



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES "CUAUTITLAN"

**"ESTUDIO COMPARATIVO DEL MATERIAL USADO
COMO COBERTURA EN LA PRODUCCION DE
Agaricus bisporus. EFECTO DEL USO DE CARBO-
NATO DE CALCIO E HIDROXIDO DE CALCIO EN
EL AJUSTE DEL pH ".**

T E S I S

Que para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a :

FERNANDO HERNANDEZ PEREZ

Director de la Tesis: ING. PASCASIO VARGAS CASTILLO



V N A M

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México

1985



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

1	INTRODUCCION	1
2	OBJETIVOS	13
	2.1 Justificación	
	2.2 Planteamiento	
3	RESUMEN	21
4	MATERIAL Y METODOS	23
	4.1 Material	
	4.2 Reactivos	
	4.3 Esquema del Cultivo	
	4.4 Preparación de Semilla Madre	
	4.5 Preparación del Inóculo	
	4.6 Preparación del Compost	
	4.7 Preparación de la Cobertura	
	A) Topojal	
	B) Hojarasca	
	C) Tierra	
	4.8 Diseño del Experimento	
5	RESULTADOS Y DISCUSION	34
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	38
7	APENDICE	40
8	BIBLIOGRAFIA	44

1) INTRODUCCION

De acuerdo a su forma y estructura, los vegetales se -
clasifican como se muestra en el Cuadro 1.

El tipo de champiñón cultivado en México, es el -----
Agaricus bisporus, el cual pertenece según (36) a:

Clase: EUMICETOS

Subclase: BASIDIOMICETOS

Orden: AGARICALES

Familia: AGARICACEAE

Género: AGARICUS

Especie: BISPORUS

Una revisión detallada del Agaricus bisporus se presenta en el Apéndice.

Los champiñones son los carpóforos o fructificaciones -
ya que la verdadera planta es el micelio; estos carpóforos -
son el resultado de la agregación de numerosos filamentos --
miceliales en cuyo extremo aparecen los gránulos. La Figura
1 muestra las partes principales de un cuerpo frutal. La es-
trutura que produce los hongos se llama himenio, siendo sog-
tenido éste por el esporóforo o píleo. En los basidiomicetos,
el himenio está en la parte inferior del esporóforo (sombro-
ro); la variabilidad del himenio es la base para definir las
especies ya que puede haber liso, venoso, laminar, poroso o
dentado.

El anillo y la copa que presenta el pie de algunos hongos son estructuras valiosas para la identificación de las -
especies, pero son muy delicadas y poco durables en el cuer-
po frutal si el hongo se maltrata. El anillo es el resto de
un velo que cubría a las láminas (himenio) de hongo en los -

CUADRO 1
 CLASIFICACION DE LOS VEGETALES

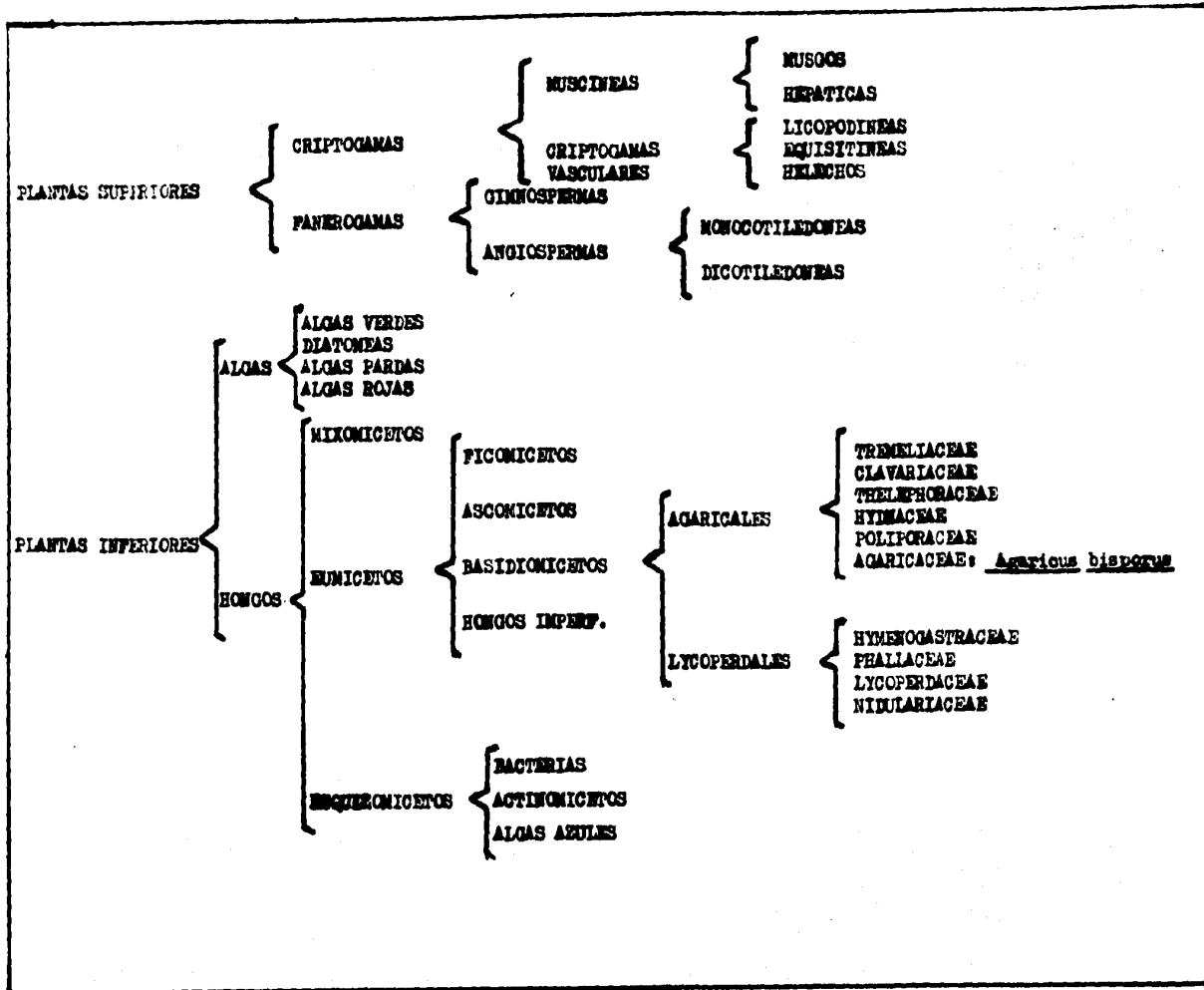
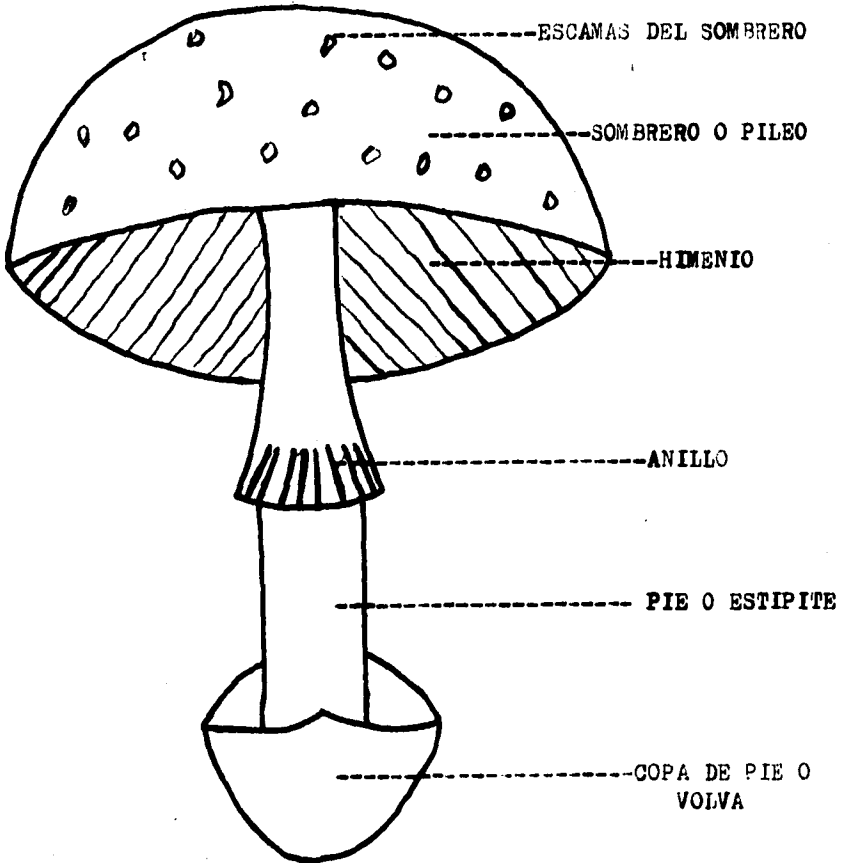


FIGURA 1

ESTRUCTURAS PRINCIPALES DEL HONGO



estados muy jóvenes, al romperse ésta cortina, se desliza -- por el pie formando el anillo. La copa del pie, también llamada volva, es el resto de una gran envoltura que cubría en los estadios muy jóvenes al hongo, a manera de cascarón.

Cuando el hongo madura, rompe el cascarón por la parte superior llevándose algunas veces restos de dicha envoltura en su sombrero (las escamas del sombrero de Amanita muscaria).

Contrariamente a lo que se piensa, el champiñonista no siembra esporas, la semilla que utiliza se compone de granos o fragmentos de un medio nutritivo determinado que puede ser compost o cereales esterilizados como trigo, centeno, -- etc., invadidos por el micelio.

Stoller sugiere que el rompimiento de los granos puede ser minimizado por: la selección de granos los cuales soportan un crecimiento lento, por ejemplo centeno; el uso de yeso para ajustar pH; el mantenimiento de un nivel de humedad menor del 40%. (21)

La contaminación de granos en la preparación de semilla también ocurre comunmente y es un reflejo de la eficiencia -- de las técnicas de asepsia necesarias. Stoller (23) también describe un término conocido como "punto húmedo", el cual -- está asociado con contaminación bacteriana siendo insatisfactorio para el crecimiento si se propaga. Una serie de contaminantes, los cuales pueden interferir con el crecimiento -- del grano son conocidos, incluyendo bacterias, actinomicetos, levaduras y hongos; muchos de los cuales pueden ser parte de la flora normal del grano. Procedimientos correctos de esterilización del grano, son también de importancia especialmente si se utilizan como semilla.

El sustrato primario, preparando un compost sintético - con paja de trigo, alfalfa, paja de arroz, etc., consta de 2 etapas:

- 1.- El compost permanece de 6-14 días en fermentación para - la formación de un medio selectivo para el cultivo, en este paso hay transformación de nitrógeno inorgánico en orgánico debido a la acción de ciertos microorganismos. La forma en - como se lleva a cabo este proceso es por reducción de todos los estados de oxidación del nitrógeno hasta el ión amonio, que es la forma como se incorpora a los compuestos orgánicos.
- 2.- Hay fermentación dirigida y controlada por medio de pas-
teurización y dura de 6-12 días dependiendo del método utili-
zado.

El proceso de compostaje es una mezcla de fermentacio-
nes, involucrando un rango de microorganismos (principalmen-
te bacterias, hongos y actinomicetos), quienes parcialmente
degradan la lignina, celulosa y hemicelulosa de la materia -
vegetal. Además, las formas solubles de carbono y nitrógeno
son utilizadas por los microorganismos generando dióxido de
carbono, calor y amoniaco. El calor generado entre el com-
post seleccionado para una microflora limitada y especializa-
da, y si se mantienen las condiciones aeróbicas, se obtiene
una biomasa, la cual proporciona una reserva de material a-
limenticio, además de la degradación de lignina y celulosa.
Si los tejidos de vegetales y animales, no se descomponen, -
son de muy poco valor en la producción de cultivos. Es así -
como se forma el humus, no es un compuesto homogéneo, ni ---
tiene una composición química definida, es una masa oscura -
heterogenea constituida de residuos de materiales vegetales

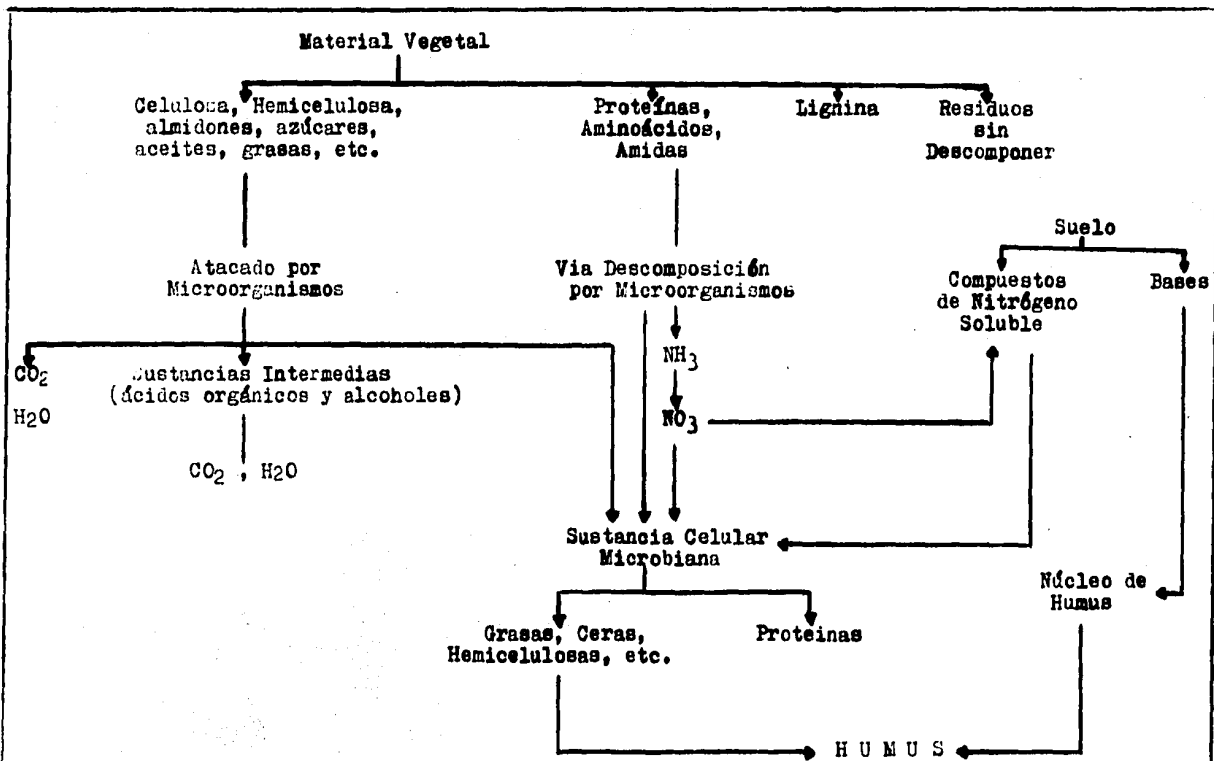
y animales junto con las sustancias sintetizadas por los organismos presentes. El ataque de los materiales orgánicos -- por esos microorganismos, produce compuestos intermedios, -- otros miembros de ésta población descompone los productos intermedios.

Los almidones, azúcares, proteínas y aminoácidos son rápidamente atacados, habiendo una síntesis considerable de -- sustancia celular microbiana. Las celulosas, y en especial -- las hemicelulosas son descompuestas posteriormente por los -- microorganismos.

De los constituyentes vegetales, las ligninas son particularmente resistentes a la descomposición bajo condiciones anaeróbicas, pero bajo condiciones aeróbicas sufren algunos cambios aunque no tanto como la celulosa y hemicelulosas.

En la formación de humus a partir de residuos vegetales, hay una rápida reducción de los constituyentes solubles en agua, como celulosas y hemicelulosas; aumento relativo en el porcentaje de lignina y complejos de la misma y un incremento en el contenido de proteínas. Se cree que la nueva proteína se forma principalmente debido a la acción de los microorganismos.

La lignina ocupa del 40-45% del humus total; del 30-35% consiste de proteínas, el resto está compuesto de grasas, ceras y otros materiales residuales. La lignina en el humus se origina principalmente de los residuos vegetales, quizá por ciertas modificaciones químicas, mientras que las proteínas se sintetizan en su mayor parte a través de las actividades de los microorganismos. Un esquema general de la formación -- del humus se presenta en el Cuadro 2.



CUADRO 2

FORMACION DE HUMUS EN LA DESCOMPOSICION
DE LOS RESIDUOS VEGETALES.

Se ha mostrado que un aumento de la actividad termofílica bacteriana está unida a la mayor productividad y mostró estar relacionada a la especificidad del compost para el crecimiento de Agaricus bisporus. En ausencia de alguna evidencia de actividad antibiótica, las bases para ésta especificidad parece estar relacionada al balance nutritivo y estatus microbiológico del compost preparado en el tiempo de la inoculación.

Stanek (24), mostró que la especificidad fué también -- relacionada a la acción combinada de ambos, bacterias y actinomicetos, confirmando el comportamiento sinérgico de estos dos grupos en el compost.

Algunas pruebas de laboratorio confirmaron la importancia de las bacterias en la nutrición del hongo, describiéndose un polisacárido separado de una bacteria aislada del compost, el cual permite un crecimiento micelial superior al de la glucosa. Químicamente, éste polisacárido consiste de glucosa, fructosa, manosa y ácido urónico. (21)

El compost soporta la fase vegetativa del crecimiento de Agaricus bisporus, pero el estado reproductivo del sistema comercial del cultivo está influenciado por los microorganismos que colonizan la capa de cobertura, estos incluyen bacterias, actinomicetos, algas y basidiomicetos. (16)

La acción de bacterias aisladas (*Pseudomonas*) ha sido -- demostrada en cultivos de agar en placa. Hayes y Nair (25) -- mostraron evidencias de que:

- 1.- Los compuestos volátiles emitidos del compost colonizado por el micelio de Agaricus bisporus, influyen la composición de la flora bacteriana en la tierra de cobertura.

2.- La productividad del cultivo está relacionada a los niveles de población en la capa de cobertura.

El crecimiento de Agaricus bisporus en el compost y -- tierra de cobertura, se ha visto ser independiente de las -- actividades de otros microorganismos, los cuales deben ser -- tomados en cuenta, considerando los factores que optimizan -- las condiciones de crecimiento en las técnicas comerciales -- de cultivo.

Cuando un compost selectivo y nutritivo (pH=7.0-7.5) -- es inoculado con semilla, el crecimiento del inóculo dentro -- del sustrato es rápido, particularmente si se mantiene a ó -- cerca de la temperatura óptima de crecimiento, la cual para -- freschow y Flegg (26),(27) es de 24°C. Sin embargo, diferen -- tes cepas pueden ser optimizadas y pueden variar de acuerdo -- a la naturaleza del compost.

La formación de cordones en el compost, se sabe está -- influenciada por el contenido de agua. Por ejemplo, Hein -- (28) encontró que en un compost seco (40-50%) el crecimien -- to fué filamentososo con poca o ninguna formación de cordones -- mientras que en el compost mojado (55-65 % de agua) predomi -- naron los cordones y hubo poco crecimiento filamentososo. El -- aumento del contenido de agua provocó reducción en la forma -- ción de cordones y cuando el contenido de agua excedió al -- 75 % se detuvo el crecimiento del micelio. Flegg (27) (29) -- sugirió que ésto fué debido a las condiciones aeróbicas ori -- ginadas por el exceso de agua en el compost.

La temperatura y nutrición no se han visto estar rela -- cionadas a la formación de cordones, pero Mathew (30) encon -- tró que el desarrollo del cordón fué inversamente relaciona -- do con la concentración de nutrientes libres cuando el medio

de crecimiento fué esterilizado.

Siguiendo el crecimiento de la fase vegetativa en el compost procede el desarrollo de la fase reproductiva dentro de la capa de cobertura, la cual por comparación es un medio pobre nutricionalmente. Sin embargo, el crecimiento de la hifa y formación de cordón dentro de la capa de cobertura son rápidos (3-9 mm por día) y son estimulados por mantenimiento de la temperatura cercana a la óptima durante 7-10 días. En este tiempo, el micelio alcanza la superficie, la temperatura del aire es reducida a 15-18 °C y el cultivo es ventilado con el objeto de inducir la fructificación.

El pH de la capa de cobertura debe tener un valor de -- 7-8 y un espesor de 4-6 cm. Para ajustar a éste pH el material de cobertura, se utiliza cal, que puede presentarse en tres formas químicas que son: óxido, hidróxido y carbonato de calcio. El hidróxido y óxido se transforman con cierta facilidad en carbonatos y bicarbonatos en los suelos húmedos. De las diferentes formas químicas de la cal, el carbonato de calcio es la forma más usada. El valor neutralizante en porcentaje es el siguiente: para el carbonato de calcio 100; para el hidróxido de calcio, 135; para el óxido de calcio, 178. Este factor no es el único importante, la densidad y dureza, y finura influyen considerablemente en la acción sobre el -- suelo. (17)

Durante el estado vegetativo de crecimiento en el compost y tierra de cobertura, hay generación de calor y acumulación de bióxido de carbono como consecuencia del crecimiento y pueden ejercer efectos significativos sobre el crecimiento subsecuente. La excesiva generación de calor puede aumentar la temperatura mas allá de la óptima y aún alcanzar el -

límite mas alto, mientras que la acumulación de bióxido de carbono por arriba de 2 % por volumen es inhibitorio.

La inducción de la formación del cuerpo frutal del -- Agaricus bisporus es realizada por:

- 1.- Disminución de la temperatura a menos de 18 °C.
- 2.- Aumentando la ventilación de tal forma que se mantenga - el nivel de bióxido de carbono a menos de 0.15 %.

El tipo y naturaleza del suelo influye en muchas de las prácticas de manejo, particularmente en relación a la ventilación y retención de agua, así como la excavación y preparación para usarla como capa de cobertura; se requiere especial cuidado para mantener la estructura. La mejor tierra es la - que soporta el crecimiento de la raíz de la planta; contribu- yendo con una microflora activa y una estructura que permite el intercambio gaseoso así como tener la capacidad de rete - ner agua.

A diferencia de la turba, las tierras son fuente de mu- chas plagas y microorganismos patógenos, a las cuales es sus- ceptible el crecimiento del hongo. Es por eso, necesario pas- teurizar la tierra antes de usarla como medio de cobertura;- una de las formas más empleadas es inyectar por medio de ai- re una solución de formol, dejándola en reposo algunos días- antes de ser empleada. En vista de la dificultad de encon -- trar o localizar la tierra disponible, es necesario buscar - alternativas del material de cobertura.

Se ha usado el compost al final de la cosecha como co - bertura para otro lote de cultivo. En algunos lugares de Afri - ca, el bagazo de henequén y la cáscara del coco son usados - como alternativas del material de cobertura.

El cultivo se realiza en bolsas de plástico, aunque tam - bién se puede realizar en estantes o cajas.

El periodo de cosecha comprende de 5-7 semanas. La productividad del cultivo declina con el tiempo y puede estar relacionado a la disminución de nutrientes del compost, pero otros cambios, como por ejemplo el pH del compost, el cual declina a niveles cercanos a 6, puede ser significativo.

Durante todo el proceso de cultivo, los requerimientos de agua para el cultivo son convenientes, la máxima demanda ocurre al comienzo del desarrollo del cuerpo frutal y durante la primera y segunda etapa de fructificación.

2) OBJETIVOS

2.1) JUSTIFICACION

El presente trabajo se realizó en la Planta Productora de champiñones, la cuál recibe por parte de la SARH y a través del Departamento de Agroindustrias en el Estado de México, ayuda financiera y asesoría técnica. En este último aspecto cabe mencionar las aportaciones de la FES-C, ya que -- por parte del sustentante y del Director del presente trabajo, se realizaron ciertas sugerencias para un mejor desarrollo del cultivo.

La Planta productora se ubica en el rancho Huerejé, municipio de Ixtlahuaca, Mex., sirviendo ésta como Planta piloto para continuar con el programa de creación de fuentes de trabajo en zonas rurales, así como pensar en la solución al creciente problema de cubrir la demanda de alimentos de la población, en este caso en México.

Toda esta investigación, es debida a que en México la tecnología referente al cultivo de champiñón está poco desarrollada y como consecuencia la producción es baja, no cumpliendo con la demanda existente en el país de éste producto. Actualmente, existen tres empresas productoras del mismo, - que son:

- a) "Hongos de México", compuesta de tres Plantas, es la de mayor producción con aproximadamente 10 toneladas al día.
- b) "Champimex", compuesta de una Planta, cuya producción es de dos toneladas diarias.
- c) "Hongos Leven", la cual consta de una Planta, con producción igual a la anterior.

De 1970 a 1973, México exportaba champiñón, principalmente a Estados Unidos, actualmente dicha exportación ha de-

saparecido debido a que el consumo interno ha acaparado toda la producción. Como se puede observar en la Tabla 1, referente al consumo aparente, no tan solo ya no hay exportación, - sino que la producción nacional se ha incrementado aunque muy lentamente.

Aunque el país vive una etapa difícil económicamente, el champiñón actualmente tiene un costo unitario de alrededor de 400 pesos por kilogramo de producto fresco, por lo cual como se muestra en la Tabla 2, el consumo per cápita nacional probablemente no se verá afectado en cuanto a su incremento. Esto es un factor importante debido al valor nutritivo del champiñón ya que a pesar de que su composición se ve afectada por múltiples factores como son:

- a) La variedad empleada
- b) Sustrato de crecimiento
- c) Método de cultivo

podemos ver en la Tabla 3, que su consumo es importante en -- la alimentación, principalmente si consideramos que contienen aproximadamente un 50 % de proteína en base seca, un alto contenido de aminoácidos esenciales y adicionalmente un contenido de vitaminas y minerales considerable.

Las proteínas son el componente más importante en el valor nutritivo de un alimento. El contenido de proteína de los hongos es muy variable, dependiendo de la especie, por ejemplo para especies de Auricularia va desde 35-70 %, y en especies de Agaricus, hasta un 44 % en base seca.

T A B L A 1
CONSUMO APARENTE DE HONGOS EN
MEXICO.

AÑO	PRODUCCION NACIONAL EN TONELADAS.	IMPORTACION EN TONELADAS.	EXPORTACION EN TONELADAS.	CONSUMO APARENTE EN TONELADAS.
70	1,150	2.2	129.1	1,023.1
71	1,309	2.2	189.0	1,122.2
72	1,648	102.0	186.8	1,834.7
73	1,897	4.8	186.4	1,715.4
74	2,146	116.7	61.1	2,201.6
75	2,395	9.7	43.7	2,361.0
76	2,644	27.5	---	2,671.5
77	2,893	49.4	36.6	2,005.8
78	3,142	158.3	---	3,300.3
79	3,391	140.6	---	3,531.6
80	3,604	178.9	---	3,818.9
81	3,889	39.5	---	3,928.5
82	4,138	59.1	---	4,197.1

FUENTE: DATOS DEL IMCE. PROYECTO PLANTA CULTIVADORA DE CHAMPIÑON; SAN BLAS MUNICIPIO DE TOLUCA, MEX. MARZO DE 1984.

T A B L A 2

CONSUMO PERCAPITA NACIONAL

ANO	POBLACION EN MILES DE HABITANTES	CONSUMO APARENTE EN TONELADAS	CONSUMO PERCAPITA EN GRAMOS
70	48,225	1,023.1	21
71	49,865	1,122.2	22
72	51,560	1,834.7	35
73	53,513	1,715.4	32
74	55,126	2,201.6	39
75	57,000	2,361.0	41
76	58,930	2,671.5	44
77	60,942	2,005.8	32
78	63,014	3,300.3	52
79	65,156	3,531.6	54
80	67,372	3,808.4	56
81	69,662	3,850.3	55
82	72,031	4,092.1	58

FUENTE: PROYECTO PLANTA CULTIVADORA DE CHAMPIÑON, SAN BLAS MUNICIPIO DE TOLUCA, MEX. CON DATOS OBTENIDOS DE LOS ANEXOS ESTADISTICOS DE LA SPF.

COMPOSICION QUIMICA PROMEDIO DE LOS HONGOS

COMPONENTE	%
A G U A	86-90
G R A S A S	0.2-0.3
P R O T E I N A S	2-5
C A R B O H I D R A T O S	4-5
F I B R A C R U D A	1.9
C E N I Z A S	0.2-1.9
TIAMINA, RIBOFLAVINA, PIRIDOXINA, ACIDO ASCORBICO, ERGOSTERINA, BIOTINA ACIDO PANTOTENICO, ACIDO FOLICO, NICOTINAMIDA.	-----

FUENTE: PROYECTO PLANTA CULTIVADORA DE CHAMPIÑON;
SAN BLAS, MUNICIPIO DE TOLUCA. MARZO DE 1984.

Según Oka y col., Agaricus bisporus contiene 60% de nitrógeno, del cual el 70% corresponde a aminoácidos y sus derivados. (19)

Todos los aminoácidos esenciales están contenidos en los hongos, además de algunos no esenciales y amidas. Del total de aminoácidos, un 35-45% lo compone aminoácidos esenciales - como se puede ver en la Tabla 4.†

El contenido de grasas promedio es de 2-8%; estas incluyen ácidos grasos libres, mono, di y triglicéridos, esteroides y fosfolípidos. En Agaricus bisporus, por ejemplo, una gran variedad de ácidos grasos libres y combinados con alta concentración existen el palmítico, esteárico, oléico y linoléico. Varias especies de hongos tienen alto contenido de esteroides, especialmente ergosterol, que puede existir en concentraciones de 0.2 a 270 mg/100 g de base seca.

Agaricus bisporus contiene pentosas (xilosa y ribosa), - hexosas (glucosa, galactosa y manosa), disacáridos (sacarosa), aminoazúcares (glucosamina y n-acetilglucosamina), además de otros compuestos ácidos como galacturónico, glucurónico. También contiene polímeros de carbohidratos como glucógeno, que sirve como energía almacenable y un polímero de la n-acetilglucosamina (quitina), el componente principal de la pared del hongo. (21)

Los hongos parecen ser buena fuente de vitaminas, incluyen do tiamina, riblofavina, niacina, biotina y ácido ascórbico.

† Según Chang (21) consideran a Cistina y Tirosina como esenciales, sin considerar a Arginina e Histidina, por lo que se hizo la corrección correspondiente.

T A B L A 4
COMPOSICION DE AMINOACIDOS EN Agaricus bisporus

AMINOACIDO	C O N T E N I D O	
	(mg por gramo de Nitrógeno Proteico Corregido)	
	(1)	(2)
Isoleucina +	366	200
Leucina +	580	329
Lisina +	527	400
Metionina +	126	41
Fenilalanina +	340	186
Treonina +	366	243
Triptófano +	143	91
Valina +	420	112
Arginina +	446	529
Histidina +	179	120
Cistina	71	47
Tirosina	286	171
Alanina	473	414
Ac. Aspártico	821	400
Ac. Glutámico	1107	629
Glicina	366	229
Prolina	366	457
Serina	393	243
Total de Aminoácidos Esenciales	3493	2251
Total de Aminoácidos	7376	4841
Porcentaje de Aminoácidos Esenciales	47	46

+ Aminoácidos Esenciales

(1) Food and Agriculture Organization (1970)

(2) Food and Agriculture Organization (1972)

Agaricus bisporus además contiene altas concentraciones de fósforo, sodio y potasio.

El estudio del presente trabajo, consiste en hacer un análisis comparativo del material empleado como cobertura en la producción de Agaricus bisporus, así como de las sustancias utilizadas para efectuar el ajuste del pH de dicho material.

Los objetivos planteados por la SARH, se verán alcanzados en la medida en que se incremente la producción bajo condiciones redituables para la Sociedad de Agricultores, dueños de dicha Planta.

El presente trabajo sólo se enfoca hacia la producción obtenida, sin hacer un estudio económico para el proceso, ni un análisis bromatológico al producto obtenido.

2.2) PLANTEAMIENTO

- 1.- Probar distintos materiales (tepojal, hojarasca y tierra turbosa) como cobertura en el cultivo de Agaricus bisporus para obtener una mayor producción.
- 2.- Observar el efecto del uso de carbonato de calcio e hidróxido de calcio en el ajuste del pH de la cobertura en relación con la producción de Agaricus bisporus.

3) RESUMEN

Por estudios anteriores, un cultivo de champiñones sólo presentaría una pequeña cantidad de éstos si no se realizara el paso de la cobertura en él; esto es debido a que hay un cambio en las condiciones físicas y químicas a las que se enfrenta el micelio, principalmente a condiciones cercanas a anaerobiosis. (5)(10)(11)

La capa de cobertura es el medio en el que el hongo --- puede pasar de la fase vegetativa a la reproductiva (3). El material utilizado para cobertura debe presentar un pH de -- 7.0-7.5 (14)(15). Al evolucionar el cultivo, el hongo puede producir diferentes productos ácidos, principalmente el ácido oxálico produciendo disminución en el pH. Para ajustar -- el pH del material de cobertura, se utiliza carbonato de calcio o hidróxido de calcio; se recomienda realizarlo con carbonato ya que se evitara la caída brusca del pH, situación -- que se presenta al usar hidróxido, con la consecuente disminución de la producción. (3)(15)

El material de cobertura debe tener la capacidad de absorber mucha agua, manteniendo siempre un ambiente húmedo -- sobre el cultivo, a éste respecto se recomienda que nuestro material contenga cierta cantidad de turba rubia o negra debido a su gran capacidad para retener el agua (la turba rubia pura de 200-250 del peso húmedo). (3)(9)(13)

Otra característica importante del material de cobertura es que debe ser porosa, con el fin de que permita que se lleven a cabo intercambios gaseosos entre el compost y el medio ambiente (principalmente de dióxido de carbono). (3)(5)

Se han utilizado algunos otros tipos de material para llevar a cabo la cobertura, como es el caso de la basura, -- que para aumentar la reacción y retención del agua se le adciona bentonita. (6)(8)

También se ha utilizado compost de cultivos anteriores (7), otros estudios reportan combinaciones probadas de turba con tierra caliza. (4)

De los materiales utilizados en la presente investigación se pudo observar que las combinaciones de 2 materiales produjeron un mayor rendimiento, siendo la más adecuada la compuesta por hojarasca y tierra.

Respecto al material utilizado para ajustar el pH de la cobertura, se obtuvo un mejor resultado para los lotes en -- los que se empleaba el carbonato de calcio.

4) MATERIAL Y METODOS

4.1) MATERIAL

Trigo

Botellas de leche de 1 litro

Mechero

Algodón

Sembrador

Guantes de Asbesto

Cubre bocas

Semilla de Agaricus bisporus (Madre) Sonycel C-459

Autoclave

Gasa

Zacate de Maíz

Paja de Trigo

Aditivo (alimento para ganado lechero de Productora
Agroindustrial Ejidal)

Urea de "Fertimex" (45% de Nitrógeno)

Estiercol de Caballo

Tierra Negra

Tierra Amarilla

Hojarasca

Tepojal

Vaso de Precipitados de 250 ml

Papel Indicador de pH

Varilla de Vidrio con Gendarme

Bolsas de Plástico de 70 cm de diámetro

Pasteurizadora

Báscula marca "Oken" de 10 Kg

Cubetas

Termómetro de -20°C . a 110°C

Palas

4.2) REATIVOS

Alcohol al 70%

Carbonato de Calcio precipitado de "CO₂ de México, S.A."

Sulfato de Calcio de "El Tigre"

Hidróxido de Calcio "Perla"

4.3) ESQUEMA DEL CULTIVO

Un esquema general de los pasos para el cultivo de ---- Agaricus bisporus se muestra en el Cuadro 3.

4.4) PREPARACION DE LA SEMILLA MADRE

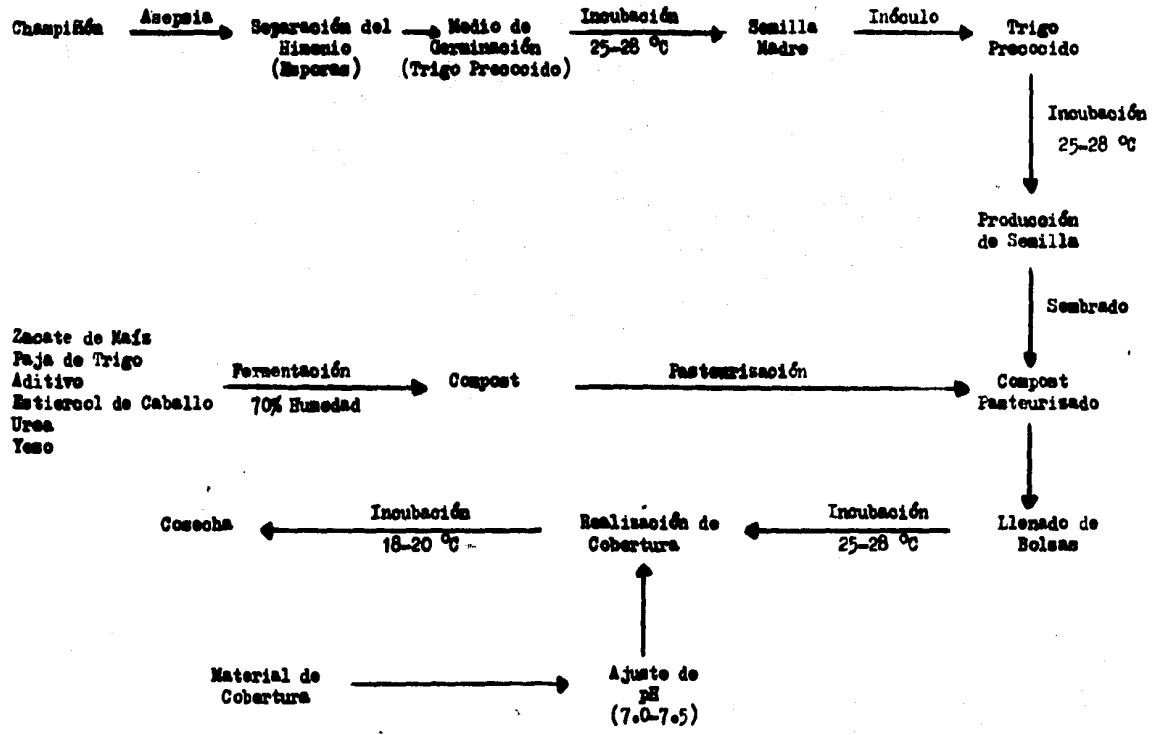
Para la preparación de la Semilla Madre, se seleccionan champiñones sanos y de tamaño grande, limpiándolos con alcohol como medida de asepsia y en condiciones estériles se pasa un fragmento del himenio (estructura del hongo en que se alojan las esporas) a botellas de leche conteniendo trigo con las mismas características del utilizado para la preparación del inóculo. Se incuba durante aproximadamente 14 días a una temperatura de 25-28°C, estando lista la semilla para preparar el inóculo.

4.5) PREPARACION DEL INOCULO

Primero se prepara trigo precocido (en agua ebullendo durante 15-20 min.), presentando entonces una humedad de aproximadamente 35%, se agregan 6 g de yeso más 1.5 g de carbonato de calcio por libra de grano húmedo, alcanzándose un pH de 7.5. Posteriormente, las botellas son llenadas hasta 3/4 de su capacidad (1/2 Kg de semilla), procediéndose luego a esterilizarlas en autoclave a 15 libras de presión durante 30 minutos.

Una vez esterilizado el trigo, se inocula cada botella con trigo ya invadido con micelio (semilla madre), esto ----

CUADRO 3
 PROCESO GENERAL PARA EL CULTIVO DE Aspergillus bisporus



obviamente se efectúa en condiciones estériles y con un sembrador de capacidad aproximada de 15 g. Luego se incuban a una temperatura de 25-28°C hasta que se vean invadidas por el micelio (aproximadamente 14 días). Después de esto, la semilla está lista para utilizarse en la inoculación del compost.

La cantidad de semilla utilizada fué de 1 Kg (2 botellas) por cada metro cuadrado de compost.

4.6) PREPARACION DEL COMPOST

El compost se preparó para toda la casa de cultivo. Comprende 2 fases; en los Cuadros 4 y 5 se muestra cada una de ellas.

Durante la primera fase, inicialmente se extienden 100 pacas de paja de trigo y 100 pacas de zacate de maíz de aproximadamente 20 Kg cada una; se moja hasta obtener una humedad aproximada del 70% (esta humedad se verifica cuando se toma un poco de material con la mano y al apretarlo escurre un hilo de agua) (22). Al siguiente día se checa la humedad mojándose si es necesario y se agregan 200 Kg de urea. A los 4 días siguientes, se forma un camellón de 2.5-3 m de ancho por 2 m de alto con la mezcla de zacate de maíz, paja de trigo y aproximadamente 30 m³ de estiércol de caballo previamente humedecido. Después de 3 días, se voltea y se agregan 500 Kg de alimento para ganado lechero, el cual, según formulación contiene un mínimo de 14% de proteína, se checa la humedad. Al pasar 3 días, se vuelve a voltear adicionándose

C U A D R O 4

FASE # 1 DE LA PREPARACION DEL COMPOST

DIA	ACTIVIDAD DESARROLLADA
1	PREMONTONAR. MOJAR
2	ADICIONAR UREA
3	
4	MOJAR ESTIERCOL DE CABALLO
5	MOJAR ESTIERCOL DE CABALLO
0	FORMAR CAMELLO
1	
2	
3	1a. VUELTA. ADICIONAR ADITIVO. CHECAR HUMEDAD
4	
5	
6	2a. VUELTA. ADICIONAR YESO. CHECAR HUMEDAD
7	
8	
9	3a. VUELTA. CHECAR HUMEDAD
10	LLENAR PASTEURIZADORA

CUADRO 5
FASE # 2 DE LA PREPARACION DEL COMPOST
(PASTEURIZACION)

DIA	TEMPERATURA (° C)
1	62/ 2 Horas (Peak Heat)
1	55
2	55
3	55
4	55
5	55
6	54
7	53
8	52
9	52
10	52
11	50
12	30

500 Kg de yeso y se ajusta nuevamente la humedad. Al día 15 de iniciado el proceso, se voltea por última vez, se ajusta la humedad y al siguiente día se llena la pasteurizadora.

El cuadro 5 muestra los pasos de la pasteurización. Al concluir la segunda fase, el compost debe de tener un pH de 7.3 a 7.5 y una humedad cercana al 56%. Bajo estas condiciones el compost esta listo para ser inoculado.

4.7) PREPARACION DEL MATERIAL DE COBERTURA

A) Tepojal

El tepojal es un tipo de arena usada en la construcción es un material de partículas muy porosas. Inicialmente se tamizó de las partículas muy grandes, una vez que presentaba cierta uniformidad en cuanto al tamaño, se le determinó el pH, siendo éste de alrededor de 6.0. Enseguida se ajustó el pH con Carbonato de Calcio, Hidróxido de Calcio y un tercer lote se usó sin llevar a cabo éste ajuste. El pH al cual se ajustó fué de aproximadamente 7.0. La determinación de todos los casos se hizo de la siguiente forma: se agregaba poco a poco el material de ajuste al material de cobertura, mezclándose perfectamente, se resuspenden cerca de 20 g de material en un vaso de precipitados con 20 ml de agua, determinándose entonces el pH a los 30 minutos con el papel indicador correpondiente. Dependiendo del valor obtenido, se sigue agregando Carbonato o Hidróxido hasta el valor adecuado de pH.(18)

B) Hojarasca

A este material también se le llama tierra para las macetas o tierra de monte; no es mas que la descomposición de las hojas de los árboles de los montes. Al igual que al tepo

jal, se le quitaron las hojas muy grandes hasta obtener un material uniforme en cuanto a su tamaño de partícula. Se le determinó el pH en estas condiciones, siendo de alrededor de 6.0. Se preparó un lote ajustando con Carbonato de Calcio, - otro con Hidróxido de Calcio y un tercero sin llevar a cabo este ajuste. Después de esto estuvo listo el material para efectuar la cobertura.

C) Tierra

La tierra utilizada para la cobertura es una mezcla de tierra amarilla-tierra negra en una proporción de 2:1. Esta tierra se caracteriza por contener una gran cantidad de turba (la negra aproximadamente 70 % y la amarilla 60%). Al igual que los otros materiales, éste presentaba un pH inicial de 6.0. Se realizó el ajuste de la misma forma que para los anteriores y estuvo lista para realizar la cobertura.

4.8) DISEÑO DEL EXPERIMENTO

El Cuadro 6 muestra los tipos de lotes de materiales probados.

La proporción en que fueron mezclados los lotes compuestos fué de 1:1 en volúmen.

Se debe hacer notar que el ajuste de pH para los lotes mixtos se hizo posteriormente a la preparación de la mezcla. Para cada lote probado, se utilizaron 100 Kg de compost (1 metro cuadrado) o sea 4 bolsas de cultivo. Cada lote se colocó en forma aleatoria en la casa de cultivo.

Después de 14 días de incubación a 25-28 °C del compost inoculado con el trigo invadido por el micelio, se llevó a cabo la cobertura con cada material, siendo el espesor de ésta de aproximadamente 3 cm.

Se continuó la incubación, regándose con regadera cada tercer día.

Al cabo de 18 días después de realizada la cobertura, empieza el período de cosecha, manteniéndose entonces una temperatura de 18-20 °C. La forma de cortar el champiñón es tomarlo por el sombrero y girarlo, se desprende un poco del micelio y material de cobertura en el pie, por lo que con un cuchillo se le cortan estos residuos. Durante este período del cultivo, había días en que no se cosechaba en ciertos lotes - debido a que era muy poco o nulo el champiñón listo para cortarse, estos champiñones deben presentar un desarrollo máximo pero permanecer aún cerrado su sombrero. Se llevó a cabo un registro del peso de champiñones obtenido para cada lote probado.

Una vez terminado el corte diario, se aseaban las bolsas cortando los residuos del pie de los champiñones cortados.

El período de cosecha duró 6 semanas.

C U A D R O 6

COMPOSICION DE CADA LOTE PROBADO Y MATERIAL DE AJUSTE DE pH EMPLEADO PARA CADA UNO DE ELLOS.

LOTE No.	C O M P O S I C I O N	M A T E R I A L D E A J U S T E D E p H
1	Tierra	Carbonato de Calcio
2	Hojarasca	Carbonato de Calcio
3	Tepojal	Carbonato de Calcio
4	Tierra	Hidróxido de Calcio
5	Hojarasca	Hidróxido de Calcio
6	Tepojal	Hidróxido de Calcio
7	Tierra	Sin Ajustar
8	Hojarasca	Sin Ajustar
9	Tepojal	Sin Ajustar
10	* Tierra + Hojarasca	Carbonato de Calcio
11	* Tierra + Tepojal	Hidróxido de Calcio
12	* Tierra + Hojarasca	Hidróxido de Calcio
13	* Tierra + Tepojal	Carbonato de Calcio
14	* Tierra + Hojarasca	Sin Ajustar
15	* Tierra + Tepojal	Sin Ajustar
16	* Tepojal + Hojarasca	Carbonato de Calcio
17	* Tepojal + Hojarasca	Hidróxido de Calcio
18	* Tepojal + Hojarasca	Sin Ajustar

* La relación probada fué de 1:1 en volúmen.

5) RESULTADOS Y DISCUSION

Los pesos obtenidos para cada lote probado, se muestran en la Tabla 5. Observando ésta, nos podemos dar cuenta que sin considerar el tipo de material de cobertura, obtenemos un mayor rendimiento cuando usamos carbonato de calcio para efectuar el ajuste del pH de dicho material.

En el caso de la tierra, que es el tipo de material utilizado como cobertura en la Planta donde se realizó la investigación, se obtienen rendimientos mayores ajustando con carbonato de calcio (más de 1 Kg/m^2) que para la tierra sin tratar o usando hidróxido de calcio que es con lo que se ajusta regularmente en la Planta.

En la Tabla 6, se muestra el peso total obtenido para cada material probado, sin tomar en cuenta el material usado para llevar a cabo el ajuste del pH. Como podemos observar, se obtienen rendimientos más altos al probar dos materiales juntos, a excepción de la mezcla tepojal-hojarasca.

La producción mas baja en éste caso, fué para el tepojal, una de las razones es que durante la cosecha al hacer el corte del champiñón, se desprendían muchos de tamaño chico debido a que por su consistencia arenosa, no se compacta lo suficiente, para solo permitir el desprendimiento del champiñón sobre el que se ejerce la fuerza.

Para la elaboración de las Tablas 5 y 6, se tomó en cuenta el peso total obtenido, sin considerar alguna posible anomalía organoléptica como color, forma, apariencia, etc. Los únicos lotes que presentaban ciertas diferencias eran los compuestos por hojarasca solamente, ya que la mayoría de champiñones producidos en estos, eran abiertos del sombrero y de pie -

T A B L A 5

RELACION DE PRODUCCION OBTENIDA PARA CADA LOTE DURANTE
 TODO EL PERIODO DE COSECHA (6 SEMANAS).
 EXPRESADO EN GRAMOS.

MATERIAL	Ca(OH) ₂	CaCO ₃	CONTROL
Hojarasca Tierra	18,310		
Hojarasca Tierra			18,015
Tierra		15,610	
Hojarasca Tierra		15,385	
Tepojal		15,380	
Tepojal Tierra		15,320	
Hojarasca			15,075
Tepojal Hojarasca		14,795	
Tepojal Tierra	14,615		
Tepojal Tierra			14,460
Tierra			14,395
Tierra	14,080		
Hojarasca	14,075		
Tepojal Hojarasca	13,625		
Hojarasca		13,190	
Tepojal Hojarasca			12,725
Tepojal	11,890		
Tepojal			11,620
	86,595	89,680	86,290

T A B L A 6

MATERIAL	Ca(OH) ₂	CaCO ₃	CONTROL	PESO TOTAL
Hojaraaca Tierra	18,310	15,385	18,015	51,710
Tepojal Tierra	14,615	15,320	14,460	44,395
Tepojal Hojaraaca	13,625	14,795	12,725	41,145
Tierra	14,080	15,610	14,395	44,085
Hojaraaca	14,075	13,190	15,075	42,340
Tepojal	11,890	15,380	11,620	38,890

PRODUCCION OBTENIDA PARA CADA MUESTRA DURANTE LAS 6 SEMANAS
DE COSECHA SIN CONSIDERAR MATERIAL DE AJUSTE DE pH EXPRESADO
EN GRAMOS.

muy largo y delgado. La razón de este hecho, es probablemente a que como sabemos, en este tipo de material, existen gran cantidad de parásitos e insectos, y como no se realiza desinfección en la Planta al material de cobertura, alguno de estos microorganismos pudo haber afectado al hongo.

6) CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De acuerdo a la Tabla 5, podemos concluir que el empleo de carbonato de calcio, para ajustar el pH de la cobertura aumenta la producción del champiñón estando de acuerdo éste hecho con lo ya esperado.

Otro aspecto importante que se pone de manifiesto en este estudio, es que usando una mezcla de materiales, cada uno de características diferentes, pero importantes para el cultivo del champiñón, por ejemplo, la hojarasca y la tierra, en la cual la hojarasca permite un intercambio gaseoso mayor entre el compost y el medio ambiente y la tierra que debido a sus características de retención de agua, va a mantener un ambiente húmedo en la cobertura, aspecto muy importante dentro del cultivo.

El uso del tepojal solamente, pone de manifiesto cuan importante es que el material de cobertura utilizado cumpla con el máximo de características requeridas ya que como podemos ver para éste material se obtuvo una producción muy baja debido a que efectivamente permite un gran intercambio gaseoso pero su capacidad de retención de agua es casi nula, de ahí su bajo rendimiento.

Es interesante asimismo observar como no hay prácticamente diferencia en la producción obtenida ajustando pH con hidróxido de calcio y sin ajustarlo. Esto debemos tomarlo muy en cuenta para poder decidir entre ajustar el pH con cal o no ajustarlo, ya que la diferencia en la producción es mínima a cambio de poder ahorrar tiempo y dinero en llevar a cabo ésta operación. En el caso de la tierra, este hecho es aplicable ya que es el material utilizado en la Planta y se lleva a cabo el ajuste con el hidróxido de calcio.

En la Tabla 6, se comprueba la importancia de la microflora presente en el material de cobertura, ya que en donde existen estos microorganismos (tierra y hojarasca), la producción es mayor que para el tepojal donde no existe esta microflora.

Como ya se indicó anteriormente y según datos mostrados en las Tablas 1 y 2, es promisorio el futuro del cultivo del champiñón, existiendo una demanda que antiguamente no existía, habiendo necesidad de importar.

A manera de recomendaciones, se debe mencionar primeramente que para que la producción del champiñón ocupe un lugar importante dentro del campo alimenticio de México, es necesario seguir estudiando el proceso de cultivo, con lo cual se irá mejorando la tecnología, encaminando ésta al mismo tiempo a las zonas rurales, lo cual facilitaría más este cultivo ya que en estas zonas los insumos necesarios se encuentran en mayor disponibilidad.

También cabe mencionar que el campo de investigaciones posteriores es amplio, ya que se puede estudiar desde otras alternativas de sistemas de cultivo hasta realizar estudios bromatológicos del champiñón y relacionarlo con aspectos nutricionales dado que, como ya sabemos, esto se ve grandemente influenciado con el medio sobre el que se va a producir el Agaricus bisporus; es decir hacer estudios de presencia y porcentaje de los aminoácidos esenciales y no esenciales, por ejemplo.

Otras investigaciones pueden ser referentes al valor biológico, es decir estudios de asimilación de proteínas, carbohidratos, etc., presentes en este alimento, ya que pudieran contener un alto índice de aminoácidos esenciales, pero que estas proteínas fueran difíciles de metabolizar.

7) APENDICE

La nomenclatura ha causado mucha confusión en la literatura publicada. Lange describió la forma de dos esporas como Psalliota hortensis, pero fué renombrada como Agaricus bisporus (Lange) Sing por el Congreso Internacional en Paris en 1954.

Singer distingue tres variedades conocidas como:

- a) Bisporus, de pileo (sombrero) café, raramente cultivado
- b) Avellaneus, de pileo café pálido y corresponde a la variedad café en el cultivo
- c) Albidus, con pileo blanco en la etapa joven, cambiando a color crema al madurar; esta variedad corresponde a la variedad crema en el cultivo.

El Agaricus bisporus es un basidiomiceto cuya característica principal es la de poseer dos esporas binucleadas en cada basidio, la condición ocurre como un resultado directo de la formación de la pared celular en las células multinucleadas.

El ciclo de vida típico de los basidiomicetos, consiste de 9 etapas, las cuales se mencionan a continuación:

- 1) Germinación de una basidiospora iniciando el desarrollo de
- 2) Micelio haploide homocariótico conteniendo núcleos genéticamente idénticos y capaces de propagarse independientemente y en forma indefinida. El micelio puede o no tener un ciclo de vida asexual por medio de producción de oidias (esporas formadas por el alargamiento de ramas de hifas cortas) o clamidiosporas (formadas por el redondeamiento de las células de la hifa).
- 3) Combinación entre dos micelios homocarióticos incompatibles a través de la fusión (plasmogamia) estableciéndose:
- 4) El micelio fértil, el cual es generalmente especializado, -

conocido como dicarión. Este es capaz de propagarse independientemente e indefinidamente y puede o no tener ciclo sexual por medio de la producción de oidias o clamidiosporas. Si las esporas asexuales son producidas y mononucleadas, el micelio homocariótico de los tipos padres, es regenerado; si las esporas asexuales son binucleadas, el dicarión es regenerado.

5) Bajo influencias ambientales apropiadas, se produce el cuerpo frutal como nacimiento del tejido especializado.

6) El tejido portador de las esporas del cuerpo frutal, desarrolla una columna de formas celulares binucleadas al extremo del basidio.

7) Fusión de los núcleos apareados de los dos tipos padres combinados, que es la cariogamia, estableciéndose los núcleos diploides en un estado unicelular.

8) La meiosis se presenta inmediatamente, durante la cual el material genético de los progenitores, se recombina y se segrega. Cada uno de los 4 núcleos haploides resultantes, se dirigen hacia la punta de la estructura troncal, el esterigma, en el basidio para formar una basidiospora. Típicamente 4 esporas uninucleadas se forman en cada basidio.

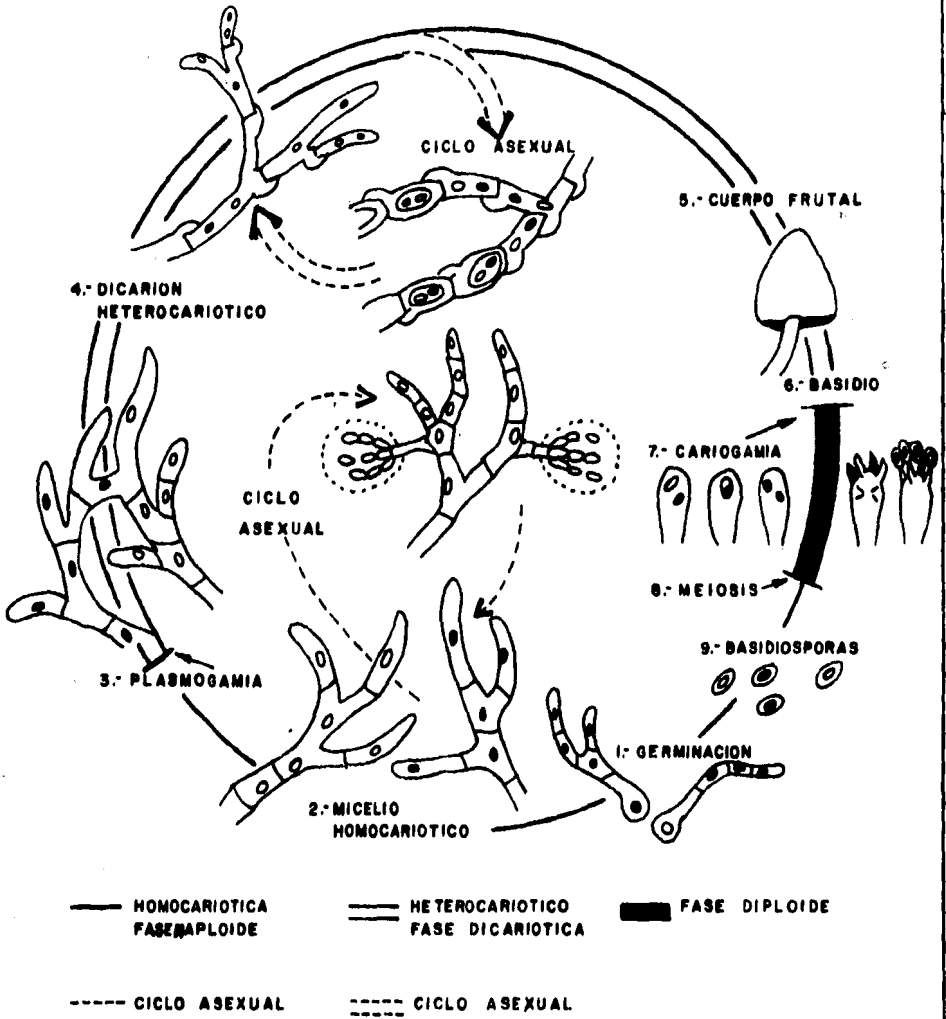
9) Las esporas son descargadas. La división mitótica de los núcleos precede a menudo la germinación de las basidiosporas, punto en el cual el ciclo de vida es reiniciado.

El ciclo de vida de los basidiomicetos se ilustra en la Fig. No 2

La formación de dos esporas binucleadas en cada basidio, es el patrón normal de desarrollo de Agaricus bisporus, aunque ocasionalmente un basidio puede contener más de dos esporas.

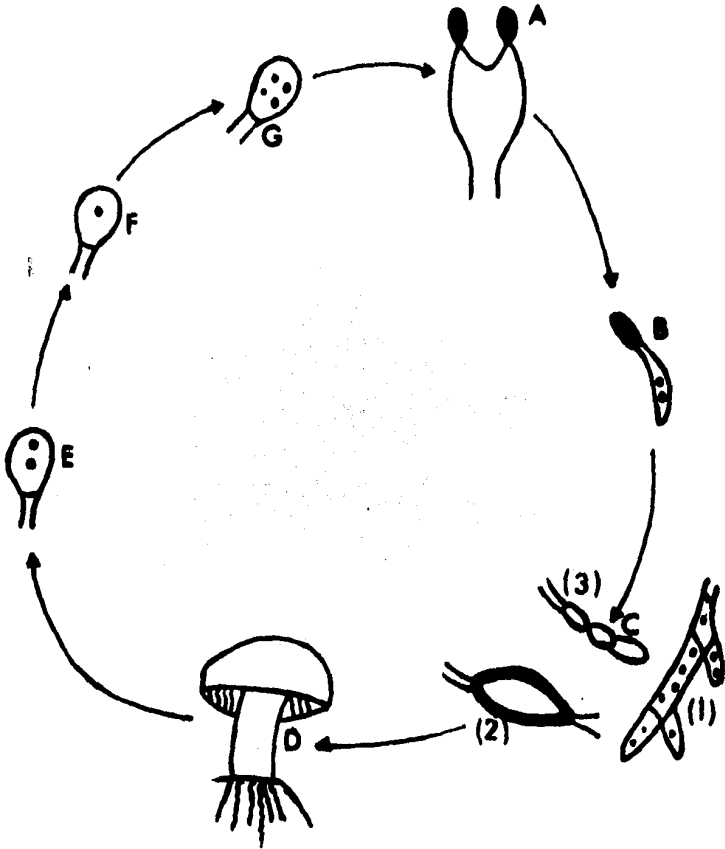
La Fig. No 3 muestra los diferentes estadios morfológicos del ciclo de vida del Agaricus bisporus.

FIGURA 2



CICLO DE VIDA DE LOS BASIDIOMICETOS

FIGURA 3



CAMBIOS MORFOLOGICOS EN EL CICLO DE VIDA DEL AGARICUS BISPORUS

A, dos esporas binucleadas en el basidio. B, espora germinando. C, estructuras vegetativas (1) células multinucleadas (2) esporas secundarias (3) clamidiospora. D, cuerpo frutal sosteniendo el himenio y basidio. E, célula binucleada a desarrollarse dentro del basidio. F, célula diploide después de la fusión de núcleos. G, meiosis en la cual aumenta a 4 núcleos, dos para cada espora.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Garret, S.S.
"Soil fungi and soil fertility"
Pergamon Press.1981
- 2.- Singer, R.
"Las setas y las trufas"
Compañía Editorial Continental, S.A.1964
- 3.- Vedder, P.J.C.
"Cultivo Moderno del Champiñón"
Ediciones Mundi-Prensa.1979
- 4.- Yurchuk, E.G.
"Qualitative composition of the casing material and its effect on mushroom production"
Sec Jnl Source: Referativnyi Zhurnal (1982) 12.55.400
- 5.- Vervoot, L.; Swinkels, H.A.; Visscher, H.R.
"Production of ethylene by mushroom mycelium and its microsymbiont in mushroom casing soil"
Acta Botánica Neerlandica, 1982, 31,3, 244-245
- 6.- Lelley, J.; Hasuc, A.; Ernst, A.A.; Stumpfheldt, W.
"Final investigations on the possible use of town compost as a casing material in mushroom growing"
Champignon, 1980, No.223 15, 18-20
- 7.- Garcha, H.S.; Kalra, K.L.; Sekhon, A.
"Mushroom cultivation in the Punjab State"
Journal of Research, India. 1979, 16, 3, 324-329
- 8.- Lelley, J.; Hasuk, A.; Ernst, A.A.; Stumpfheldt, W.W.
"Investigations on municipal waste compost as practicable substitutes for peat in the production of mushroom casing material" Champignon, 1979, No. 212, 10-24

9.- Lemke, G.

"Mushroom yield after benlate treatment using casin layers with differing peat content."

Mushroom Science, 1977, 9, 145-156

10.- Visscher, H.R.

"The structure of the casing medium and its influence on yield"

Mushroom Journal, 1975, No 28, 120-126

11.- Nair, N.G.; Hayes, W.A.

"Some effects of casing soil amendments on mushroom cropping"

Australian Journal of Agricultural Research, 1975
26, 1 181-188

12.- Overstijns, A.; Bockstaele, L.

"The optimal time of casing for the commonly cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*)"

Champignoncultuur, 1975, 19, 2 55-59

13.- Kim, D.S.

"Effects of the physical and chemical properties of casing materials on the mycelial growth and yield of cultivated mushrooms, *Agaricus bisporus*"

Science, Fertilizer, Plant Protection & Micrology,
1974, 16, 73-78

14.- Visscher, H.R.

"Casing soil, "The tradition" and the research"

Champignon cultuur, 1974, 18, 7, 227, 229, 233, 235

- 15.- Park, W.M.; Kim, D.S.; Park, Y.H.; Kwack, B.H.
 "The effect of the casing soil's pH and of calcium on the mycelial growth and yield of *Agaricus bisporus*"
 Korean Journal of Plant Protection, 1971, 10, 1, 59-62
- 16.- Gramss, G.
 "Fruiting in Higher Fungi 3. Manure inhabiting and soil inhabiting basidiomycetes"
 Z Mykol, 46(2), 1980 (recd. 1981), 221-232
- 17.- Millar, C.E.; Turck, L.M. Foth. H.D.
 "Fundamentos de la ciencia del suelo"
 Compañía Editorial Continental, 1971, Pags: 169-187
 225-231
- 18.- Ulloa, Miguel; T.Hanlin Richard.
 "Atlas de Micología Básica" 1978; Pag.9
- 19.- Oka, Yoshiko; Hideaki, Tsuji; Tadashi, Ogawa; Kei, Sasaoka.
 "Quantitative determination of the amino acids and their derivatives in the common edible mushroom, *Agaricus bisporus*"
 J. Nutr. Sci. Vitaminol 1981, 27(3), 252-262
- 20.- Guzman, G.
 "Identificación de los hongos"
 Edit. Limusa, 1979, Pags. 18-23
- 21.- Chang, S.T.; Hayes, W.A.
 "The biology and cultivation of edible mushrooms"
 Academic Press New York, San Pco., London. Pgs. 191-215 1978
- 22.- Vedder, P.J.C.
 "Cultivo moderno del champiñón"
 Ediciones Mundi-Prensa, 1979

- 23.- Stoller, B.B.
"Mushroom Science", 1962, 5, 170
- 24.- Stanek, M.
"Mushroom Science", 1972, 8 797
- 25.- Haynes, W.A.; Nair, N.G.
"Mushroom Science, 1976, 9, 245
- 26.- Treschow, C.
"Dan. Bot. Ark." 1944, 1 61
- 27.- Flegg, P.B.
"Mushroom Science", 1962, 5, 300
- 28.- Hein, I.
"Am. J. Bot.", 1930, 17, 197
- 29.- Flegg, P.B.
"Mushroom Science", 1965 6, 359
- 30.- Mathews, K.T.
"Morphogenesis of mycelial strands in the cultivated
mushroom *Agaricus bisporus*"
"Trans Br Mycol Soc, 1961, 44, 285-290
- 31.- Wood, D.A.
"Primordium formation in Axenic Cultures of *Agaricus
bisporus* (Lange) Sing"
Journal of General Microbiology, 1976, 5, 313-323
- 32.- Jodon, M.H.; Royse, D.J.; Schisler, L.C.
"Effects of high temperature after casing on mushroom
production"
Can. J. Bot., 1981, 59, 735-741

- 33.- Michalenko, G.O.; Hohl, H.R.; Rast, Dora.
"Chemistry and Architecture of Mycelial Wall of
Agaricus bisporus"
Journal of General Microbiology, 1976, 92, 251-262
- 34.- Loveday, J.
"Recognition of gypsum-responsive soils"
Aust. J. Soil Res., 1974, 25, 87-96
- 35.- Nair, N.G.; Hayes, W.A.
"Some effects of casing amendments on mushroom cropping"
Aust. J. Agric. Res., 1975, 26, 181-188
- 36.- Louis C.C. Krieger
"The mushroom Handbook"
Dover Publications Inc. New York 1967