroseus* y *P. ostreatus* var. *florida*

MUESTRA	Cadmio mg/Kg $\bar{X} \pm DS$		Cobre mg/Kg $\bar{X} \pm DS$		Plomo mg/Kg $\bar{X} \pm DS$		Zinc mg/Kg $\bar{X} \pm DS$	
Lirio acuático sin tratamiento	0.073	0.075	0.40	0.02	2.08	0.090	5.72	0.08
Lirio acuático fermentado y pasteurizado	0.011	0.001	0.22	0.022	1.025	0.025	3.81	0.01
Lirio acuático degradado por cepa IBUG 7-0	0.067	0.004	0.55	0.008	1.78	0.060	6.30	0.36
Lirio acuático degradado por cepa IBUG 7-2	0.069	0.003	0.50	0.025	1.87	0.073	6.00	0.17
Lirio acuático degradado por cepa INIREB-4	0.068	0.003	0.77	0.021	1.93	0.062	6.02	0.05
Cuerpos fructíferos cepa IBUG 7-0	0.048	0.002	1.48	0.081	0.61	0.044	11.61	0.48
Cuerpos fructíferos cepa IBUG 7-2	0.052	0.001	1.71	0.14	0.61	0.014	9.59	0.23
Cuerpos fructíferos cepa INIREB-4	0.049	0.0005	1.06	0.14	0.60	0.033	9.65	0.04
Valores máximos de ingestión en una semana permitidos por FAO/WHO mg/Persona	0.4-0.5				300			

IBUG 7-0 y 7-2: *P. ostreatoroseus*
 INIREB-4: *P. ostreatus* var. *florida*
 \bar{X} = Concentración promedio
 DS = Desviación estándar

El plomo tuvo un valor inicial de 2.08 mg/Kg en el lirio sin tratamiento y disminuyó a 1.025 después que el lirio fue fermentado y pasteurizado. El lirio tratado con las cepas estudiadas tuvo valores de 1.78 y 1.93 mg/Kg y los cuerpos fructíferos valores de 0.60 y 0.61 mg/Kg (tabla 4).

El zinc fue encontrado en altas concentraciones; en lirio acuático sin tratar fueron de 5.72 mg/Kg, disminuyendo a 3.81 mg/Kg después de la fermentación y pasteurización para luego incrementarse entre 6.0 y 6.3 mg/Kg cuando el lirio fue degradado por las tres cepas de *Pleurotus*. Los cuerpos fructíferos presentaron una mayor acumulación, que fue de 9.59 a 11.61 mg/Kg (tabla 4).

Los resultados obtenidos en el análisis de varianza, indican que la producción de cuerpos fructíferos varía dependiendo de la cepa y del tiempo de fermentación (tabla 5). La prueba de rango múltiple de Duncan para las cepas IBUG 7-0 e INIREB 4-4 cultivadas en lirio acuático con 1, 4 y 6 días de fermentación indica que hay diferencia significativa al 1 y 5% entre el tiempo de fermentación de 6 días con respecto a 1 y 4 días. La cepa IBUG 7-2 presenta diferencia significativa al 1 y 5% en los tres diferentes periodos de fermentación.

Con respecto a la prueba de rango múltiple de Duncan, efectuada con los datos de producción de los cuerpos fructíferos de las tres cepas en lirio acuático con 1 día de fermentación, se obtuvo que la cepa de *P. ostreoroseus* IBUG 7-2 es significativamente diferente de las cepas IBUG 7-0 e INIREB 4-4. Con lirio acuático de 4 días de fermentación la producción no fue diferente significativamente entre las cepas IBUG 7-0 e IBUG 7-2 así como entre las cepas IBUG 7-0 e INIREB 4-4. La producción

Tabla 5
 Resultado del análisis de varianza (ANAVA)

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	F calculada	F de tablas (0.05)	F de tablas (0.01)
Cepas al mismo tiempo de fermentación	2	21637.0475	10818.5237	23.92	3.15	4.98
Cada cepa a distinto tiempo de fermentación	2	38485.8395	19242.9198	42.54		
Error	59	26687.3350	452.3300			
Total	63	86810.2219				

de caróforos que se obtuvo de las tres cepas cultivadas en
lirio acústico con 6 días de fermentación fue
significativamente diferente entre sí y la cepa más
productiva fue la de *P. ostreatoroseus* IRUG 7-2.

VII. DISCUSION DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES

La metodología apropiada para el cultivo de *Pleurotus ostreatoroseus* y *Pleurotus ostreatus* var. *florida* sobre lirio acuático se desarrolló mediante la fermentación aeróbica del sustrato por 6 días, en una planta productora de hongos con temperatura ambiental que osciló entre 15° y 25°C y una humedad relativa de aproximadamente 80%. De las cepas estudiadas, la más productiva fue la IBUG 7-2 de *P. ostreatoroseus*, que dio una eficiencia biológica de 170.69%. En la literatura revisada no se encontró otro sustrato que produjera una eficiencia tan alta, de no ser la pulpa de café en donde *P. ostreatus* var. *florida* produjo una eficiencia biológica de 175.80% (Martínez-Carrera, 1987). La eficiencia biológica de la cepa IBUG 7-0 de *P. ostreatoroseus* fue de 120.41% y la de *P. ostreatus* var. *florida* (cepa INIREB-4) fue de 110.48%.

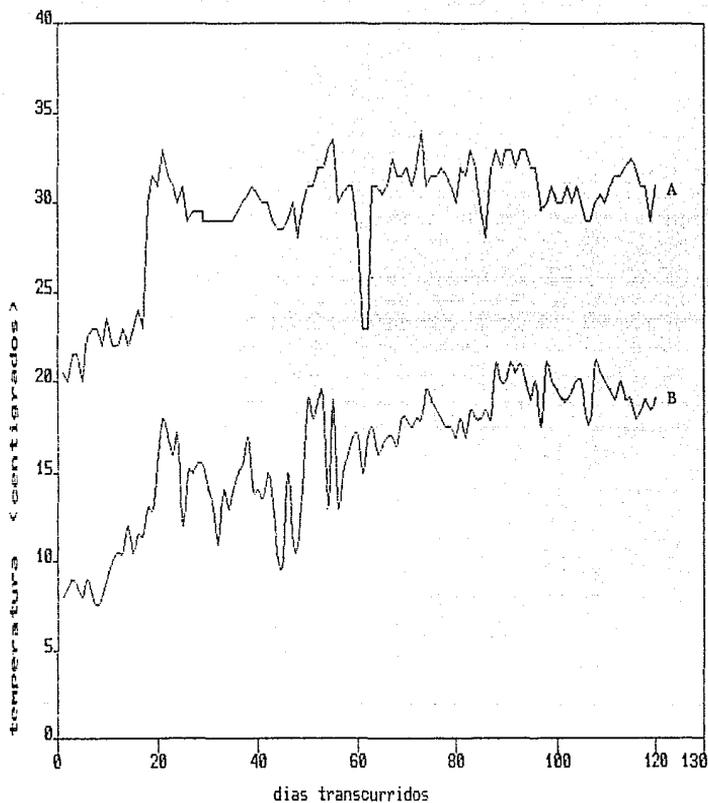
Los datos que se obtuvieron en el análisis de varianza, confirman el resultado de que para obtener una producción alta de cuerpos fructíferos de las cepas estudiadas es necesario fermentar el lirio acuático durante 6 días y la cepa más productiva fue la IBUG 7-2.

La cepa IBUG 7-0 cultivada sobre lirio acuático con los tres tratamientos de fermentación, produjo cuerpos fructíferos deformes. Lo mismo ocurrió cuando se usó como sustrato paja de trigo, razón por la que se considera que esta cepa degeneró por alguna causa ajena a este estudio. La producción de carpóforos en la paja de trigo con esta cepa fue escasa y se obtuvo una eficiencia biológica de 32.20%. Hay que hacer notar que a pesar de tal deformación, esta cepa produjo una alta eficiencia biológica en lirio acuático, como se señaló antes.

El micelio de *Pleurotus ostretus* var. *florida* se desarrolló rápidamente sobre el sustrato de lirio acuático con 1 día de fermentación, pero las fructificaciones se retardaron; la primera cosecha fue hasta los 67 días después de haber sido sembrada, en comparación con las cosechas de las cepas de *P. ostreatoroseus* que se iniciaron a los 25 y 26 días después de la siembra. La mayor eficiencia biológica fue de 110.48% en lirio acuático con 6 días de fermentación y ésta no fue muy alta si se compara con la que obtuvo Martínez-Carrera (1987) con esta misma cepa sobre pulpa de café, que fue de 175.80%, como ya se mencionó. Quizás su comportamiento fue afectado en este experimento por las temperaturas registradas durante los primeros 50 días de desarrollo, que oscilaron entre 25.3°C y de 11.5°C (figura 2). Por su origen (Florida, E.U.A.), esta cepa está adaptada a crecer a temperaturas más altas, cercanas a los 30°C.

En este estudio los resultados de eficiencia biológica se dan con base en el peso seco y con base en el peso húmedo de los cuerpos fructíferos, pues el porcentaje de agua en las fructificaciones varió entre 86 y 94% aproximadamente; si las eficiencias biológicas se hubieran dado sólo con base en el peso húmedo el dato no sería exacto; los resultados en peso seco tienden a ser constantes y por lo tanto más confiables.

Referente a las diferencias en peso del lirio acuático al inicio de la siembra y después de la cuarta y/o quinta cosecha de los hongos, en donde más materia orgánica se perdió fue en el lirio con 6 días de fermentación. La cepa que degradó el sustrato más rápidamente fue la de *P. ostreatoroseus* IBUG 7-2; ya que en 70 días que duró el



A= Temperatura máxima
 B= Temperatura mínima

Fig. 2: Temperaturas máximas y mínimas registradas en la Planta de Producción de Hongos, durante el cultivo de P. ostreatoroseus y P. ostreatus var. florida.

cultivo hubo una pérdida de peso de 43.97%. Aparentemente la cepa de *P. ostreatus* var. *florida* fue la que más degradó el sustrato, pero el cultivo tardó 105 días; por lo que se considera que el mejor resultado fue el obtenido con la cepa IRUG 7-2.

El lirio acuático por su consistencia esponjosa, tiene la capacidad de conservar la humedad. Sin embargo, durante el cultivo fue necesario resar el sustrato, aunque únicamente dos veces durante el día.

El análisis de metales pesados (cadmio, cobre, plomo y zinc) en el lirio acuático dio como resultado que después del proceso de fermentación y pasteurización, la concentración de los cuatro metales disminuyó; posteriormente se incrementó cuando el lirio sirvió de sustrato para el cultivo de los hongos (tabla 4). Este aumento se debe posiblemente a factores externos, como el agua de riego que pasa en el recorrido por tubos de metal; pero dicho incremento de metales aún sigue siendo bajo si se compara con los niveles permitidos por la FAO.

Los metales pesados tóxicos son el cadmio y el plomo y los valores que se obtuvieron en los cuerpos fructíferos son muy bajos (tabla 4). El cobre y el zinc son considerados micronutrientes y como lo mencionaron Byrne y colaboradores (según Brown y Wilkins, 1985), se han encontrado de diez a cinco veces más cobre y zinc en la familia *Asaricaceae* que en las plantas vasculares, incluso en hábitats sin contaminación. En este estudio, el análisis de cobre en el lirio acuático dio un valor de 0.4 mg/Kg y en los hongos los valores variaron entre 1.06 y 1.48 mg/Kg. Las concentraciones de zinc en las fructificaciones de los hongos son más altas comparadas con el lirio (tabla 4).

Chatterjee et al. (1988) mostraron que el zinc es un elemento importante que interviene en el metabolismo del ADN, ARN y proteínas. En los hongos ha sido observado no sólo como un constituyente de hexoquinasas, aldolasas y alcohol deshidrogenasa, sino que también afecta la utilización de glucosa.

Los niveles de cadmio, cobre, plomo y zinc que se obtuvieron en este trabajo son muy bajos y los datos casi siempre estuvieron fuera del rango de la curva que sirvió para calibrar el espectrofotómetro de absorción atómica (figuras 3, 4, 5 y 6).

Los resultados del análisis de metales pesados, tanto en el lirio tratado con las ceras de *P. ostreatoroseus* y *P. ostreatus* var. *florida*, como en las fructificaciones, revelaron que si se trabaja con lirio acuático sin raíz y si se aplica una fermentación de 6 días al sustrato, no hay ningún riesgo de intoxicación, aunque se susiere que para otros estudios donde se utilice como sustrato, se investigue la concentración de metales pesados presente en el lirio.

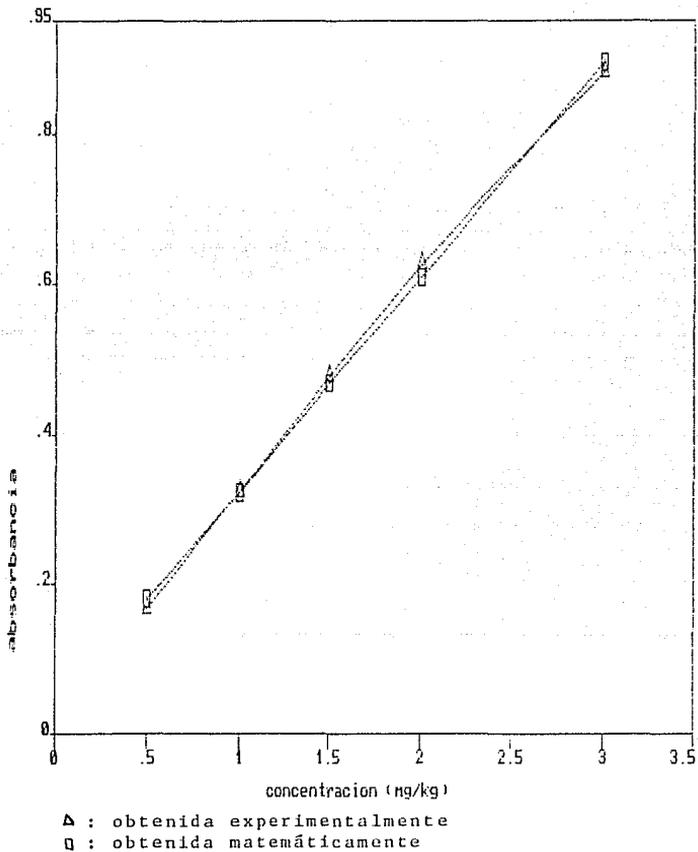
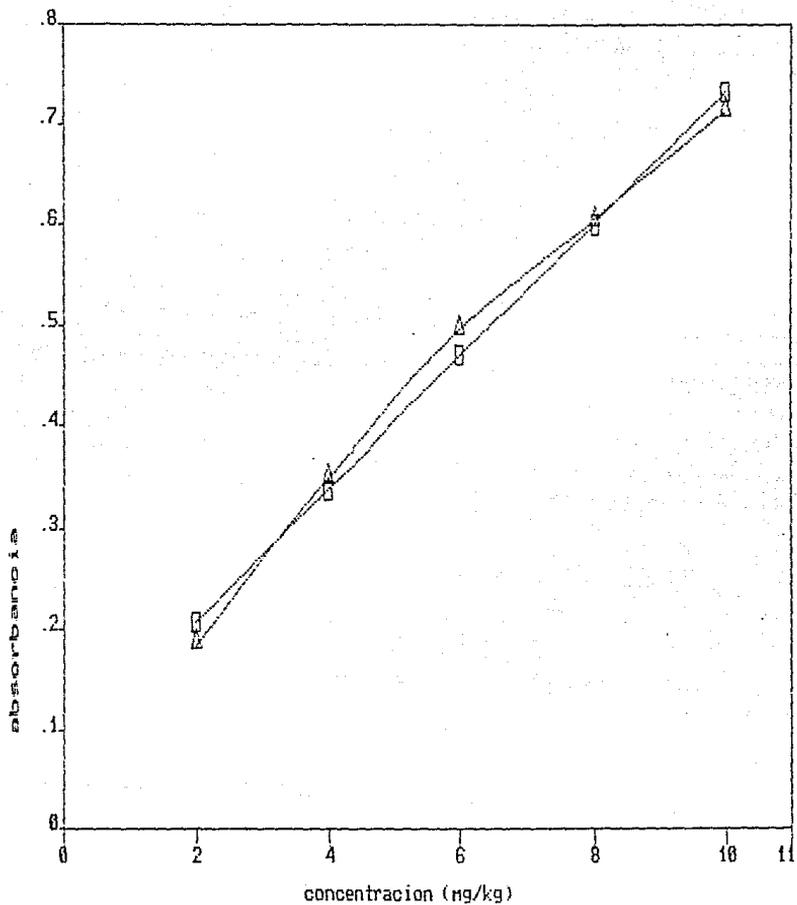
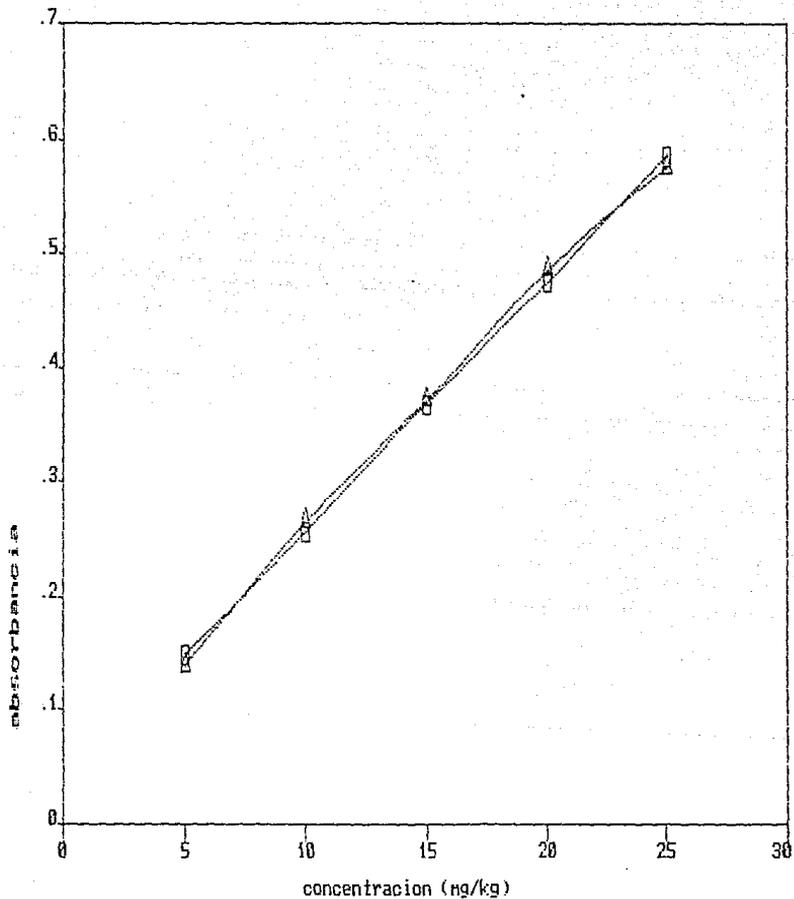


Fig. 3: Curvas de calibración de cadmio, obtenidas con las soluciones de concentración conocida.



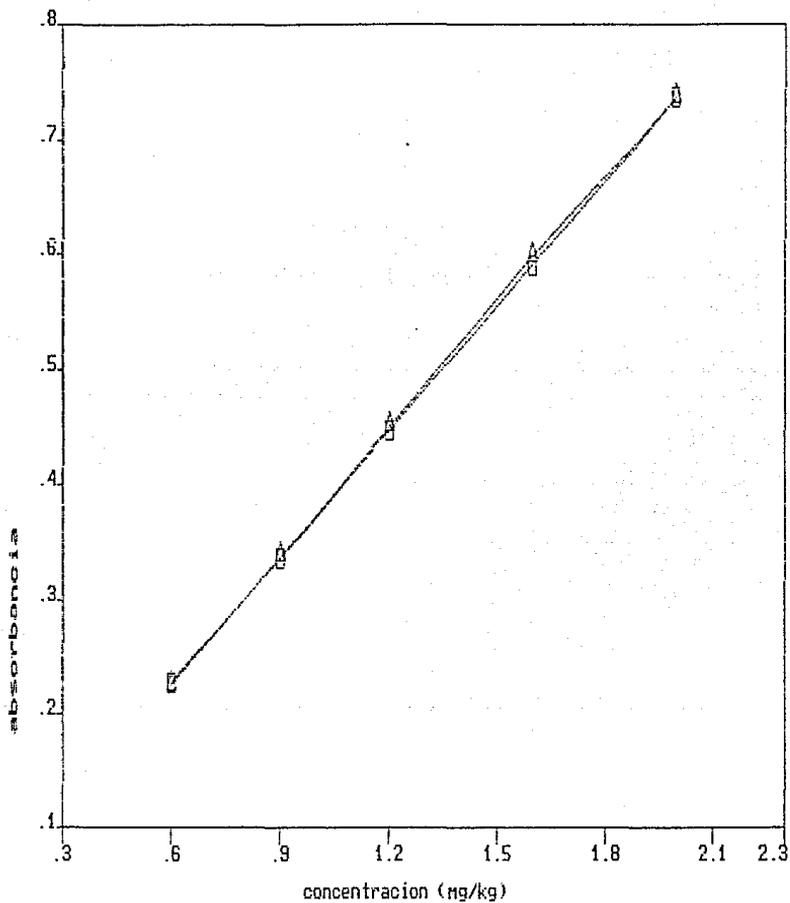
Δ : obtenida experimentalmente
◻ : obtenida matemáticamente

Fig. 4: Curvas de calibración de cobre, obtenidas con las soluciones de concentración conocida.



Δ : obtenida experimentalmente
◻ : obtenida matemáticamente

Fig. 5: Curvas de calibración de plomo, obtenidas con las soluciones de concentración conocida.



Δ : obtenida experimentalmente
□ : obtenida matemáticamente

Fig. 6: Curvas de calibración de zinc, obtenidas con las soluciones de concentración conocida.

VIII. LITERATURA CITADA

- Aldana-Torres, F., L. Albert y J. Domínguez-López, 1981. Métodos analíticos de la toxicología ambiental. Manual para la determinación de metales en muestras ambientales. INIREB y CIEA-IPN, Xalapa.
- Bano, Z., K. Nataraja, S. Vibhakar y D. Kapur, 1981. Mineral and the heavy metal contents in the sporophores of *Pleurotus* species. Mushroom Newsletter Tropics 2(2):3-7.
- Bresinsky, A., M. Fischer, B. Meixner y W. Paulus, 1987. Speciation in *Pleurotus*. Mycologia 79(2):234-245.
- Brown, M.T. y D.A. Wilkins, 1985. Zinc tolerance of *Amanita* and *Paxillus*. Trans. Br. Mycol. Soc. 84:367-369.
- Cedano, H., C. Soto-Velazco y L. Guzmán-Dávalos, 1988. Estudio del crecimiento del hongo comestible *Pleurotus ostreatoroseus* sobre diferentes medios de cultivo en el laboratorio. III Congreso Nac. Mic., Ciudad Victoria.
- Chatterjee, C., N. Nautiyal y A. Pathak, 1988. Influence of zinc on Phosphorus metabolism in three *Aspergillus* species. Trans. Br. Mycol. Soc. 91: 501-504.
- Delsado, H.A., 1982. Distribución del lirio acuático en la República Mexicana; Tesis profesional, ENCB-INF-SARH, México, D.F.

- Eger, G., S.F. Li y H. Leal-Lara, 1979. Contribution to the discussion on the species concept in the *Pleurotus ostreatus* complex. *Mycologia* 71: 577-588.
- FAO/WHO, 1972. Evaluation of certain food additives and contaminants: mercury, lead and cadmium. 16th Report of Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, World Health Organization, Technical Report Series No. 505, Ginebra.
- Förstner, U. y G.T. Wittmann, 1979. Metal pollution in the aquatic environment. Springer-Verlag, Berlin.
- Grabbe, K. y K.H. Domsch, 1974. Untersuchungen zur Verwendung von Müllkomposten in der Champignonzucht und zum Einfluss von Schwermetallen auf die Qualität des Erntegutes. *Mushroom Science* 9:209-220.
- Guzmán, G. y D. Martínez-Carrera, 1985. Planta productora de hongos comestibles sobre pulpa de café. *Ciencia y Desarrollo (CONACYT)* 65: 41-48.
- Guzmán, G. y L. Guzmán-Dávalos, 1984. Nuevos registros de hongos en el Estado de Veracruz. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 19:221-224.
- Guzmán-Dávalos, L., D. Martínez-Carrera, F. Morales y C. Soto, 1987. El cultivo de hongos comestibles (*Pleurotus*) sobre el basazo de maguey en la industria tequilera. *Rev. Mex. Mic.* 3:47-49.

Guzmán-Dávalos, L., C. Soto y D. Martínez-Carrera, 1987a. El basazo de caña de azúcar como sustrato para la producción de *Pleurotus* en Jalisco. *Rev. Mex. Mic.* 3:79-82.

Guzmán-Dávalos, L. y C. Soto, 1987b. Nuevos registros de hongos comestibles de Jalisco y obtención de la cepa de uno de ellos. X Congreso Mexicano de Botánica, Guadalajara.

Guzmán-Dávalos, L. y C. Soto, 1989. El cultivo de los hongos comestibles como una alternativa en el uso de los desechos agroindustriales de Jalisco. *Tiempos de Ciencia* 15:35-40.

Jain, S.K., G.S. Gujral, R. Bisaria y P. Vasudevan, 1988a. Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* on aquatic weeds. *Aquatic Bot.* 30:245-251.

Jain, S.K., G.S. Gujral, N.K. Jha y P. Vasudevan, 1988b. Heavy metal uptake by *Pleurotus sajor-caju* from metal-enriched duckweed substrate. *Biol. Waste* 24:275-282.

Kendall, M., 1980. *Multivariate analysis*. Charles Griffin & Co. Ltd., Londres.

Kurtzman, R.H. y F. Zadrzil R., 1982. Physiological and taxonomic considerations for cultivation of *Pleurotus* mushroom. In: Chang, S.T. y T.H. Quimio (Eds.), *Tropical Mushrooms*. The Chinese University Press, Hong Kong.

- Leal-Lara, H., R. Ramirez-Castillo y S. Lequizado-Ferrer, 1982. Degradación de materiales lignocelulósicos por *Volvariella volvacea*. I Congreso Nac. Mic., Xalapa.
- Martínez, D., M. Quirarte, C. Soto, D. Salmones y G. Guzmán, 1984. Perspectivas sobre el cultivo de hongos comestibles en residuos agro-industriales en México. Bol. Soc. Mex. Mic. 19:207-219.
- Martínez-Carrera, D., 1987. Design of a mushroom farm for growing *Pleurotus* on coffee pulp. Mushroom Jour. Tropics 7:13-23.
- Mueller, J.C., J.R. Gawley, H. Lanz y A. Hayes, 1985. Mineral and heavy metal content of *Pleurotus sajor caju* grown on cellulosic residues from a bleached kraft pulp mill. Mushroom Newsletter Tropics 5(3):3-14.
- National Academy of Sciences, 1976. Making aquatic weeds useful: some perspectives for developing countries. Washington, D.C.
- Prescott, G.W., 1980. How to know the aquatic plants. Brown, Iowa.
- Revah, S., S. Huerta, E. Favels y O. Monroy, 1982. Fermentación sólida del lirio acuático. I Congreso Nac. Mic., Xalapa.
- Reyes, P., 1983. Bioestadística aplicada. Trillas, México, D.F.

- Sánchez-Sánchez, O., 1979. La flora del Valle de México. Herrero, México, D.F.
- S.A.R.H., 1984. Estudio sobre el aprovechamiento del lirio acuático en la presa de La Vega. S.A.R.H., Guadalajara.
- Singer, R., 1961. Fungi of Northern Brazil. Instituto de Micología (Universidade do Recife) 304:1-26.
- Singer, R., 1962. The Ascaricales in Modern Taxonomy. 2a. ed. Cramer, Weinheim.
- Singer, R. & B. Harris, 1987. Mushrooms and Truffles. Botany, Cultivation, and Utilization. 2a. ed. Koeltz Scientific Books, Koenigstein.
- Sosa Melsarejo, L., 1989. Estudio in vitro sobre la germinación de basidiosporas de *Pleurotus ostreatoroseus* Sing (Fungi: Basidiomycetes) de la región de Xalapa, Ver. México. Tesis profesional, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Veracruzana, Xalapa.
- Soto-Velazco, C., 1985. Efecto de la fermentación aerobia de la pulpa del café en el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. Tesis profesional, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Veracruzana, Xalapa.
- Soto-Velazco, C., L. Guzmán-Dávalos & L. Villaseñor, 1988. Obtención de fructificaciones de dos especies de *Pleurotus* sobre bagazo de maguey tequilero fermentado aerobicamente. III Congreso Nac. Mic., Ciudad Victoria.

- Staments, P. y J.S. Chilton, 1983. The mushroom cultivator. Acarikon Press, Olympia.
- Stawinski, T.M. y O. Monroy, 1982a. Statistical evaluation of water hyacinth contamination. II Congreso sobre problemas ambientales de México, México, D.F.
- Stawinski, T.M. y O. Monroy, 1982b. Metales tóxicos en el lirio acuático. II Congreso sobre problemas ambientales de México. México, D.F.
- Stratton, A., 1981. Manual de prácticas de espectrofotometría de absorción atómica. ENCB, IPN, México, D.F.
- Stromdram, T., 1982. Effect of heavy metals (Zn, Hg, Cu, Pb, Ni) on the length growth of *Mytilus edulis*. *Marine Biology* 72:69-72.
- Tchirre, H.J. y K. Hartman, 1977. A comparison of different growing methods. *Mushroom Jour.* 60:404-416.
- UNEP, 1980. El estado del medio ambiente. Temas seleccionados. Programa de las Naciones Unidas para el Medioambiente. World Health Organization, Ginebra.
- Varian, 1979. Analytical Methods for Flame Spectroscopy. Varian Techtron Pts. Ltd. Publication No. 85-100009-00, Mulgrave.

Weldon, L.W., R.D. Blackburn & D.S. Harrison, 1973.
Common Aquatic Weeds. Dover Publications, Nueva
York.

Zadrazil, F., 1978. Cultivation of Pleurotus. In: Chang,
S.T. & W.A. Hayes (Eds.), The Biology and
Cultivation of Edible Mushrooms. Academic Press,
Nueva York.