

CULTIVO DE *PLEUROTUS OSTREATUS* SOBRE DESECHOS AGRICOLAS. I. OBTENCION Y CARACTERIZACION DE CEPAS NATIVAS EN DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO SOLIDO EN EL LABORATORIO¹

Daniel Martínez

Resumen

Martínez, D. (Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Apartado postal 63, Xalapa, Ver. México). *Cultivo de Pleurotus ostreatus sobre desechos agrícolas. I. Obtención y caracterización de cepas nativas en diferentes medios de cultivo sólido en el laboratorio*. Biotica 9(3):243-248. 1984. — Se aislaron 10 cepas de *Pleurotus ostreatus* colectadas en dos tipos de sustratos: bagazo de café y madera en descomposición de diversas plantas, entre ellas *Ricinus*, *Bursera* y *Yucca* de la región de Xalapa, Veracruz. Cuatro de ellas se estudiaron y caracterizaron en diferentes medios de cultivo sólido y bajo tres condiciones. 1) Incubación a 29°C en oscuridad. 2) Desarrollo en medio ambiente con temperatura de laboratorio y luz normal, y 3) Incubación a temperatura del ambiente en oscuridad. Se observó el mejor desarrollo de las cepas en el medio de agar con extracto de malta.

Palabras clave: *Pleurotus ostreatus*, café, *Ricinus*, *Bursera*, *Yucca*, desechos agrícolas.

Summary

Martínez, D. (Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Apartado postal 63, Xalapa, Ver. México). *Pleurotus ostreatus cultivation on agricultural wastes. I. Isolation and characterization of native strains in different solid media in the laboratory*. Biotica 9(3):243-248. 1984. — Ten native strains of *Pleurotus ostreatus* were isolated from two different substrates: coffee bagasse and wood rot of *Ricinus*, *Bursera* and *Yucca* from the Xalapa region, state of Veracruz (Mexico). Four of them were characterized in four different media in three conditions: 1) Incubation at 29°C in darkness, 2) Development in environmental laboratory conditions with normal light and temperature, and 3) Incubation at room temperature in darkness.

Key words: *Pleurotus ostreatus*, coffee, *Ricinus*, *Bursera*, *Yucca*, agriculture wastes.

INTRODUCCION

Pleurotus ostreatus (Fr.) Kumm. es un hongo comestible, que está siendo estudiado ampliamente a nivel mundial desde diversos puntos de vista y actualmente su cultivo industrial y semiindustrial recibe mucha atención, debido a su habilidad para crecer sobre residuos de carácter lignocelulósico, como son una gran variedad de desechos agrícolas, tal como lo han hecho ver Zadrazil y Kurtzman (1982) y Kurtzman y Zadrazil (1982).

Sin embargo, para que su cultivo se haga extensivo hacia los demás países subdesarrollados,

que cuentan con una enorme disponibilidad de estos subproductos agrícolas, es necesario incrementar el estudio de las cepas nativas y adaptarlas al cultivo. Hasta ahora, se ha prestado poca atención a las cepas de *Pleurotus ostreatus* de origen tropical, ya que mayor énfasis se ha puesto en aquellas originarias de Europa y E.U.A., por haberse desarrollado y optimizado la técnica de su cultivo en tales regiones.

En México, los estudios de cepas nativas de *P. ostreatus* no se han llevado a cabo anteriormente, de no ser los trabajos de Hirata y Cuesta-Marín (1982) en la SARH y de Guzmán e Hirata (1982) en el IPN sobre *P. ostreatus* y *P. smithii* Guzmán.

¹ Investigación financiada por el Departamento de Recursos Naturales de la Dirección Adjunta de Desarrollo Científico de CONACYT, por medio del Convenio BID-CONACYT, (PCECBNA-020353), Proyecto Micología del INIREB, desarrollada por el autor en colaboración con G. Guzmán. Este trabajo, modificado y ampliado, formó parte de la tesis que presentó el autor para obtener la licenciatura en la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Veracruzana, Xalapa, Ver. Se presentó, en parte, durante el Primer Congreso Nacional de Micología, octubre de 1983, Xalapa, Ver., en colaboración con A. López.

Por otra parte, Leal-Lara *et al.* (1982) estudiaron cepas extranjeras de *P. ostreatus* en la UNAM y la Compañía de Hongos de México, S. A., en Cuajimalpa, D. F. ha iniciado un cultivo de *P. ostreatus* usando también cepas extranjeras.

Materiales y Métodos

Se aislaron un total de 10 cepas de *Pleurotus ostreatus* (Cuadro 1), 2 de origen vegetativo y 8 de origen multiespórico. Los carpóforos fueron colectados en la región de Xalapa, Ver., sobre bagazo de café y madera podrida y troncos de diversas plantas como *Yucca*, *Bursera*, *Ricinus*. Para los aislamientos de carácter vegetativo, se tomaron pequeños fragmentos del contexto del hongo y se inocularon en medio de cultivo sólido de agar con extracto de malta.

En el caso de aislamientos multiespóricos, se obtuvieron primeramente esporadas en papel filtro a partir de especímenes frescos; posteriormente se hicieron diluciones en agar con extracto de malta y se incubaron a 29°C. Todos los carpóforos colectados en el campo se determinaron tanto macro como microscópicamente y muestras herborizadas se encuentran depositadas en el Herbario XAL del INIREB.

Una vez lograda la obtención de las cepas, se escogieron 4 de ellas que corresponden a los números 1, 2, 3 y 4 del Cuadro 1, y se estudió su comportamiento macro y microscópico en cuatro medios de cultivo sólido en el laboratorio: 1) agar con extracto de malta (AEM) (Bioxon); 2) agar con dextrosa Sabouraud (S) (Bioxon); 3) harina de maíz agar (HMA) (Difco); y 4) papa dextrosa agar (PDA) (Bioxon).

Las cepas se sometieron a tres condiciones diferentes: I) incubación a 29°C en obscuridad; II) desarrollo en medio ambiente con temperatura de laboratorio y luz normal (12 hrs. de luz y 12 hrs. de obscuridad aproximadamente); y III) obscuridad diaria completa. La temperatura de incubación antes mencionada, está considerada como óptima para el crecimiento de las cepas obtenidas. Todo el experimento se llevó a cabo por quintuplicado en cada uno de los casos.

El estudio microscópico se basó en preparaciones montadas en KOH 10%, del micelio de la parte periférica, media y central de las cajas de petri (del micelio aéreo y sumergido de cada una de las colonias).

La velocidad de crecimiento se expresó determinando el número de milímetros avanzados diariamente (cada 24 hs.) por la colonia, a partir del inóculo (6 mm) colocado en la parte central de la caja de petri (90 mm de diám.).

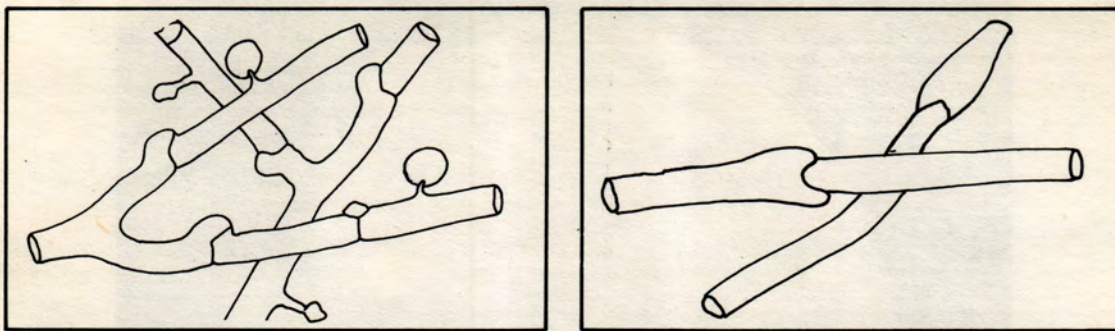
Resultados

Se obtuvieron un total de 10 cepas diferentes (Cuadro 1), cada una de las cuales procede de diferentes lugares así como de substratos. Se escogieron las cuatro primeras cepas (dos de origen vegetativo y dos de origen multiespórico) para llevar a cabo el presente estudio. En general las cepas variaron, en lo relativo a la textura, densidad, color y velocidad de crecimiento dependiendo el medio empleado, así como respecto de las condiciones seguidas.

La marcha de la temperatura durante el experimento para la condición I y II osciló con una máxima de 25-34°C y una mínima de 11-16°C. La condición de I redundó en una mayor densidad de las colonias en cada uno de los medios, siendo en HMA donde se observó el crecimiento menos denso de las colonias.

En el medio AEM las colonias fueron blanquecinas, con textura aterciopelada, densas con crecimiento aéreo; en el S, amarillentas de textura algodonosa, densa y con abundante crecimiento aéreo; en PDA resultaron amarillas con textura aterciopelada irregular, más o menos densas y con crecimiento aéreo irregular; en HMA, fueron blancas, de escasa densidad y poco crecimiento aéreo.

Las fructificaciones normales de las cepas sólo se presentaron en las condiciones del medio ambiente natural en todos los medios (Fig. 6), excepto en HMA; es decir, sólo donde el factor luz estuvo presente las fructificaciones tuvieron diferenciación de píleo, estípites, himenio (láminas) y alcanzaron a esporular. En HMA, bajo la luz, sin embargo, sólo se observaron agregaciones hi-



FIGURAS 1-2. 1. Conidios binucleados simples y fíbulas en medio de papa dextrosa agar. 2. Septos ampulados en las hifas en medio de harina de maíz agar.

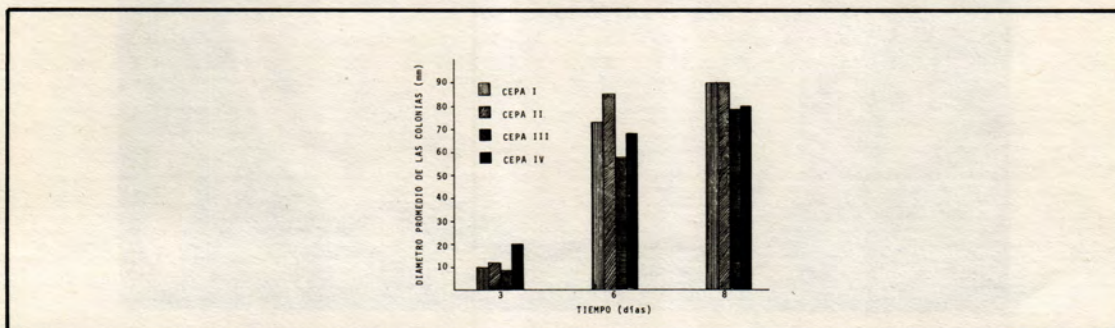


FIGURA 3. Máxima velocidad de crecimiento de las colonias en medio de agar con extracto de malta, incubación en oscuridad a 29°C.

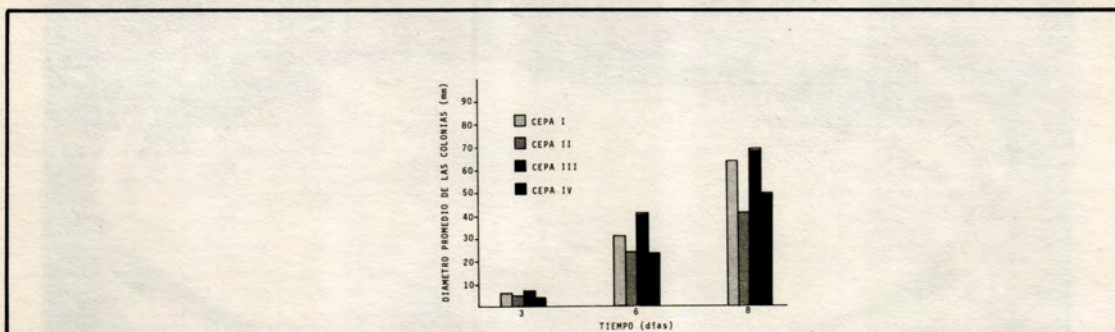


FIGURA 4. Mínima velocidad de crecimiento de las colonias en medio de papa dextrosa agar.

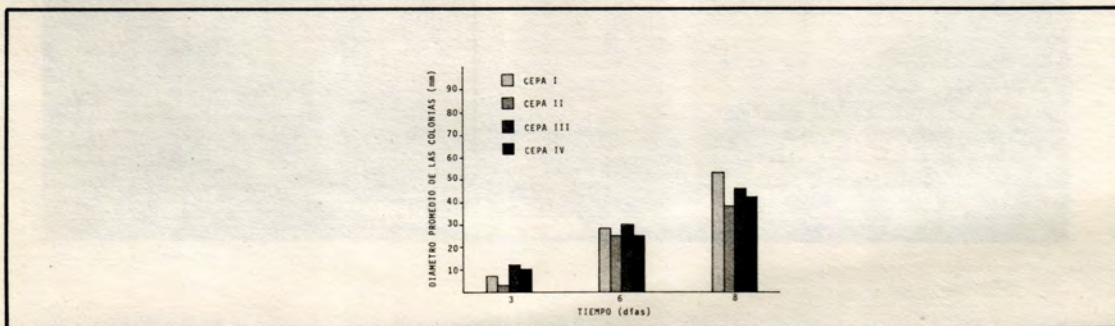
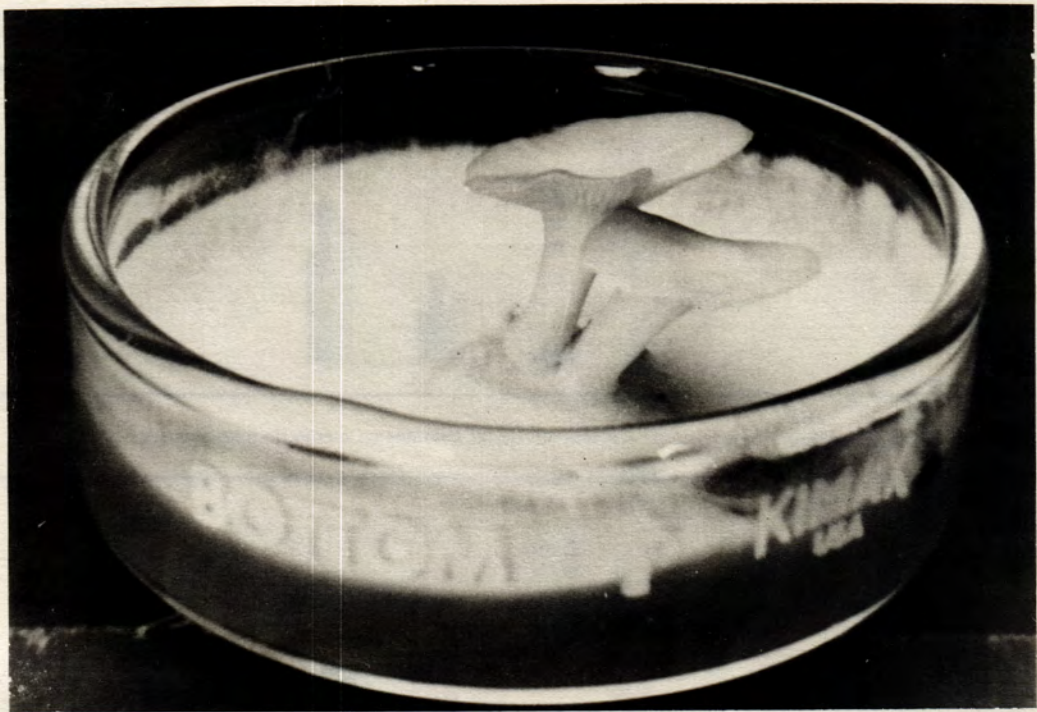
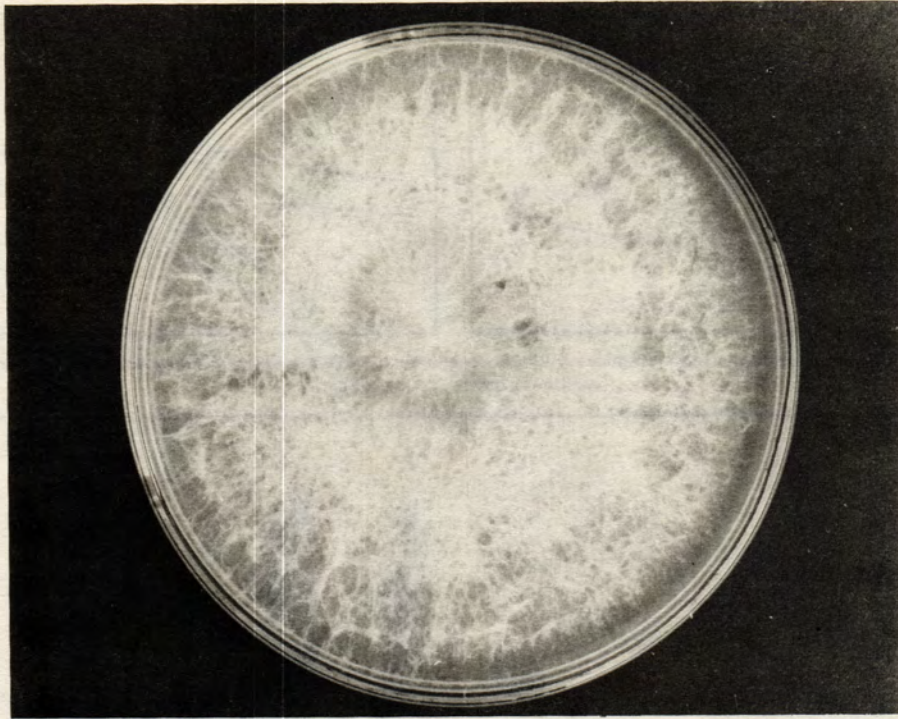


FIGURA 5. Desarrollo de las cepas estudiadas. Las cepas 1 y 3 mostraron mayor velocidad de crecimiento.



FIGURAS 6-7. Desarrollo de la cepa 1 en el medio agar con extracto de malta en las cajas de petri. 6. Nótese la textura algodonosa de la cepa a los 8 días de crecimiento en condición incubación a 29°C. 7. Fructificaciones en condición medio ambiente en el laboratorio.

CUADRO 1.
NUMERO Y ORIGEN DE CEPAS DE *P. OSTREATUS* OBTENIDAS EN ESTE ESTUDIO

Número de cepa	Origen	Substrato en el que fue colectado	Registro
1	Vegetativo	Bagazo de café	Martínez 243
2	Vegetativo	Bagazo de café	Martínez 249
3	Multiesporica	Bagazo de café	Martínez 254
4	Multiesporica	Bagazo de café	Martínez 258
5	Vegetativo	Bagazo de café	Martínez 259
6	Vegetativo	Madera en descomposición de árboles diversos	Martínez 267
7	Vegetativo	Troncos podridos de <i>Ricinus comune</i>	Martínez 268
8	Vegetativo	Troncos podridos de <i>Bursera simaruba</i>	Martínez 270
9	Vegetativo	Troncos podridos de <i>Bursera simaruba</i>	Martínez 271
10	Vegetativo	Troncos podridos de <i>Tucca elephantipes</i>	Martínez 279

fales esféricas que no alcanzaron a diferenciarse y que generalmente se observaron en la parte periférica de la colonia.

En lo que se refiere a la velocidad de crecimiento, ésta varió respecto del medio y la condición estudiada. La incubación estimuló la velocidad de crecimiento notablemente en cada uno de los medios para cada una de las cepas. La máxima velocidad de crecimiento se obtuvo en la condición I en AEM (Fig. 3), mientras que la mínima en PDA, pero en condición II (Fig. 4). Las cepas 1 y 3 mostraron mayor velocidad de crecimiento que las restantes, en la mayoría de las condiciones y medios empleados (Fig. 5).

A nivel microscópico se presentaron fundamentalmente dos tipos de hifas; unas gruesas de 3.6-8.4 (-10.6) μm y otras delgadas de 1.0-2.9 μm , ambas de pared delgada. Se observó un engrosamiento irregular de las hifas en HMA, así como la formación de septos ampulados (Fig. 2).

En lo que respecta a las fíbulas, en el Cuadro 2 se muestran los datos sobre la frecuencia relativa de las mismas en cada uno de los medios. En AEM se observaron fíbulas prácticamente en cada septo, tanto en hifas gruesas como delgadas. En S la fibulación también fue abundante, presentando fíbulas cada dos o tres septos en las hifas gruesas en la condición II y III. En PDA la fibulación fue abundante y en HMA las fíbulas fueron escasas; sin embargo, en este último, tales dicariones fueron inoculados nuevamente en AEM recuperando su fibulación abundante. Es importante también indicar el hecho de que pre-

dominaron fíbulas en las hifas gruesas y que su proporción fue menor en las delgadas.

La presencia de conidios binucleados simples, registrados por Kaufert (1935) y Hilber (1982) en cepas de *Pleurotus*, fue también detectada en las cepas estudiadas. Estos son de 10-13 μm de altura (Fig. 1) y en cada una de las cepas se observaron en mayor proporción en los medios de PDA y HMA. Los conidios se presentaron tanto en hifas gruesas como delgadas.

Discusión

El AEM y S resultaron ser los mejores medios de cultivo, de los cuatro empleados. La cepa 1 (Fig. 7) fue la que mostró la mejor expresión de desarrollo. En ninguno de los casos se observó la presencia de clamidosporas.

Todas las fructificaciones sólo se observaron en la condición de medio ambiente, lo que da una idea clara de la importancia de este factor en la iniciación y desarrollo de la fructificación, lo cual ya ha sido demostrado por Eger *et al.* (1974) y Eger (1980).

Agradecimientos

El autor expresa su agradecimiento al Dr. Gastón Guzmán, Director Adjunto del Programa Flora de México y Jefe del Proyecto de Cultivo de Hongos del INIREB, por la revisión crítica del texto y sus sugerencias. Al Biólogo A. López se le dan las gracias por la dirección que realizó a este trabajo en la Universidad Veracruzana.

CUADRO 2.
ALGUNAS CARACTERÍSTICAS PRESENTADAS POR LAS CEPAS EN LOS DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO
Y CONDICIONES ESTUDIADAS

Medio de cultivo	Condición	Frecuencia de fíbulas	Frecuencia de conidios binucleados simples	Color de la colonia
Agar con extracto de malta	Incubación (29°C) Medio ambiente Obscuridad	Muy abundante	Escasa	Blanquecina
Agar de dextrosa Sabouraud	Incubación (29°C) Medio ambiente Obscuridad	Muy abundante Abundante	Escasa Abundante	Crema a ligeramente amarillenta
Papa dextrosa agar	Incubación (29°C) Medio ambiente Obscuridad	Abundante	Abundante	Amarillo intenso
Harina de maíz agar	Incubación (29°C) Medio ambiente Obscuridad	Escasa	Abundante	Blanquecina

BIBLIOGRAFÍA

- EGER, G., GOTTWALD, H. D. & VON NETZER U., 1974. The action of light and other factors on sporophore initiation in *Pleurotus ostreatus*. *Mushrooms Sci.* 9 (1): 575-583.
- EGER, G., 1980. Blue-Light photomorphogenesis in mushrooms (Basidiomycetes). In: H. Sengel (Ed.) *The blue-light syndrome*. Springer-Verlag, Berlin pp. 555-562.
- GUZMAN, G. & HIRATA, R., 1982. Perspectivas sobre el cultivo de los hongos comestibles en los trópicos de México. 1er. Congr. Nal. Mic. (Resúmenes), Xalapa, Ver., México.
- HILBER, O., 1982. *Die Gattung Pleurotus*. Cramer, Vaduz. 448 p.
- HIRATA, R. & CUESTA-MARIN, A., 1982. Estudio del cultivo de hongos comestibles silvestres en el Estado de Puebla. 1er. Congr. Nal. Mic. (Resúmenes), Xalapa, Ver., México.
- KAUFERT, F., 1935. The production of asexual spores by *Pleurotus corticatus*. *Mycologia* 27: 333-341.
- KURTZMAN, R. & ZADRAZIL F., 1982. Physiological and taxonomic consideration for cultivation of *Pleurotus* mushrooms In: Chang, S. T. & Quimio, T. H. (Eds.) *Tropical mushrooms, biological nature and cultivations methods*. Chinese Univ. Press, Hong Kong. 493 p.
- LEAL-LARA, H. DOSAL-REAL, M. C. & AVILES ESQUIVEL, M. E., 1982. Obtención de mutantes acelulósicos de *Pleurotus ostreatus*. 1er. Congr. Nal. Mic. (Resúmenes), Xalapa, Ver.
- ZADRAZIL, F. & KURTZMAN, R., 1982. The biology of *Pleurotus* cultivations in the tropics. In: Chang, S. T. & Quimio, T. H. (Eds.) *Tropical mushrooms, biological nature and cultivations methods*, Chinese Univ. Press, Hong Kong. 493 p.