

## Cultivo de *Pleurotus ostreatus* y especies afines (Fungi: Pleurotaceae) sobre medios naturales semi-estériles\*

Ana Victoria Macaya-Lizano  
Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

(Recibido el 6 de agosto de 1987)

**Abstract:** *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Quélet and its allies are edible mushrooms whose cultivation is successful in parts of Europe and Asia. In Costa Rica only *Agaricus bisporus* has been commercially cultured, but requires elaborate facilities. The use of waste material (e.g. sawdust, rice straw, sugar cane debris) and non-controlled environmental conditions suitable for easy artisanal cultivation of *Pleurotus ostreatus* is reported here.

*Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Quélet es un hongo destructor de la madera, saprófito o parásito según las circunstancias, que crece en regiones de clima templado (alrededor de 15°C). El píleo, de 5 a 15 cm de diámetro, es espatulado y su color varía de gris azulado a gris claro con tintes pardos. Existen varias especies afines, consideradas por algunos como subespecies (Macaya-Lizano 1975), en las cuales el color del píleo es mucho más claro, casi blanco, y que fructifican a temperaturas más elevadas (alrededor de 20°C), por ejemplo *Pleurotus ostreatus* var. *salignus* (Pers. ex Fr.) Konr. y Maubl., *Pleurotus pulmonarius* Fr. y *Pleurotus florida*=*Pleurotus floridanus* Sing. (Zadrazil 1974).

Como la mayoría de las legumbres, estos hongos están compuestos en gran parte de agua (alrededor de 80%) pero constituyen uno de los alimentos más ricos en cierto número de vitaminas como la tiamina (B<sub>1</sub>), la riboflavina (B<sub>2</sub>), el ácido ascórbico (C), el ácido nicotínico y el ácido pantoténico. Además contienen la

gama completa de aminoácidos necesarios para el desarrollo del hombre (Vedder 1974). En poder nutritivo se pueden comparar con el huevo de gallina, con la ventaja de que son pobres en materias grasas y colesterol (Kalberer 1974) y tienen una cantidad de fósforo mayor que la que poseen la mayoría de las legumbres.

Todo este grupo de hongos tiene en común la propiedad de ser comestible, y su cultivo es relativamente fácil (Lavorde y Delmas 1974). Numerosos productos considerados como desechos se pueden emplear en su cultivo, ya que cualquier material a base de celulosa y lignina puede servir de sustrato (Velter y Rimoczi 1981).

Otras cualidades los hacen dignos de interés para el cultivo, entre éstas, su crecimiento rápido, su gran resistencia a las enfermedades y organismos competitivos, y la necesidad de un sustrato simple para crecer. Esto se debe a que son agentes primarios de descomposición, porque desdoblan directamente la celulosa y la lignina sin necesidad de previa preparación química o biológica (fermentación) (Cailleux *et al.* 1973, 1974).

En Costa Rica se han colectado tanto variedades de *P. ostreatus* en regiones altas y frías, como *P. salignus*, *P. pulmonarius* y *P. florida* en

\* Trabajo financiado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica, Proyecto 02-07-03-49.

diferentes zonas del país con temperaturas más elevadas (cf. #3001, #2823, #2699, Herbario de Plantas no Vasculares y Hongos, Escuela de Biología, U.C.R.).

Hasta el momento no se ha hecho ningún intento de cultivarlos en nuestro país, así que esta investigación tuvo como propósito iniciar este tipo de experiencia. Para lograrlo, en una fase inicial se trató de adaptar un grupo de cepas europeas de diversos *Pleurotus* al clima de Costa Rica y a los medios de cultivo disponibles en el país; luego se intentó el mismo cultivo con especies autóctonas. Esta fase se realizó en el Laboratorio de Micología, Escuela de Biología, U.C.R.

Una vez alcanzadas estas metas, en la etapa siguiente los objetivos fueron:

- preparar un inóculo adecuado;
- ensayar diferentes tipos de medios de cultivo utilizando diversos materiales, de preferencia materiales de desecho, primero en condiciones estériles y luego semi-estériles;
- utilizar diferentes modalidades de cultivo para buscar el mayor rendimiento y las condiciones físicas más sencillas y asequibles.

Esta segunda fase se realizó en las instalaciones del Centro de Investigación en Tecnología de Alimentos, U.C.R.

## MATERIAL Y METODOS

**Preparación de las cepas:** Las cepas europeas se mantuvieron en tubos de ensayo con un medio de agar-malta al 2% , a 12°C inicialmente. Luego, en forma progresiva se hicieron repiques que se colocaron a diferentes temperaturas, en un ámbito progresivo de 16°C a 24°C, hasta lograr un crecimiento de micelio normal, e inicio de fructificación a la temperatura ambiente (alrededor de 24°C).

Las cepas autóctonas se aislaron a partir de esporas de ejemplares de *P. ostreatus*, *P. salignus* y *P. florida* colectados en diferentes zonas (cf. #2562, #3001 y #2699, Herbario de Plantas no Vasculares y Hongos, Escuela de Biología U.C.R.). Se mantuvieron en tubos de ensayo, en un medio de agar-malta al 2% , a temperatura ambiente.

Todas las cepas se conservan en la micoteca del Laboratorio de Micología, Escuela de Biología, U.C.R.

**Preparación del inóculo:** Cuando se trata de cultivar un hongo con miras a la explotación

comercial, el primer paso para lograrlo es la producción de un inóculo adecuado, viable y de fácil obtención y manejo (Vessey 1969).

En este caso se usó como sustrato en la elaboración del inóculo, granos de arroz (con granza) y granos de sorgo. Se procedió de la siguiente manera: los granos, ya sea arroz o sorgo, se hirvieron en agua durante 10 min. Luego se escurrieron y una vez fríos se recubrieron con una capa de  $\text{Ca CO}_3$  en polvo fino (10 g de  $\text{Ca CO}_3$  por cada 100 g de grano seco) para evitar la aglutinación de los granos. Se colocaron en botellas de vidrio, se taparon con papel de aluminio y se esterilizaron durante 20 min. a 56.8 K de presión.

El grano estéril se inoculó con las diferentes cepas que han estado creciendo en tubo de ensayo sobre agar malta al 2% y se dejó a temperatura ambiente hasta invasión total de los granos por parte del micelio (7 a 10 días según la cepa). Una vez invadidos los granos, se transfirieron las botellas a cámara refrigerada (6°C) para su posterior utilización.

Este grano así preparado es lo que se denominará "inóculo" en el resto del proceso, y conservado en refrigeración permanece viable por 6 meses.

**Experiencia de cultivo inicial, en medio semi-estéril:** Se utilizó como medio de cultivo de base (y como medio testigo para todas las experiencias posteriores) un sustrato compuesto por:

- paja de arroz 60%
- aserrín (cedro amargo) 20%
- granza de arroz 20%

todo mezclado y humedecido en un 70%.

Se colocó la mezcla en frascos de vidrio de 500 cc de capacidad y se esterilizó a 56.8 K de presión durante 20 min. Se inoculó con las diferentes cepas y se recubrieron los frascos con papel de aluminio para favorecer el crecimiento miceliano. Este método ha sido descrito en detalle en una publicación anterior (Macaya-Lizano 1975).

**Experiencias de cultivo con diferentes medios semi-estériles:** Se utilizaron 8 medios de cultivo diferentes, con 6 repeticiones cada uno, humedecidos al 70% y esterilizados previamente (20 min. a 56.8 K de presión). Se pusieron en cajas de madera de 60 x 60 x 10 cm divididas en 4 compartimentos, colocando en cada caja 4 medios distintos, lo que facilitó su compara-

ción. Después de inoculados los medios, se cubrieron las cajas con papel de aluminio para favorecer el crecimiento miceliano y disminuir la evaporación. Cuando el micelio invadió totalmente el medio, se retiró el papel para permitir la fructificación.

Las cajas fueron colocadas en un local bien ventilado, a temperatura ambiente y luz natural. Se regaron con agua estéril, cada 2 o 3 días según la deshidratación del medio.

Se hicieron 2 aplicaciones de Benlate (metil-1-(butilcarbamoil)-2-bencimidazol carbamato, Du Pont de Nemours, Delaware, U.S.A.), al 1%, con 4 semanas de intervalo, en los casos en que se presentaron contaminaciones con otros hongos (*Trichoderma viride*, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp.). Este fungicida es usado normalmente en los establecimientos que se dedican a la siembra del champiñón comercial, y al aplicarse al micelio únicamente, no entra en contacto con los carpóforos.

Composición de los medios:

No. 1: Medio de base (testigo).

No. 2: 100% "compost" comercial. El "compost" comercial es el sustrato utilizado para la producción del *Agaricus bisporus* o champiñón comercial. Está constituido de una mezcla en proporciones variables de boñiga de caballo, paja de arroz o de algún otro cereal y gallinaza.

No. 3: 75% "compost" comercial + 7.5% virutas de madera + 7.5% aserrín + 10% granza de arroz.

No. 4: 20% hoja de caña seca + 50% paja de arroz + 15% aserrín + 15% virutas de madera.

No. 5: 50% bagazo de caña + 15% virutas de madera + 15% aserrín + 20% granza de arroz.

No. 6: 60% hoja de caña seca + 20% virutas de madera + 20% granza de arroz.

No. 7: 60% papel periódico recortado en tiras + 20% virutas de madera + 20% bagazo de caña.

No. 8: 20% paja de arroz + 20% granza de arroz + 10% aserrín + 10% virutas de madera + 10% hoja de caña seca + 10% bagazo de caña + 10% papel periódico.

Obtenidos los resultados en los medios anteriores se procedió a una nueva serie de cultivos con medios enriquecidos con aporte de Nitrógeno: gallinaza (9 mg N/100 g), harina de algodón (6 mg N/100g) y harina de soja (7 mg N/100 g).

**Experiencia de cultivo en otras modalidades:** Seleccionados los mejores medios se procedió a

una serie de cultivos utilizando bolsas de polietileno para colocar el sustrato.

El procedimiento fue el siguiente: se preparó el medio de la manera usual y se esterilizó en bandejas de metal (25 min. a 56.8 K de presión). Luego se colocó en bolsas plásticas de 25 x 40 cm, perforadas con pequeños agujeros para la ventilación y el drenaje. Solo una serie de bolsas se cubrió con papel de aluminio, para comparar el efecto de la luz en la velocidad de invasión del inóculo.

Las bolsas fueron colocadas en un cuarto ventilado, a temperatura ambiente y luz natural.

Una vez invadido el medio, y cuando aparecieron los primeros primordios, se abrieron y cortaron las bolsas para favorecer el crecimiento de las fructificaciones.

Se hizo una experiencia en pequeña escala para ensayar cilindros de cedazo en lugar de bolsas plásticas.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Preparación de las cepas:

a) Adaptación de las cepas europeas al clima y medios de cultivo de Costa Rica:

El trabajo se inició con 11 cepas de procedencia europea. Luego de los ensayos de aclimatación y producción ya descritos, solo se mantuvieron las 3 cepas que dieron los mejores resultados: 306 *Pleurotus ostreatus*, 135 *P. ostreatus* y 310 *P. florida*.

b) Aislamiento de cepas autóctonas:

De las varias colecciones realizadas en diferentes zonas del país se aislaron 9 cepas a partir de esporas. De éstas se escogieron las 3 de mayor productividad: P (*Pleurotus salignus*), P<sub>1</sub> (*P. pulmonarius*) y P<sub>3</sub> (*P. ostreatus*).

Todas las cepas escogidas fueron capaces de crecer y fructificar a una temperatura ambiente de aproximadamente 24°C y en condiciones naturales de luz y ventilación.

**Preparación del inóculo:** Tanto el sorgo como el arroz en granza son una buena base para preparar un inóculo adecuado. El tiempo de invasión fue ligeramente menor en el arroz (sorgo: 2 semanas, arroz: 10 días); el tiempo de conservación fue similar (6 meses a 2°C).

Respecto a la cantidad de inóculo utilizado, en relación con la cantidad de sustrato, la mejor

CUADRO 1

*Resumen de experimentos.*

Medios	Duración total	Aparición de fructificaciones	No. de cosechas
Testigo	20 semanas	21 días a 40 días (cepa 310) (cepa 306)	3
No. 1 a 8	30 semanas	30 días a 110 días (medio No. 5) (medio No. 2)	3 a 5

CUADRO 2

*Producción según los mejores medios y las diferentes cepas.  
(Datos promedio) La producción se expresa  
en g de carpóforos producidos/100 g de medio seco.*

Medio	Cepa					
	310	306	135	P	P1	P3
3	32	31	35	27	39	29
5	55	52	50	59	51	54
7	48	40	38	40	43	50
8	48	40	40	37	41	36
Testigo	20	21	19	20	21	22

proporción fue de 10 g de inóculo por 100 g de peso seco de medio. Una cifra menor alarga el tiempo de invasión y una mayor no resulta económica.

**Resultados del cultivo en los diferentes medios:** Los resultados de cultivo aparecen resumidos en los Cuadros 1 y 2. Para todas las cepas, los mejores medios fueron, en orden de productividad: 5, 7, 8 y 3.

Las diferencias de producción observadas entre el medio testigo y los medios de prueba indicados en el cuadro 2 son significativas a un  $p \leq 0.0005$  (Prueba de t de Student). Las diferencias entre los medios de prueba 3, 5 y 7 son significativas ( $p \leq 0.001$ ), pero la producción entre los medios 7 y 8 no es significativamente diferente.

**Cultivo sobre los mejores medios de la experiencia anterior, enriquecidos con aportes proteicos:** Los resultados fueron negativos ya que se observó que la adición de un suplemento ni-

trogenado al medio no aumentó la cosecha ni acortó el período de aparición de las fructificaciones. En realidad, el efecto fue contrario: la producción fue menor y el período se alargó, lo que indica que *Pleurotus* es un hongo esencialmente celulósico, a pesar de que *in vitro*, los aportes nitrogenados revelan un aumento en el crecimiento (Macaya-Lizano 1975).

**Experiencia de cultivo en otras modalidades:** El cultivo en bolsas plásticas tuvo como ventaja el presentar una mayor superficie para la fructificación, pues quedan expuestas al aire tres caras del bloque de medio y no solo una como en las cajas (Block *et al.* 1959). Sin embargo, el drenaje del agua y el nivel de humedad se mantienen mejor en las cajas.

No es necesario recubrir las bolsas con aluminio para favorecer la invasión ya que los resultados son similares en las bolsas cubiertas y en las descubiertas indicando que, en este caso, las variaciones a la exposición luminosa no tienen una influencia determinante.

En el cultivo en cilindros de cedazo, los resultados fueron negativos. A pesar de que hay una gran superficie expuesta para la fructificación, el agua se escurre con facilidad, dejando seca la parte superior del cilindro y demasiado húmeda la inferior, lo que trae como consecuencia una invasión desigual del micelio y una contaminación perniciosa en las partes más húmedas.

### CONCLUSIONES

Este estudio demostró que es posible realizar una siembra artesanal de las especies de *Pleurotus* utilizando como medio de cultivo materiales de desecho como aserrín, bagazo de caña, paja de arroz, virutas de madera, granza de arroz, etc.

Se experimentó con una serie de combinaciones de los elementos antes citados y se seleccionaron cuatro como las más efectivas. El papel periódico resultó ser un buen medio, pero desconocemos el efecto que pueda tener la tinta de impresión sobre la comestibilidad del hongo.

Se logró la fructificación de diversas especies de *Pleurotus*, a la temperatura ambiente de la Ciudad Univeristaria (aproximadamente 24 °C y no en condiciones de enfriamiento, como se recomienda en la literatura (Vessey 1969, Vedder 1974, Laborde & Delmas 1974, Omori 1974, Zadrazil 1974). Además se logró el cultivo en locales sencillos, sin ningún acondicionamiento especial de luz y aereación como en los invernaderos en que se practica este cultivo en los países de Asia y Europa del Este. Comprobamos que un local limpio y ventilado, con temperatura ambiente y luz natural es suficiente para emprender un cultivo de *Pleurotus*, con las cepas apropiadas.

Con respecto a la preparación del inóculo, el empleo del sorgo o del arroz como material de base, depende de la disponibilidad de los granos (según la época del año) y de su precio en el mercado, ya que los resultados son similares.

La adición de suplementos nitrogenados al medio, no es de utilidad, por el contrario, produjo un período más largo en la invasión miceliana y una disminución en la tasa de fructificación.

Así pues, el cultivo de diversas cepas de *Pleurotus*, adaptadas a nuestras condiciones climáticas, proporciona un alimento sano y nutritivo, a bajo costo y de una manera sencilla. Permite emplear como sustrato materiales de desecho, y

como etapa final, el medio con micelio, una vez que ha dejado de fructificar, también puede aprovecharse, pues se puede emplear como alimento para ganado o como abono en diferentes cultivos (Zadrazil 1974).

### AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Sonia Gutiérrez su ayuda técnica, a Luis A. Fournier y a Maryssia Nassar la revisión del manuscrito original y al Centro de Investigación en Tecnología de Alimentos (CITA) el apoyo técnico y de infraestructura brindado.

### RESUMEN

El cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Quélet y sus especies afines se ha realizado en diferentes países europeos y asiáticos con buenos resultados. En Costa Rica el cultivo de hongos se ha limitado al champiñón comercial *Agaricus bisporus*, que requiere de una técnica elaborada para su producción. Este trabajo demuestra que es posible realizar una fácil siembra artesanal de las especies de *Pleurotus* utilizando como medio de cultivo materiales de desecho como aserrín, bagazo de caña de azúcar y paja de arroz en condiciones ambientales no controladas.

### REFERENCIAS

- Block, S., G. Tsao & L. Han. 1959. Experiments in the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *Mush. Sci.* 4:309-325.
- Cailleux, R., A. Diop & A.V. Macaya-Lizano. 1973. Quelques variations du *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Quélet précisées par la culture. *C.R. Acad. Agric.* 59:971-976.
- Cailleux, R., A. Diop & A.V. Macaya-Lizano. 1974. *Pleurotus ostreatus* et formes affines: comportement cultural, influence des sources carbonées et azotées sur le développement mycélien et la fructification. *Mush. Sci.* 9:595-606.
- Kalberer, P.P. 1974. The cultivation of *Pleurotus ostreatus*: Experiments to elucidate the influence of different culture conditions on the crop yield. *Mush. Sci.* 9:653-661.
- Laborde, J. & F. Delmas. 1974. Le pleurote: un nouveau champignon comestible cultivé. *Bull. de la Fed. Nat. des Syndicats Agricoles des Cultivateurs de Champignons*: 631-652.

- Macaya-Lizano A.V. 1975. *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Quélet, formes et espèces affines. Comportement cultural et systematique. Rev. de Myc. 29:3-42.
- Omori, S. 1974. Some discussions about the cultivation of *Pleurotus ostreatus* on sawdust bed. Mush. Sci. 9:663-666.
- Vedder, P.J.C. 1974. Culture moderne des champignons. Staru Robijns, Culemborg, Pays Bas, 384 p.
- Vessey, E. 1969. Culture industrielle des champignons sylvestres en Hongrie. Rev. de Myc. 34:7-108.
- Velter, J. & J. Rimoczi. 1981. Changes in the protein fractions and crude fiber content of *Pleurotus ostreatus* and *Stropharia rugosoannulata* during the development. Cryptogamie, Mycologie 2:107-117.
- Zadrazil, F. 1974. The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus cornucopiae* and *Pleurotus eringii*. Mush. Sci. 9:621-652.