



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

**"CULTIVO DEL HONGO COMESTIBLE *Pleurotus ostreatus*
SOBRE DESECHOS FORESTALES"**

T E S I S

Que para obtener el título de:

B I O L O G A

P r e s e n t a :

MONICA ORNELAS CRAVIOTO

México, D. F.

1985



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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

	<u>PÁGINA</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN.....	2
I. ANTECEDENTES.....	6
1. HISTORIA DEL CULTIVO DE <i>Pleurotus sp.</i>	6
2. CRECIMIENTO MICELIAL.....	6
3. PREPARACIÓN DEL SUSTRATO Y PRODUCCIÓN COMERCIAL..	7
4. REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES.....	11
4.1 CARBONO.....	13
4.2 NITRÓGENO.....	14
4.3 VITAMINAS Y HORMONAS.....	16
4.4 MINERALES.....	16
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
1. CEPA FÚNGICA.....	17
2. MEDIO DE CULTIVO DE MALTA AGAR PARA LA PROPAGA- CIÓN VEGETATIVA DEL HONGO.....	17
3. PREPARACIÓN DE INÓCULO DE GRANO.....	18
4. MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS.....	18
5. PROCEDIMIENTO GENERAL DE EXPERIMENTACIÓN.....	19
5.1 FORMULACIÓN Y PREPARACIÓN DEL SUSTRATO.....	19
5.2 COLOCACIÓN DEL SUSTRATO EN RECIPIENTES.....	21
5.3 TRATAMIENTO TÉRMICO DEL SUSTRATO.....	29
5.4 INOCULACIÓN.....	29
5.5 PROPAGACIÓN VEGETATIVA.....	30

	<u>PÁGINA</u>
5.6 FASE PRODUCTIVA.....	30
III. RESULTADOS.....	34
1. EXPERIMENTO PRELIMINAR DEL CULTIVO DE <i>P. ostrea-</i> <i>tus</i> SOBRE ASERRÍN DE ENCINO.....	34
2. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CULTIVO DE <i>P. os-</i> <i>treatus</i> SOBRE ASERRÍN DE ENCINO EN TUBOS DE CUL- TIVO.....	35
2.1 EFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO DEL SUSTRATO..	37
2.2 EFECTO DE LA HUMEDAD DEL SUSTRATO.....	40
2.3 EFECTO DEL TAMAÑO DE PARTICULA DEL ASERRÍN...	43
2.4 EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON CARBOHIDRATOS.....	43
2.5 EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON NITRÓGENO.....	46
3. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE FRUCTIFICACIÓN DE <i>P. ostreatus</i> SOBRE ASERRÍN DE ENCINO EN RE- CIPIENTES DE PLÁSTICO.....	50
3.1 EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON CARBOHIDRATOS.....	54
3.2 EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON NITRÓGENO.....	58
3.3 EFECTO DE LOS DIFERENTES PERÍODOS DE INCUBA- CIÓN.....	61

	<u>PÁGINA</u>
3.4 FRUCTIFICACIÓN DE <i>P. ostreatus</i> EN ASERRÍN DE PINO.....	63
IV. DISCUSIÓN.....	68
1. EXPERIMENTO PRELIMINAR DEL CULTIVO DE <i>P. ostreatus</i> SOBRE ASERRÍN DE ENCINO.....	68
2. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CULTIVO DE <i>P. ostreatus</i> SOBRE ASERRÍN DE ENCINO EN TUBOS DE CULTIVO.....	72
2.1 EFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO DEL SUSTRATO..	73
2.2 EFECTO DE LA HUMEDAD DEL SUSTRATO.....	78
2.3 EFECTO DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA DEL ASERRÍN...	83
2.4 EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON CARBOHIDRATOS.....	85
2.5 EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON NITRÓGENO.....	90
2.6 ASPECTOS COMUNES.....	90
3. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE FRUCTIFICACIÓN DE <i>P. ostreatus</i> SOBRE ASERRÍN DE ENCINO EN RECIPIENTES DE PLÁSTICO.....	94
3.1 EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON CARBOHIDRATOS.....	96
3.2 EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON NITRÓGENO	99
3.3 EFECTO DE LOS DIFERENTES PERÍODOS DE INCUBACIÓN.....	101

	<u>PÁGINA</u>
3.4 FRUCTIFICACIÓN DE <i>P. ostreatus</i> EN ASERRÍN DE PINO.....	102
3.5 ASPECTOS COMUNES.....	104
3.6 COMPARACIÓN ENTRE EL DESARROLLO Y FRUCTIFICACIÓN DE <i>P. ostreatus</i> SOBRE ASERRÍN DE ENCINO Y SOBRE ASERRÍN DE PINO.....	106
V. CONCLUSIONES.....	111
1. COMPLEMENTACIÓN CON NITRÓGENO.....	111
2. COMPLEMENTACIÓN CON CARBOHIDRATOS.....	112
3. HUMEDAD DEL SUSTRATO.....	112
4. TRATAMIENTO TÉRMICO.....	112
5. PROPAGACIÓN VEGATIVA.....	112
6. INDUCCIÓN Y FRUCTIFICACIÓN.....	113
7. PRODUCCIÓN.....	113
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	120

RESUMEN

El interés por desarrollar el hongo comestible *Pleurotus ostreatus* sobre algún desecho forestal, llevó a la realización del presente trabajo. Su objetivo fue identificar las condiciones más adecuadas para cultivar el hongo sobre aserrín de encino.

El proyecto se diseñó con base en la información obtenida acerca del crecimiento de *P. ostreatus* sobre diferentes sustratos lignocelulósicos, y consistió en tres experimentos:

Un experimento preliminar en el que se corroboró el desarrollo de *P. ostreatus* sobre aserrín de encino y el efecto positivo sobre el desarrollo del hongo por la complementación del sustrato con urea y glucosa.

Un segundo experimento en el que se determinaron el pretratamiento y la preparación del sustrato de aserrín de encino, los niveles de complementación con urea y melaza y las condiciones de cultivo adecuadas para la aparición de primordios de *P. ostreatus* en tubos de cultivo.

A partir de estos resultados se realizó el tercer experimento en el que se determinaron el período de incubación, el nivel de complementación del sustrato y las condiciones de cultivo adecuados para la fructificación de *P. ostreatus* sobre aserrín de pino y de encino, cultivado en cantidades de 100 g de sustrato húmedo aproximadamente.

Por último, los resultados de estos experimentos se discutieron detalladamente.

INTRODUCCIÓN

El hongo comestible *Pleurotus ostreatus* pertenece a la familia Tricholamataceae del orden Agaricales (Ulloa y Hanlin, 1978). Se ha encontrado en la naturaleza como saprobio destruyendo la madera muerta o, en ocasiones, como parásito de ciertos árboles. Es capaz de degradar tanto lignina como celulosa y en general todos los materiales que contengan estos complejos, y realiza esta degradación sin necesidad de una acción química o fermentativa (Chang y Hayes, 1978). Coloniza rápidamente el sustrato con un micelio abundante. Crece a temperaturas relativamente altas, entre 25 y 30°C. Los esporóforos son comestibles y de buen sabor, tienen carne blanca y carnosa, con olor agradable, y carecen de pie o éste es muy corto o mal definido. El pleo, que tiene forma de ostra, mide entre 3 y 15 cm de diámetro y su parte superior es suave, húmeda, grisácea de joven y de color café claro en la madurez. La parte inferior, el himenóforo, consta de láminas blanquecinas decurrentes que se anastomosan en la base.

P. ostreatus pertenece al grupo de hongos que causan "pudrición blanca" de la madera. Este tipo de descomposición resulta de la acción tanto de enzimas extracelulares hidrolíticas como oxidativas. Así, la lignina, la celulosa y los demás componentes de la madera son degradados, y como consecuencia de este proceso la madera se blanquea en las etapas finales (Gilbertson, 1974).

La facilidad con que *P. ostreatus* puede ser manejado en el laboratorio ha llevado a muchos autores a realizar investigaciones con esta especie. El

registro más antiguo de su cultivo data de 1935, aunque aun en esa época se cultivaba únicamente con propósitos experimentales. Se sabe que desde 1916 se estaba fomentando el desarrollo de *P. ostreatus* sobre madera, pero en realidad no fue sino hasta hace algunos años (en 1971) que su cultivo ha sido industrializado.

En el cultivo comercial de *P. ostreatus*, el problema principal ha sido que la inhalación de las esporas provocan reacciones alérgicas en la mayoría de las personas que se exponen durante períodos prolongados. Una solución genética a este problema sería la obtención de formas mutantes que no produjeran esporas. Eger (1976) obtuvo una variedad asporógena de *P. ostreatus*. Leal Lara (1979) demostró la herencia monogénica de este carácter; asimismo mostró que la asporogénesis está regularmente asociada solamente con uno de los monocariotes resultantes de la dicariorización. El dicariote original dio bajos rendimientos, pero por medio de la selección genética estos se han incrementado, y ahora se encuentra disponible una amplia gama de dicariotes asporógenos (Eger, 1979)

Las propiedades enzimáticas (rápida degradación de sustratos lignocelulósicos) y de comestibilidad de *P. ostreatus* han llevado a varios investigadores (Anselmi y Deandrea, 1978; Hashimoto y Takashi, 1974; Imbernon *et al.*, 1974; Kalberer, 1974; Khan y Ali, 1981; Tan, 1981) a identificar las mejores condiciones de desarrollo y fructificación de este hongo lignícola sobre diferentes sustratos lignocelulósicos, como pajas de cereales, tocones, rastrojos, papel periódico y desperdicios de algodón, entre otros. Los

éxitos obtenidos por dichos autores llevaron a la realización del presente trabajo, en el que se empleó un material barato, constituido de aserrín de encino y de pino como base de un sustrato favorable para el cultivo.

Con base en la SARH 1982, las regiones de la República Mexicana más boscosas son Chihuahua, Durango, Michoacán, Jalisco, Puebla, Estado de México y Selva Lacandona, con una producción anual de madera en rollo de 2'762,265 m³r* de pino, y de 53,214 m³r de encino. De estos volúmenes reportados, se puede considerar aproximadamente el 40% como madera de desecho, pues según datos sobre coeficientes de aserrío, aproximadamente la mitad de la troza, corresponde a madera aserrada (tablas, tablones, vigas, polines y madera labrada con hacha), y el otro 50% a corteza, aserrín y leña. Parte de estos desperdicios son utilizados en cercas, aglomerado, leña, combustible, etc. Otro tipo de desechos son los que quedan en el bosque después de haber aprovechado el árbol, es decir, las puntas y ramas o brazuelos.

Dado el gran volumen de aserrín que se maneja en las industrias como desecho, se vio la necesidad de analizar la posibilidad de ser empleado como base para el cultivo del hongo comestible *P. ostreatus*. El aserrín como tal es un desecho ventajoso para ser utilizado como sustrato, ya que no requiere de maquinaria para su procesamiento. Una vez identificadas las condiciones más favorables para el cultivo del hongo, puede enfocarse el proceso hacia cooperativas, comunidades rurales o ejidatarios que ten-

*m³r= Metros cúbicos de madera en rollo.

gan concesiones del gobierno para aserraderos. La corteza y la leña también son desechos factibles de ser utilizados, pero esto implicaría el empleo de equipo complementario, tales como sierras fragmentadoras, molino de martillos, etc.; además, la corteza se encuentra más afectada por factores físicos y biológicos, por lo que se requeriría de la estandarización del producto para ser considerado dentro del proyecto.

El interés por cultivar *P. ostreatus* empleando aserrín como sustrato residuo principalmente en la mencionada capacidad del hongo de degradar los compuestos lignocelulósicos. De ella resultaría la transformación de un material no comestible en biomasa comestible, aceptada generalmente como alimento de alta calidad, un sabor agradable y un valor nutritivo considerable. Además, el sustrato residual degradado quedaría con amplias posibilidades de ser empleado como forraje.

Se decidió utilizar como material básico de los experimentos el aserrín de encino y no el de pino, ya que según la bibliografía *P. ostreatus* se ha encontrado en la naturaleza más frecuentemente sobre angiospermas que sobre gimnospermas (Cartwright y Findley, 1958; Anselmi y Deandrea, 1978). Además, Imbernon *et al.* (1974) han reportado menor rendimiento y mayor número de contaminantes en el cultivo del hongo sobre cortezas de pino que en el cultivo sobre cortezas de encino. Sin embargo, dada la gran producción de pino en México, en la última etapa experimental también se realizaron pruebas con aserrín de pino.

I. ANTECEDENTES.

I.1. HISTORIA DEL CULTIVO DE *Pleurotus sp.*

El cultivo de *Pleurotus sp.*, sobre tocones de árboles fue descrito por primera vez a principios del Siglo XX. Block *et al.* (1958) y Kedyk y Smotlachová (1959), introdujeron una innovación importante al cultivar dicho hongo sobre aserrín y medio composteado. Bano y Srivastava (1962), Schanel *et al.* (1966) y Herzig *et al.* (1968) llevaron a cabo la primera producción masiva de *Pleurotus* en un sustrato a base de paja. La producción industrial de sustrato y esporóforos fue desarrollada por Junková (1971), Stanek y Rysavá (1971), Heltay *et al.* (1971), Zadrazil y Schneiderei (1972), Zadrazil (1973) y Kalberer y Vogel (1974).

I.2. CRECIMIENTO MICELIAL.

P. ostreatus se ha caracterizado por su gran velocidad de desarrollo vegetativo y capacidad para colonizar el sustrato. Estos atributos han facilitado en general el proceso de cultivo. Se ha observado que la temperatura ha influido sobre la tasa de crecimiento micelial, es decir, a bajas temperaturas (menores de 15°C) ha presentado un crecimiento lineal; de 15 a 20°C se ha notado una aceleración en el desarrollo, la cual disminuye ligeramente entre 20 y 30°C. El mejor crecimiento micelial se ha encontrado a una temperatura de 25 a 30°C (Chiang y Hayes, 1978).

En relación con el requerimiento de CO₂ por *P. ostreatus*, Schanel (1970) y Zadrazil (1975) han descubierto que el crecimiento micelial es estimu-

lado con concentraciones elevadas de CO_2 (hasta 28% del volumen de aire). Según Zadrazil (1975), esta característica ha seleccionado el género con respecto a otros microorganismos que no han podido crecer e inclusive han muerto ante dichas condiciones. De hecho, el crecimiento micelial de *Agaricus bisporus* se ha visto fuertemente afectado por concentraciones mayores a 0.03% de CO_2 . Aunque para el desarrollo óptimo del hongo se requieran niveles altos de CO_2 en el medio, es necesario proveer el sustrato con cierto volumen de O_2 debido a que dicho crecimiento micelial se realiza bajo condiciones semianaeróbicas. Se ha comprobado que la eliminación del oxígeno durante el desarrollo vegetativo inhibe totalmente el crecimiento micelial. Las dos etapas del desarrollo de *P. ostreatus* difieren en sus requerimientos de oxígeno; es decir, el crecimiento micelial se desarrolla bajo condiciones semianaeróbicas, mientras que el desarrollo de los esporóforos definitivamente requiere de condiciones aeróbicas (Chang y Hayes, 1978).

En relación con la influencia del grado de acidez sobre el crecimiento micelial de *P. ostreatus*, se ha encontrado que aquél es óptimo cuando los valores de pH son entre 6 y 6.5; valores superiores e inferiores a éstos inhiben el crecimiento del micelio.

I.3. PREPARACIÓN DEL SUSTRATO Y PRODUCCIÓN COMERCIAL.

Respecto a la preparación del sustrato para el cultivo comercial de *Pleurotus sp.*, Stanek y Rysavá (1971) desarrollaron el micelio y esporóforos de este hongo en un sustrato fermentado con *Streptomyces thermovulgaris*

y las bacterias acompañantes (del género *Pseudomonas*) durante 24 horas a 55°C. Zadrazil y Schneiderei (1972) determinaron que tanto la fermentación aeróbica como la anaeróbica de la paja, son adecuadas para el cultivo de *Pleurotus sp.* El inóculo ha sido fácilmente producido sobre grano de trigo fermentado anaeróbicamente. Kalberer y Vogel (1974) y Kalberer (1974) estudiaron la relación entre el sustrato y el rendimiento; concluyeron que la fermentación del sustrato no es necesaria para el cultivo de *Pleurotus sp.* y por el contrario, ocasiona pérdida de materia orgánica. El método que ha dado mejores resultados ha sido una variación del de Till, es decir, inocular bajo condiciones estériles en bolsas de plástico, que se abren después del crecimiento micelial para el desarrollo de los esporóforos. Una simplificación de este método ha consistido en sujetar el sustrato a calentamiento de 80 a 100°C, y enseguida enfriar e inocular.

Las etapas principales del proceso de producción de *P. ostreatus* (Figura 1) son:

1. Fragmentación del material básico.
2. Complementación, mezcla y humidificación del sustrato.
3. Tratamiento térmico del sustrato.
4. Inoculación y propagación vegetativa.
5. Fructificación.

Para la etapa de desarrollo vegetativo, el sustrato generalmente se empaqueta en bolsas de plástico y se presiona para formar bloques rectangulares. El ancho de los mismos no debe exceder de 30 cm, de lo contrario podría inhi-

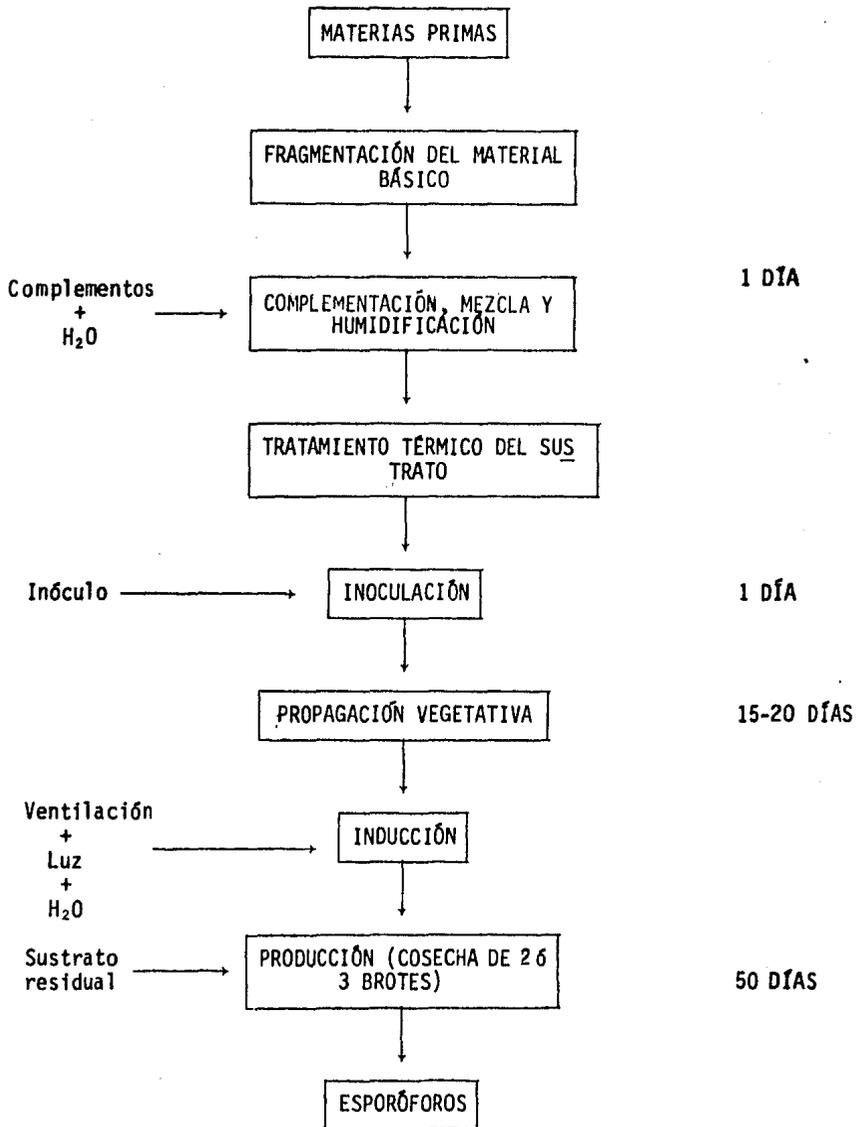


FIGURA 1. Etapas principales del proceso de producción de *P. ostreatus*.

birse la formación de esporóforos por excesivo calentamiento. Asimismo la superficie de cosecha no debe de ser muy pequeña pues se obtendrían esporóforos deformes. Los recipientes empleados se colocan en un cuarto oscuro a temperatura constante (entre 25 y 30°C). No ha sido necesaria la regulación de aire húmedo durante el desarrollo vegetativo. La humedad inicial del sustrato debe estar entre 60 y 80%. Después de 20 días en promedio, el sustrato es invadido por el micelio.

Para la obtención de los esporóforos se dejan expuestas las caras de los bloques de sustrato invadidos por micelio. Entre los principales factores que influyen sobre el desarrollo normal de los esporóforos están la luz y la ventilación. Un esporóforo normal posee un estípite o pie extremadamente pequeño y un píleo amplio. Cuando la luz se reduce el pie se alarga y engruesa y el píleo se reduce parcialmente. Esto mismo ha sucedido cuando la ventilación es escasa. Ante condiciones extremas de ventilación insuficiente y exposición baja de luz se induce la formación de agrupaciones de numerosos esporóforos amorfos. Por otro lado, según Jablonsky *et al.* (1973) y Zadrazil (1974), con un intercambio de aire muy fuerte se reduce la cantidad de esporóforos por superficie. La luz ha do un factor de iniciación en el desarrollo de los primordios, por tanto, la iluminación es necesaria por lo menos durante 15 minutos al día. Según Eger (1970b) el número de primordios se incrementa con la duración de la intensidad luminosa.

La duración total del cultivo de *P. ostreatus* ha sido de 60 días en promedio, con la aparición de 2 ó 3 brotes y una semana entre cada uno de

ellos. El peso seco de los esporóforos cosechados representa en general el 10% del peso original del sustrato (por ejemplo paja). Este porcentaje ya es considerado un buen rendimiento, cuyo equivalente en kilos sería: 1 Kg de hongo fresco por cada Kg de paja seca. En la Tabla 1 se muestran los rendimientos de *P. ostreatus* sobre diferentes sustratos, cultivado por diferentes autores.

Los esporóforos representan el 10% del sustrato original; cerca del 50% del mismo es liberado como CO₂. Alrededor del 20% corresponde a agua de descomposición. Por último, una vez terminada la producción de esporóforos, cerca del 20% del peso original queda como sustrato residual (Zadrazil, 1975). Es interesante mencionar que según este autor, Schanel *et al.* (1966) y Herzig *et al.* (1968), el sustrato residual puede ser empleado como base para el cultivo de hongos comestibles, como abono y/o como alimento para animales.

1.4. REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES.

Los conocimientos básicos de la fisiología de *P. ostreatus*, entre ellos los relacionados con el tipo de nutrimentos que emplea y la forma en que los asimila, son indispensables para optimizar las condiciones de cultivo de dicho organismo. Los principales nutrimentos que se deben considerar para el cultivo del hongo son el carbono y el nitrógeno, además de vitaminas, hormonas y sales minerales. Con el objeto de identificar el tipo de nutrimentos y las concentraciones más adecuadas para el desarrollo y fructificación de *P. ostreatus*, diversos investigadores han reali-

TABLA 1 PRODUCCIÓN DE *P. ostreatus* EN DIFERENTES SUSTRATOS.Y TRATAMIENTOS

SUSTRATO BÁSICO	COMPLEMENTO	TRATAMIENTO TÉRMICO DEL SUSTRATO	RENDIMIENTO Kg hongo fresco Kg sustrato seco x 100	AUTOR
Paja de arroz Periódico Cascarilla de arroz Aserrín de pino	Salvado de arroz Salvado de arroz Salvado de arroz Salvado de arroz	En todos los casos 100°C/30 min.	79.0 75.4 56.9 45.5	Hashimoto y Takahashi 1974
Paja 85.5 % Paja 81.0 % Paja 74.0 % Paja 100.0 % Paja 93.0 % Paja 79.0 %	Grass meal ² , 14.5% Grass meal, 19.0% Grass meal, 26.0% Sin complementar Grass meal, 7.0% Olotes molidos 21.0%	Fermentación 60-70 horas Fermentación 60-70 horas Fermentación 60-70 horas 40-80°C/40-45 horas 40-80°C/40-45 horas 40-88°C/40-45 horas	84.0 106.0 118.0 86.0 121.0 79.0	Kalberer, 1974
Corteza de encino Corteza de pino	Harina de pluma de pollo = Gallinaza	70-80°C/72 horas 70-80°C/24 horas	80.0 70.0	Imbernon <i>et al.</i> , 1974
Paja de trigo Paja de trigo Paja de trigo Paja de trigo Paja de trigo	Harina de pluma de pollo y yeso agrícola	En todos los casos 65°C/6 horas	84.8 (cepa A) ¹ 78.8 (cepa B) 58.8 (cepa C) 59.2 (cepa D) 57.6 (cepa E)	Imbernon, 1981
D.A.= Desperdicio de algodón D.A. 100% + A 0% D.A. 75% + A 25% D.A. 50% + A 50% D.A. 25% + A 75% D.A. 0% + A 100%	Salvado de arroz Salvado de arroz Salvado de arroz Salvado de arroz Salvado de arroz	A= Aserrín de encino En todos los casos 127°C/1 hora	134.7 123.0 95.7 52.7 4.3	Tan, 1981
Desperdicio de Algodón (D.A.)	Salvado de arroz 5%	Periodo de enfriamiento 20°C/15 días	119.0	Leong (In: Chiang y Quimio, 1982

¹ Diferentes híbridos de una cepa comercial.

² Pastura de zacate.

zados estudios empleando diferentes fuentes de nutrimentos. A continuación se mencionan los datos más relevantes al respecto.

I.4.1 CARBONO.

En la naturaleza, la circulación básica del carbono comienza en la reserva atmosférica, pasa a los productores, enseguida a los consumidores y de estos dos grupos a los degradadores. A este último pertenecen los hongos y del mismo grupo el carbono vuelve a la atmósfera. Así, la importancia primaria de los hongos degradadores de la madera está en función continua con el ciclo del carbono que permite la vida en la Tierra. La actividad respiratoria de los productores y consumidores es responsable en gran parte de la devolución del carbono a la atmósfera en forma de CO_2 . Sin embargo, la devolución de mayor cuantía se debe a la actividad respiratoria de los degradadores al procesar los materiales de desecho y los restos muertos de otros niveles tróficos (Kormondy, 1975).

Muchos autores han realizado estudios con el objeto de observar la capacidad de *P. ostreatus* para usar diferentes carbohidratos y demás compuestos de materiales lignocelulósicos, muchos de ellos considerados como desechos. Hashimoto y Takahashi (1976) emplearon una concentración de carbono de 2% usando diferentes carbohidratos como fuente de dicho nutrimento. Encontraron que el mayor crecimiento se presentó en los sustratos con manosa, seguido por almidón, glucosa y maltosa. Los siguientes sustratos más efectivos fueron aquellos con sacarosa, fructosa y galactosa. Sin embargo, durante la fructificación el mayor peso de esporóforos fue ob-

tenido en el sustrato que contenfa sacarosa.

Rypaceck (1977) realizó un estudio en el que observó la capacidad de *P. ostreatus* para usar los monosacáridos de la hemicelulosa (arabinosa, galactosa, manosa y xilosa) en comparación con la glucosa. Empleó una concentración de 1% en cada azúcar probado. En todos se observó crecimiento, pero en los medios con arabinosa o xilosa se presentó un crecimiento 40% menor al del sustrato con glucosa. Con galactosa y manosa se presentó mayor desarrollo que con glucosa. Es interesante comparar los resultados entre los diferentes autores, pero es muy importante considerar que al experimentar con una sola concentración no se puede inferir el comportamiento en concentraciones vecinas. Es bien sabido que una determinada concentración puede estimular el crecimiento micelial, pero si ella es variada puede resultar tóxica para el organismo (Chang y Quimio, 1982).

I.4.2. NITRÓGENO.

El nitrógeno es muy importante para el crecimiento de los hongos; es necesario para la síntesis de ácidos nucleicos, proteínas y para la formación de la quitina de las paredes celulares. El medio donde normalmente se desarrolla *P. ostreatus* en la naturaleza está casi desprovisto de nitrógeno. Siempre ha sido importante considerar la concentración adecuada de este nutrimento cuando se cultiva algún organismo. Por tanto, muchos autores han hecho esta determinación sin contemplar como obtiene *P. ostrea**tus* el nitrógeno en la naturaleza. Simplemente han considerado el ambien

te de cultivo artificial suficientemente distinto del natural como para que fuera necesario añadir un complemento de nitrógeno.

La revisión de los estudios realizados para investigar la fuente de nitrógeno más adecuada para el crecimiento de *P. ostreatus* indicó que la urea fue el complemento con el que se presentó mayor desarrollo vegetativo, comparado con el obtenido con nitratos y sales de amonio, así como con diferentes fuentes de nitrógeno orgánico (Eger, 1970a; Jandaik y Kapoor, 1976; Voltz, 1972). En los experimentos de Hashimoto y Takahashi (1976), Hong (1978) y Sugimori *et al.* (1971), el mayor crecimiento de *P. ostreatus* se registró en los sustratos complementados con peptona. Cabe mencionar que estos últimos autores no experimentaron con urea.

En los experimentos de Voltz (1972), solamente la urea y la alanina permitieron el mayor crecimiento micelial. Eger (1970a) estudió el efecto de los aminoácidos: asparagina, alanina, arginina, fenilalanina y prolina, y de la urea en varias cepas de *P. ostreatus*. Ella encontró que, de todos los aminoácidos experimentados, el medio con alanina presentó el máximo crecimiento, y que con la urea se presentó un desarrollo similar.

Cuando el cultivo se lleva a cabo en condiciones estériles, de forma que otros microorganismos no puedan metabolizar los compuestos orgánicos, se ha encontrado que la urea es mejor fuente de nitrógeno que la mayoría de los compuestos orgánicos del nitrógeno (Chang y Quimio, 1982).

I.4.3. VITAMINAS Y HORMONAS.

Diversos investigadores (Jandaik y Kapoor, 1976; Vinklarkova y Sladki, 1978; Sugimori *et al.*, 1971; Hong, 1978, entre otros) han realizado estudios sobre la influencia de diferentes tipos de vitaminas y hormonas en el crecimiento de varias especies de *Pleurotus*. Ningún autor indicó que hubiera habido más que un pequeño incremento en el desarrollo de este hongo debido a la presencia de hormonas. Encontraron que todas las vitaminas estimularon el crecimiento en las concentraciones estudiadas.

El uso de las vitaminas en sustratos comerciales tiene valor únicamente cuando se usan sustratos estériles. Esto es porque la mayoría de los otros microorganismos puede metabolizar las vitaminas con más rapidez que *Pleurotus*. Lo mismo sucede con el nitrógeno cuando proviene de fuentes orgánicas que no sean urea (Chang y Quimio, 1982).

I.4.4. MINERALES.

Los estudios de Kurtzman (1982) y Hong (1978), así como los de Jauhri y Sen (1978), mostraron que las sales inorgánicas en concentraciones entre 0.01M y 0.1M no causan un aumento significativo en el crecimiento micelial de *Pleurotus*. Sin embargo, algunos fosfatos presentaron propiedades promotoras del crecimiento, como fue observado por Jauhri y Sen (1978).

II. MATERIALES Y MÉTODOS.

II.1. CEPA FÚNGICA.

La cepa seleccionada de *P. ostreatus* fue la nh₁ (8 x 3) So. 18, híbrido producido por el Dr. Hermilo Leal Lara, del Departamento de Alimentos de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química de la UNAM.

II.2. MEDIO DE CULTIVO DE MALTA AGAR PARA LA PROPAGACIÓN VEGETATIVA DEL HONGO.

Extracto de malta, 15 g; agar, 20 g; agua destilada, 1 litro. Después de disolver bien los componentes sólidos, el medio se esterilizó en autoclave a 1.1 Kg/cm² durante 15 minutos, y se vertió en cajas de petri de vidrio, de 10 cm de diámetro, poniendo 20 ml en cada una. Una vez solidificado el medio, las placas fueron inoculadas en el centro, colocando un disco de malta agar, de 0.5 cm de diámetro, conteniendo micelio de *P. ostreatus* crecido previamente; para ésto se utilizó un tubo de vidrio como molde. Las placas inoculadas se guardaron en bolsas de plástico y se incubaron 8 días a 25°C.

Los cultivos desarrollados en estas placas de malta agar sirvieron para inocular el sustrato de aserrín de encino contenido en tubos de cultivo, y también para inocular los granos de centeno utilizados posteriormente como inóculo del sustrato de aserrín contenido en recipientes de plástico.

El inóculo para el sustrato en tubos de cultivo correspondió a la segunda resiembra de *P. ostreatus* crecido en medio de malta agar preparado según el punto anterior. El tiempo transcurrido entre cada resiembra fue de 7 días.

II.3. PREPARACIÓN DE INÓCULO DE GRANO.

Para el sustrato en los recipientes de plástico, se empleó inóculo de *P. ostreatus* crecido en centeno durante 3 semanas. El inóculo de grano se preparó de la siguiente manera: el centeno se hidrató durante 16 horas, posteriormente se eliminó el exceso de agua. El grano hidratado se colocó en frascos de boca ancha de 1 litro, llenando la mitad del recipiente aproximadamente, se taparon con hule espuma, papel aluminio y liga. Enseguida, dichos frascos se esterilizaron en autoclave a 1.1 Kg/cm² durante 15 minutos, dos veces seguidas. El material se dejó enfriar a temperatura ambiente entre cada esterilización. Finalmente, cada frasco fue inoculado con micelio de la segunda resiembra de *P. ostreatus* correspondiente a una caja de Petri e incubado a 25°C durante 3 semanas. Cada 3 días se agitaron los frascos para romper el micelio y evitar su apelmazamiento.

II.4. MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS.

El aserrín, tanto de pino como de encino, fue proporcionado por el Aserradero J.L. Uriegas del Rancho Bermúdez, Municipio de Huasca, Hidalgo. Una

vez secado al sol, el aserrín de encino se tamizó entre las mallas 8 y 30, y el de pino entre las mallas 6 y 60, en ambos casos durante 3 minutos, con la ayuda de un vibrador para tamizar. El material de tamaño intermedio, obtenido entre las dos mallas, se utilizó como sustrato.

La composición, y el pH del aserrín de encino fueron:

Nitrógeno	0.15 %
Carbohidratos solubles	0.00 %
Celulosa	45.0 %
Lignina	23.0 %
Humedad	10.0 %
pH	5.5

II.5. PROCEDIMIENTO GENERAL DE EXPERIMENTACIÓN.

El procedimiento seguido tanto en la formulación, la preparación del sustrato y las condiciones de cultivo como en la cuantificación del desarrollo y fructificación de *P. ostreatus* se muestra en la Figura 2.

II.5.1. FORMULACIÓN Y PREPARACIÓN DEL SUSTRATO.

Una vez tamizado el aserrín se complementó con urea, melaza (proporcionada por la empresa Industrial de Alimentos, S.A.), o glucosa, y CaCO_3 . La

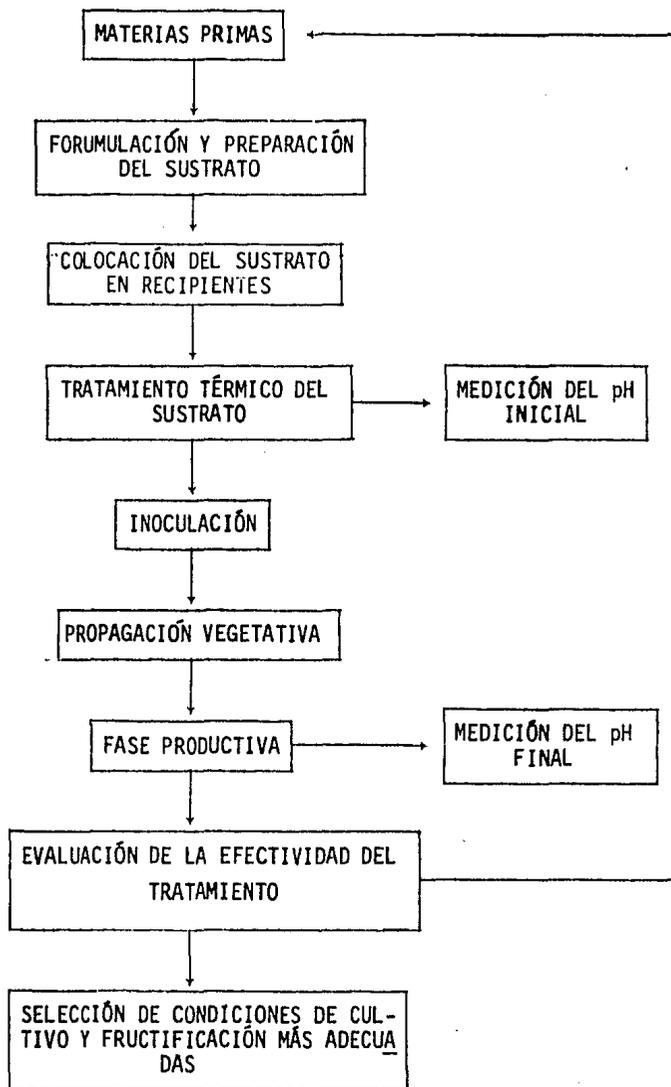


FIGURA 2. Procedimiento general de experimentación.

mezcla se ajustó a 69% de humedad (correspondiente a la máxima capacidad de retención de agua del aserrín) y se homogenizó perfectamente. En las Tablas 2 y 3 se describen los tratamientos del sustrato experimentados. En las Tablas 4 a 8 se indican las cantidades añadidas según la variable estudiada. En todos los sustratos se añadió 1 g de CaCO_3 por cada 100 g de aserrín seco. Para el sustrato control del experimento en tubos de cultivo, se usó el aserrín tamizado por las mallas 8 y 30, se complementó con 1 g de nitrógeno, 2 g de carbohidratos, y se ajustó la mezcla a 69% de humedad. El sustrato control del experimento en recipientes de plástico se incubó durante 16 días, complementándose con 0.75 g de nitrógeno y 4.5 g de carbohidratos.

II .5.2. COLOCACIÓN DEL SUSTRATO EN RECIPIENTES.

En los dos primeros experimentos se emplearon tubos de cultivo de 2.5 x 20 cm. Se pusieron 32 g de sustrato húmedo en cada uno de 4 tubos para cada variable, compactándose a una altura de 15 cm con la ayuda de un vibrador. La superficie del sustrato se aplanó ligeramente con un cilindro para el correcto asentamiento del inóculo. Todos los tubos, etiquetados según el tratamiento y marcados en la línea superficial del sustrato por donde empezaría a crecer descendentemente el micelio, se taparon con cuadros de hule espuma, liga para sostenerle y un cuadro de papel aluminio encima.

En el último experimento se emplearon cajas de plástico de 10.0 x 3.5 cm. Se colocaron 100 g de sustrato húmedo en cada una de 5 cajas para cada va-

TABLA 2. DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS DEL SUSTRATO EN EL CRECIMIENTO VEGETATIVO DE *P. ostreatus*

TRATAMIENTO	DESCRIPCIÓN
I. Tratamiento térmico en autoclave	
1. Esterilización	121°C/15 min
2. Esterilización parcial	Calentamiento hasta 121°C y enfriamiento inmediato
3. Pasteurización 30 min	100°C/30 min
4. Pasteurización 20 min	100°C/20 min
5. Pasteurización 10 min	100°C/10 min
6. Sin tratamiento térmico	
II. Complementación del sustrato con nitrógeno, suministrado como urea (g nitrógeno/100 g sustrato seco)	0.75 1.00 1.25 1.50
III. Complementación del sustrato con carbohidratos, suministrados como melaza (g carbohidratos/100 g sustrato seco)	1.0 1.5 2.0 2.5
IV. Humedad del sustrato (%)	63 66 69
V. Tamizado del aserrín	Material retenido entre:
1. Grueso	Tamices 8 y 20
2. Mediano	Tamices 20 y 30
3. Mixto	Tamices 8 y 30

TABLA 3 . . DESCRIPCIÓN DE LOS FACTORES EXPERIMENTALES EN LA FRUCTIFICACIÓN DE *P. ostreatus*.

FACTOR EXPERIMENTADO	DESCRIPCIÓN
I. Complementación del sustrato con carbohidratos (g carbohidratos/100 g de sustrato seco)	3.0
	4.5
	6.0
	7.5
II. Complementación del sustrato con nitrógeno (g nitrógeno/100 g de sustrato seco)	0.25
	0.50
	0.75
III. Período de incubación (días)	10
	13
	16

TABLA 4. FORMULACIÓN DEL SUSTRATO CON IGUAL CONTENIDO DE NITRÓGENO (1 g) Y DE CARBOHIDRATOS (2g) Y DIFERENTES CONTENIDOS DE HUMEDAD

A. BALANCE DE HUMEDAD			
1. Contenido total de humedad (%)	63	66	69
a) Aporte del aserrín (g H ₂ O/100 g de aserrín seco)	11.11	11.11	11.11
a.1) Cantidad de agua añadida (ml)	170.2	195.6	225.9
B. BALANCE DE NITRÓGENO			
1. Contenido total de nitrógeno (g N/100 g de sustrato seco)	1.0	1.0	1.0
a) Aporte del aserrín (g N)	0.15	0.15	0.15
b) Aporte de la urea (g N)	0.85	0.85	0.85
b.1) Cantidad de urea añadida (g)	1.82	1.82	1.82
C. BALANCE DE CARBOHIDRATOS			
1. Contenido total de carbohidratos (g carbohidratos/100 g de sustrato seco)	2.0	2.0	2.0
a) Aporte de la melaza (g carbohidratos)	2.0	2.0	2.0
a.1) Cantidad de melaza añadida (g)	3.64	3.64	3.64

TABLA 5. FORMULACIÓN DEL SUSTRATO ISONITROGENADO (1 g) CON IGUAL CONTENIDO DE HUMEDAD (69%) Y DIFERENTES CONTENIDOS DE CARBOHIDRATOS

A. BALANCE DE CARBOHIDRATOS				
1. Contenido total de carbohidratos (g carbohidratos/100 g de sustrato seco)	1.0	1.5	2.0	2.5
a) Aporte de la melaza (g carbohidratos)	1.0	1.5	2.0	2.5
a.1) Cantidad de melaza añadida (g)	1.82	2.73	3.64	4.55
B. BALANCE DE NITROGENO				
1. Contenido total de nitrógeno (g nitrógeno/100 g de sustrato seco)	1.0	1.0	1.0	1.0
a) Aporte del aserrín (g N)	0.15	0.15	0.15	0.15
b) Aporte de la urea (g N)	0.85	0.85	0.85	0.85
b.1) Cantidad de urea añadida (g)	1.82	1.82	1.82	1.82
C. BALANCE DE HUMEDAD				
1. Contenido total de humedad (%)	69	69	69	69
a) Aporte del aserrín (g H ₂ O/100 g de aserrín seco)	11.11	11.11	11.11	11.11
a.1) Cantidad de H ₂ O añadida (ml)	225.9	225.9	225.9	225.9

TABLA 6 . FORMULACIÓN DEL SUSTRATO CON IGUAL CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS (2 g) Y HUMEDAD (69%) CON DIFERENTES CONTENIDOS DE NITRÓGENO

A. BALANCE DE NITRÓGENO				
1. Contenido total de nitrógeno (g nitrógeno/100 g de sustrato seco)	0.75	1.0	1.25	1.5
a) Aporte del aserrín (g N)	0.15	0.15	0.15	0.15
b) Aporte de la urea (g N)	0.60	0.85	1.10	1.35
b.1) Cantidad de urea añadida (g)	1.29	1.82	2.36	2.90
B. BALANCE DE CARBOHIDRATOS				
1. Contenido total de carbohidratos (g de carbohidratos/100 g de sustrato seco)	2.0	2.0	2.0	2.0
a) Aporte de la melaza (g carbohidratos)	2.0	2.0	2.0	2.0
a.1) Cantidad de melaza añadida (g)	3.64	3.64	3.64	3.64
C. BALANCE DE HUMEDAD				
1. Contenido total de humedad (%)	69	69	69	69
a) Aporte del aserrín (g H ₂ O/100 g de aserrín seco)	11.11	11.11	11.11	11.11
a.1) Cantidad de agua añadida (ml)	225.9	225.9	225.9	225.9

TABLA 7. FORMULACIÓN DEL SUSTRATO ISONITROGENADO (0.75 g) CON DIFERENTES CONTENIDOS DE CARBOHIDRATOS

A. BALANCE DE CARBOHIDRATOS				
1. Contenido total de carbohidratos (g carbohidratos/100 g de aserrín seco)	3.0	4.5	6.0	7.5
a) Aporte del centeno del inóculo (g)	2.5	2.5	2.5	2.5
a.1) Cantidad de inóculo (g)	10.0	10.0	10.0	10.0
b) Aporte de la melaza (g carbohidratos)	0.5	2.0	3.5	5.0
b.1) Cantidad de melaza añadida (g)	0.91	3.64	6.36	9.10
B. BALANCE DE NITRÓGENO				
1. Contenido total de nitrógeno (g N/100 g de aserrín seco)	0.75	0.75	0.75	0.75
a) Aporte del centeno del inóculo más el aporte del aserrín (g N)	0.22	0.22	0.22	0.22
b) Aporte de la urea (g N)	0.53	0.53	0.53	0.53
b.1) Cantidad total de urea (g)	1.14	1.14	1.14	1.14

TABLA 8. FORMULACIÓN DEL SUSTRATO CON IGUAL CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS (4.5 g)
Y DIFERENTES CONTENIDOS DE NITRÓGENO

A. BALANCE DE NITRÓGENO			
1. Contenido total de nitrógeno (g N/100 g de aserrín seco)	0.25	0.50	0.75
a) Aporte del centeno del inóculo (g N)	0.07	0.07	0.07
a.1) Cantidad de inóculo (g)	10.0	10.0	10.0
b) Aporte del aserrín (g N)	0.15	0.15	0.15
b.1) Cantidad de aserrín (g)	100.0	100.0	100.0
c) Aporte de la urea (g N)	0.03	0.28	0.53
c.1) Cantidad de urea (g)	0.06	0.60	1.14
B. BALANCE DE CARBOHIDRATOS			
1. Contenido total de carbohidratos (g carbohidratos/100 g de aserrín seco)	4.5	4.5	4.5
a) Aporte del centeno del inóculo (g)	2.5	2.5	2.5
b) Aporte de la melaza (g carbohidratos)	2.0	2.0	2.0
b.1) Cantidad de melaza añadida (g)	3.64	3.64	3.64

riable. Se etiquetaron y taparon igualmente que los tubos.

II.5.3. TRATAMIENTO TÉRMICO DEL SUSTRATO.

Los tubos y las cajas de cultivo conteniendo el sustrato se colocaron en autoclave para el tratamiento térmico del sustrato, el cual consistió en la esterilización del mismo a 1.1 Kg/cm^2 durante 15 minutos. En el segundo experimento se varió el tratamiento térmico del sustrato según la descripción de la Tabla 2.

II.5.3.1. MEDICIÓN DEL pH.

El pH del sustrato se midió tanto después del tratamiento térmico (pH inicial) como después de la fase de producción de esporóforos (pH final), utilizando un potenciómetro; dos muestras de 6 g de sustrato, procedente de uno de los 4 tubos y de una de las 5 cajas preparados por variable, se suspendieron en 100 ml de agua destilada, se dejaron reposar durante 30 minutos y se filtraron antes de hacer la determinación del pH.

II.5.4. INOCULACIÓN.

Tanto para los tubos de cultivo como para las cajas, se preparó el inóculo según el procedimiento indicado en el punto II.3.

Después del tratamiento térmico, el sustrato se dejó enfriar a tempera-

tura ambiente y se procedió a la inoculación en condiciones estériles. Los tubos de cultivo se inocularon con un disco de cultivo de 2.5 cm de diámetro (empleando uno de los tubos estéril como molde). Las cajas se sembraron con 3 g de inóculo de grano cada una.

II.5.5. PROPAGACIÓN VEGETATIVA.

Una vez inoculados y tapados los tubos y cajas, se colocaron dentro de una estufa de incubación a 25°C, permitiendo así el desarrollo vegetativo del micelio. Los tubos se incubaron durante 18 días mientras que en las cajas se varió el período de incubación según la Tabla 3. La medición de los parámetros de desarrollo de *P. ostreatus*, crecimiento micelial, velocidad de crecimiento, contaminación y aparición de primordios, entre otros, se describen en la Tabla 9.

II.5.6. FASE PRODUCTIVA.

Después del crecimiento micelial, se sacaron los recipientes de la estufa y se procedió con la inducción de la fructificación. Para esto, los tubos y cajas se llevaron a un invernadero con luz natural difusa, ambiente controlado de 22 a 28°C, de 90 a 95% de humedad relativa y ventilación. Con el objeto de evitar la fructificación lateral (deforme), los tubos de cultivo se cubrieron con papel permitiendo la aparición de primordios solamente en la superficie. En cuanto a las cajas, una vez aparecidos los primordios se sacó el bloque de sustrato invadido por micelio.

TABLA 9. DESCRIPCIÓN DE LA CUANTIFICACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE DESARROLLO DE *P. ostreatus*

PARÁMETRO	MEDICIÓN
1. Crecimiento micelial (cm)	Longitud alcanzada por el crecimiento descendente del micelio, medido en cm cada tercer día durante 18 días. Se tomaron 3 medidas al azar por tubo en cada medición.
2. Velocidad de crecimiento micelial promedio (cm/día)	Se determinó la velocidad a cada intervalo de 3 días de incubación, dividiendo el incremento en la longitud alcanzada por el micelio entre 3. Se reporta el promedio.
3. Abundancia y penetración del micelio y abundancia de primordios	Calificada de forma apreciativa según la siguiente escala: 1. Nula 3. Intermedia 5. Muy buena 2. Escasa 4. Buena
4. Contaminación (%)	$\frac{\text{Número de tubos contaminados}}{\text{Número de tubos totales}} \times 100^1$
5. Aparición de primordios (%)	$\frac{\text{Número de tubos con primordios}}{\text{Número de tubos totales}} \times 100^1$
6. Aparición de primordios (días)	Días transcurridos después de la inducción.
7. Aparición de esporóforos (%)	$\frac{\text{Número de tubos con esporóforos}}{\text{Número de tubos totales}} \times 100^1$
8. Aparición de esporóforos (días)	Días transcurridos después de la aparición de primordios para el primer brote, o después del brote anterior para el segundo y tercer brotes.
9. Desarrollo de los esporóforos hasta la madurez (días)	Tiempo transcurrido desde la aparición de los esporóforos hasta que el hongo alcanza su máximo tamaño.
10. Morfología de los esporóforos (cm)	Se tomaron medidas de: 1. Altura total 3. Altura del pie 2. Diámetro del píleo 4. Ancho del pie

¹Cajas en lugar de tubos en el último experimento.

lio y se dejaron expuestas las dos superficies mayores del mismo.

La luz difusa y el aislamiento del invernadero se lograron cubriendo las paredes y el techo del mismo con placas de poliestireno, dejando aberturas entre éstas para el paso de luz. La humedad se conservó colocando los tubos o cajas dentro de un cobertizo de plástico y un humidificador. La temperatura y ventilación se controlaron con una undad de aire acondicionado.

Los parámetros de la fructificación de *P. ostreatus*, aparición de esporóforos, morfología, etc., se describen en la Tabla 9. La medición de los parámetros del rendimiento del hongo se describen en la Tabla 10.

TABLA IO . DESCRIPCIÓN DE LA CUANTIFICACIÓN DEL RENDIMIENTO DE *P. ostreatus*

PARÁMETRO	MEDICIÓN
Rendimiento (%)	Peso total (g) de los esporóforos frescos de cada brote dividido entre el peso total (g) del sustrato seco y multiplicado por cien.
Como el porcentaje se calculó en relación al peso del sustrato seco:	
$100\% \text{ de Rendimiento} = \frac{100 \text{ g de hongo fresco}}{100 \text{ g de sustrato seco}} \times 100$	
Si se obtiene más de 100 g de hongo fresco por cada 100 g de sustrato seco, el porcentaje del rendimiento será mayor a 100.	

III. RESULTADOS.

III.1. EXPERIMENTO PRELIMINAR DEL CULTIVO DE *P. ostreatus* SOBRE ASERRÍN DE ENCINO.

Se realizó un experimento preliminar cuyo principal objetivo era corroborar que *P. ostreatus* se desarrollaba sobre aserrín de encino y que la complementación con nitrógeno y carbohidratos favorecía su crecimiento.

Los niveles de nitrógeno y carbohidratos (1 g de nitrógeno y 2 g de carbohidratos/100 g de aserrín seco), el nivel de CaCO_3 (1 g/100 g de aserrín seco), así como el tipo de complementos empleados en este experimento (urea y glucosa), fueron seleccionados de acuerdo a la información en la bibliografía (ver punto IV).

Así, se cultivó *P. ostreatus* sobre aserrín de encino sin complementar y complementado con urea y glucosa. El pretratamiento del sustrato, inoculación y cultivo, se describen en el capítulo de Material y Métodos. Se prepararon 6 tubos de cultivo de 20 x 2.5 cm, con aserrín de encino sin complementar y 6 con sustrato complementado con 1 g de nitrógeno y 2 g de carbohidratos por cada 100 g de aserrín seco, provenientes de la urea y de la glucosa respectivamente. El crecimiento micelial descendente se cuantificó en cm cada tercer día durante 18 días. Se efectuaron 3 medidas al azar por tubo en cada ocasión.

Los resultados de este primer experimento indicaron gran diferencia entre el desarrollo de *P. ostreatus* sobre los dos sustratos estudiados. En

la Tabla 11 se observa que en el sustrato complementado el crecimiento micelial a los 18 días es 3.56 veces mayor que el no complementado. La abundancia del micelio en ambos casos fue muy buena. En el caso del sustrato complementado, el micelio se extendió a razón de 0.63 cm/día, invadiendo casi la totalidad del sustrato, con penetración intermedia. El crecimiento micelial en el sustrato no complementado fue considerablemente más lento (0.12 cm/día), aunque produjo mayor compactación y penetración en el sustrato. La neutralización del sustrato con CaCO_3 produjo un efecto similar en ambos sustratos, y se observó la disminución en el pH del medio de una unidad solamente.

III.2. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DEL CULTIVO DE *P. ostreatus* SOBRE ASERRÍN DE ENCINO EN TUBOS DE CULTIVO.

Con base en la experimentación preliminar, se realizó un nuevo experimento con el objeto de identificar las condiciones de cultivo más adecuadas para el desarrollo vegetativo y la formación de primordios por este hongo en un sustrato de aserrín de encino complementado con urea y melaza, ésta última en sustitución de glucosa. Para este experimento se cultivó *P. ostreatus* variando las condiciones de pretratamiento y preparación del sustrato. Las variables consideradas fueron:

1. Tratamiento térmico del sustrato.
2. Humedad del sustrato.
3. Tamaño de partícula del aserrín.

TABLA . 11 . DESARROLLO VEGETATIVO DE *P. ostreatus* EN ASERRÍN DE ENCINO SOLO Y CON COMPLEMENTACIÓN CON UREA Y GLUCOSA

PARÁMETRO	SIN COMPLEMENTAR	COMPLEMENTADO CON UREA Y GLUCOSA
Crecimiento a los 18 días (cm)	4.0 ± 0.4	11.85 ± 0.29
Velocidad de crecimiento (cm/día)	0.18 ± 0.02	0.63 ± 0.06
pH inicial	6.4 ± 0.05	6.5 ± 0.07
pH final	5.4 ± 0.11	5.6 ± 0.07
Abundancia del micelio	5	5
Ramificación del micelio	Compacta	Extendida
Penetración del micelio	4	3

4. Complementación con carbohidratos.

5. Complementación con nitrógeno.

En el capítulo de Material y Métodos se detallan las condiciones del cultivo y concentraciones de las variables estudiadas. Se emplearon tubos de cultivo de 20.0 x 2.5 cm, con 3 repeticiones para cada sustrato. La composición del sustrato utilizada en el experimento preliminar se repitió como control; así, este sustrato fue esterilizado y por cada 100 g de aserrín seco se le complementó con 1 g de nitrógeno, 2 g de carbohidratos y 1 g de CaCO_3 . Se utilizó el aserrín retenido entre las mallas 8 y 30 y se ajustó la humedad al 69%.

III.2.1. EFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO DEL SUSTRATO.

Los resultados de la Tabla 12 indican una diferencia poco marcada en el desarrollo vegetativo de *P. ostreatus* según los tratamientos térmicos del 1 al 4. Los tratamientos 5 y 6 no presentaron desarrollo vegetativo porque se contaminó el sustrato totalmente desde el tercer día de incubación, resultando un mínimo desarrollo micelial, no cuantificable. En el sustrato esterilizado y en el esterilizado parcialmente no hubo contaminación, mientras que en los tratamientos 3 y 4 hubo una contaminación de más del 50% de los tubos. Los sustratos con los tratamientos térmicos del 1 al 4 presentaron primordios aproximadamente dos semanas después de la inducción (ver Tabla 13). El sustrato esterilizado (testigo) presentó

TABLA 12. INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO TÉRMICO DEL SUSTRATO SOBRE EL DESARROLLO VEGETATIVO DE *P. ostreatus*

PARÁMETRO	TRATAMIENTO TÉRMICO					
	1	2	3	4	5	6
Crecimiento a los 18 días (cm)	12.1 ±0.7	12.7 ±0.6	13.0 ±0.4	11.5 ±0.1	0	0
Velocidad de crecimiento (cm/día)	0.7 ±0.21	0.71±0.23	0.77±0.23	0.66±0.23	0	0
pH inicial	6.50±0.07	6.50±0.07	6.55±0	6.55±0.07	6.55 ± 0.07	6.55 ± 0
pH final	5.4 ±0.06	5.4 ±0.11	5.6 ±0.06	5.6 ± 0.06	ND	ND
Contaminación (%)	0	0	66.66	66.66	100.0	100.0

1. Esterilización
2. Esterilización parcial
3. Pasteurización 30 min
4. Pasteurización 20 min
5. Pasteurización 10 min
6. Sin tratamiento térmico

ND= No determinado.

TABLA 13. FRUCTIFICACIÓN DE *P. ostreatus* EN ASERRÍN DE ENCINO CON DIFERENTES TRATAMIENTOS TÉRMICOS

PARÁMETRO	TRATAMIENTO TÉRMICO					
	1	2	3	4	5	6
A. PRIMORDIOS						
1. Aparición						
a) Porcentaje (%)	100.0	66.66	33.33	33.33	0	0
b) Días	15.6 ± 0.6	19.0 ± 5.6	15.0 ± 0	16 ± 0	ND	ND
2. Abundancia	3.5 ± 0.7	4.0 ± 1.4	2.0 ± 0	3.0 ± 0	ND	ND
B. ESPORÓFOROS						
1. Aparición						
a) Porcentaje (%)	66.66	0	0	33.33	0	0
b) Días	6.0 ± 0	ND	ND	5.0 ± 0	ND	ND
2. No. de esporóforos por tubo.	1 - 19	ND	ND	8	ND	ND
3. Desarrollo hasta la madurez (días)	6.5 ± 0.7	ND	ND	6.0 ± 0	ND	ND
4. Morfología (cm)						
a) Altura total	0.4 - 3.5	ND	ND	0.4 - 1.3	ND	ND
b) Ancho del pie	0.2 - 1.5	ND	ND	0.2	ND	ND
c) Altura del pie	0.3 - 3.0	ND	ND	0.3 - 0.5	ND	ND
d) Diámetro del píleo	0.3 - 1.8	ND	ND	0.3	ND	ND

1. Esterilización
2. Esterilización parcial
3. Pasteurización 30 min
4. Pasteurización 20 min
5. Pasteurización 10 min
6. Sin tratamiento térmico

ND= No Determinado.

primordios en todos los tubos, el esterilizado parcialmente en el 66.66% y en los sustratos con tratamiento 3 y 4 solamente hubo presencia de primordios en el 33.33% de los tubos. Una semana después de la aparición de los primordios, únicamente se presentaron esporóforos en el sustrato esterilizado y en el del tratamiento 4 (pasteurizado 20 min). El desarrollo de los esporóforos hasta la maduración fue de una semana en promedio.

III.2.2. EFECTO DE LA HUMEDAD DEL SUSTRATO.

La humedad del sustrato influyó marcadamente en el desarrollo vegetativo de *P. ostreatus*. En el sustrato con menor humedad (63%) el micelio creció lentamente, a razón de 0.57 cm/día, mientras que en el de mayor humedad (69%) lo hizo a 0.70 cm/día. El sustrato con humedad intermedia (66%) presentó un crecimiento de 0.65 cm/día (ver Tabla 14). El criterio de selección para esta variable se realizó en función principalmente del desarrollo vegetativo, ya que después de 12 días de incubación los sustratos con 66 y 63% de humedad presentaron resequedad, por lo que se decidió humedecerlos para seguir observando su crecimiento y aparición de primordios. Después de 15 días de incubación, la mayoría de los sustratos de este experimento presentaron resequedad por lo que se decidió agregarles agua esterilizada en los tres días restantes de incubación, y en el período de fructificación. Se añadieron aproximadamente 3 ml de agua esterilizada a cada tubo diariamente. Se presentaron abundantes primordios en casi todos los tubos entre 15 y 19 días después de la inducción (ver Tabla 15). Únicamente un tubo del sustrato con 63% de humedad no pre-

TABLA 14. INFLUENCIA DEL CONTENIDO DE HUMEDAD EN EL SUSTRATO SOBRE EL DESARROLLO VEGETATIVO DE *P. ostreatus*

PARÁMETRO	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)		
	63	66	69
Crecimiento a los 18 días (cm)	10.3 ± 0.4	11.8 ± 0.3	12.1 ± 0.7
Velocidad de crecimiento (cm/día)	0.57 ± 0.22	0.65 ± 0.25	0.70 ± 0.21
pH inicial	6.55 ± 0	6.50 ± 0.07	6.50 ± 0.07
pH final	5.40 ± 0.11	5.50 ± 0.11	5.40 ± 0.06
Contaminación (%)	0	0	0

TABLA 15. FRUCTIFICACIÓN DE *P. ostreatus* EN ASERRÍN DE ENCINO CON DIFERENTES CONTENIDOS DE HUMEDAD

PARÁMETRO	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)		
	63	66	69
A. PRIMORDIOS			
1. Aparición			
a) Porcentaje (%)	66.66	100.0	100.0
b) Días	17.0 ± 1.4	19.0 ± 2.8	15.6 ± 0.6
2. Abundancia	4.0 ± 1.4	4.0 ± 1.6	3.5 ± 0.7
B. ESPORÓFOROS			
1. Aparición			
a) Porcentaje (%)	66.66	100.0	66.66
b) Días	4.5 ± 0.7	4.0 ± 0	6.0 ± 0.7
2. No. de esporóforos por tubo	2 - 13	1 - 7	1 - 19
3. Desarrollo hasta la madurez (días)	6.0 ± 0	4.5 ± 2.0	6.5 ± 0.7
4. Morfología (cm)			
a) Altura total	0.2 - 0.6	0.4 - 1.1	0.4 - 3.5
b) Ancho del pie	0.1 - 0.2	0.2 - 0.3	0.2 - 1.2
c) Altura del pie	0.1 - 0.4	0.2 - 0.7	0.3 - 3.0
d) Diámetro del pie	0.1 - 0.3	0.2 - 0.5	0.3 - 1.8

sentó primordios. Los cuerpos fructíferos se presentaron de 4 a 6 días después de la aparición de los primordios, tardando de 3 a 7 días en desarrollarse totalmente. En los sustratos con 63 y 69% de humedad se registró una aparición de esporóforos del 66.66%, mientras que en el sustrato de humedad intermedia se formaron esporóforos en todos los tubos. Debe tomarse en cuenta que estos resultados pudieron haber sido influidos por el hecho de que todos los tubos se regaron diariamente, inclusive los de más bajo contenido de humedad inicial.

III.2.3. EFECTO DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA DEL ASERRÍN.

No se observaron diferencias significativas ni en la longitud alcanzada por el micelio a los 18 días (12.7 cm en promedio), ni en la velocidad de crecimiento (0.72 cm/día en promedio) de acuerdo a la variación del tamaño de partícula del aserrín (ver Tabla 16). Todos los tubos presentaron primordios en abundancia variable, siendo muy buena para el sustrato con partículas gruesas, escasa en el de partículas medianas y regular en el sustrato mixto (ver Tabla 17). Solamente el sustrato con partículas gruesas tuvo formación de esporóforos del 100%. Los otros dos sustratos presentaron formación de esporóforos en el 66.66% de los tubos, con una duración promedio de desarrollo de 6.5 días en todos los casos.

III.2.4. EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON CARBOHIDRATOS.

El crecimiento micelial de *P. ostreatus* no se vio influido marcadamente

TABLA 16 . INFLUENCIA DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA DEL SUSTRATO SOBRE
 EL DESARROLLO VEGETATIVO DE *P. ostreatus*.

PARÁMETRO	TAMAÑO DE PARTÍCULA		
	GRUESO	MEDIANO	MIXTO
Crecimiento a los 18 días (cm)	13.2 ± 0.3	12.9 ± 0.2	12.1 ± 0.7
Velocidad de crecimiento (cm/día)	0.73 ± 0.22	0.74 ± 0.16	0.70 ± 0.21
pH inicial	6.55 ± 0.07	6.55 ± 0.07	6.50 ± 0.07
pH final	5.40 ± 0.10	5.55 ± 0.06	5.40 ± 0.06
Contaminación (%)	0	0	0

TABLA 17. FRUCTIFICACIÓN DE *P. ostreatus* EN ASERRÍN DE ENCINO CON DIFERENTE TAMAÑO DE PARTÍCULA

PARÁMETRO	TAMAÑO DE PARTÍCULA		
	GRUESO	MEDIANO	MIXTO
A. PRIMORDIOS			
1. Aparición			
a) Porcentaje (%)	100	100	100
b) Días	16.0 ± 0	19.0 ± 0	15.6 ± 0.6
2. Abundancia	4.5 ± 0.7	2.5 ± 0.7	3.5 ± 0.7
B. ESPORÓFOROS			
1. Aparición			
a) Porcentaje (%)	100	66.66	66.66
b) Días	4.0 ± 1.4	4.0 ± 2.8	6.0 ± 0
2. No. de esporóforos por tubo	10 - 32	1 - 2	1 - 19
3. Desarrollo hasta la <u>ma</u> durez (días)	6.0 ± 0	6.5 ± 3.5	6.5 ± 0.7
4. Morfología (cm)			
a) Altura total	0.2-2.4	0.6-1.6	0.4-3.5
b) Ancho del pie	0.1-0.7	0.2-0.4	0.2-1.2
c) Altura del pie	0.1-1.7	0.3-1.3	0.3-3.0
d) Diámetro del píleo	0.2-1.3	0.3-0.5	0.3-1.8

por la complementación del sustrato con carbohidratos en los niveles experimentales de 1 a 2.5 g. El desarrollo vegetativo a los 18 días, en todos los casos, alcanzó una longitud promedio de 13 cm (ver Tabla 18). Por otro lado, el contenido de carbohidratos afectó directamente el porcentaje de aparición de primordios (ver Tabla 19). En los sustratos con mayor contenido de carbohidratos (2.0 y 2.5 g/100 g de sustrato seco) se registró 100% de aparición; en el de 1.5 g bajó al 66.66%, y en el de 1.0 g solamente se presentaron primordios en un tubo. En todos los casos los primordios aparecieron alrededor de 16 días después de la inducción, presentándose abundantemente en los sustratos con 2.0 y 2.5 g de carbohidratos. En todos los sustratos se formaron esporóforos. En cuanto al porcentaje de aparición de esporóforos, se presentó un 100% en el sustrato con 2.5 g de carbohidratos, 66.66% en los de 2.0 y 1.5 g de carbohidratos, y en el de 1.0 g solamente se formaron esporóforos en un tubo. El desarrollo de los esporóforos hasta la madurez abarcó de 5 a 10 días.

III.2.5. EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON NITRÓGENO.

Los diferentes contenidos de nitrógeno en el sustrato provocaron una diferencia notable en el desarrollo vegetativo de *P. ostreatus* (ver Tabla 20). En el sustrato con menor contenido de nitrógeno se observó un crecimiento relativamente rápido (0.75 cm/día), y mayor abundancia micelial y longitud alcanzada por el micelio (13.4 ± 0.6 cm), entre las variables de este experimento, mientras que en el sustrato con 1.5 g de

TABLA 18 . INFLUENCIA DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON CARBOHIDRATOS
 SOBRE EL DESARROLLO VEGETATIVO DE *P. ostreatus*.

PARÁMETRO	COMPLEMENTACIÓN CON CARBOHIDRATOS (g/100 g DE SUSTRATO SECO)			
	1.0	1.5	2.0	2.5
Crecimiento a los 18 días (cm)	12.9 ± 0.3	12.9 ± 0.8	12.1 ± 0.7	13.1 ± 0.4
Velocidad de crecimiento (cm/dfa)	0.71 ± 0.23	0.72 ± 0.25	0.70 ± 0.21	0.73 ± 0.26
pH inicial	6.65 ± 0	6.55 ± 0.11	6.50 ± 0.07	6.45 ± 0
pH final	5.50 ± 0.11	5.40 ± 0.11	5.40 ± 0.06	5.50 ± 0.1
Contaminación (%)	0	0	0	0

TABLA 19. FRUCTIFICACIÓN DE *P. ostreatus* EN ASERRÍN DE ENCINO CON DIFERENTE COMPLEMENTACIÓN DE CARBOHIDRATOS

PARÁMETRO	COMPLEMENTACIÓN CON CARBOHIDRATOS (g/100 g DE SUSTRATO SECO)			
	1.0	1.5	2.0	2.5
A. PRIMORDIOS				
1. Aparición				
a) Porcentaje (%)	33.33	66.66	100	100
b) Días	16.0 ± 0	16.0 ± 0	15.6 ± 0.6	16.0 ± 0.6
2. Abundancia	3.0 ± 0	2.0 ± 0	3.5 ± 0.7	4.5 ± 0.07
B. ESPORÓFOROS				
1. Aparición				
a) Porcentaje (%)	33.33	66.66	66.66	100
b) Días	5.0 ± 0	5.0 ± 0	6.0 ± 0	5.0 ± 0
2. No. de esporóforos por tubo	3	1 - 14	1 - 19	4 - 7
3. Desarrollo hasta la madurez (días)	10.0 ± 0	4.0 ± 2.8	6.5 ± 0.7	5.5 ± 1.8
4. Morfología (cm)				
a) Altura total	0.4 - 0.8	0.2 - 0.3	0.4 - 3.5	0.3 - 1.5
b) Ancho del pie	0.1 - 0.4	0.1 - 0.2	0.2 - 1.3	0.2 - 0.7
c) Altura del pie	0.3 - 0.5	0.1 - 0.2	0.3 - 3.0	0.2 - 1.1
d) Diámetro del pflero	0.2 - 0.5	0.2 - 0.3	0.3 - 1.8	0.3 - 0.9

TABLA 20 . INFLUENCIA DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON NITRÓGENO SOBRE EL DESARROLLO VEGETATIVO DE *P. ostreatus*.

PARÁMETRO	COMPLEMENTACIÓN CON NITRÓGENO (g/100 g DE SUSTRATO SECO)			
	0.75	1.00	1.25	1.50
Crecimiento a los 18 días (cm)	13.4 ± 0.6	12.1 ± 0.7	12.1 ± 0.4	9.8 ± 0.3
Velocidad de crecimiento (cm/día)	0.75 ± 0.26	0.70 ± 0.21	0.67 ± 0.22	0.54 ± 0.19
pH Inicial	6.40 ± 0.07	6.50 ± 0.07	6.55 ± 0.21	6.55 ± 0.07
pH Final	5.30 ± 0.06	5.40 ± 0.06	5.40 ± 0.11	5.60 ± 0.06
Contaminación (%)	0	0	0	0

nitrógeno la longitud alcanzada por el micelio (9.8 ± 0.3 cm) y la velocidad de crecimiento micelial promedio (0.54 cm/día) presentaron los valores más bajos en este experimento. Los resultados de la Tabla 21 muestran una relación inversa entre el contenido de nitrógeno y el porcentaje de aparición de primordios. En los sustratos con 0.75 y 1.0 g de nitrógeno se presentaron primordios en todos los tubos, en el de 1.25 g solamente en el 33.33%, y en el de 1.50 g ningún tubo presentó primordios. Dichos primordios aparecieron alrededor de dos semanas después de la inducción, con abundancia creciente conforme el contenido de nitrógeno en el sustrato era menor, siendo escasa para el sustrato con 1.25 g de nitrógeno y muy buena para el de 0.75 g. Hubo formación de esporóforos en los tres sustratos que presentaron primordios.

III.3. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE FRUCTIFICACIÓN DE *P. ostreatus* SOBRE ASERRÍN DE ENCINO EN RECIPIENTES DE PLÁSTICO.

Partiendo de las condiciones de cultivo seleccionadas en la fase anterior, se realizó un nuevo experimento con el objeto de identificar el medio que reuniera las condiciones más adecuadas para la fructificación de *P. ostreatus* sobre aserrín de encino complementado con urea y melaza. Se evaluó la producción de esporóforos y se seleccionó el sustrato con el que se obtuvo el mejor rendimiento.

Se variaron las condiciones de preparación del sustrato y algunos factores tanto de la incubación como de las condiciones ambientales en la fructificación. Los aspectos considerados fueron:

TABLA 21 . FRUCTIFICACIÓN DE *P. ostreatus* EN ASERRÍN DE ENCINO CON DIFERENTE COMPLEMENTACIÓN DE NITRÓGENO

PARÁMETRO	COMPLEMENTACIÓN CON NITRÓGENO (g/100 g DE SUSTRATO SECO)			
	0.75	1.0	1.25	1.50
A. PRIMORDIOS				
1. Aparición				
a) Porcentaje (%)	100	100	33.33	0
b) Días	17.6 ± 1.5	15.6 ± 0.6	18.0 ± 0	ND
2. Abundancia	4.5 ± 0.7	3.5 ± 0.7	2.0 ± 0	ND
B. ESPORÓFOROS				
1. Aparición				
a) Porcentaje (%)	66.66	66.66	33.33	0
b) Días	5.0 ± 0	6.0 ± 0	8.0 ± 0	ND
2. No.de esporóforos por tubo	3-5	1-19	1	ND
3. Desarrollo hasta la madurez (días)	8.5 ± 3.5	6.5 ± 0.7	8.0 ± 0	ND
4. Morfología (cm)				
a) Altura	0.5-2.2	0.4-3.5	1.0	ND
b) Ancho del pie	0.15-0.7	0.2-1.2	0.4	ND
c) Altura del pie	0.4-1.0	0.3-3.0	0.6	ND
d) Diámetro del pfele	0.2-1.0	0.3-1.8	0.5	ND

. ND= No determinado

1. Complementación con carbohidratos.
2. Complementación con nitrógeno.
3. Período de incubación.
4. Control de condiciones ambientales en la fructificación.
5. Sustrato de aserrín de pino en lugar de encino.

Con los resultados obtenidos en tubos de cultivo, se realizó una selección de las variables físicas y químicas que más favorecieron el desarrollo y formación de primordios por *P. ostreatus*. Esta selección fue la base de la preparación del sustrato y cultivo del hongo en el presente experimento. Así, el sustrato fue esterilizado y se regó a saturación diariamente con agua estéril a partir de la aparición de los primordios. El tamaño de partícula del aserrín de encino y del aserrín de pino correspondió al material retenido entre las mallas 8 y 30 para el primero y 6 y 60 para el segundo.

En el caso de las variables químicas del experimento en tubos de cultivo, los valores seleccionados correspondieron a las concentraciones más baja de nitrógeno (0.75 g) y más alta de carbohidratos (2.5 g por cada 100 g de sustrato seco). Por ello, en este experimento se decidió probar el desarrollo del hongo en concentraciones menores de nitrógeno y mayores de carbohidratos.

En el presente experimento se sembró el sustrato húmedo con 3% de inoculo de centeno. El centeno posee alto contenido de hexosas, por lo que la concentración final de carbohidratos se calculó considerando tanto el

aporte del inóculo como el de la melaza añadida como complemento.

Los períodos de incubación en este experimento fueron de 10, 13 ó 16 días, con el fin de encontrar el tiempo de crecimiento micelial mínimo y, a su vez, para obtener una buena producción de esporóforos. La temperatura de incubación fue de 25°C, misma que se empleó en el experimento con tubos de cultivo. Las cajas de cultivo fueron tapadas con un cuadro de hule espuma sostenido por una liga, además de un cuadro de papel aluminio encima. Después del período de incubación, las cajas se destaparon y se trasladaron al invernadero, en donde se indujo la fructificación con luz natural (12 horas de luz por día, aproximadamente). Con la ayuda de un humidificador y colocando las cajas dentro de un cobertizo de plástico que permitiera una buena ventilación, se mantuvo una alta humedad relativa de 90 a 95%. Tanto la temperatura ambiental, mantenida de 22 a 28°C, como la ventilación en el invernadero, fueron controladas con una unidad de aire acondicionado durante el día. Durante la noche la temperatura descendía ocasionalmente hasta 7°C. No se apreciaron cambios bruscos en la fructificación en estas condiciones, por lo que las mismas se mantuvieron hasta el final del experimento. En el momento en que se observó la iniciación de la formación de esporóforos, se desprendió y sacó el bloque de sustrato invadido por el micelio de cada uno de los recipientes, utilizando una espátula fina, colocando el sustrato sobre las cajas con objeto de permitir la fructificación aun en las orillas y en la parte inferior del sustrato que estaba en contacto con la caja.

Se decidió probar también en esta etapa la fructificación de *P. ostreatus* en aserrín de pino. El sustrato fue preparado siguiendo el pretratamiento y complementación de aserrín de encino usado como control.

Se emplearon recipientes de plástico de 10 x 3.5 cm con cinco repeticiones para cada variable del sustrato de aserrín de encino y 26 repeticiones para el de aserrín de pino. La composición y preparación del sustrato control se realizó considerando la selección de las variables del experimento anterior. Así, el sustrato fue esterilizado e incubado durante 16 días. Por cada 100 g de aserrín seco, se complementó con 0.75 g de nitrógeno, 4.5 g de carbohidratos y 1 g de CaCO_3 ; se empleó el aserrín de encino retenido entre las mallas 8 y 30, y el aserrín de pino retenido entre las mallas 6 y 60; la humedad se ajustó al 69%.

III.3.1 EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON CARBOHIDRATOS.

Los resultados de la Tabla 22 muestran que en todos los sustratos de esta variable, hubo 100% de aparición de primordios, los cuales se presentaron 5 días después de la inducción, con muy buena abundancia en los sustratos con 4.5, 6.0 y 7.5 g de carbohidratos e intermedia para el de 3.0 g de carbohidratos. En el primer brote de todos los sustratos, los esporóforos empezaron a formarse a los 6 días después de la aparición de los primordios. En el segundo brote se observó un lapso mayor de

TABLA 22 . FRUCTIFICACIÓN DE *P. ostreatus* EN ASERRÍN DE ENCINO CON DIFERENTES CONTENIDOS DE CARBOHIDRATOS

PARÁMETRO	CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS (g/100g DE SUSTRATO SECO)											
	3.0			4.5			6.0			7.5		
	NÚMERO DE BROTE											
	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°
A. PRIMORDIOS												
1. Aparición				100			100			100		
a) Porcentaje (%)				5.3±0.6			5.0±0			4.7±0.6		
b) Días												
2. Abundancia	3.3±0.6			5.0±0			5.0±0			5.0±0		
B. ESPORÓFOROS												
1. Aparición				100			100			100		
a) Porcentaje (%)	100	100	25	100	100	50	100	100	50	100	100	75
b) Iniciación de la formación (días)	6.0±0.7	36.5±0.7	14.4±0	6.0±1.0	31.3±5.0	19.0±4.0	6.0±1.0	23.6±5.0	26.0±3.0	5.7±0.6	22.0±2.0	17.6±0.6
2. No. de esporóforos por caja	1-2	1-2	1	1-3	1-3	1	2-3	1-4	1-2	2-3	1-3	1-2
3. Desarrollo hasta la madurez (días)	8.75±1.2	5.0±0.8	6.0±0	6.0±0.8	8.0±1.0	5.0±0.8	5.3±0.9	7.5±1.5	5.0±0	5.0±0	5.0±0.1	8.0±1.0
4. Morfología (cm)												
a) Altura total	5.7±1.0	3.2±1.0	3.0±0	5.8±0.4	3.9±0.9	2.5±0.7	6.5±0.7	3.8±1.0	3.5±0.8	5.8±1.0	5.4±1.0	5.0±0.5
b) Ancho del pie	1.2±0.5	0.7±0.3	0.8±0	0.9±0.1	0.9±0.3	0.5±0.1	1.3±0.3	0.9±0.9	0.8±0.1	1.2±0.5	1.2±0.4	1.3±0.1
c) Altura del pie	1.2±0.2	0.7±0.4	0.9±0	0.9±0.1	1.1±0.5	0.6±0.1	0.8±0.4	1.4±0.4	0.6±0.3	1.2±0.2	1.1±0.6	1.1±0.2
d) Diámetro del píleo	5.0±0.7	3.6±1.0	2.7±0	4.8±0.4	3.8±1.3	2.3±0.3	5.6±0.7	4.8±0.1	3.7±1.0	5.0±0.7	5.0±1.0	5.4±0.6
5. Esporóforos por caja (g)	13.2±4.0	3.4±1.2	2.0±0.8	14.7±5.0	5.4±2.0	3.0±0.7	16.1±7.4	7.8±1.4	5.5±1.1	15.3±3.5	13.2±5.0	6.7±0.8

tiempo para la iniciación de la formación de los esporóforos, la duración de este periodo aumentó conforme la cantidad de carbohidratos en el medio disminuyó. El tiempo transcurrido entre el segundo y tercer brotes bajó bruscamente (en un 50% aproximadamente) para el caso de los sustratos con 3 y 4.5 g de carbohidratos mientras que en los sustratos con 6.0 y 7.5 g permaneció casi constante. Hubo 100% de aparición de esporóforos en el primer y segundo brotes en todos los sustratos, mientras que en el tercer brote en el sustrato con 3 g de carbohidratos hubo una aparición de esporóforos del 25%, en el de 4.5 g y 6.0 g del 50%, y en el de 7.5 g del 75% de las cajas.

En cuanto al rendimiento acumulado de *P. ostreatus* en el sustrato con diferentes contenidos de carbohidratos (ver Tabla 23), se observó que a medida que la concentración de carbohidratos en el medio se aumentó, la producción de esporóforos aumentó también. En el sustrato con 3 g de carbohidratos se obtuvo el rendimiento total de los más bajos de todo el experimento (62.2%), mientras que en el de 7.5 g, el más alto (117.0%). El rendimiento del sustrato con 4.5 g de carbohidratos fue de 77.5% y el de 6.0 g de 98.7%. En el primer brote de todos los sustratos se obtuvieron los rendimientos más altos (de 44 a 53%) con respecto a los demás brotes. En el segundo brote el rendimiento de los sustratos con 3.0, 4.5 y 6.0 g de carbohidratos, bajó bruscamente a 11.4%, 13.8% y 26.8% respectivamente, mientras que el sustrato con 7.5 g de carbohidratos mantuvo un rendimiento alto de 44%. En el tercer brote, los sustratos con 3.0 y 4.5 g de carbohidratos presentaron bajos rendimientos de 6.7 y 9.9%. Con los de 6.0 y 7.5 se obtuvieron rendimientos de 18.2 y 22.2%. El

TABLA 23 . RENDIMIENTO DE *P. ostreatus* EN ASERRÍN DE ENCINO CON DIFERENTES CONTENIDOS DE CARBOHIDRATOS

PARÁMETRO	CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS (g/100g DE SUSTRATO SECO)			
	3.0	4.5	6.0	7.5
1. PRIMER BROTE				
a) Rendimiento acumulado (%)	44.1 ± 13.8	49.8 ±16.7	53.7 ±24.7	51.1 ±11.6
b) Días después de la inducción	18.8 ± 2.3	17.7 ± 1.1	16.75± 1.3	15.5 ± 1.0
2. SEGUNDO BROTE				
a) Rendimiento acumulado (%)	55.5 ± 13.8	67.6 ±17.1	80.5 ±22.9	95.0 ±13.3
b) Días después de la inducción	60.3 ± 6.7	56.7 ± 5.2	47.0 ±10.3	42.75±12.1
3. TERCER BROTE				
a) Rendimiento acumulado (%)	62.2 ±11.7	77.5 ±17.8	98.7 ±23.4	117.2 ±13.4
b) Días después de la inducción	80.7 ± 2.0	80.8 ± 4.1	78.5 ± 4.5	68.35± 2.0

tiempo total del cultivo disminuyó conforme la concentración de carbohidratos en el medio aumentó. Así, el cultivo del sustrato con 3.0 g de carbohidratos, incluyendo los 16 días de incubación, duró 96.7 días, el de 4.5 g duró 96.8 días, el de 6.0 g duró 94.5 días y, por último, el del sustrato con 7.5 g de carbohidratos duró 84.4 días.

III.3.2. EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON NITRÓGENO.

Todos los sustratos de esta variable presentaron 100% de aparición de primordios (ver Tabla 24). En el sustrato con menor contenido de nitrógeno (0.25 g de nitrógeno) se observó un retardo en la aparición de primordios con respecto a los otros dos sustratos, ya que el tiempo transcurrido desde la inducción hasta la aparición de primordios fue de 11 días para el sustrato con 0.25 g de nitrógeno y de 5 días para los de 0.5 y 0.75 g. La abundancia de primordios para el primero fue muy buena, siendo excelente para los dos últimos. En el sustrato con 0.25 g de nitrógeno se presentaron únicamente 2 brotes con 100% de aparición de esporóforos, mientras que en los sustratos con 0.5 y 0.75 g de nitrógeno se presentaron 3 brotes con 100% de aparición de esporóforos en los 2 primeros y, 50% de aparición en el tercer brote. Los esporóforos empezaron a formarse 3 días después de la aparición de los primordios en el sustrato con 0.25 g de nitrógeno y 6 días después en los otros 2 sustratos.

El rendimiento total del sustrato con menor contenido de nitrógeno fue el más bajo del experimento (60.7 %) (ver Tabla 25), estando muy cercano al del sustrato con 3.0 g de carbohidratos. El sustrato con concentra-

TABLA 24 . FRUCTIFICACIÓN DE *P. ostreatus* EN ASERRÍN DE ENCINO CON DIFERENTES CONTENIDOS DE NITRÓGENO .

PARAMETRO	CONTENIDO DE NITRÓGENO (g/100 g DE SUSTRATO SECO)								
	0.25			0.50			0.75		
	NÚMERO DE BROTE								
	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°
A. PRIMORDIOS									
1. Aparición									
a) Porcentaje (%)	100			100			100		
b) Días	11.0±3.1			5.2±0.1			5.3±0.1		
2. Abundancia	4.3±0.6			4.7±0.6			5.0±0		
B. ESPORÓFOROS									
1. Aparición									
a) Porcentaje (%)	100	100	ND	100	100	50	100	100	50
b) Iniciación de la formación (días)	3.3±0.6	24.3±2.1	ND	6.3±0.4	25.2±4.9	16.3±1.5	6.3±1.5	32.3±3.1	19.0±2.0
2. No.de esporóforos por caja	2-3	1	ND	2-3	1-5	1-2	1-3	1-3	1
3. Desarrollo hasta la madurez (días)	5.0±0	7.5±1.5	ND	6.0±0.8	5.0±1.0	5.3±0.9	6.0±0	7.0±1.0	5.0±0.8
4. Morfología (cm)									
a) Altura total	4.3±1.0	5.0±1.3	ND	7.5±0.7	4.1±1.1	3.1±0.9	5.8±0.4	3.9±0.9	2.5±0.7
b) Ancho del pie	0.8±0.3	1.0±0.2	ND	1.3±0.4	0.9±0.2	0.8±0.3	0.9±0.1	0.9±0.3	0.5±0.1
c) Altura del pie	0.7±0.2	1.1±0.2	ND	1.3±0.4	1.0±0.2	0.8±0.2	0.9±0.1	1.1±0.5	0.6±0.1
d) Diámetro del píleo	4.5±0.6	5.0±0.8	ND	6.8±1.0	3.5±1.6	2.7±1.1	4.8±0.4	3.8±1.3	2.3±0.3
5. Esporóforos por caja (g)	11.1±1.9	6.9±2.1	ND	21.0±3.9	7.4±2.1	5.0±0.8	14.7±5.0	5.4±2.0	3.0±0.7

ND= No determinado

TABLA 26. RENDIMIENTO DE *P. ostreatus* EN ASERÍN DE ENCINO CON DIFERENTES
 CONTENIDOS DE NITRÓGENO .

PARÁMETRO	CONTENIDO DE NITRÓGENO (g/100g DE SUSTRATO SECO)			
	0.25	0.50	0.75	
1. PRIMER BROTE	a) Rendimiento acumulado (%)	37.1 ± 6.3	70.0 ± 13.0	49.8 ± 16.7
	b) Días después de la inducción	19.0 ± 3.1	17.6 ± 2.2	17.7 ± 1.1
2. SEGUNDO BROTE	a) Rendimiento acumulado (%)	60.7 ± 11.4	94.7 ± 14.2	67.6 ± 17.1
	b) Días después de la inducción	50.6 ± 5.1	47.8 ± 6.8	56.7 ± 5.2
3. TERCER BROTE	a) Rendimiento acumulado (%)	ND	111.5 ± 14.0	77.5 ± 17.8
	b) Días después de la inducción	ND	69.0 ± 6.9	80.8 ± 4.1

ción intermedia de nitrógeno (0.5 g de nitrógeno) presentó muy buen rendimiento acumulado de 111.5%, siendo el rendimiento más alto de todo el experimento después del sustrato con mayor contenido de carbohidratos (117.2%). El rendimiento total del sustrato con 0.75 g de nitrógeno fue de 77.5%. En el primer brote se obtuvo el mayor porcentaje de rendimiento en los 3 sustratos, bajando considerablemente en el segundo brote. En el tercer brote, que no se presentó en el sustrato con menor contenido de nitrógeno, el rendimiento bajó aún más en los sustratos con 0.5 y 0.75 g de nitrógeno. El rendimiento del primer brote del sustrato con 0.5 g de nitrógeno fue el más alto de todo el experimento (70%).

El tiempo total de cultivo, incluyendo el período de incubación (16 días), fue de 66.6 días en el sustrato complementado con 0.25 g de nitrógeno, aunque en esta variable sólo se presentaron 2 brotes. En el sustrato complementado con 0.50 g de nitrógeno el cultivo duró 85 días, mientras que en el complementado con 0.75 duró 96.8 días.

III.3.3. EFECTO DE LOS DIFERENTES PERÍODOS DE INCUBACIÓN.

En la Tabla 26 se observa que en el sustrato con 10 días de incubación los primordios tardaron 13 días en aparecer, mientras que en los de 13 y 16 días de incubación tardaron solamente 6 y 5 días, respectivamente. En los tres sustratos hubo 100% de aparición de primordios con excelente abundancia; asimismo en los 2 primeros brotes de los 3 sustratos hubo 100% de aparición de esporóforos y 50% de aparición en el tercer brote. La iniciación de la formación de los cuerpos fructíferos en los tres sus

TABLA 26. FRUCTIFICACIÓN DE *P. ostreatus* EN ASERRÍN DE ENCINO CON DIFERENTES PERÍODOS DE INCUBACIÓN

PARÁMETRO	CONTENIDO DEL PERÍODO DE INCUBACIÓN (DÍAS)								
	10			13			16		
	NÚMERO DE BROTE								
	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°
A. PRIMORDIOS									
1. Aparición									
a) Porcentaje (%)	100			100			100		
b) Días	13.0±3			6.0±0.7			5.3±0.5		
2. Abundancia	5.0±0			5.0±0			5.0±0		
B. ESPORÓFOROS									
1. Aparición									
a) Porcentaje (%)	100	100	50	100	100	50	100	100	50
b) Iniciación de la formación (días)	4.3±0.5	15.5±1.3	18.5±2.1	6.2±0.5	26.8±3.7	22.0±1.4	6.3±0.7	32.7±5.3	19.0±1.7
2. No. de esporóforos por caja	1-3	1-3	1-3	1-3	1-3	2	1-3	1-3	1
3. Desarrollo hasta la madurez (días)	5.2±0.8	5.0±0.8	6.5±0.5	4.3±0.5	7.2±0.7	7.0±2.0	6.0±1	7.3±0.5	5.0±1.0
4. Morfología (cm)									
a) Altura total	5.6±1.0	5.6±0.9	4.3±1.7	6.3±0.4	3.9±1.2	4.2±0.2	5.8±0.4	3.9±0.9	2.5±0.7
b) Ancho del pie	1.2±0.5	0.9±0.1	0.9±0.3	1.3±0.2	0.8±0.2	0.8±0.2	0.9±0.1	0.9±0.3	0.5±0.1
c) Altura del pie	1.2±0.2	1.5±0.8	1.2±0.2	1.0±0	1.0±0.6	1.5±0	0.9±0.1	1.1±0.5	0.6±0.1
d) Diámetro del píleo	5.0±0.7	4.3±0.9	3.6±1.7	5.8±0.4	4.5±1.6	3.4±0.5	4.8±0.4	3.8±1.3	2.3±0.3
5. Esporóforo por caja (g)	15.3±0.2	11.2±4.2	6.7±1.1	19.0±3.1	7.5±2.3	5.8±0.9	14.7±5.0	5.4±2.0	3.0±0.7

tratos en el primer brote fue a los 6 días después de la aparición de los primordios. Este lapso fue mayor en el segundo brote tardando en empezar a formarse los esporóforos 15 días en el sustrato con 10 días de incubación, 26 días en el de 13 días de incubación y 32 días en el de 16 días de incubación. En el tercer brote tardaron alrededor de 19 días en empezar a formarse los esporóforos.

El rendimiento total en los sustratos con 10 y 13 días de incubación fue de 110.5 y 107.5%, respectivamente, mientras que el del sustrato con 16 días de incubación fue de 77.5% (ver Tabla 27). El rendimiento del primer brote varió de 49.8 a 63% en los 3 sustratos. En el segundo brote de 18 a 34.7% y en el tercer brote de 8 a 22%, correspondiendo los valores más altos a los sustratos con 10 y 13 días de incubación en todos los casos.

III.3.4. FRUCTIFICACIÓN DE *P. ostreatus* EN ASERRÍN DE PINO.

En la Tabla 28 se muestran los resultados de la fructificación de *P. ostreatus* en aserrín de pino, observándose 100% de aparición de primordios, los cuales aparecieron muy abundantemente 11 días después de la inducción. También se observa como hubo 100% de aparición de esporóforos en el primer y segundo brotes, mientras que en el tercer brote bajó a 23% de aparición. Los esporóforos empezaron a formarse a los 5 días en el primer brote, y 18 y 22 días en el segundo y tercer brote, respectivamente.

TABLA 27 . RENDIMIENTO DE *P. ostreatus* EN ASERRÍN DE ENCINO CON DIFERENTES PERIODOS DE INCUBACIÓN

PARÁMETRO	DURACIÓN DEL PERIODO DE INCUBACIÓN (DÍAS)		
	10	13	16
1. PRIMER BROTE			
a) Rendimiento acumulado (%)	51.0 ± 17.2	63.2 ± 10.1	49.8 ± 16.7
b) Días después de la inducción	22.3 ± 7.8	16.5 ± 1.6	17.7 ± 1.1
2. SEGUNDO BROTE			
a) Rendimiento acumulado (%)	88.2 ± 7.7	88.3 ± 17.5	67.6 ± 17.1
b) Días después de la inducción	42.3 ± 7.0	50.3 ± 9.1	56.7 ± 5.2
3. TERCER BROTE			
a) Rendimiento acumulado (%)	110.5 ± 4.7	107.5 ± 16.2	77.5 ± 17.8
b) Días después de la inducción	66.6 ± 5.5	79.3 ± 5.5	80.8 ± 4.1

TABLA 28 . FRUCTIFICACION DE *P. ostryaeatus* EN ASERRIN DE PINO COMPLEMENTADO CON UREA Y MELAZA

PARAMETRO	NÚMERO DE BROTOS		
	1º	2º	3º
A. PRIMORDIOS			
1. Aparición			
a) Porcentaje (%)	100	100	23
b) Inicio de la formación (días)	5.2 ± 0.8	18.5 ± 2.1	22.0 ± 1.4
2. No. de esporoforos por caja	2-3	2-3	1
3. Desarrollo hasta la madurez (días)	5.3 ± 0.6	6.0 ± 1.0	8.0 ± 1.0
4. Morfología (cm)			
a) Altura total	6.3 ± 3.8	4.3 ± 1.3	4.2 ± 1.4
b) Ancho del pie	1.0 ± 0.8	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.2
c) Altura del pie	2.0 ± 0.7	1.8 ± 0.3	1.2 ± 0.3
d) Diámetro del pie	4.8 ± 3.2	4.3 ± 1.3	3.9 ± 0.7
5. Esporoforos por caja (g)	12.1 ± 4.1	7.7 ± 2.9	4.1 ± 1.6

El rendimiento del primer brote fue de 40.3%, el del segundo de 25.7% y el del tercero de 13.6% con un rendimiento total de 79.6% (ver Tabla 29).

TABLA 29 . RENDIMIENTO DE *P. ostreatus* EN ASERRÍN DE PINO COMPLEMENTADO CON UREA Y MELAZA

PARÁMETRO	
1. PRIMER BROTE	
a) Rendimiento acumulado (%)	40.3 ± 13.7
b) Días después de la inducción	21.5 ± 3.7
2. SEGUNDO BROTE	
a) Rendimiento acumulado (%)	66.0 ± 10.6
b) Días después de la inducción	45.5 ± 7.0
3. TERCER BROTE	
a) Rendimiento acumulado (%)	79.6 ± 14.9
b) Días después de la inducción	68.2 ± 7.7

IV. DISCUSIÓN.

El objetivo principal del presente trabajo fue encontrar las condiciones adecuadas para el desarrollo y fructificación de *P. ostreatus* sobre aserrín de encino.

Uno de los motivos por los que se seleccionó el aserrín de encino fue porque es un buen representante de los materiales lignocelulósicos de desecho forestal.

IV.1. EXPERIMENTO PRELIMINAR DEL CULTIVO DE *P. ostreatus* SOBRE ASERRÍN DE ENCINO.

En el experimento preliminar se corroboró la capacidad de *P. ostreatus* para desarrollarse en aserrín de encino. Los niveles de complementación y el tipo de complementos empleados en este experimento fueron seleccionados de acuerdo a la información bibliográfica. En el cultivo comercial de *P. ostreatus* los sustratos han sido generalmente preparados utilizando olotes y rastrojo de maíz y/o paja de trigo como material básico, el cual ha sido complementado con materiales de alto contenido en nitrógeno y carbohidratos de fácil degradación. No se ha realizado un consenso sobre dicha complementación. Por ello, no ha sido posible establecer el nivel más adecuado de complementación de carbohidratos para el desarrollo de este hongo, además de que no se ha podido disponer de resultados comparativos a escala de cultivo comercial de *P. ostreatus* que permitieran concluir algo al respecto. De hecho, en la práctica comercial las cantidades de

complementos a utilizar han sido seleccionadas considerando principalmente la concentración final de nitrógeno en el sustrato, normalmente ajustada al 1% en base seca, sin tomar en cuenta el nivel de carbohidratos resultante. El micelio de *P. ostreatus* ha sido cultivado en medio líquido por diferentes autores, utilizando diversos azúcares como fuente de carbono. En la mayor parte de estos estudios, la glucosa ha resultado ser una de las mejores fuentes de carbono, con la que ha sido posible obtener los mejores rendimientos. Hashimoto y Takashi (1976), Voltz (1972), Rypacek (1977) y Hong (1978), entre otros, han utilizado medios líquidos con niveles de glucosa entre 1 y 2% (ver Tabla 30). Para el experimento preliminar se decidió complementar el sustrato de aserrín con una concentración mínima de carbohidratos que permitiera un buen crecimiento, por lo que se empleó glucosa a un nivel de 2 g por cada 100 g de sustrato seco.

En relación con la fuente de nitrógeno más adecuada, Voltz (1972) y Eger (1970a) realizaron pruebas en las que se encontró que la urea permitió el mejor crecimiento vegetativo de *P. ostreatus*, en comparación con otros complementos nitrogenados (ver Tabla 31). La concentración de nitrógeno seleccionada para el experimento preliminar fue de 1 g de nitrógeno por cada 100 g de sustrato seco, ya que en la mayoría de los sustratos comerciales el nitrógeno se ha ajustado a este nivel (Imbernon, 1974; Hashimoto y Takashi, 1974).

En gran parte de los experimentos a nivel laboratorio, se ha encontrado que para un óptimo crecimiento y fructificación de *P. ostreatus*, el pH

TABLA 30 . CRECIMIENTO DE *P. ostreatus* CON DIFERENTES FUENTES DE CARBOHIDRATOS
(In Chang y Quimio, 1982).

AUTOR	Hashimoto y Takahashi (1976)		Voltz (1972)	Hong (1978)	Rypaceck (1977)
	1%	2%	2%	1%	2%
Control	9.5 mg*	9.5mg*	27g	46.7 mg	ND
Glucosa	84.0	167.2	31	200.3	24.0 mg
Manosa	103.1	181.5	33	177.4	34.4
Xilosa	ND	52.5	37	131.2	10.4
Arabinosa	ND	35.5	38	100.9	8.1
Galactosa	ND	97.3	31	182.7	42.8
Fructosa	81.3	104.7	24	195.6	ND
Sacarosa	77.3	119.0	30	185.2	ND
Almidón	105.8	175.8	44	196.6	ND
Maltosa	79.6	144.0	32	203.9	ND

ND- No determinado

*No se especifica el cálculo de rendimiento; se supone que representa el peso del micelio cosechado en el volumen total del medio líquido utilizado.

TABLA 31. CRECIMIENTO DE *P. ostreatus* CON DIFERENTES FUENTES DE NITRÓGENO (In Chang y Quimio, 1982)

AUTOR	Voltz (1972)	Eger (1970)
CONTENIDO DE NITRÓGENO	0.05 %	150 μ M
Control	21	ND
Asparagina	34	50 %
Alanina	87	109
Arginina	ND	87
Peptona	84	ND
Urea	91	100

ND- No determinado

* No se especifica el cálculo del rendimiento, puede inferirse como: $\frac{\text{micelio cosechado}}{\text{vol. total de medio de cultivo utilizado}}$

del sustrato ha sido un parámetro de suma importancia. Se ha recomendado que el pH inicial se encuentre en un rango de 6.0 a 6.5 y que se añada CaCO_3 en pequeñas cantidades para contrarrestar la tendencia que muestra el hongo a disminuir el pH del medio durante su desarrollo. Imbernon (1974) ha reportado que en el cultivo de *P. ostreatus* sobre corteza de encino no hubo influencia del pH sobre el crecimiento micelial dentro del intervalo de 5 a 7. Sin embargo, en el experimento preliminar y en los subsecuentes, el sustrato se ajustó a un pH inicial de 6.5 aproximadamente. Este pH varió ligeramente según el tratamiento térmico al que fue sometido el sustrato. Dado que el pH del aserrín de encino es de 5.5, fue necesario agregar CaCO_3 al sustrato, en una concentración de 1 g por cada 100 g de sustrato seco, con el objeto de elevar el pH del aserrín y amortiguar la caída del pH durante el crecimiento micelial.

Los resultados del experimento inicial corroboraron la capacidad de *P. ostreatus* para desarrollarse sobre aserrín de encino. Asimismo indicaron que se requirió complementar el sustrato con nitrógeno y carbohidratos para mejorar el desarrollo del hongo; la urea y la glucosa como fuentes de complementación favorecieron marcadamente su crecimiento. Por último, se observó que el desarrollo del micelio provocó una acidificación del medio, aunque el nivel de CaCO_3 añadido redujo este efecto al mínimo.

IV.2. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CULTIVO DE *P. ostreatus* SOBRE ASERRÍN DE ENCINO EN TUBOS DE CULTIVO.

Considerando esta información como base, se realizó otro experimento para

determinar las condiciones de cultivo más adecuadas para el desarrollo vegetativo y la formación de primordios por *P. ostreatus* en tubos de cultivo. El sustrato de aserrín de encino en esta etapa fue complementado con urea y melaza, esta última en sustitución de la glucosa.

La melaza de caña ha sido principalmente una fuente de carbohidratos, con un contenido aproximado de 55% de azúcares y 2.8% de proteínas de poco valor nutritivo (Flores Méndez, 1980). En México, la melaza sale de los ingenios con la siguiente composición:

	<u>%</u>
Grados Brix	86 a 93
Sólidos por desecación	77 a 84
Sacarosa	25 a 40
Azúcares reductores	12 a 35
Cenizas	7 a 15
Humedad	17 a 25

Se decidió emplear melaza de caña por ser un subproducto industrial de bajo costo, alta disponibilidad y gran contenido de azúcares. Por ello, su uso presentaría características favorables para la complementación del sustrato en el cultivo comercial de *P. ostreatus*. La melaza ha sido empleada desde hace tiempo como complemento en sustratos para la producción de champiñones (*Agaricus bisporus*).

IV.2.1. EFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO DEL SUSTRATO.

En este experimento se encontró que el tratamiento térmico del sustrato

fue indispensable para evitar la contaminación del mismo. En la Figura 3 se observa cómo la contaminación del sustrato fue mayor conforme el tratamiento térmico fue menos severo. Al ir aumentando el tiempo de pasteurización (tratamientos 3 y 4) la contaminación del sustrato se fue reduciendo. Así, el sustrato pasteurizado únicamente durante 10 minutos (tratamiento 5) y el sustrato sin esterilizar (tratamiento 6) sufrieron una contaminación del 100%. La contaminación en los otros sustratos pasteurizados (tratamientos 3 y 4) fue del 66%, sin embargo, más adelante se verá que en el 34% restante se presentó un buen desarrollo vegetativo. Por ello, la pasteurización del sustrato abrió la posibilidad de emplear este tratamiento térmico en los sustratos comerciales. Esto representaría una ventaja económica sobre la esterilización del sustrato en la que el gasto de energía es mayor. Con respecto a los tratamientos 1 y 2 se observa en la misma figura que no hubo contaminación del sustrato. En la Figura 4 se muestra cómo no se presentó una preferencia de *P. ostreatus* para desarrollarse en un sustrato con algún tratamiento térmico determinado. Más aún, se observó un incremento bastante uniforme durante los 18 días de incubación, aunque se notó un incremento ligeramente menor en el sustrato con tratamiento térmico 4, y ligeramente mayor en el del tratamiento térmico 3. Únicamente en los sustratos con tratamientos 5 y 6 se inhibió totalmente su desarrollo, el primero a los 3 días de incubación y el segundo no presentó crecimiento alguno. Lo anterior estuvo relacionado directamente a la contaminación del sustrato ya que en todos los tubos que permanecieron sin contaminación se presentó buen desarrollo vegetativo.

DESARROLLO VEGETATIVO
(LONGITUD ALCANZADA (cm))

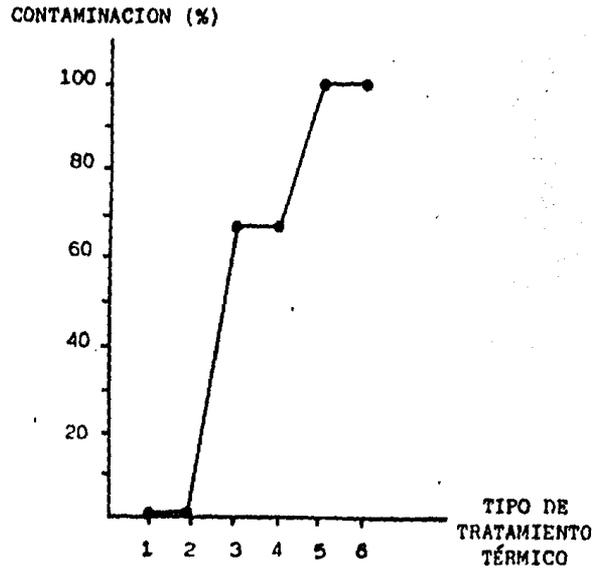


FIGURA 3. Influencia del tratamiento térmico sobre la contaminación del sustrato.

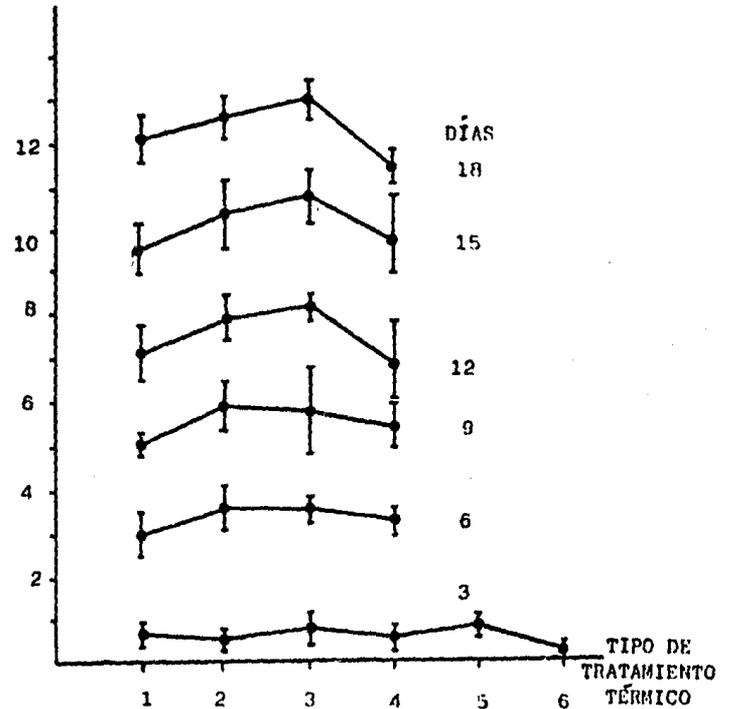


FIGURA 4. Influencia del tratamiento térmico sobre el desarrollo vegetativo de P. ostreatus.

1. ESTERILIZACIÓN
2. ESTERILIZACIÓN PARCIAL

3. PASTEURIZACIÓN 30 min.
4. PASTEURIZACIÓN 20 min.

5. PASTEURIZACIÓN 10 min.
6. SIN TRATAMIENTO TÉRMICO

En la Figura 5 se muestra la influencia del tratamiento térmico sobre la velocidad de crecimiento de *P. ostreatus*. Aquí se observa cómo el hongo empezó a desarrollarse lentamente en los 3 primeros días de crecimiento. Enseguida se notó un gran incremento en la velocidad, principalmente de los 3 a los 6 días de incubación. En este lapso *P. ostreatus* alcanzó su máxima velocidad en los sustratos con tratamientos 2, 3 y 4. En el sustrato con tratamiento 1 (esterilización), el aumento de la velocidad fue menor, pero permaneció constante durante toda la incubación. Al finalizar este período, la máxima velocidad de crecimiento fue alcanzada en dicho sustrato. Se observa también que de los 6 a los 12 días de incubación, la velocidad de crecimiento bajó bruscamente en los sustratos pasteurizados y en el esterilizado parcialmente (tratamientos 2, 3 y 4). En el período siguiente, de los 12 a los 15 días, se presentó nuevamente un aumento de la velocidad de crecimiento en todos los sustratos. Cabe recordar que precisamente de los 12 a los 18 días los sustratos se regaron diariamente, lo que pudo influir en la recuperación de la velocidad de crecimiento. En los últimos 3 días de incubación, se observó que en el sustrato esterilizado (tratamiento 1) continuó aumentando la velocidad de crecimiento. Sin embargo, en los sustratos pasteurizados y en el esterilizado parcialmente, se presentó nuevamente un descenso de la velocidad, bajando ligeramente en el sustrato con tratamiento 2, mientras que el descenso en los sustratos 3 y 4 fue muy marcado. La oscilación presente en estos 3 sustratos mostró primeramente una cierta estabilización después de alcanzar la velocidad máxima a los 6 días. Dicha oscilación pudo deberse a la falta de humedad en el sustrato.

VELOCIDAD DE CRECIMIENTO
(cm/DÍA)

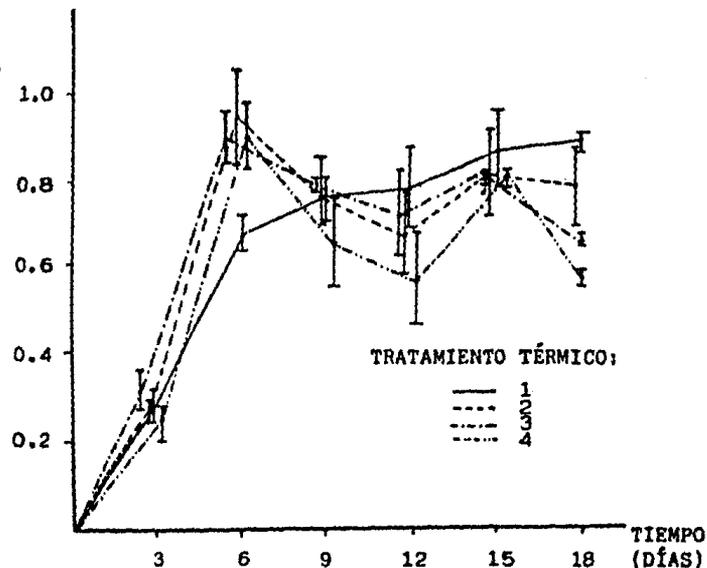


FIGURA 5. Velocidad de crecimiento de *P. ostreatus* en sustratos con diferente tratamiento térmico.

- | | | |
|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| 1. ESTERILIZACIÓN | 3. PASTEURIZACIÓN 30 min. | 5. PASTEURIZACIÓN 10 min. |
| 2. ESTERILIZACIÓN PARCIAL | 4. PASTEURIZACIÓN 20 min. | 6. SIN TRATAMIENTO TÉRMICO |

APARICIÓN DE PRIMORDIOS
(%)

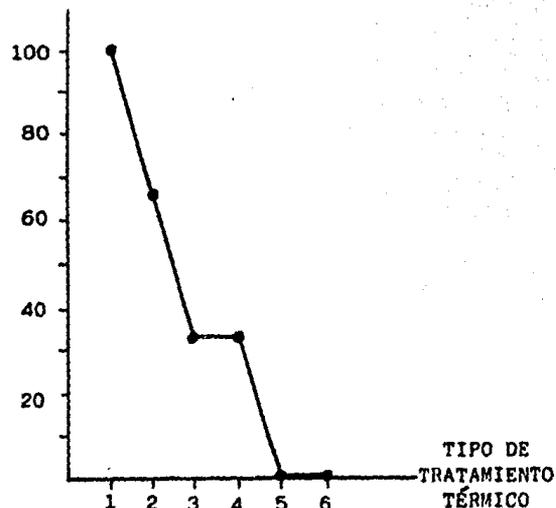


FIGURA 6. Influencia del tratamiento térmico del sustrato sobre la aparición de primordios de *P. ostreatus*.

En la Figura 6 se muestra claramente una relación directa entre la aparición de primordios y el tratamiento térmico. Es decir, conforme el tra tamiento térmico del sustrato fue más severo hubo mayor porcentaje de aparición de primordios. En los sustratos comerciales convendría emplear el tratamiento con el que en última instancia se obtuviera el mejor rendimiento al menor costo posible. En relación al aspecto económico, los tratamientos que más se adecuarían a este objetivo serían los de pasteurización de 20 y 30 minutos, o el de esterilización parcial, ya que representan una ventaja económica sobre la esterilización total del sustrato. En cuanto a la contaminación que se presentó en los sustratos pasteurizados, que repercutió en el porcentaje de aparición de primordios, es muy probable que al cultivar *P. ostreatus* sobre aserrín de encino con mayor porcentaje de inóculo y en recipientes de mayor capacidad, dicho hongo sea capaz de competir con otros microorganismos e invadir exitosamente el sustrato. Por ello se requiere de una nueva experimentación en la que se encuentre el tratamiento y las condiciones de cultivo adecuados para obtener el equilibrio entre costo y rendimiento. En el experimento siguien te, en el que se cuantificó el rendimiento de *P. ostreatus*, se decidió esterilizar el sustrato, ya que con este tratamiento se presentó buen crecimiento micelial y 100% de aparición de primordios.

IV.2.2. EFECTO DE LA HUMEDAD DEL SUSTRATO.

La máxima humedad en el sustrato fue indispensable tanto para el correcto desarrollo vegetativo como para la aparición de primordios de *P. ostreatus*. Durante la incubación se observó cómo se resecaba el sustrato al

ir creciendo el micelio descendientemente por el tubo. Esto se debió a que para su desarrollo necesitó absorber gran cantidad de agua. Esta resequedad se vio más acentuada en los sustratos con menor porcentaje de humedad, provocando en general un crecimiento micelial más lento en el sustrato con 63% que en los demás sustratos de esta variable (Figura 7). Después de 15 días de incubación, se presentó esta misma resequedad en todos los tubos del experimento. Se decidió entonces regarlos diariamente con agua estéril para impedir que afectara el crecimiento y se pudiera continuar observando la aparición de los primordios. Los sustratos con 63 y 66% de humedad se empezaron a regar desde los 12 días de incubación. El de 69% se regó a partir de los 15 días. Posiblemente la cantidad de sustrato contenida en los tubos, 32 g de sustrato húmedo, fue escasa en relación al gran desarrollo vegetativo que presentó el hongo. Por ello, el agua contenida en el medio se consumía rápidamente sin mantener el contenido de humedad necesario para el desarrollo normal del micelio. Por tanto, al aumentar la cantidad de sustrato en el siguiente experimento, 100 g de sustrato húmedo por caja, se eliminó este problema durante la incubación. Sin embargo, fue necesario regar las cajas durante la fructificación.

En la Figura 7 también se observa cómo durante los primeros días de incubación, a mayor humedad en el sustrato el incremento del desarrollo fue mayor. Sin embargo, dicho incremento promedio se igualó en los 3 sustratos, de los 12 a los 18 días de incubación. Esto pudiera explicarse por el hecho mencionado de que los sustratos se regaron diariamente en el último lapso de la incubación. Por tanto, a partir de di-

DESARROLLO VEGETATIVO
(LONGITUD ALCANZADA (cm))

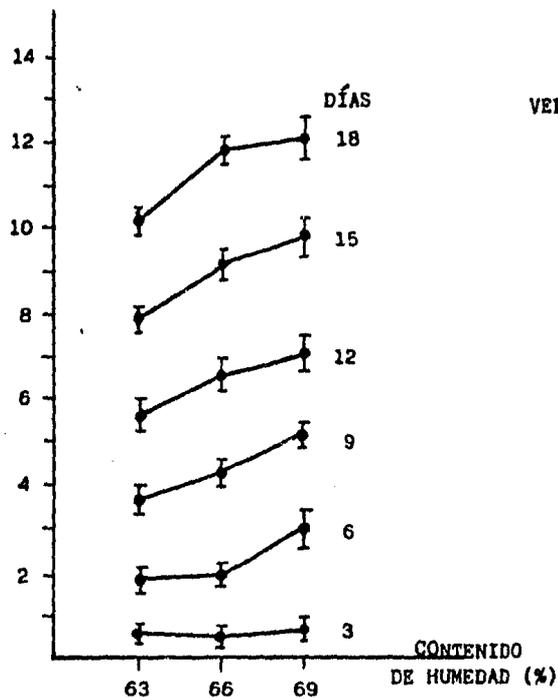


FIGURA 7. Influencia del contenido de humedad en el sustrato sobre el desarrollo vegetativo de P. ostreatus.

VELOCIDAD DE CRECIMIENTO
(cm/DÍA)

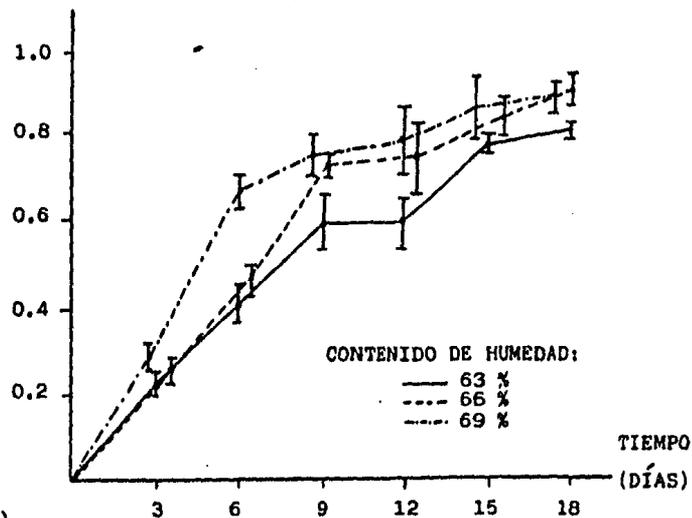


FIGURA 8. Velocidad de crecimiento de P. ostreatus en sustratos con diferente contenido de humedad.

cho período la humedad del sustrato fue la misma en todos los tubos de esta variable, igualándose las condiciones de cultivo en los 3 sustratos estudiados. Por otro lado, en la misma figura puede observarse cómo en las 3 variables el incremento del desarrollo vegetativo fue aumentando constantemente durante toda la incubación. Esto se muestra con claridad en la Figura 8, en donde se observa cómo la velocidad de crecimiento siempre fue en aumento. Es interesante comparar el patrón de desarrollo de los sustratos con 63 y 66% de humedad con el del sustrato control (69% de humedad) y observar cómo presentaron las mismas características. Es decir, un incremento constante del desarrollo, contrario al de las otras variables del tratamiento térmico que se caracterizaron por presentar oscilaciones en el crecimiento durante toda la incubación. A pesar de este hecho, en el sustrato con 63% de humedad, el incremento de la velocidad de los 3 a los 12 días de incubación fue alrededor del 25% menor que el de los otros 2 sustratos. Esto repercutió lógicamente en el menor desarrollo vegetativo mencionado.

La aparición de primordios se vio favorecida por la correcta humedad del sustrato. En los sustratos con mayor contenido de humedad se presentó el 100% de aparición de primordios (Figura 9). Cabe recordar que los sustratos continuaron regándose durante la fructificación. Se observó una buena abundancia de primordios en todos los sustratos de esta variable (Figura 10). Este último parámetro no refleja en realidad la influencia del tratamiento del sustrato, ya que pudiera presentarse el caso de una gran abundancia de primordios pequeños y una abundancia regular de primordios grandes, que en la fructificación dieran el mismo rendimien-

APARICIÓN DE PRIMORDIOS (%)

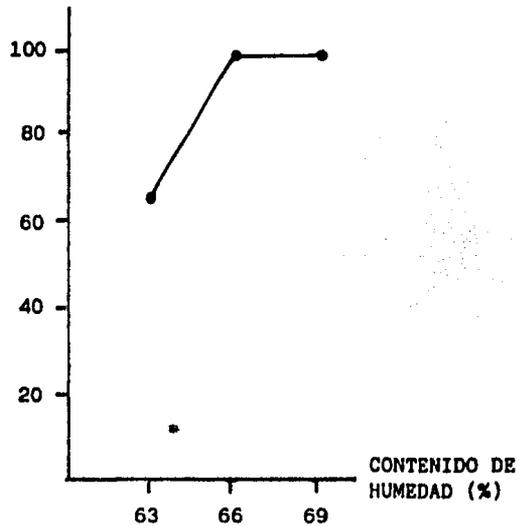


FIGURA 9. Influencia del contenido de humedad en el sustrato sobre la aparición de primordios de P. ostreatus.

ABUNDANCIA DE PRIMORDIOS

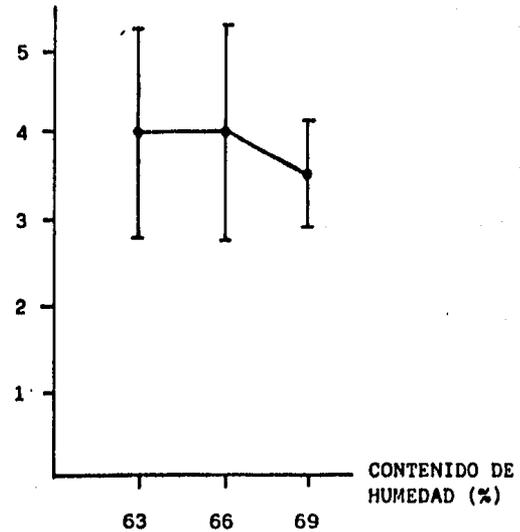


FIGURA 10. Abundancia de primordios de P. ostreatus en sustratos con diferente contenido de humedad.

to. Por tanto, el porcentaje de aparición de primordios se consideró más adecuado que la abundancia de primordios para concluir acerca de la influencia del tratamiento del sustrato, aunado al análisis de los demás parámetros de crecimiento.

IV.2.3. EFECTO DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA DEL ASERRÍN.

En relación con el tamaño de partícula del aserrín, no se observó influencia marcada sobre el crecimiento y fructificación de *P. ostreatus*. En la Figura 11 se muestra cómo el desarrollo vegetativo tuvo un incremento regular en los 9 primeros días de incubación. De los 9 a los 12 días se percibió un ligero aumento del desarrollo en los sustratos con tamaño de partícula grueso y mediano. En los últimos 6 días el incremento promedio volvió a ser igual en los 3 sustratos.

La Figura 12 muestra más claramente cómo, en ningún momento de la incubación, el tamaño de partícula influyó sobre la velocidad de crecimiento. En ella se observa que el incremento de la velocidad fue constantemente en aumento durante los 18 días de incubación. Únicamente se presentaron ligeros descensos en los sustratos con tamaño de partícula 1 y 2. La interposición de las curvas de crecimiento refleja la regularidad del comportamiento de *P. ostreatus* en los sustratos con diferente tamaño de partícula. Dichas curvas presentaron nuevamente el mismo patrón de crecimiento correspondiente al del sustrato control.

La Figura 13 muestra que la aparición de primordios fue de 100% para

DESARROLLO VEGETATIVO
(LONGITUD ALCANZADA (cm))

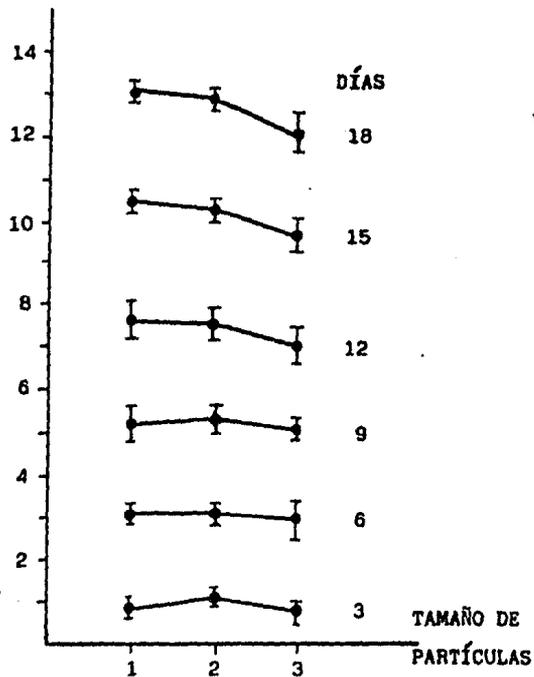


FIGURA 11. Influencia del tamaño de partícula sobre el desarrollo vegetativo de P. ostreatus.

VELOCIDAD DE CRECIMIENTO
(cm/DÍA)

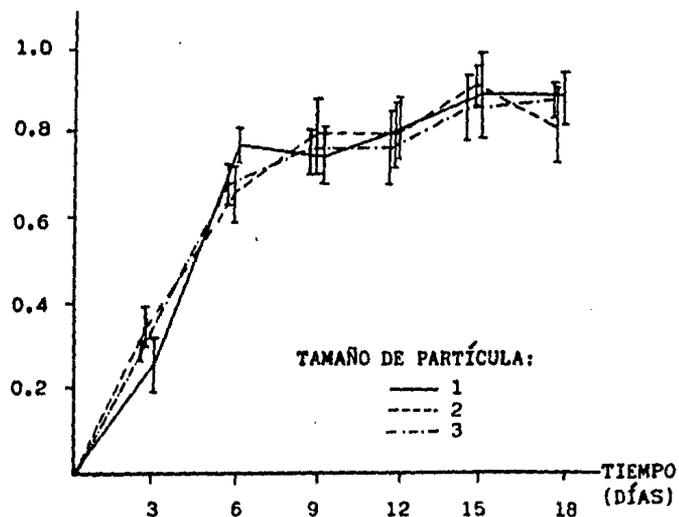


FIGURA 12. Velocidad de crecimiento de P. ostreatus en sustratos con diferente tamaño de partícula.

1. GRUESO
2. MEDIANO
3. MIXTO

todos los sustratos, presentándose mayor abundancia en el sustrato, con tamaño de partícula grueso (Figura 14). Con base en estos resultados, no se consideró que fuera necesario eliminar las partículas finas del sustrato. Se sugiere realizar pruebas con aserrín tal y como llega del aserradero.

IV.2.4. EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON CARBOHIDRATOS.

La variación del contenido de carbohidratos en el sustrato (de 1.0 a 2.5 g) no afectó marcadamente el desarrollo vegetativo de *P. ostreatus*. En la Figura 15 se puede observar cómo en cada período de crecimiento el desarrollo micelial fue prácticamente constante para todos los sustratos. Sin embargo, puede apreciarse una disminución del crecimiento micelial en los sustratos con menor contenido de carbohidratos y en el de mayor concentración de los mismos, de los 9 a los 12 días. El incremento del desarrollo vegetativo fue constante en el sustrato complementado con 2.0 g de carbohidratos. Los descensos en el incremento del desarrollo mencionados se reflejan más detalladamente en la Figura 16, en la que se muestra la velocidad de crecimiento durante la incubación. Considerando la velocidad de crecimiento promedio, se observa un patrón oscilatorio en los sustratos que presentaron descensos en el desarrollo vegetativo mencionado. Sin embargo, dicho patrón de crecimiento no difirió marcadamente del de 2.0 g de carbohidratos considerado como con-

APARICIÓN DE PRIMORDIOS
(%)

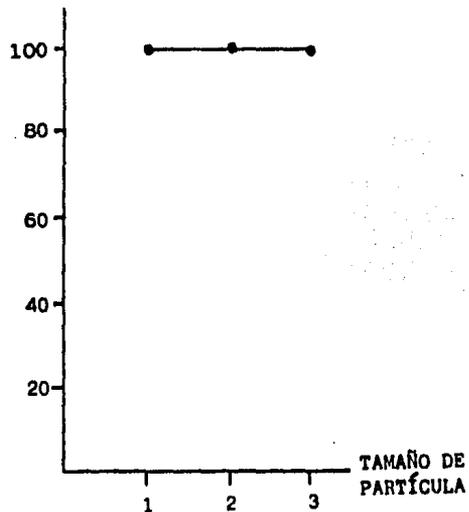


FIGURA 13. Influencia del tamaño de partícula sobre aparición de primordios de P. ostreatus.

ABUNDANCIA DE PRIMORDIOS

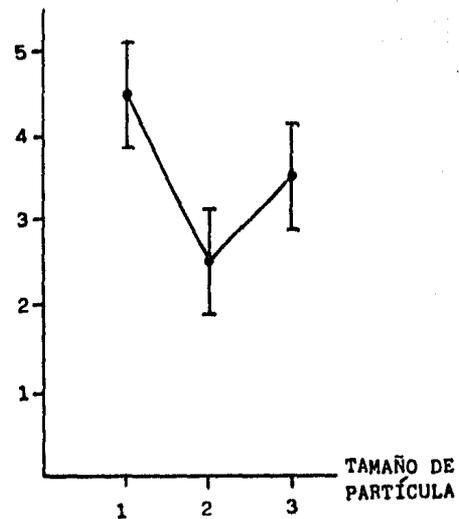


FIGURA 14. Abundancia de primordios de P. ostreatus en sustratos con diferente tamaño de partícula.

1. GRUESO
2. MEDIANO
3. MIXTO

DESARROLLO VEGETATIVO
(LONGITUD ALCANZADA (cm))

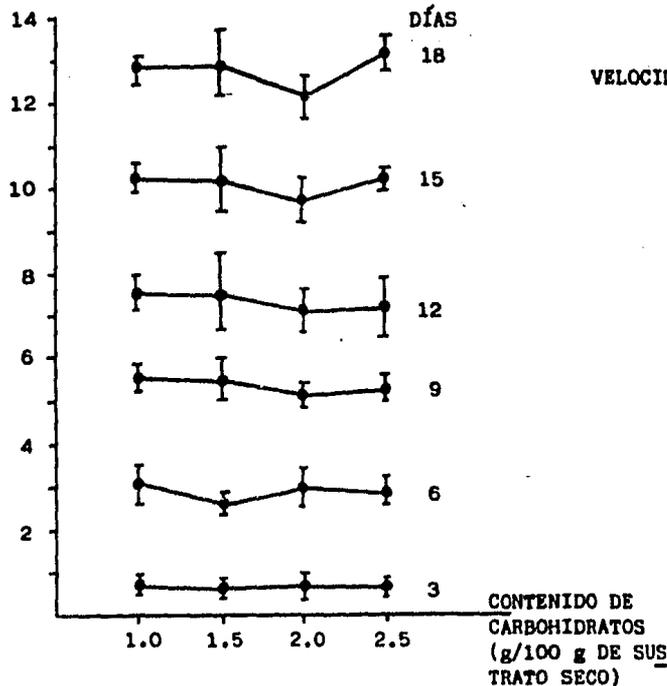


FIGURA 15. Influencia del contenido de carbohidratos en el sustrato sobre el desarrollo vegetativo de *P. ostreatus*.

VELOCIDAD DE CRECIMIENTO
(cm/DÍA)

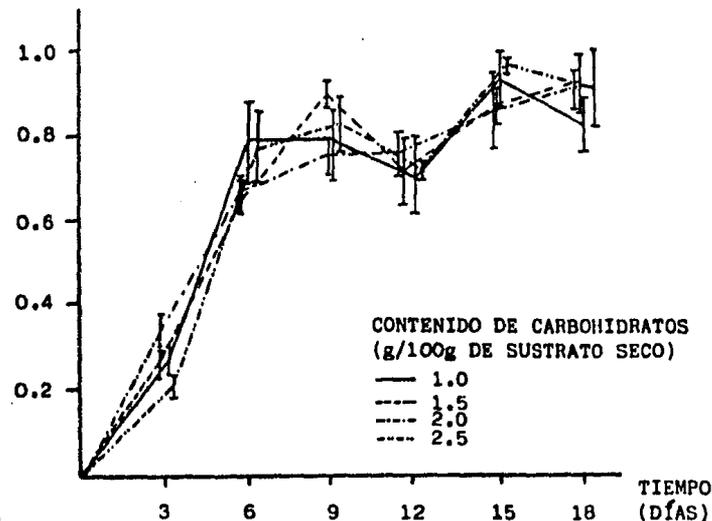


FIGURA 16. Velocidad de crecimiento de *P. ostreatus* en sustratos con diferente contenido de carbohidratos.

trol. No fue posible concluir acerca de las causas precisas de las oscilaciones en el desarrollo. Sin embargo, como ya se mencionó en otra parte de esta discusión, puede enunciarse que la falta de humedad en el sustrato pudo haber influido en dicho fenómeno. Este desarrollo oscilatorio no reflejó en ningún momento una disminución en la abundancia micelial. La presencia de contaminación fue observada en los tubos donde se inhibió el desarrollo vegetativo. Al finalizar el período de incubación, todos los sustratos de esta variable presentaron muy buen crecimiento micelial. En relación a la aparición de primordios se observó una relación directa, es decir, a mayor contenido de carbohidratos en el sustrato se obtuvo mayor porcentaje de aparición (Figura 17).

Únicamente con el nivel más alto se presentó 100% de aparición de primordios y esporóforos. Los sustratos con mayor contenido de carbohidratos presentaron mayor abundancia de primordios (Figura 18). La melaza como fuente de carbohidratos resultó favorable para el desarrollo y fructificación de *P. ostreatus*. En este experimento no pudo definirse con exactitud qué concentración de carbohidratos favoreció óptimamente el desarrollo y formación de primordios por *P. ostreatus*, ya que el valor seleccionado correspondió a la concentración más alta de carbohidratos, impidiendo inferirse el comportamiento del hongo en concentraciones vecinas no experimentadas. Por ello, se decidió en el experimento en cajas de plástico probar el desarrollo del hongo en concentraciones mayores a 2.5 g de carbohidratos.

APARICIÓN DE PRIMORDIOS (%)

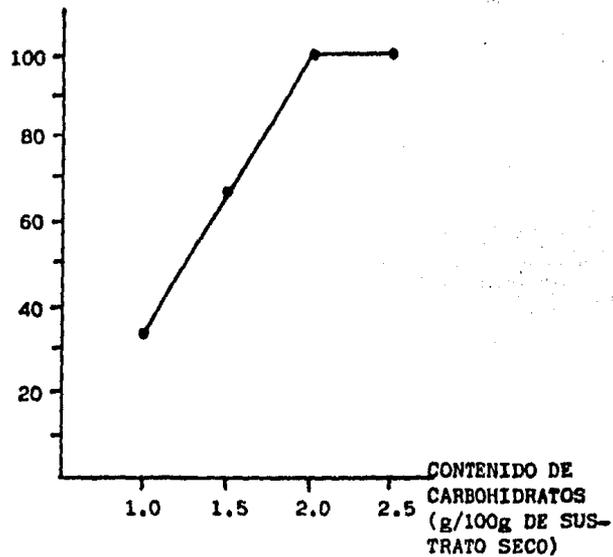


FIGURA 17. Influencia del contenido de carbohidratos en el sustrato sobre la aparición de primordios de P. ostreatus.

ABUNDANCIA DE PRIMORDIOS

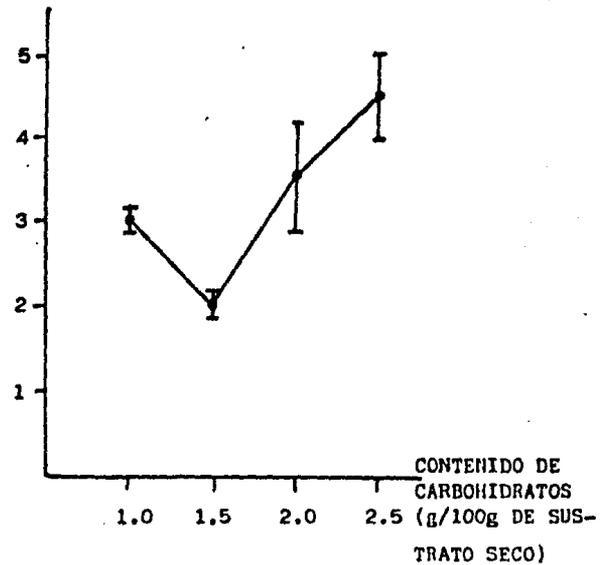


FIGURA 18. Abundancia de primordios de P. ostreatus en sustratos con diferente contenido de carbohidratos.

IV.2.5. EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON NITRÓGENO.

En lo relacionado a la tasa de nitrógeno, los resultados representados en las Figuras 19-22 apoyan la información de la bibliografía de que altas concentraciones de nitrógeno en el medio han sido desfavorables para el desarrollo y fructificación de *P. ostreatus*. En dichas figuras se muestra claramente cómo el desarrollo vegetativo, la velocidad de crecimiento, el porcentaje de aparición de primordios, e inclusive la abundancia de primordios, fueron disminuyendo conforme la concentración de nitrógeno en el sustrato aumentaba. Así, los niveles de nitrógeno de 1.25 y 1.5 g resultaron desfavorables, mientras que con las concentraciones de 0.75 g y 1.0 g se favoreció la aparición de primordios, y muy ampliamente el desarrollo vegetativo. Se decidió entonces seleccionar el valor de 0.75 g de nitrógeno correspondiente al nivel más bajo experimentado, como nivel máximo para el siguiente experimento.

IV.2.6. ASPECTOS COMUNES.

En todas las variables de este experimento se presentaron los siguientes aspectos comunes:

El pH inicial del sustrato disminuyó una unidad aproximadamente, es decir, de un pH inicial promedio de 6.5, descendió aproximadamente a 5.5 al término del experimento.

En general, la abundancia micelial fue buena y uniforme en todas las va-

DESARROLLO VEGETATIVO
(LONGITUD ALCANZADA (cm))

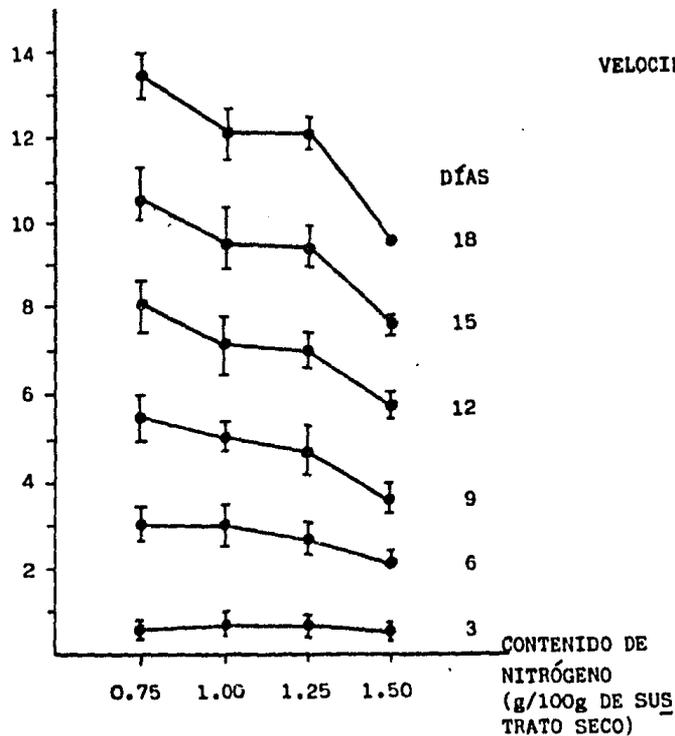


FIGURA 19. Influencia del contenido de nitrógeno en el sustrato sobre el desarrollo vegetativo de P. ostreatus.

VELOCIDAD DE CRECIMIENTO
(cm/DÍA)

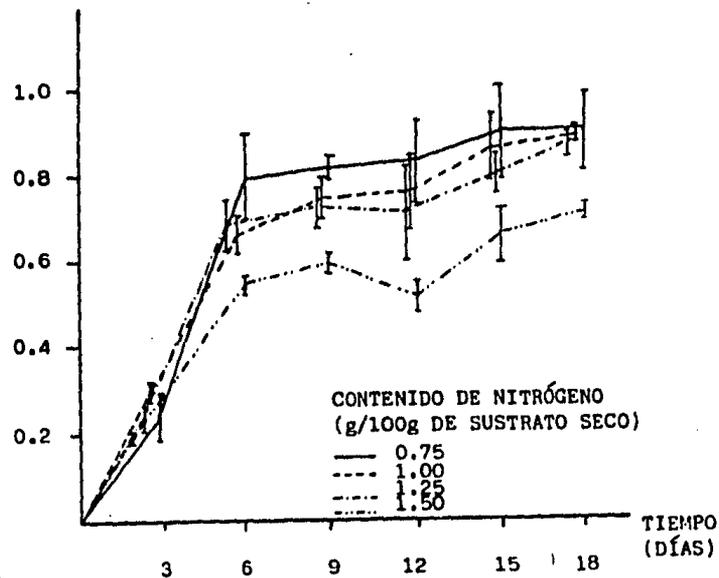


FIGURA 20. Velocidad de crecimiento de P. ostreatus en los sustratos con diferente contenido de nitrógeno.

APARICIÓN DE PRIMORDIOS (%)

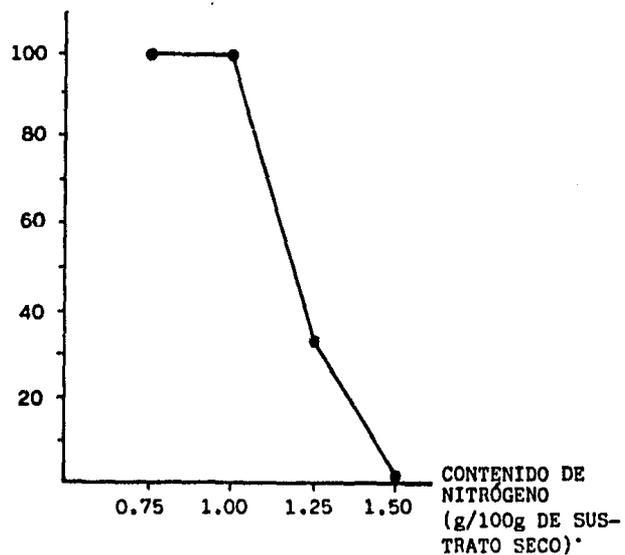


FIGURA 21. Influencia del contenido de nitrógeno en el sustrato sobre la aparición de primordios de P. ostreatus.

ABUNDANCIA DE PRIMORDIOS

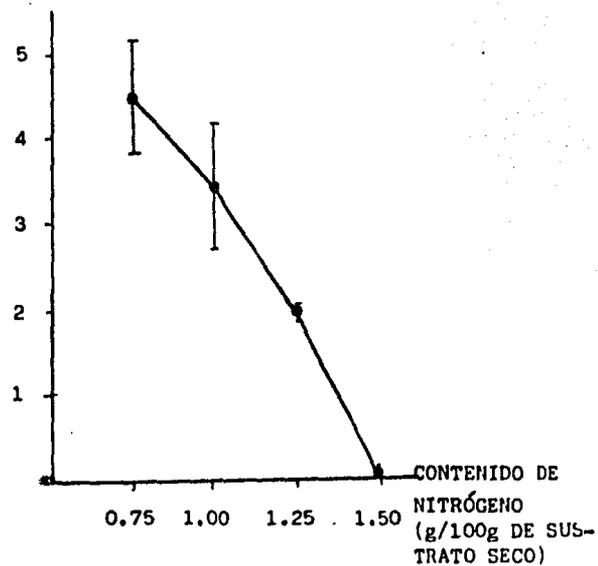


FIGURA 22. Abundancia de primordios de P. ostreatus en sustratos con diferentes contenidos de nitrógeno.

riables; únicamente en el sustrato con menor contenido de nitrógeno (0.75 g /100 g de sustrato seco) se observó una sobreproducción vegetativa, formándose una masa micelial compacta completamente blanca, sin exhibirse restos de sustrato en la periferia del tubo.

Imbernon (1974) ha considerado como buen crecimiento micelial promedio 0.5 cm/día en el cultivo de *P. ostreatus* sobre corteza de encino. En el presente estudio se determinó una mejor velocidad de crecimiento promedio, de 0.71 cm/día, en todas las variables que no afectaron el desarrollo vegetativo.

La contaminación del sustrato en alto porcentaje (de 66.66% a 100%) se presentó únicamente en el sustrato no esterilizado y en los pasteurizados. En los demás casos fue mínima, ya que el medio fue esterilizado. Los principales contaminantes que se presentaron fueron: *Alternaria sp.*, *Phoma sp.* y *Penicillium sp.*

Decididamente, en todos los casos en que hubo fructificación, los esporóforos exhibieron morfología anormal, con un pie o estípote alargado y un píleo muy pequeño, debido principalmente a la mala ventilación y reducida superficie de fructificación en el tubo de cultivo. Asimismo existió gran diversidad en el número de esporóforos por tubo dentro de una misma variable o entre diferentes variables.

IV.3. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE FRUCTIFICACIÓN DE *P. ostreatus* SOBRE ASERRÍN DE ENCINO EN RECIPIENTES DE PLÁSTICO.

El control adecuado de las condiciones ambientales durante el desarrollo y fructificación de *P. ostreatus* fue básico para la obtención de óptimos resultados. En cuanto a la temperatura de incubación, la mayoría de los autores han reportado una temperatura entre 25 y 27°C para un correcto desarrollo vegetativo. En la última etapa experimental, dicha temperatura se mantuvo a 25°C dentro de la estufa, al igual que en el experimento en tubos de cultivo. Durante el desarrollo vegetativo, los recipientes de cultivo se taparon con hule espuma y papel aluminio con el objeto de mantener la humedad en el sustrato, prevenir la contaminación del mismo y permitir las condiciones semianaeróbicas requeridas en el desarrollo de *P. ostreatus*. La presencia de luz, ventilación adecuada y alta humedad relativa fueron factores fundamentales para inducir la fructificación y durante la fructificación misma. Para ello, las cajas de cultivo se destaparon y trasladaron a un invernadero con luz natural (12 horas de luz al día aproximadamente). La alta humedad relativa, indispensable para la formación de los esporóforos, se mantuvo entre 90 y 95% con un humidificador y colocando las cajas dentro de un cobertizo de plástico que a su vez permitió buena ventilación. Una ventilación deficiente o un exceso de la misma hubiera repercutido drásticamente en la morfología de los esporóforos y en la aparición de los primordios, por lo mismo se evitaron altas concentraciones de CO₂ y fuertes corrientes de aire. En el cultivo comercial de *P. ostreatus*, la utilización de una unidad de aire acondicionado y humidificadores para el mantenimiento de las condiciones ambientales

durante la fructificación, implicaría un fuerte gasto de energía, por lo que sería necesario simplificar el proceso de control.

La fructificación de *P. ostreatus* fue el objetivo principal de la última fase del trabajo. Ésta se llevó a cabo una vez seleccionadas las condiciones de cultivo que más favorecieron la aparición de los primordios en tubos de cultivo. Dicha selección fue la base de la preparación del sustrato y del cultivo del hongo en el experimento final. Así, el sustrato fue esterilizado, a reserva de un estudio económico-experimental en el que se encuentre el tratamiento térmico del sustrato más conveniente, ya sea esterilizado total o parcial, o pasteurización. Se decidió regar diariamente el sustrato, únicamente durante la fructificación. Esto se debió a varios factores: primeramente, en esta ocasión no se observó la resequedad presente durante la incubación en el experimento anterior. En dicho experimento, se observó la necesidad de un sustrato saturado para el mejor desarrollo y aparición de primordios. También se consideró la elevada proporción de agua que se consume en la formación de los esporóforos y que durante los primeros días de inducción provocó una gran resequedad en el sustrato contenido en recipientes de plástico. Por último, al destapar las cajas se aumentó la superficie de evaporación.

El tamaño de partícula del aserrín se seleccionó en función del máximo aprovechamiento del mismo, ya que como se mencionó no influyó en la aparición de primordios. Se empleó el material retenido entre las mallas 8 y 30 en el sustrato de aserrín de encino, y el retenido entre las mallas 6 y 60 en el sustrato de aserrín de pino.

IV.3.1. EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON CARBOHIDRATOS.

En los resultados obtenidos previamente en tuvos de cultivo, se observó un efecto positivo en la formación de primordios a medida que la tasa de carbohidratos en el medio aumentó. Por ello en este experimento se continuó aumentando dicho nivel, pretendiendo encontrar el óptimo de complementación. Con el objeto de tener un dato de referencia sobre el contenido final de carbohidratos empleado comúnmente en el cultivo comercial de *P. ostreatus*, se calculó dicho nivel en los sustratos experimentados por Kalberer (1974) y Hashimoto y Takashi (1974). Ellos han empleado como material base principalmente pajas, y como complemento salvado de arroz, que han aportado al medio tanto nitrógeno como carbohidratos. El contenido final de carbohidratos empleado por estos autores, los cuales no han tomado en cuenta el aporte del inóculo, ha oscilado alrededor de 35%. Dicho nivel ha sido el resultado de haber ajustado en el sustrato el contenido final de nitrógeno, principalmente. La concentración de este último complemento ha variado de 0.7 a 0.9% aproximadamente, quedando un contenido final de carbohidratos muy alto. En este trabajo se emplearon fuentes independientes de nitrógeno y carbohidratos, con el objeto de observar los efectos de cada uno por separado y encontrar los niveles óptimos de complementación. En el cultivo comercial de *P. ostreatus*, los sustratos han sido inoculados generalmente con inóculo de grano, ya sea de trigo, sorgo, centeno, etc., con un alto contenido de carbohidratos de fácil degradación, lo que ha contribuido a la concentración final de carbohidratos en el medio. El porcentaje de inóculo empleado ha variado entre un autor y otro, aunque muchos de ellos, tales como Kalberer (1974), Imbernon

(1981), Tan (1981) y Brian *et al* (1981), han añadido de 2 a 3% de inóculo al sustrato húmedo. En el presente experimento se sembró el sustrato húmedo con 3% de inóculo de centeno. El centeno posee un alto contenido de hexosas, por lo que la concentración final de carbohidratos se calculó considerando tanto el aporte del inóculo como el de la melaza usada como complemento. Así, la concentración de carbohidratos se varió ascendentemente desde 3.0 g. Dicha concentración correspondió al nivel experimental inferior. Se empleó en lugar de la seleccionada en el experimento anterior en tubos de cultivo, es decir 2.6 g, debido a que el inóculo de grano contenía alrededor de 25% de carbohidratos. Al ser agregado en una concentración de 3% del sustrato húmedo, aportaba directamente los 2.5 g que se requerían. Esto implicaría no agregar melaza al medio. Se consideró adecuado que todos los sustratos contuvieran los mismos complementos, por lo que se decidió aumentar la concentración final de carbohidratos de 2.5 g a 3.0 g. Los siguientes niveles experimentales fueron de 4.5, 6.0 y 7.5 g de carbohidratos por cada 100 g de aserrín seco. La influencia de esta variación sobre dos parámetros de la fructificación de *P. ostreatus* se muestra en las Figuras 23 y 24. Primeramente, en la Figura 23 se observa cómo la concentración de carbohidratos influyó sobre el tiempo de aparición de los brotes, siendo éste menor conforme la concentración de carbohidratos en el medio fue mayor. Esta tendencia se observó desde el primer brote hasta el tiempo total de cultivo, que fue de 95 días en promedio en los sustratos con menor contenido de carbohidratos, y de 84 días en el sustrato con mayor concentración. Asimismo en la Figura 24 se observa una clara tendencia a obtener mayor producción de esporóforos (rendimiento) a medida que el contenido de carbohidratos en el

TIEMPO ACUMULADO (DÍAS)

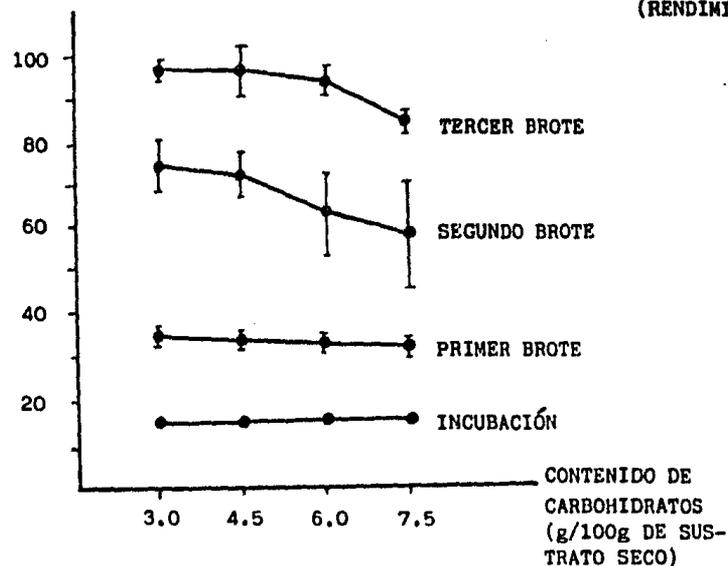


FIGURA 23. Cronología de aparición de brotes de *P. ostreatus* sobre sustratos con diferente complementación de carbohidratos.

RENDIMIENTO(%)
(RENDIMIENTOS PARCIALES ACUMULADOS)

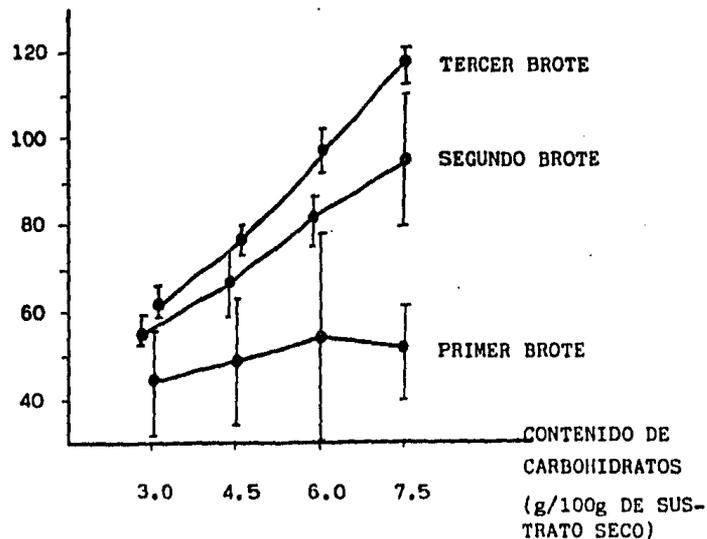


FIGURA 24. Rendimiento de *P. ostreatus* sobre aserrín de encino con diferente complementación de carbohidratos.

medio fue mayor. Además se muestra cómo en todos los casos el mayor rendimiento se obtuvo en el primer brote, bajando siempre en el segundo y muy marcadamente en el tercero.

Resulta lógico que en el cultivo comercial de *P. ostreatus* convenga reducir el tiempo entre los brotes y a su vez obtener el mayor rendimiento posible, de ahí la importancia de los resultados anteriores en los que se demostró que el alto contenido de carbohidratos favoreció tanto la aparición de los brotes como el alto rendimiento. Además, dichos resultados informan acerca del tiempo conveniente para dar término al cultivo según el porcentaje de rendimientos que se obtenga en cada brote. Ya que los resultados más ventajosos se obtuvieron con la tasa de carbohidratos más elevada, es decir 7.5 g, se impone la necesidad de realizar una nueva experimentación en la que se encuentre el nivel óptimo de complementación con carbohidratos.

IV.3.2. EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN DEL SUSTRATO CON NITRÓGENO.

El efecto del contenido de nitrógeno se probó en valores menores a 0.75 g por cada 100 g de aserrín seco. Las Figuras 25 y 26 muestran que el nivel óptimo de complementación correspondió al nivel intermedio experimentado. Es decir, con 0.5 g de nitrógeno se obtuvo el mayor rendimiento en el menor tiempo. En la Figura 25 se observa claramente un pico de producción de esporóforos que definieron los límites de la utilización del nitrógeno en el sustrato. Asimismo muestra cómo en el primer brote de los 3 sustratos experimentados se obtuvo alrededor del 63% del

RENDIMIENTO (%)
(RENDIMIENOS PARCIALES ACUMULADOS)

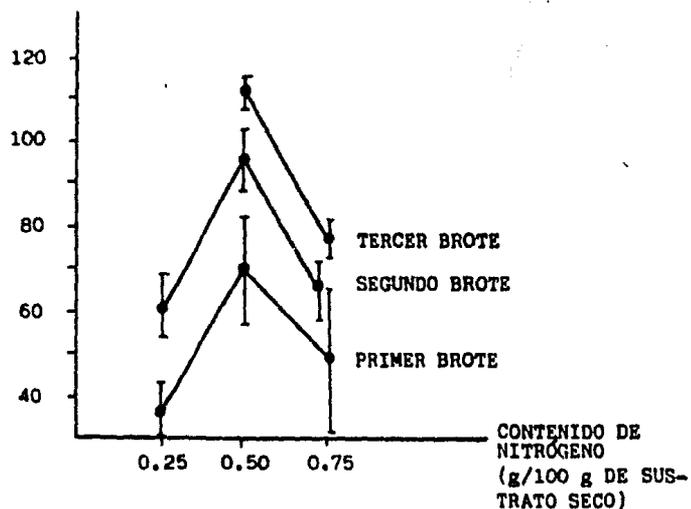


FIGURA 25. Rendimiento de *P. ostreatus* en aserrín de encino con diferente complementación de nitrógeno.

TIEMPO ACUMULADO (DÍAS)

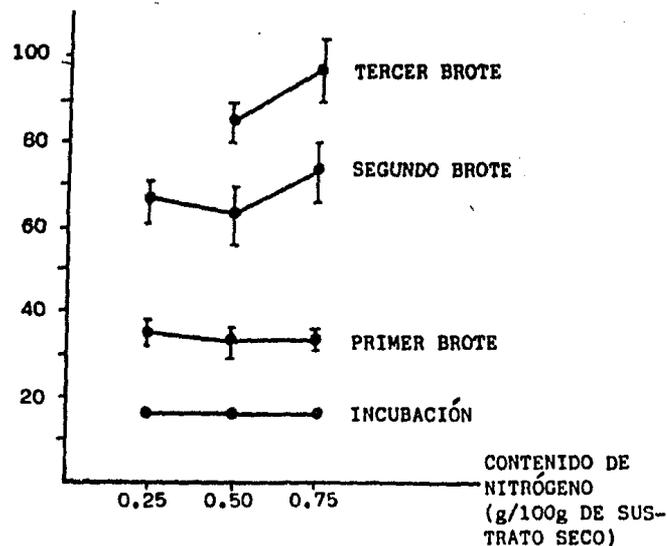


FIGURA 26. Cronología de aparición de brotes de *P. ostreatus* en sustratos con diferente complementación de nitrógeno.

rendimiento total. Sin embargo, dicho porcentaje no fue representativo del rendimiento parcial, ya que éste fue del 70% en el sustrato complementado con 0.5 g de nitrógeno, mientras que en los complementados con 0.75 y 0.25 g se obtuvieron 50 y 37% respectivamente, en el primer brote. Es posible que en el cultivo comercial de *P. ostreatus* fuera ventajoso detener el cultivo en el primer brote, si se empleara un sustrato complementado con 0.5 g de nitrógeno. Es así como el análisis de los rendimientos parciales podría ser de utilidad en la selección del tiempo de cultivo o del número de brotes más conveniente.

Como ya se mencionó, los sustratos comerciales han sido generalmente complementados con alrededor del 1% de nitrógeno (B.S.). En los resultados del presente trabajo se observó que con la mitad de dicha concentración se obtuvo el mejor rendimiento con respecto a las demás concentraciones de nitrógeno experimentadas. El haber empleado en el cultivo experimental fuentes independientes de nitrógeno y carbohidratos resultó muy interesante, ya que se ofreció la posibilidad de complementar óptimamente el sustrato. Así se evitarían, en su mayor parte, residuos de aditivos que no fueran aprovechados por el organismo.

IV.3.3. EFECTO DE LOS DIFERENTES PERÍODOS DE INCUBACIÓN.

En el cultivo comercial de *P. ostreatus* la duración de la incubación del sustrato ha variado generalmente de 2 a 3 semanas según el autor, realizándose en oscuridad y a una temperatura de 25 a 27°C. Este tiempo de desarrollo vegetativo ha sido necesario para que el micelio invada el sus-

trato. En el presente experimento el período de incubación fue de 10, 13 y 16 días, esperando encontrar el menor tiempo de incubación con el que a su vez se obtuviera la mejor producción de esporóforos. Los resultados representados en la Figura 27 muestran que los mayores rendimientos se obtuvieron en los sustratos con 10 y 13 días de incubación. La diferencia entre la producción total de esporóforos de estos dos sustratos fue poco acentuada. Sin embargo, en la Figura 28 se observa cómo el tiempo total de cultivo en el sustrato con 10 días de incubación fue marcadamente menor, es decir de 72 días, mientras que en el sustrato con 13 días de desarrollo fue de 92 días. Estos hechos apoyaron que la corta duración del desarrollo vegetativo (10 días) fuera la más conveniente para el cultivo de *P. ostreatus*. Cabe recalcar que a pesar de que se registró un retardo en la aparición de primordios, la duración total del cultivo en el sustrato con 10 días de incubación fue la menor entre todos los sustratos experimentados en esta última fase del trabajo.

IV.3.4. FRUCTIFICACIÓN DE *P. ostreatus* EN ASERRÍN DE PINO.

Gran parte de la producción maderera en México corresponde a bosques de pino y encino, por lo que en esta etapa final también se decidió probar la fructificación de *P. ostreatus* en aserrín de pino. En la bibliografía se ha reportado que los rendimientos del hongo sobre aserrín de encino han sido más altos que sobre aserrín de pino. Además se ha mencionado la presencia de un alto contenido de taninos y una mayor cantidad de contaminantes en el aserrín de pino, lo que se ha considerado como un inconveniente para la utilización de este material. Sin embargo, en

RENDIMIENTO (%)
(RENDIMIENTOS PARCIALES ACUMULADOS)

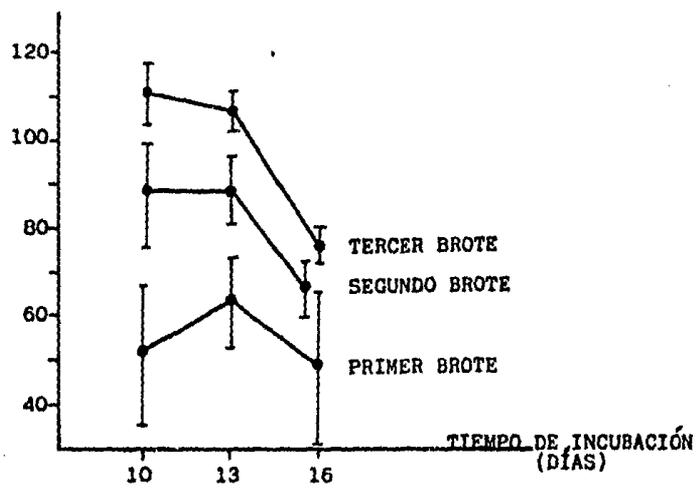


FIGURA 27. Rendimiento de *P. ostreatus* en aserrín de encino con diferente tiempo de incubación.

TIEMPO ACUMULADO (DÍAS)

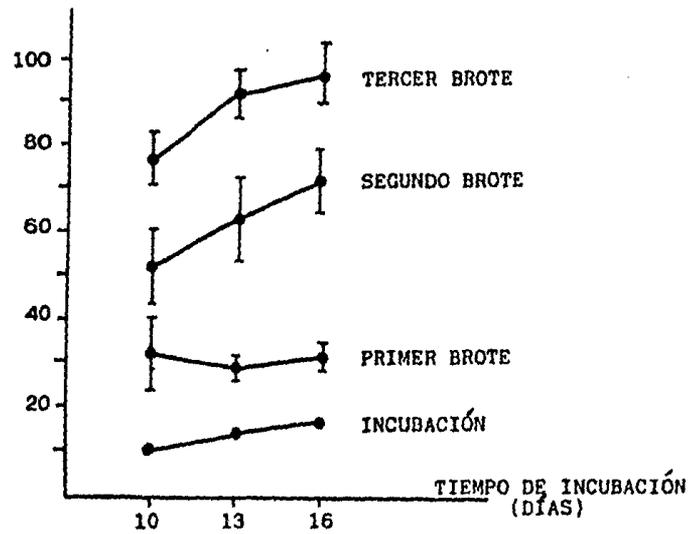


FIGURA 28. Cronología de aparición de brotes de *P. ostreatus* en sustratos con diferente tiempo de incubación.

el presente trabajo se encontraron resultados bastante satisfactorios, obteniéndose un rendimiento de 79.6% en 84 días aproximadamente. Es de esperarse que al complementar el sustrato estrictamente de acuerdo a las características del aserrín de pino, el rendimiento aumente. Cabe recordar que en este experimento el aserrín de pino se complementó con las mismas cantidades de melaza y urea que las empleadas en el sustrato de aserrín de encino usado como control.

IV.3.5 ASPECTOS COMUNES.

En la última etapa experimental se presentaron los siguientes aspectos comunes: el micelio en el inóculo de centeno creció muy abundantemente sobre el grano, por lo que fue muy adecuado para inocular el sustrato dentro de los recipientes. El porcentaje de inóculo empleado (3% del peso húmedo del sustrato) fue conveniente para permitir un excelente desarrollo vegetativo del hongo sobre el sustrato de aserrín. El gran crecimiento micelial durante la incubación, aunado a la esterilización del sustrato, posiblemente evitaron la contaminación tanto en el período de desarrollo vegetativo como en el de la fructificación. En ésta se presentó una contaminación muy baja y superficial, por lo que no impidió en ningún caso el desarrollo y la fructificación de *P. ostreatus*. Los principales contaminantes identificados fueron *Alternaria sp.*, *Phoma, sp.* y *Penicilium sp.*

El pH inicial del sustrato, al igual que en el experimento en tubos de cultivo, disminuyó después del desarrollo del hongo aunque en este caso el

descenso fue menor (media unidad en promedio), es decir de un pH inicial promedio de 6.5, al término del experimento descendió a un pH entre 6.1 y 5.8.

En todos los sustratos experimentados tanto de aserrín de encino como de pino, el desarrollo de los primordios a esporóforos maduros fue de 6 días en promedio, y el número de esporóforos por caja osciló entre 1 y 3, variando en dimensión pero siempre de morfología normal, en cada brote.

En la mayoría de los sustratos se observó la aparición de 3 brotes, aunque con tiempo de aparición y rendimientos muy diferentes entre sí. Los esporóforos del primer brote siempre fueron los más grandes en relación a los del segundo y tercer brotes, en los que el tamaño disminuyó considerablemente.

Tanto en el sustrato de aserrín de encino como en el de pino se obtuvieron muy buenos rendimientos. El mayor porcentaje de esporóforos siempre se obtuvo en el primero de los tres brotes. Por ello, en el cultivo comercial de *P. ostreatus* sería conveniente calcular las ventajas de detener la fructificación en el brote en el que ya se haya obtenido el mayor porcentaje de rendimiento. Asimismo, es importante considerar la duración total del cultivo desde la inoculación hasta la fructificación del último brote. Ésta varió de 76.6 a 96.8 días en promedio, siendo alta, ya que en la bibliografía se ha reportado una duración de 60 días, aproximadamente, después de 3 brotes.

IV.3.6. COMPARACIÓN ENTRE EL DESARROLLO Y FRUCTIFICACIÓN DE *P. ostreatus* SOBRE ASERRÍN DE ENCINO Y SOBRE ASERRÍN DE PINO.

Se encontraron algunas diferencias interesantes en el desarrollo vegetativo y la fructificación de *P. ostreatus* sobre aserrín de pino y sobre aserrín de encino. El crecimiento micelial se distinguió por ser muy abundante en el sustrato de aserrín de pino, y en el de encino complementado con 0.25 g de nitrógeno. En ellos se presentó una masa micelial muy compacta con aspecto liso completamente blanco. En general, la abundancia micelial fue muy buena en todos los demás sustratos. Sobre el aserrín de encino los esporóforos presentaron en promedio las siguientes características: sésiles o con pie muy reducido, lateral o excéntrico, con píleo carnoso y amplio, de 6.0 a 7.0 cm, color beige o gris claro, con bordes delgados, altura total entre 4.5 y 7.0 cm, con láminas blancas decurrentes y crecimiento en grupos o aislados. En el sustrato de aserrín de pino se presentaron algunas diferencias en los esporóforos, notándose en general más alargados y con pie más alto. La altura de éste fue de 2.0 cm en promedio, mientras que fue de 1.0 cm de altura en los esporóforos de aserrín de encino.

Según los diversos autores (Cartwright y Findlay, 1958; Anselmi y Deandrea, 1978), en la naturaleza *P. ostreatus* se ha desarrollado más comúnmente sobre maderas de angiospermas ("duras") que sobre maderas de gimnospermas ("suaves"). Inclusive en el cultivo artificial del hongo se ha reportado mayor rendimiento sobre sustratos provenientes de maderas "duras" que sobre maderas "suaves" (Imbernon, 1974). Los términos "maderas

duras" y "maderas suaves" referidos a angiospermas y gimnospermas, respectivamente, son comúnmente empleados. Sin embargo, resultan confusos ya que existen maderas de angiospermas que son suaves y maderas de gimnospermas que son duras. Algunas de las diferencias básicas entre los dos tipos de maderas mencionados son que las angiospermas poseen parénquima con granos de almidón, orientados radialmente, longitudinalmente o en ambos sentidos. Las gimnospermas poseen parénquima escaso con menor contenido de almidón, y distribuido sólo radialmente. El prosénquima en angiospermas está constituido por vasos y fibras que tienen función de conducción los primeros y resistencia mecánica los segundos, siendo estas últimas muy duras y variables. Las gimnospermas únicamente poseen traqueidas que funcionan tanto en la conducción como en la resistencia. Todas las estructuras de este último grupo son porosas, por lo que son a su vez menos densas que las maderas de angiospermas. La concentración de extractivos (ceras, aceites, taninos, resinas, grasas) en las angiospermas es mayor que en las gimnospermas, aunque en estas últimas se encuentra un mayor contenido de resinas.

En lo relacionado con el mayor porcentaje de maderas de angiospermas que de gimnospermas invadidas por el micelio de *P. ostreatus* en la naturaleza, no se sabe hasta el momento la causa precisa de ello. Sin embargo, muchos autores (Christensen, 1978; Findlay, 1978; Smith *et al.*, 1979) reportan haber encontrado *P. ostreatus* únicamente sobre maderas de angiospermas, principalmente *Fagus* y *Populus* (haya y álamo respectivamente). Otros (Cartwright y Findlay, 1958; Nobles, 1965; Guzmán, 1977; Anselmi y Deandrea, 1978) reportan haber encontrado el hongo sobre maderas de an-

giospermas y gimnospermas. En general puede decirse que en la naturaleza *P. ostreatus* se establece tanto sobre maderas de angiospermas como de gimnospermas, aunque la actividad en estas últimas es menor.

De acuerdo a la complementación con urea y melaza en el aserrín de pino, los resultados de este cultivo pueden compararse con los del sustrato de aserrín de encino complementado con 4.5 g de carbohidratos y 0.75 g de nitrógeno (sustrato control). Los rendimientos obtenidos en este trabajo (Figura 29) no apoyan del todo las observaciones anteriores, ya que el rendimiento total promedio sobre el sustrato de aserrín de pino fue ligeramente mayor que el del sustrato de aserrín de encino. Sin embargo, no se observan diferencias marcadas, por lo que pueden considerarse rendimientos muy similares. Así, la preferencia de *P. ostreatus* por maderas de angiospermas queda cuestionable, por lo menos en lo que se refiere al cultivo artificial del hongo. Es muy probable, inclusive, que al complementar el aserrín de pino óptimamente se logren obtener mejores rendimientos que sobre aserrín de encino, aunque se requiere de nueva experimentación que defina esta hipótesis.

Por el momento puede suponerse que al llevar el cultivo de *P. ostreatus* a nivel de laboratorio y piloto, en donde las condiciones de cultivo fueron controladas y el sustrato fue complementado con base en los requerimientos nutricionales del hongo, las condiciones para la actividad del organismo se igualaron. Esto dio como resultado una producción de esporóforos muy similar en ambos sustratos.

RENDIMIENTO (%)
(RENDIMIENOS PARCIALES ACUMULADOS)

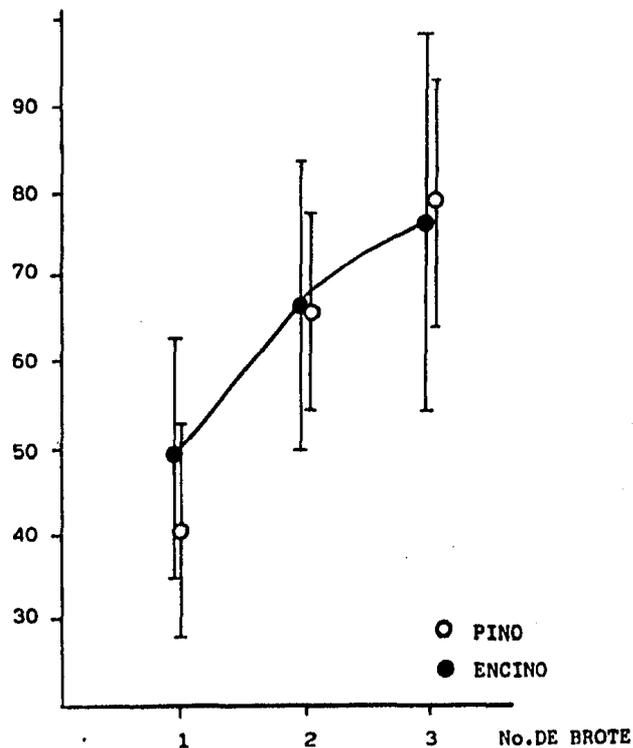


FIGURA 29. Rendimiento de *P. ostreatus* sobre aserrín de encino y sobre aserrín de pino.

TIEMPO ACUMULADO (DÍAS)

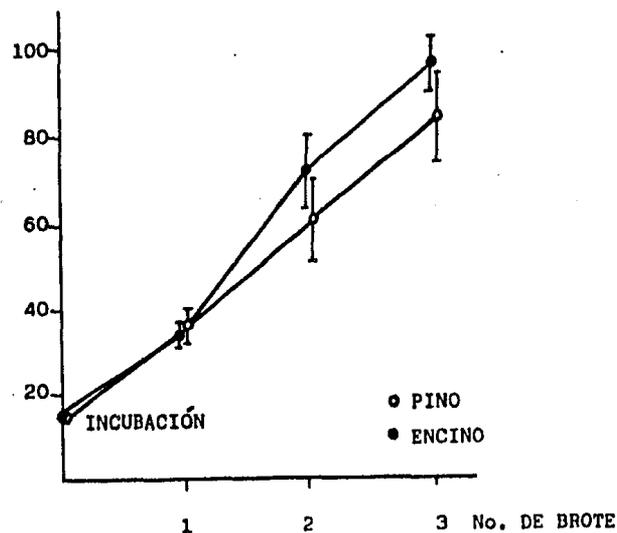


FIGURA 30. Cronología de aparición de brotes de *P. ostreatus* sobre aserrín de encino y sobre aserrín de pino.

Es interesante también mencionar que la producción aquí obtenida sobre aserrín de encino es comparable, y en algunos casos superior, a la de los sustratos comerciales que han ofrecido los mayores rendimientos, es decir paja y desperdicio de algodón (ver Tabla 1). En cuanto al aserrín de pino, en la misma tabla puede observarse que el rendimiento obtenido (45.5%) por Hashimoto y Takahashi (1974) e Imbernon (1974) fue menor al obtenido en el presente trabajo (79.6%), a pesar de que este sustrato no fue complementado óptimamente.

La reducción del tiempo total de cosecha en el cultivo comercial de *P. ostreatus* implicaría una gran ventaja. En la Figura 30 puede observarse que a pesar de un ligero retardamiento en la aparición de primordios en el sustrato de aserrín de pino, el tiempo total en el que aparecieron los 3 brotes fue en promedio menor que en el sustrato de aserrín de encino. Así, tanto por la duración como por el rendimiento del cultivo de *P. ostreatus* sobre aserrín de pino, se pueden esperar excelentes resultados en este sustrato. Sin embargo, se requiere de nuevas pruebas con las que se encuentren las condiciones óptimas de cultivo.

Las Figuras 31-38 muestran distintos aspectos del cultivo de *P. ostreatus* realizado en este trabajo.

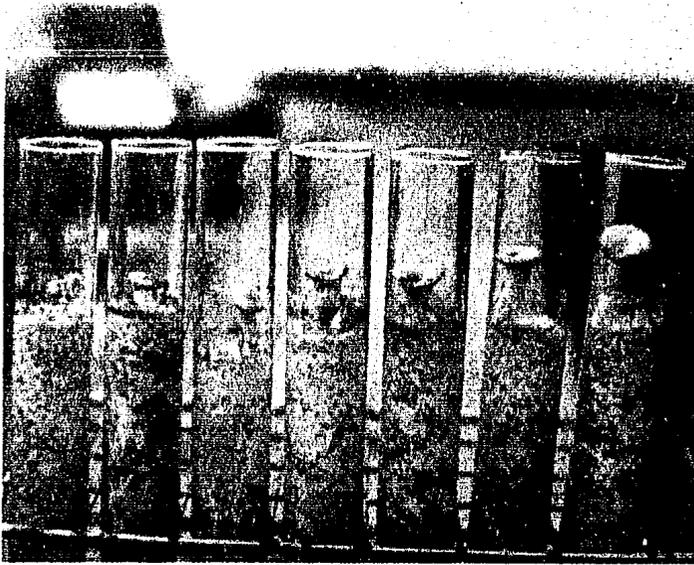


FIGURA 31. Desarrollo vegetativo y fructificación de *P. ostreatus* en tubos de cultivo de 2.0 x 20.0 cm a los 21 días después de la inducción.

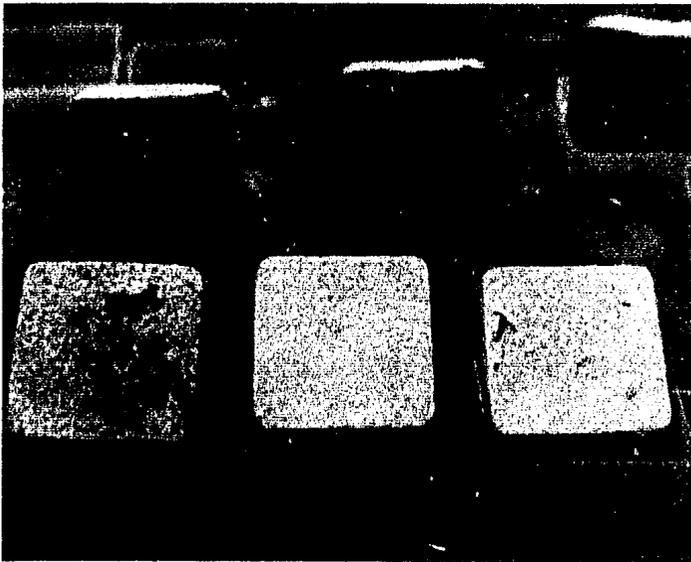


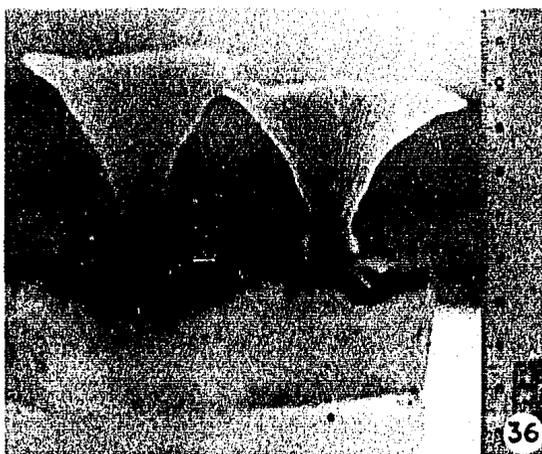
FIGURA 32. Desarrollo vegetativo de *P. ostreatus* sobre aserrín de encino en cajas de plástico de 10.0 x 10.0 x 3.0 cm, colocadas en las condiciones de inducción.



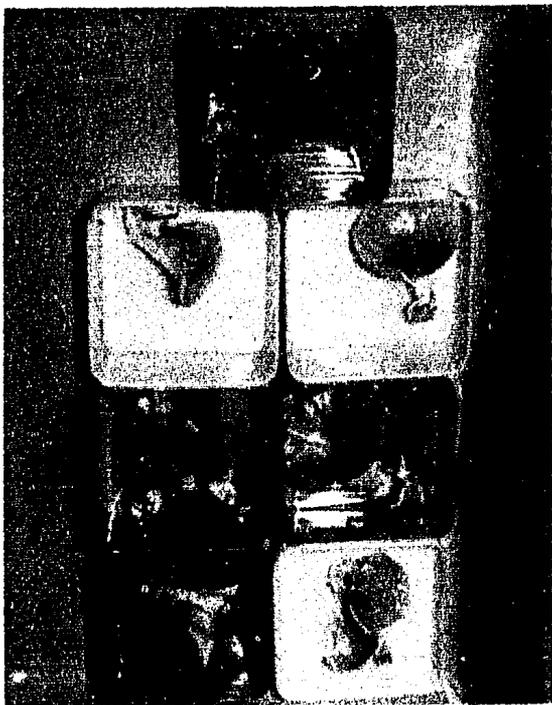
FIGURA 33. Formación de primordios de *P. ostreatus* sobre la superficie del sustrato de aserrín.



FIGURA 34. Basidiocarpio maduro de *P. ostreatus* a los 17 días después de la inducción.



Morfología típica de esporóforos maduros de *P. ostreatus* desarrollados sobre aserrín de encino (Figura 35, con pie corto) y sobre aserrín de pino (Figura 36, con pie más largo).



FIGURAS 37 y 38. Morfologías de esporóforos de *P. ostreatus* producidos sobre aserrín de encino y sobre aserrín de pino.

V. CONCLUSIONES.

Los resultados del cultivo de *P. ostreatus* sobre aserrín de encino y de pino obtenidos en el presente trabajo indicaron que ambos materiales complementados con urea y melaza fueron sustratos adecuados para la obtención de rendimientos superiores a los reportados con sustratos convencionales. Asimismo se demostró que la preparación del sustrato se llevó a cabo con un procedimiento relativamente sencillo. Estas características aunadas al buen sabor y valor nutritivo del hongo colocan a la especie en un lugar significativo en la rama del cultivo comercial de hongos comestibles. De la serie de experimentos realizados en este trabajo, se seleccionaron las condiciones de cultivo, preparación del sustrato, desarrollo vegetativo y fructificación que contribuyeron a obtener los mejores rendimientos. Esto último se esquematiza en la Tabla 32. De un lado del diagrama se exponen las condiciones de cultivo seleccionadas a partir de la experimentación del presente proyecto, y del lado opuesto las proposiciones para nuevos experimentos.

A continuación se mencionan las conclusiones y recomendaciones que se consideraron importantes dentro de la fase experimental.

1. COMPLEMENTACIÓN CON NITRÓGENO.

El nitrógeno ejerció un efecto importante, observable tanto en el desarrollo vegetativo como en la fructificación de *P. ostreatus*. La concentra-

ción de 0.5 g de nitrógeno/100 g de aserrín seco, resultó óptima.

2. COMPLEMENTACIÓN CON CARBOHIDRATOS.

Los carbohidratos ejercieron un efecto importante observable únicamente sobre la fructificación del hongo. El mejor rendimiento se obtuvo con el nivel más alto experimentado, que fue de 7.5 g de carbohidratos/100 g de aserrín seco, por lo cual es recomendable experimentar con mayores concentraciones de carbohidratos hasta encontrar el nivel óptimo de complementación.

3. HUMEDAD DEL SUSTRATO.

La alta humedad en el sustrato fue necesaria para el desarrollo y fructificación normal de *P. ostreatus*. Se recomienda mantener la humedad en el sustrato correspondiente a la máxima capacidad de retención de agua del material básico.

4. TRATAMIENTO TÉRMICO.

Se determinó que la operación de esterilización es una variable crítica para efecto de competencia y sobrevivencia del micelio. Se recomienda experimentar con menores temperaturas hasta optimizar un gasto de energía en el calentamiento, siendo rigurosos en mantener un rendimiento igual o mayor a los ya obtenidos.

5. PROPAGACIÓN VEGETATIVA.

El período de incubación influyó en la producción de esporóforos de *P. ostreatus*. El mejor rendimiento se obtuvo con el período más corto expe-

rimentado, que fue de 10 días. Es recomendable por tanto probar con tiempos menores de incubación.

6. INDUCCIÓN Y FRUCTIFICACIÓN.

El control de las condiciones ambientales durante la fructificación representó en este trabajo un gasto elevado de energía por la utilización de la unidad de aire acondicionado y humidificador. Sin embargo, este equipo es fácilmente sustituible aprovechando las corrientes de convección y evitando el escape de la humedad del cobertizo donde se coloquen los recipientes. La temperatura ambiente y luz natural son condiciones apropiadas para el desarrollo de *P. ostreatus*.

7. PRODUCCIÓN.

En el presente experimento se permitió el desarrollo de 3 brotes para la observación de la eficiencia biológica de *P. ostreatus*. Sin embargo, en el cultivo comercial lo conveniente sería frenar el cultivo en el primero o en el segundo brote, ya que es cuando se obtiene el mayor porcentaje del rendimiento total.

Estas condiciones en conjunto pueden ser un punto de partida para lograr la máxima simplificación en la metodología de producción, así como el mejor rendimiento de *P. ostreatus* sobre desechos forestales de pino y encino.

En este estudio los rendimientos más altos obtenidos sobre aserrín de encino fueron en promedio de 117.0, 111.0 y 110.0%, mayores a los reportados

en el cultivo comercial del hongo, que oscilan entre 70 y 100%. El rendimiento más alto obtenido sobre aserrín de pino fue de 79.6%. Es muy probable que este rendimiento pueda aumentarse debido a que la complementación de dicho sustrato no fue óptima. Así, puede concluirse que a partir de una tonelada de aserrín de encino seco es posible producir 1,170.0 Kg en promedio de esporóforos de *P. ostreatus*. Esto resulta superior a cualquier expectativa y es un logro importante en la realización del presente proyecto.

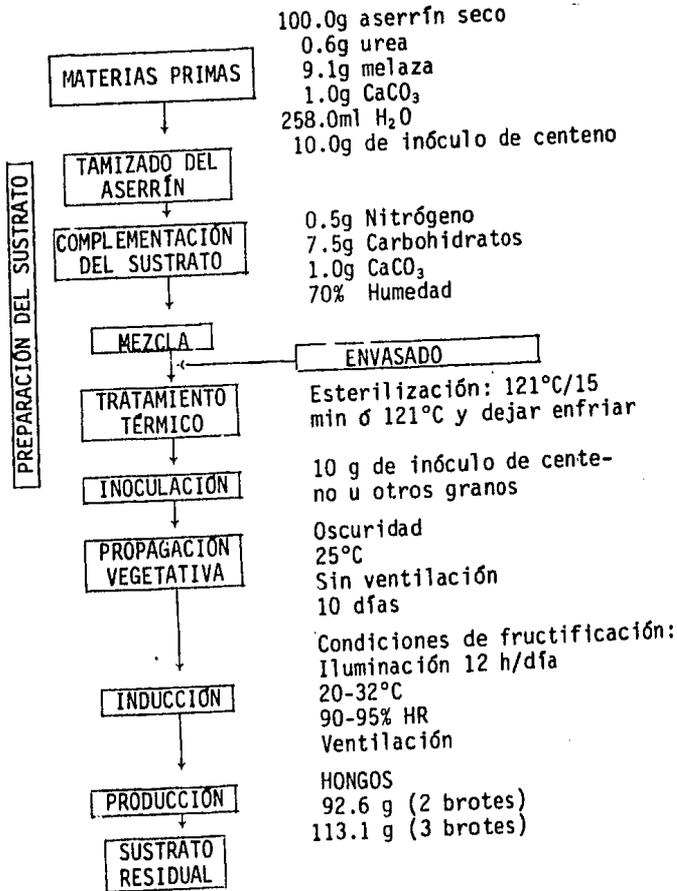
Se considera que una de las grandes ventajas de este trabajo experimental es la diversificación de la producción de alimento en una forma accesible para cooperativas campesinas y adecuada a los recursos locales de las mismas. Dicha producción llevada a un nivel semiindustrial puede representar una fuente de ingresos a la comunidad.

Actualmente se continua experimentando con aserrín de encino y de pino. Aunque estos sustratos se consideren como desechos tienen ya diversas aplicaciones en la industria, por lo que es recomendable experimentar con otros desechos lignocelulósicos subutilizados, como son los tocones, corizas de desmonte, puntas, ramas, hojarasca, etc., que son igualmente susceptibles de utilizarse para la producción de *P. ostreatus*.

TABLA 32. PROCEDIMIENTO DEL CULTIVO DE *P. ostreatus* Y PROPOSICIONES PARA NUEVA EXPERIMENTACION.

PROCEDIMIENTO :

PROPOSICIONES :



10 DÍAS

45 DÍAS (2 BROTES)
70 DÍAS (3 BROTES)

Emplear aserrín sin tamizar.
Experimentar con otros desechos forestales.

Mayores concentraciones de carbohidratos.
Experimentar con complementos que contengan nitrógeno y carbohidratos para sustituir la urea y la melaza.

Tratamiento térmico con menores temperaturas.

Menor duración de la incubación.

Simplificación del mantenimiento de las condiciones ambientales: Ventilación, humedad en el sustrato, humedad relativa, optimizar tiempo de incubación + tiempo de producción para obtener mayor producción en menor tiempo.

Probar el sustrato residual como alimento para ganado.

VI. BIBLIOGRAFIA.

- Alexopoulos, C.J., 1966. Introducción a la Micología. Editorial Universitaria de Buenos Aires, Argentina. 615 p.
- Anselmi, N. y Deandrea, G., 1978. Culture de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Qué1. sur du bois de salicacées: applications pratiques et risques éventuels de diffusion hémiparasitaire. In. J. Delmas, Ed., Mushroom Science X (Part II) Proceedings of the Tenth International Congress on the Science and Cultivation of edible fungi, 33140 Pont-De-La-Maye, France. INRA, Francia. pp. 451-461.
- Bano, Z. y Srivastava, H.C., 1962. Studies on cultivation of *Pleurotus* sp. on paddy straw. Food Sci. 12:363-365.
- Block, S.S., Tsao, G. y Han, L. 1958. Production of mushroom from sawdust. J. Agric. Food Chem. 6:923-927.
- Brian, C., Imbernon, M. y Granit, S., 1981. Correlacion entre la croissance mycelienne et la fructification de *Pleurotus ostreatus*. In Mushroom Science XI, Proceedings of the Eleventh International Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi. Sidney, Australia. Asociación Australiana de Cultivadores de Hongos, Australia. pp. 523-529.
- Bridge, W., 1979. The Ecology of Fungi. CRC Press. U.S.A. 274 p.
- Cartwright, K. y Findlay, W., 1958. Decay of Timber and its Prevention. Her Majesty's Stationery Office. Londres. pp. 1-11, 129-131.
- Chang, S.T. y Hayes, W.A., 1978. The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms. Academic Press, Nueva York. p. 521-557.

- Chang, S.T. y Quimio, T.H., 1982. Tropical Mushrooms. Biological Nature and Cultivation Methods. The Chinese University Press. Hong Kong. pp. 11-28, 277-297, 299-348.
- Christensen, C.M., 1965. Common fleshy fungi. Burgess Publishing Company. Minneapolis, U.S.A. 237 pp.
- Eger, G., 1970a. Die Wirkung einiger N-Verbindungen auf Mycelwachstum und Primordienbildung des Basidiomyceten *Pleurotus spec.* aus Florida. Arch. Mikrobiol. 74:160-73.
- Eger, G., 1970b. Über die Wirkung der N-Quelle und des Lichts auf die Primordienbindung bei dem Basidiomyceten *Pleurotus sp.* aus Florida. Habilitationsschrift. Univ. Marburg.
- Eger, G., 1976. *Pleurotus ostreatus*. - breeding potential of a new cultivated mushroom. Theor. Appl. Genetics. 47:155-63.
- Eger, G., 1979. New ways of breeding and strain protection for practical mushroom cultivation. Mush. Sci. 10(2):415-420.
- Elliott, T.J., 1982. Genetics and breeding of cultivated mushroom. In S.T. Chang y T.H. Quimio, Eds., Tropical Mushrooms, Biological Nature and Cultivation Methods. The Chinese University Press, Hong Kong. pp. 11-27.
- Findlay, W., 1978. The Observer's Book of Mushrooms Toadstools and other Common Fungi. Frederick Warne (Publishers), London.
- Flores Méndez, J.A., 1980. Bromatología Animal. LIMUSA, México. 930 p.
- Gilberston, R.L., 1974. Fungi that decay Ponderosa Pine. The University of Arizona Press, U.S.A. pp. 7, 185-189.

- Guzmán, G., 1977. Identificación de los Hongos. LIMUSA, México. 236 p.
- Hashimoto, K. y Takahashi, Z., 1974. Studies on the Growth of *Pleurotus ostreatus*. In Mushroom Science IX (Part I) Proceedings of the Ninth International Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi. Tokyo. pp. 585-593.
- Hashimoto, K. y Takahashi, Z., 1976. Studies on the growth of *Pleurotus ostreatus*. Mushroom Sci. 9(1):585-93
- Héltay, I., et al, 1971. In Biology and Cultivation of Edible Mushrooms. S.T. Chang y W.A. Hayes, Eds. (1978). Academic Press. New York. pp. 521-557.
- Herzig, I., Dvorak, M., y Veznik, Z., 1968. Treatment of litter straw by application of the fungus *Pleurotus ostreatus*. Biol. Chem. 3:249-253.
- Hong, J.S., 1978. Studies on the physio-chemical properties and the cultivation of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). J. Korean Agr. Chem. Soc. 21:1-40.
- Imbernon, M., 1981. Caracteristiques des meilleures souches de *Pleurotus ostreatus* obtenues par hybridation. In N.G. Nair y A.D. Clift, Eds., Mushroom Science XI, Proceedings of the Eleventh International Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi. Sidney, Australia. Asociación Australiana de Cultivadores de Hongos, Australia. pp. 531-540.
- Imbernon, M., et al, 1974. Culture de *Pleurotus ostreatus* sur substrates a base d'ecores. In Mushroom Science IX (Part I) Proceedings of the Ninth International Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi. Tokyo, pp. 175-197.

- Jablonsky, I., Schanel, L. y Kozlik, I., 1973. In Biology and Cultivation of Edible Mushrooms. Academic Press, New York. pp. 521-557
- Jandaik, C.L., and Kapoor, J.N., 1975. Nutritional value of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. Mushroom J. 36:408-10.
- Jandaik, C.L. y Kapoor, J.N., 1976. Studies on vitamin requirements of some edible fungi. Indian Phytopathol. 29:259-61.
- Jauhri, S. y Sen, A., 1978. Production of protein by fungi from agricultural wastes. IV. Effect of certain inorganic salts on the efficiency of substrate utilization and protein production by *Rhizoctonia melongina*, *Pleurotus ostreatus* and *Coprinus aratus*. Zbl. Bakt. Abt. II. 133:609-13.
- Junková, 1971. In Biology and Cultivation of Edible Mushrooms. S.T. Chang y W.A. Hayes, Eds. (1978). Academic Press. New York. pp. 521-557.
- Kalberer, P.P., 1974. The Cultivation of *Pleurotus ostreatus*: Experiments to elucidate the influence of different culture conditions on the crop yield. In Mushroom Science IX (Part I) Proceedings of the Ninth International Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi. Tokyo. pp. 653-661.
- Kalberer, P., y Vogel, E., 1974. In Biology and Cultivation of Edible Mushrooms. Academic Press, New York. pp. 521-557.
- Khan, S.M., Kausar, A.G., Ali, M.A., 1981. Yield performance of different strains of oyster mushroom (*Pleurotus spp.*) on paddy straw in Pakistan. In B.G. Nair y A.D. Clift., Eds., Mushroom Science IX Proceedings of the Eleventh International Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi. Sidney, Australia. Asociación Australiana de Cultivadores de Hongos. Australia. pp. 675-678.

- Khan, S.M. y Ali, M.A., 1981. Cultivation of Oyseter Mushroom (*Pleurotus spp.*) on cotton boll locules. In N.G. Nair y A.D. Clift, Eds., Mushroom Science XI Proceedings of the Eleventh International Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi. Sydney, Australia. Asociación Australiana de Cultivadores de Hongos. Australia. pp. 691-695.
- Khanna, P. y Garcha, H.A., 1981. Introducing the cultivation of *Pleurotus florida* in the plains of India. In N.G. Nair y A.D. Clift, Eds., Mushroom Science XI Proceedings of the Eleventh International Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi. Sidney, Australia. Asociación Australiana de Cultivadores de Hongos. Australia. pp. 655-665.
- Khana, P. y Garcha, H.A., 1981. Nutritive value for mushroom *Pleurotus florida*. In N.G. Nair y A.D. Clift., Eds., Mushroom Science XI Proceedings of the Eleventh International Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi. Sidney, Australia. Asociación de Cultivadores de Hongos. Australia. pp. 561-572.
- Kedyk, L. y Smetlachová, R., 1959. Production of mushroom from sawdust. Mycel. 36:119-124.
- Kent, K., Higuchi, T., Chang, H., 1981. Lignin Biodegradation: Microbiology, Chemistry and Potential Applications. CRC Press Inc., pp. 349-359.
- Kormondy, E.J., 1975. Conceptos de ecología. Alianza Universidad, Madrid. 248 p.
- Kurtzman, R.H. Jr. y Zadrazil, F., 1982. Physiological and Taxonomic Consideration for Cultivation of *Pleurotus* Mushrooms. In S.T. Chang y T.H. Quimio, Eds., Tropical Mushrooms, Biological Nature and Cultivation Methods. The Chinese University Press. Hong Kong. 16:299-348.

- Leal-Lara, H., 1979. Is sporelessness in *Pleurotus ostreatus* and infectious agent? In J. Delmas, Ed., Mushroom Science X (Part I) Proceedings of the Tenth International Congress on Design and Cultivation of Edible Fungi. Burdeos, Francias, 1978.
- Leal-Lara, H., 1980. Sporelessness in the Basidiomycete *Pleurotus ostreatus* (Jacq.ex Fr.) Kummer. A genetical study by means of a new dedikaryotization methods. Tesis Doctoral. Marburg/Lahn, Alemania. 89 p.
- Leong, P.C., 1982. Cultivation of *Pleurotus* mushrooms on cotton waste substrate in Singapore. In S.T. Chang y T.H. Quimio, Eds., Tropical Mushrooms, Biological Nature and Cultivation Methods. The Chinese University Press. Hong Kong. pp. 349-361.
- Loewus, F.A. y Runeckles, V.C. 1976. The Structure, Biosynthesis and Degradation of Wood. Plenum Press, Nueva York. pp. 4-31.
- Nair, N.G., 1982. Substrates for Mushroom Production. In S.T. Chang y T.H. Quimio, Eds., Tropical Mushrooms, Biological Nature and Cultivation Methods. The Chinese University Press. Hong Kong. pp. 47-59.
- Nobles, M., 1965. Identification of cultures of wood-inhabiting hymenomyces. Canad. J. Bot. 43:1097-1139.
- Rypacek, V., 1977. Chemical composition of hemicellulose as a factor participating in the substrate specificity of wood-destroying fungi. Wood Sci. Technol. 11:59-67.
- Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Subsecretaría Forestal y de la Fauna, 1982. Cifras Estadísticas de la Producción Forestal de 1980. México.

- Schanel, L., 1970. Effect of carbon dioxide on the growth of wood-decaying fungi. Folia Biol. (Praga) 11:67-72.
- Schanel, L., Herzig, I., Dvorák, M. y Veznik, Z., 1966. Production of mushroom from straw. Folia Biol. 11:67-72
- Smith, J. y Berry, D., 1976. The Filamentous Fungi. Industrial Mycology. Arnold, Inglaterra. 340 p.
- Smith, A.H., Smith, H.V. y Webber, N.S., 1979. How to know the gilled mushrooms. Brown Company Publishers. Iowa, U.S.A. 334 p.
- Stanek, M. y Rysava, J., 1971. Application of thermophilic microorganisms in the fermentation of the nutrient substrate for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. Mycol. 8:59-60.
- Steinkraus, K.H. (Editor), 1983. Handbook of Indigenous Fermented Foods. Marcel Dekker, Nueva York. 671 p.
- Sugimori, T., Oyama, Y. y Omichi, T., 1971. Studies on basidiomycetes. (1) Production of mycelium and fruiting body from moncarbohydrate organic substances. J. Ferment. Technol. 49:435-46.
- Tan, K.K., 1981. Cultivation of the Oyster Mushroom *Pleurotus ostreatus* on cotton waste. In N.G. Nair y A.D. Clift, Eds., Mushroom Science XI Proceedings of the Eleventh International Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi. Sidney, Australia. Asociación Australiana de Cultivadores de Hongos, Australia. pp. 697-703.
- Tan, K.K., 1981. Cotton Waste in a Good Substrate for Cultivation of *Pleurotus ostreatus*, the Oyster Mushroom. In N.G. Nair y A.D. Clift, Eds., Mushroom Science XI Proceedings of the Eleventh International Scientific Congress on the Cultivation of Edible Fungi. Sidney, Australia. Asociación Australiana de Cultivadores de Hongos. Australia. pp. 705-710.

- Ulloa, M. y Hanlin, R.T., 1978. Atlas de Micología Básica. Editorial Concepto, S.A., México D.F. 158 p.
- Vinklarkova, K. y Sladky, Z., 1978. Exogenous regulators in the mycelium of *Pleurotus ostreatus* after exogenous applications. Folia Microbiol. 23:55-59.
- Voltz, P.A., 1972. Nutritional studies on species and mutants *Lepista*, *Cantharellus*, *Pleurotus* and *Volvariella*. Mycopath. Mycol. Applicata. 48:175-185.
- Zadrazil, F., 1973. In *Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*. S.T. Chang y W.A. Hayes, Eds. (1978).
- Zadrazil, F., 1974. In *Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*. Academic Press, New York. pp. 521-557.
- Zadrazil, F., 1975. Influence of CO₂ concentration on the mycelium growth of three *Pleurotus* species. Eur. J. Appl. Microbiol. 1:327-335.
- Zadrazil, F., 1978. Cultivation of *Pleurotus*. In S.T. Chang y W.A. Hayes, Eds., *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*. Academic Press, U.S.A. pp. 521-557.
- Zadrazil, F. y Kurtzman, R.H. Jr., 1982. The Biology of *Pleurotus* cultivation in the Tropics. In S.T. Chang y T.H. Quimio, Eds., *Tropical Mushrooms, Biological Nature and Cultivation Methods*. The Chinese University Press. Hong Kong, pp. 277-297.
- Zadrazil, F. y Schneiderei, M., 1972. In *Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*. S.T. Chang y W.A. Hayes, Eds. (1978). Academic Press, New York. pp. 521-557.