

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE AGRONOMIA



EVALUACION DE 6 CONCENTRACIONES DE LA SOLUCION
HOAGLAND EN LA PRODUCCION DE BLANCO DE CHAMPIÑON
(Agaricus bisporus), EMPLEANDO COMO ESTRATO DE
CULTIVO EL GRANO DE TRIGO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA

PRESENTA

EDUARDO GARCIA FLORES

MARIN, N. L.

ABRIL DE 1995





1080061875

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA



EVALUACION DE 6 CONCENTRACIONES DE LA SOLUCION
HOAGLAND EN LA PRODUCCION DE BLANCO DE CHAMPIÑON
(Agaricus bisporus), EMPLEANDO COMO ESTRATO DE
CULTIVO EL GRANO DE TRIGO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA

PRESENTA

EDUARDO GARCIA FLORES

MARIN, N. L.

ABRIL DE 1995

11956 E

T/
SB 353
.G3



040.635
FA2
1995
0.5

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE AGRONOMIA

**EVALUACION DE 6 CONCENTRACIONES DE LA SOLUCION HOAGLAND EN
LA PRODUCCION DE BLANCO DE CHAMPIÑON (*Agaricus bisporus*),
EMPLEANDO COMO ESTRATO DE CULTIVO EL GRANO DE TRIGO.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE INGENIERO AGRONOMO
FITOTECNISTA**

PRESENTA

EDUARDO GARCIA FLORES

MARIN, N.L.

ABRIL, 1995

EVALUACION DE 6 CONCENTRACIONES DE LA SOLUCION HOAGLAND EN
LA PRODUCCION DE BLANCO DE CHAMPIÑON (*Agaricus bisporus*),
EMPLEANDO COMO ESTRATO DE CULTIVO EL GRANO DE TRIGO.

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

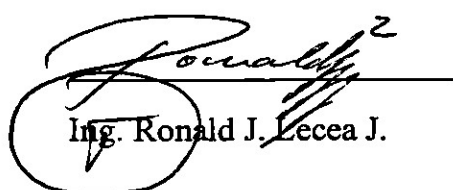
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE INGENIERO AGRONOMO
FITOTECNISTA

PRESENTA

EDUARDO GARCIA FLORES

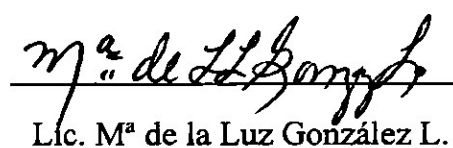
COMISION REVISORA

ASESOR PRINCIPAL



Ing. Ronald J. Lecea J.

ASESOR ESTADISTICO



Lic. Mª de la Luz González L.

ASESOR AUXILIAR



Ing. Cecilio Escareño R.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES:

Les dedico este trabajo, por su confianza depositada en mi, por su apoyo y sacrificio, que hicieron posible la realización de mis estudios.

A MIS HERMANOS:

Que siempre me apoyaron durante mis estudios de la carrera profesional.

A TODOS MIS AMIGOS:

Con los que conviví durante mi estancia en la Facultad de Agronomía.

AGRADECIMIENTOS

A MIS ASESORES:

Lic. M^a de la Luz González López.

Ing. Ronald J. Lecea Juárez.

Ing. Cecilio Escareño Rodríguez.

Con amplio agradecimiento, por su tiempo y atenciones brindadas, para la elaboración del presente trabajo.

A TODO EL PERSONAL DE LA F.A.U.A.N.L:

Que de una u otra manera me orientaron y ayudaron, para mi formación profesional de Ingeniero Agrónomo Fitotecnista.

INDICE

1. INTRODUCCION	1
2. LITERATURA REVISADA	3
2.1. CLASIFICACION TAXONOMICA	3
2.2. CICLO BIOLOGICO	4
2.3. MORFOLOGIA	4
2.4. ECOLOGIA	6
2.5. VALOR NUTRICIONAL	8
2.6. PRODUCCION DE MICELIO O BLANCO DE CHAMPIÑON	8
2.6.1. MEDIOS DE CULTIVO	9
2.6.2. TECNICAS PARA EL CULTIVO PURO	10
2.6.3. GENERACION Y MULTIPLICACION DE MICELIO EN GRANO	13
2.7. PRODUCCION DE CHAMPIÑON	15
2.7.1. SISTEMAS DE CULTIVO	15
2.7.2. FASES Y MANIPULACIONES DEL CICLO DE CULTIVO	15
3. MATERIALES Y METODOS	21
3.1. MATERIALES Y EQUIPO	21
3.2. DESARROLLO DEL EXPERIMENTO	22
3.2.1. DISEÑO EXPERIMENTAL	22
3.2.2. VARIABLE ESTUDIADA	23
3.2.3. PREPARACION DEL MATERIAL, SIEMBRA Y MANEJO DEL EXPERIMENTO	24
4. CALCULOS ESTADISTICOS	27

5. RESULTADOS Y DISCUSIONES	29
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	31
7. RESUMEN	32
8. BIBLIOGRAFIA	34
9. APENDICE	37

INDICE DE FIGURAS, GRAFICA Y TABLAS

Figuras	Pág.
1 Ciclo biológico de <i>Agaricus bisporus</i> .	4
2 Partes principales de un carpóforo.	5
3 Obtención de la esporada.	10
4 Sitio de donde se toma la porción para la siembra.	12
5 Esquema de un ciclo de cultivo.	20

Gráfica

1 Efecto de las diferentes concentraciones de la solución Hoagland en la producción de micelio, de <i>Agaricus bisporus</i> , sobre grano de trigo.	29
--	----

Tablas

1 Solución Hoagland.	25
2 Número medio de hifas por grano	27
3 Análisis de varianza.	27
4 Medias.	28
5 Resultados de la comparación de medias.	28

Tabla del apéndice

6 Datos del experimento.	37
-------------------------------	----

1. INTRODUCCION

En Francia, es donde se inició el cultivo del champiñón (*Agaricus bisporus*), extendiéndose a otros países europeos y llegando a América en 1865. Desde entonces los incrementos en la producción mundial han sido permanentes, teniéndose en la actualidad una producción anual de más de 1 millón de toneladas. Los principales productores son actualmente Estados Unidos, Francia y España, los que aportan 150 mil, 140 mil y 50 mil toneladas anuales respectivamente (4,5,6).

Como ya se mencionó existe un incremento constante en el consumo, lo que es debido a que el champiñón es un alimento con componentes nutritivos muy variados e interesantes (contiene proteínas de buena calidad, carbohidratos, grasas sales minerales e incluso algunas vitaminas), además tiene sabores y aromas exquisitos para cualquier gastrónomo (6).

Desde los inicios, el champiñón se ha cultivado principalmente sobre preparado de estiércol de caballo rico en paja. Aunque este estrato de cultivo en la actualidad ha sido sustituido en parte por pajas de trigo y otros cereales o residuos de cosecha de cultivos en general (4).

El micelio o blanco antiguamente los productores lo adquirían mediante una búsqueda en el campo o en las proximidades de las caballerizas. La cantidad de micelio que podían encontrar era insuficiente para llenar las necesidades de siembra, por lo que era necesario multiplicarlo mediante repicados sucesivos en los camellones de compost. Así lo mantenían para hacer trasplantes sucesivos, pero con el tiempo el micelio se debilitaba. Otro problema era el de no poder tener cepas libres de contaminantes (11).

Con el tiempo se pusieron en marcha métodos con los cuales fué posible obtener, por fin, micelio puro.

Aunque en la actualidad existen una gran cantidad de estudios sobre producción de micelio, es necesario seguir haciendo investigación específica para obtener blanco de mejor calidad.

Por lo anterior, se decidió en este caso, probar la solución Hoagland en diferentes concentraciones, en la producción de blanco, empleando el grano de trigo como estrato de cultivo.

M.L.

BIBLIOT

2. LITERATURA REVISADA

2.1. CLASIFICACION TAXONOMICA

Antes de explicar la clasificación taxonómica del champiñón comercial, es conveniente decir, que este es considerado como una seta, cuya diferencia entre trufa, es de que la seta fructifica epigeamente (sobre la superficie del suelo) y la trufa lo hace hipogeamente (debajo de la superficie del suelo) (14).

La clasificación del champiñón comercial es la siguiente:

REINO: Mycota

GRUPO: Superiores

CLASE: Basidiomycetes

SUBCLASE: Homobasidiomycetes

SERIE: Hymenomycetae

ORDEN: Agaricales

FAMILIA: Agaricaceae

GENERO: *Agaricus*

ESPECIES: *bisporus*, *hortensis* y *campester* (5).

Sin duda las especies más cultivadas son las formas bispóricas de *A. campester*, es decir, *A. bisporus* y *A. hortensis* (5).

2.2. CICLO BIOLOGICO

Las esporas, desprendidas de un carpóforo, germinan sobre el suelo, siempre que las condiciones del medio sean favorables. Las esporas entonces emiten filamentos micélicos ramificados que se desarrollan en todos los sentidos. Cuando dos micelios primarios (n), procedentes cada uno de diferentes esporas se fusionan, formarán el micelio secundario o fértil (2n). Es entonces a partir de este que se forma el cuerpo fructífero o carpóforo, el que posteriormente con el tiempo formará esporas, las que darán inicio a un nuevo ciclo (11).

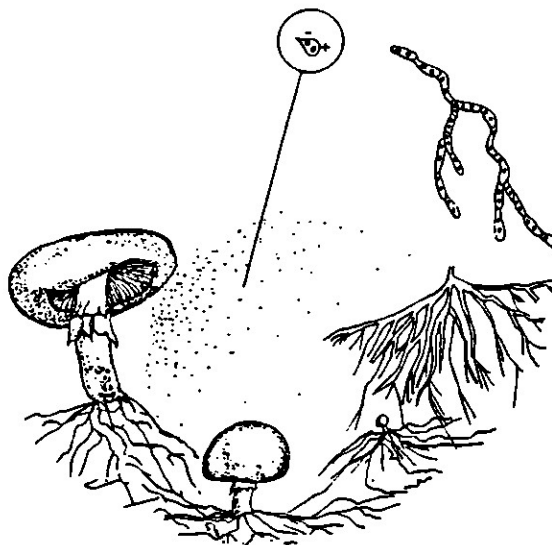


Figura 1. Ciclo biológico de *Agaricus bisporus* (12).

2.3. MORFOLOGIA

A la parte carnosa que se desarrolla por encima del suelo, que se recolecta y consume, en el lenguaje común, se le designa como champiñón u hongo comercial. Botánicamente se le conoce como carpóforo, ya que ella no constituye en realidad, más que la parte reproductora de la totalidad del hongo (11).

La forma vegetativa es el micelio o blanco, que vive en el suelo o la superficie del mismo(11).

El micelio se encuentra constituido por filamentos de diámetro microscópico (3 a 10 milésimas de milímetro) huecos, tabicados y ramificados. En un principio es poco visible, pero más tarde se forma en el medio de cultivo una especie de fieltro blanco, que se torna amarillo cuando envejece. Este ya se puede observar a simple vista. El micelio, constituido a su vez por hifas, puede formar cordones de hasta varios milímetros de diámetro y de varios decímetros de longitud (11).

Un carpóforo que se encuentra totalmente desarrollado cuenta con un pie o estipe, que sostiene al resto del cuerpo fructífero y que en su base se encuentra unido al micelio subyacente. La otra parte es el sombrerillo o pileo, que cuando alcanza la madurez total adopta la forma de un paraguas. Otras partes ya más específicas que corresponden al sombrerillo y pie son el anillo, carne y laminillas. En las laminillas además, se encuentran las basidias que a su vez contienen las esporas

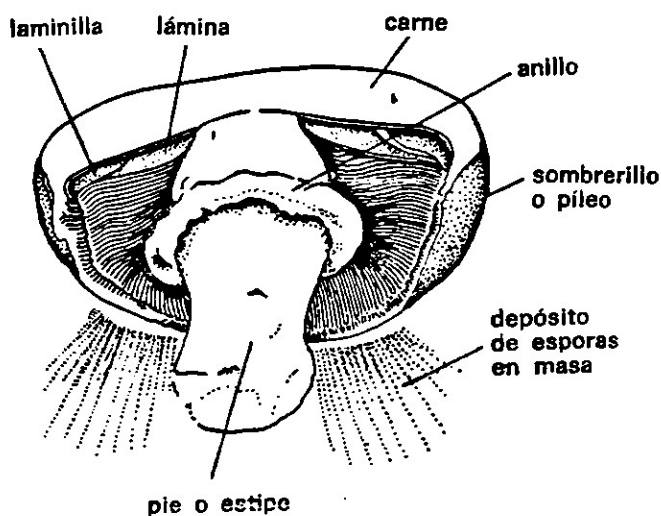


Figura 2. Partes principales de un carpóforo (11).

(11).

Agaricus bisporus se diferencia de las otras especies de *Agaricus* en que tiene una cutícula blanca, formada por fibrillas y escamitas bien diferenciables, dispuestas radialmente que llegan hasta el borde, dejando un margen sobresaliente. Las láminas son primeramente blanquecinas, después rosadas y chocolates finalmente (5).

Microscópicamente la característica principal de *A. bisporus*, que lo diferencia de *A. campester*, es que el primero tiene basidios bispóricos, mientras que el segundo las tiene tetraspóricas. Por último, *A. bisporus* tiene cistidios claviformes y la cutícula filamentosa (5).

2.4. ECOLOGIA

Gran parte de la alimentación de *A. bisporus* tiene que recibirla en forma de materia orgánica ya fabricada por otros seres. Pertenece al grupo de los saprófitos (4,6).

Gracias al carbón que toma el *A. bisporus* directamente de la materia orgánica, puede realizar la síntesis de las sustancias hidrocarbonadas que forman parte de su organismo. Por esta razón, no requiere de la presencia de la luz para realizar dicha síntesis. Sin embargo, cabe mencionar que para el champiñón prosperar en la oscuridad resulta una posibilidad y no una necesidad como se supone(11).

Los alimentos carbonados más útiles para el micelio están constituidos por los glúcidos, las hemicelulosas, celulosas, lignina y determinados azúcares (11).

La relación C/N óptima en un compost selectivo para el cultivo del champiñón es del orden de 15 a 17 en el momento de la siembra. Para la cobertura orgánica, la relación C/N puede situarse entre 11 y 15.(4).

El champiñón prefiere estratos porosos que permitan la circulación de gases, que faciliten la entrada de los filamentos micelianos en desarrollo y además que tengan un elevado poder de retención de agua (11).

Los *Agaricus spp* necesitan de mucho calcio (25 a 30 gr de caliza activa por kg de compost) para neutralizar el ácido oxálico segregado por el micelio, si no, el medio se acidificará con demasiada rapidez (11).

El micelio del champiñón prefiere un pH de 7 a 7.5 (como máximo 9). Al final del cultivo el pH no deberá ser menor de 6 (4).

Para *A. bisporus* el rango de temperatura, para la germinación y crecimiento micelial, es de 1 a 32°C. la óptima es de 20 a 28°C. Para la fructificación, la temperatura adecuada es de 10 a 20°C (12).

Durante la etapa de proliferación del micelio, el hongo se beneficia si los grados centígrados disminuyen lentamente (específicamente 1°C por cada 6 horas hasta fijarse en 18°C) (4).

En el periodo de formación del carpóforo la temperatura óptima es la de 15.5°C (4).

Al igual que los vegetales, el champiñón se encuentra expuesto al ataque de organismos animales como nemátodos, acaros, colembolas y así como dípteros (de las familias sciáridas, phóridas y cécidas); bacterias como *Pseudomonas spp* y *Bacillus polymixa*; hongos competidores o parásitos (como las trufas, *Aspergillus* y *Penicillium*). Existen además, algunas enfermedades o trastornos en los que no se sabe con seguridad si son provocadas por virus, bacterias, u hongos, como lo es en el caso de las enfermedades La France, momificante y estipe acuoso (11,17).

2.5. VALOR NUTRICIONAL

El *Agaricus spp.* excede el contenido de proteínas de los vegetales a excepción de las legumbres, y el contenido de ciertos minerales (K, Fe y Ca) es alto (2).

En general, la concentración en agua del champiñón fresco sobrepasa el 90%. El contenido de proteínas se encuentra alrededor de 4.8%, el de grasas de 0.2% y el de carbohidratos de 3.5% (5).

2.6. PRODUCCION DE MICELIO O BLANCO DE CHAMPIÑÓN

Si se intentara cultivar cualquier especie de *Agaricus spp.* imitando el proceso que tiene lugar en la naturaleza para su reproducción, el riesgo de fracaso sería muy grande. Las esporas podrían caer en zonas inadecuadas y bastaría una pequeña irregularidad del medio para que no germinara, y si lo hiciera, tendría que enfrentarse con la competencia de otros hongos de mayor capacidad invasora (6).

Es necesario por lo antes mencionado, aislar y mantener cultivos puros del hongo deseado en medios artificiales y en ambiente controlado en laboratorio (6).

2.6.1. MEDIOS DE CULTIVO

Para aislar el hongo y conseguir el desarrollo óptimo en cultivo puro, se usan medios preparados, mezclados con sustancias que proporcionan al hongo los elementos nutritivos que necesita y que se mantendrán a temperatura adecuada en estufas de cultivos. Unos son líquidos y se tienen en matraces y tubos de ensayo; otros son semisólidos o sólidos y se disponen en tubos de ensayo o en cajas de Petri. También el grano de cereales, principalmente el de trigo, se emplea como estrato de cultivo para producción del blanco. El grano debe de acondicionarse mediante un procedimiento de cocción y agregado de sustancias como el carbonato de calcio y yeso. Posteriormente el grano deberá colocarse en frascos donde se producirá el micelio (6).

Al emplear las cajas de Petri, para los preparados nutritivos, se tiene la ventaja de que la gran superficie del medio facilita el aislamiento de las colonias, pero los tubos de ensayo presentan menor riesgo de contaminación (6).

Muchos de los medios de cultivo se preparan con agar como principal componente. En los diversos medios de cultivo se suele añadir del 1 al 3%. En las cajas de Petri suele agregársele de 10 a 20 cm³ del medio (6).

De los medios más utilizados en el aislamiento y cultivo de hongos se tienen los siguientes: el de agar-maltosa enriquecido con sales minerales; medios a base de vegetales cocidos y enriquecidos con glucosa y extracto de levadura; y el de agar-patata-dextrosa (6).

En lo que respecta al estrato a base de granos de trigo, podemos decir, que fué uno de los que más se usó en el pasado para la producción del blanco y que en la actualidad se sigue empleando. Sin embargo, este medio es usado exclusivamente para la generación o multiplicación de micelio que se usará directamente. No es empleado para el aislamiento o selección de cepas.

2.6.2. TECNICAS PARA EL CULTIVO PURO

En primera instancia hay que aislar la especie del hongo que queremos cultivar, lo que puede lograrse a partir de esporas que produce el champiñón o utilizando una porción del sombrero (6).

Para conseguir las esporas hay que colocar el sombrerillo del hongo, después de cortar el pie, con las laminillas hacia abajo sobre una cartulina o vidrio. Al pasar varias horas, se observarán esporas sobre la cartulina (6).

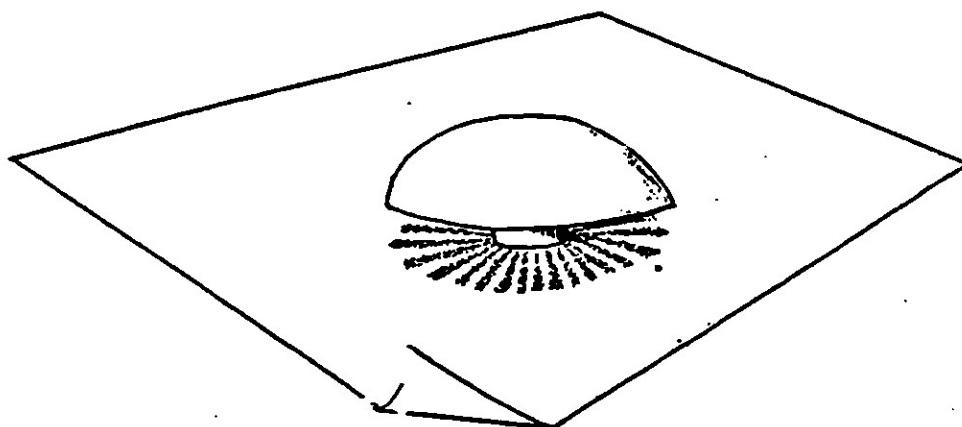


Figura 3. Obtención de la esporada (6).

La cartulina o vidrio con esporas, se meten en una bolsa de plástico y pueden guardarse durante meses en un lugar con 2 a 4°C. Es recomendable introducir en la bolsa, cualquier sustancia que absorba la humedad. Las esporas pueden conservarse también liofilizadas (6).

La siembra en el medio de cultivo se hace con el asa de siembra, es decir, con un alambre que tiene en su extremo un aro. Basta con tocar en la esporada y posteriormente depositarlas en la superficie del medio. En la superficie de contacto del asa se habrán depositado cientos de esporas (6).

Si se quiere obtener micelio de una sola espora, se colocan en agua unas cuantas esporas y se hacen diluciones sucesivas. Al final cuando el agua contenga muy pocas esporas se efectúa la siembra con algunas gotas sobre el agar. La germinación de cada espora puede controlarse mediante el estereomicroscopio (6).

La siembra también puede realizarse con trozos de laminillas del hongo, para lo cual, se deben de tomar todas las precauciones necesarias para evitar posibles contaminaciones.

Cuando se tiene un micelio de origen monospórico (procedente de una sola espora) con el objetivo de ver sus características, siempre deben probarse en cruces con otros, ya que cada espora es genéticamente diferente. De ahí que los micelios que se procuran conservar por sus buenas cualidades productivas, deben de obtenerse vegetativamente, es decir, a partir de fragmentos de setas. La pequeña porción de tejido se obtendrá entonces con pinzas, después de cortar el sombrero de una seta joven por la mitad, de la parte que

está cerca del sitio donde el pie se une al sombrero (figura 4). Una ventaja, además de lo antes dicho, de efectuar siembras a partir de tejidos, es que al parecer se tiene menos riesgo de transmitir enfermedades que posiblemente son ocasionadas por virus(6).

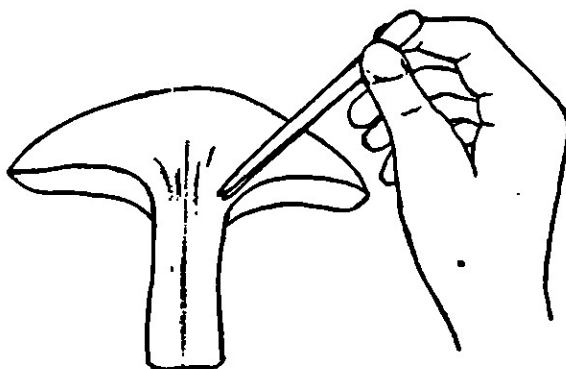


Figura 4. Sitio de donde se toma la porción para la siembra. (6)

Si se desea conservar el micelio durante muchos años, lo que hay que hacer, es meter trocitos cilíndricos del medio de cultivo, con todo y micelio, de unos 3 mm de diámetro en pajitas de polipropileno, con 10% de solución acuosa de glicerol que sirve de protector; luego se cierran y se introducen en el nitrógeno. Si se quiere luego volver a usar se sumergen las pajillas o ampollitas en agua a 30°C durante 10 minutos y después se abren para sembrar su contenido en un medio de cultivo normal (6).

Cuando no se dispone de tal equipo lo más fácil es hacer resiembras en nuevos medios de cultivo cada pocos meses. Se tiene el inconveniente aquí, de que tras numerosos pases las cepas puedan perder sus características, además que con tantas manipulaciones se puede contaminar el cultivo (6).

Otra forma de conservar el cultivo de micelio, es cubriéndolo con 1 cm de aceite de parafina estéril, así se puede conservar de 5 a 10 años a una temperatura no alta; de todos modos conviene hacer resiembras cada 2 a 3 años (6).

2.6.3. GENERACION Y MULTIPLICACION DE MICELIO EN GRANO

Algunos productores de champiñón comercial prefieren el micelio o blanco que fué obtenido en granos de cereales como trigo, centeno y sorgo o en gránulos de sustancias inertes como perlita, vermiculita, etcétera. Con la forma granulada se facilita la manipulación durante la siembra, ya que puede mezclarse uniformemente con el compost y se hace posible el empleo de máquinas mezcladoras. Además, cuando la siembra se hace sobre el compost, empleando los gránulos, se realiza sin ningún problema, comparativamente de cuando se emplea el micelio que viene en presentación de tableta u otro tipo.

Para la obtención de micelio en grano, en este caso específicamente en el grano de trigo, lo que hay que hacer es: primero cocer el trigo en agua, empleándose una relación de 1.5 lts de agua por kg de grano. El cocimiento debe ser a fuego lento durante 15 a 20 minutos, de tal manera que el grano no se rompa (6).

En el momento en el que el grano tenga de 40 a 50% de humedad, se le mezclan unos 3.5 gr de calcio por cada kg de trigo cocido con el fin de reducir la acidez y unos 13 gr de yeso por kg, para que los granos no se peguen. Después se meten en los frascos, tapándolos con algodón, luego se lleva a cabo la esterilización y posteriormente se siembra o se inocula con esporas o micelio obtenido de cultivo puro. Por último, se llevan a incubar en las estufas. Al cabo de una semana se agitan los frascos y cuando todo el grano ha sido invadido por el micelio, puede usarse inmediatamente o bien guardarse en cámaras frigoríficas a 1 o 2°C durante algunas semanas (6).

Existen experimentos donde se han evaluado variedades de trigo en la producción de blanco de *A. bisporus*. Se ha encontrado que efectivamente si existen diferencias entre ellas.

Suman, B.C., et. al. (14), señalan que el mejor crecimiento micelial se obtiene con granos de la variedad Sonalika (S-308) y Kalyan Sona, cuando el grano se prepara cociéndolo por 20 minutos, luego dejarlo remojar por el mismo tiempo para posteriormente drenarlo con un cedazo. Después mezclarle 30 gr de carbonato de calcio y 120 gr de yeso por cada 9 kg de grano, procurando que ya después de la esterilización la humedad del grano sea de 42% para Sonalika (S-308) y 40% para Kalyan Sona.

Phutela, R.P., et. al. (13), establecen que de ocho cultivares de trigo que se evaluaron, el WL 711 fué el que permitió el mejor crecimiento micelial, cuando se tuvo una incubación de 18 días a 25°C.

En otros experimentos se han encontrado métodos que eficientizan el procedimiento en la producción del blanco de *A. bisporus*.

Suman, B.C., et. al (15), encontraron que para evitar dejar reposar el grano una noche, después de cocido, se debe hacer lo siguiente: llenar los botes de vidrio con grano de trigo u otro grano, mezclarlos con yeso más carbonato de calcio y agregar a todo esto una cantidad igual de agua, luego se coloca en la autoclave. El nuevo método ahorra trabajo, tiempo y reduce, por lo tanto, los costos.

Phutela, R.P., et. al. (13), señalan que cuando el grano es cocido por 10 minutos y luego se deja remojando por otros 10 minutos para permitir que la humedad alcance 44.7% se tiene un mejor crecimiento micelial y se reduce el tiempo necesario para un completo desarrollo. Si se deja en remojo por 15 a 60 minutos el contenido de humedad se eleva 53.4%, pero el crecimiento micelial se reduce.

2.7. PRODUCCION DE CHAMPIÑON

2.7.1. SISTEMAS DE CULTIVO

Son diferentes los métodos de producción de champiñón. El método más antiguo y que en la actualidad poco se utiliza es el de camellones, el cual se lleva a cabo en cuevas o minas abandonadas.

Los otros dos métodos son el de bandejas (llevado a cabo en cuevas o locales) y el de estantes (efectuado en locales).

2.7.2. FASES Y MANIPULACIONES DEL CICLO DE CULTIVO

Las fases y manipulaciones del ciclo completo del cultivo del champiñón, que son comunes en los diferentes métodos de producción pero que tienen distintas modalidades, a continuación se describen:

1°. Determinar el material que se empleará como estrato de cultivo. Anteriormente el estiércol de caballo era el más empleado. En la actualidad los compost pueden ser a base de paja de trigo, centeno, sorgo, arroz, restos de maíz, residuos de algodón, amaranto y bagazos de caña de azúcar. A menudo se emplean también mezclas de algunos de ellos. Generalmente el compost es enriquecido con algunos abonos orgánicos y/o fertilizantes que proporcionan macro y micro elementos nutritivos. Es común además el empleo de productos para controlar el pH (4,9,11).

En general lo importante del material es que sea rico en nitrógeno, fósforo, potasio, etcétera; que tenga una textura fibrosa y sea susceptible a la fermentación (11).

2°. Transformación del material orgánico en compost. Para esto se hace necesario realizar una fermentación y una pasteurización.

La fermentación es llevada a cabo en un local a parte de donde se efectúa la siembra y debe cumplir con determinadas características. El agregado de agua y el volteo constante son necesarios para tener una fermentación completa y uniforme. El objetivo es incrementar la temperatura a más de 50°C para eliminar organismos indeseables y permitir la proliferación de los deseables (actinomicetos). Pero la razón principal es la de llevar al material a su máximo grado de descomposición para así tener un compost estable ya en la producción del champiñón (4,11, 17).

Para la pasteurización es importante tener un control adecuado de las temperaturas, humedad y ventilación. La finalidad principal es matar los organismos perjudiciales que quedaron de la postfermentación del compost, para lo que hay que tener temperaturas entre los 55 y 60°C por 1 a 3 días, un porcentaje alto de humedad y adecuada ventilación (para darle salida a los gases desprendidos) (4).

La pasteurización se efectúa en una cámara especial (sistema de bandejas) o directamente en el local de cultivo (sistema de estantes). Para ello se coloca el compost en las bandejas o estantes y se somete al calentamiento (4,11,17).

El compost está listo, cuando tiene olor agradable y el pH es de 7 a 8. Además, existen métodos que nos dicen con mayor precisión cuando concluir la pasteurización (17).

3°. Siembra del micelio. La humedad del compost, al momento de la siembra debe ser del 67% (4).

Cuando para hacer la siembra se emplea micelio en tabletas, estas se depositan a una profundidad de 1.5 a 2.5 cm. Si se utiliza micelio en gránulos, la profundidad usada es de 1 cm (17).

Cuando se trata de micelio en gránulos, pueden mezclarse con todo el compost, incluso con el material que se empleara como cubierta del micelio. Por este método el compost es invadido completamente por el micelio y con mucha mayor rapidez (17).

En esta etapa la temperatura deberá estar entre 21 y 24°C para que se de un buen desarrollo micelial. El cambio de aire (ventilación) deberá hacerse dos veces por día, para

evitar el problema de hongos, bacterias y permitir la salida de gases tóxicos. Los riegos tendrán que ser frecuentes para evitar la desecación superficial (4).

4°. Colocación de la capa de cobertura. Cuando la siembra se realizó mezclando la semilla (micelio) con el compost, la cubierta se pondrá a los 10 días. Si el micelio se incorporó en la superficie, la capa se pondrá a los 14 días después de que se observe crecimiento (3).

Casi cualquier suelo puede emplearse en la capa de cobertura, siempre y cuando sea estéril y se le dé el manejo adecuado. Sin embargo, las mezclas artificiales que contienen turba son las más empleadas. También es frecuente el empleo de pajas (cortadas de 20 a 30 mm) de trigo y otros cereales con algunos aditamentos como harina de soya, yeso, etcétera (3,7,9,17).

En general, un buen material empleado para capa de cobertura deberá tener una alta capacidad de retención de humedad; que sea lo suficientemente poroso, para facilitar el intercambio de gases; que tenga un pH de 7 a 8 y que no cuente con plagas ni enfermedades (3).

Bewley citado por Atkins (3), establece que los suelos pesados tienden a producir champiñones grandes y firmes, lo contrario ocurre con los suelos arenoso o porosos, cuando se emplean como cubierta.

El espesor de la cobertura varía de 2.5 a 5 cm dependiendo del tipo de material utilizado (18).

La temperatura después de cubrir el micelio, se ajusta a 22°C para posteriormente reducir 1°C cada 6 horas hasta fijarla en los 18°C (4).

La ventilación es necesaria hacerla 2 a 4 veces por hora para evitar que el anhídrido carbónico dañe el micelio. El riego debe efectuarse inmediatamente cuando se observen zonas de desecación de la superficie (4).

5°. Aparición del micelio y primordios sobre la superficie de la capa de cobertura. Es necesario que la temperatura se mantenga entre 15 y 16°C. La ventilación tiene que ser frecuente porque la acumulación de anhídrido carbónico mata al botón. Los riegos aumentan al ir llegando al final del proceso (4).

6°. Cosecha. Los hongos se retuercen con suavidad y nunca se deben de cortar o arrancar, después se extrae el tronco y se rellena el agujero dejado, esto para evitar que las moscas u otros organismos ovipositen ahí (17).

Por último, los champiñones se clasifican y se empacan en canastas o bandejas. Los hongos deben colocarse al momento de empaque, con los tallos hacia arriba para evitar la liberación de esporas que pudieran manchar a otros champiñones (17).

De 0 a 7°C es la temperatura a la que se pueden conservar los champiñones por algunos días (17).

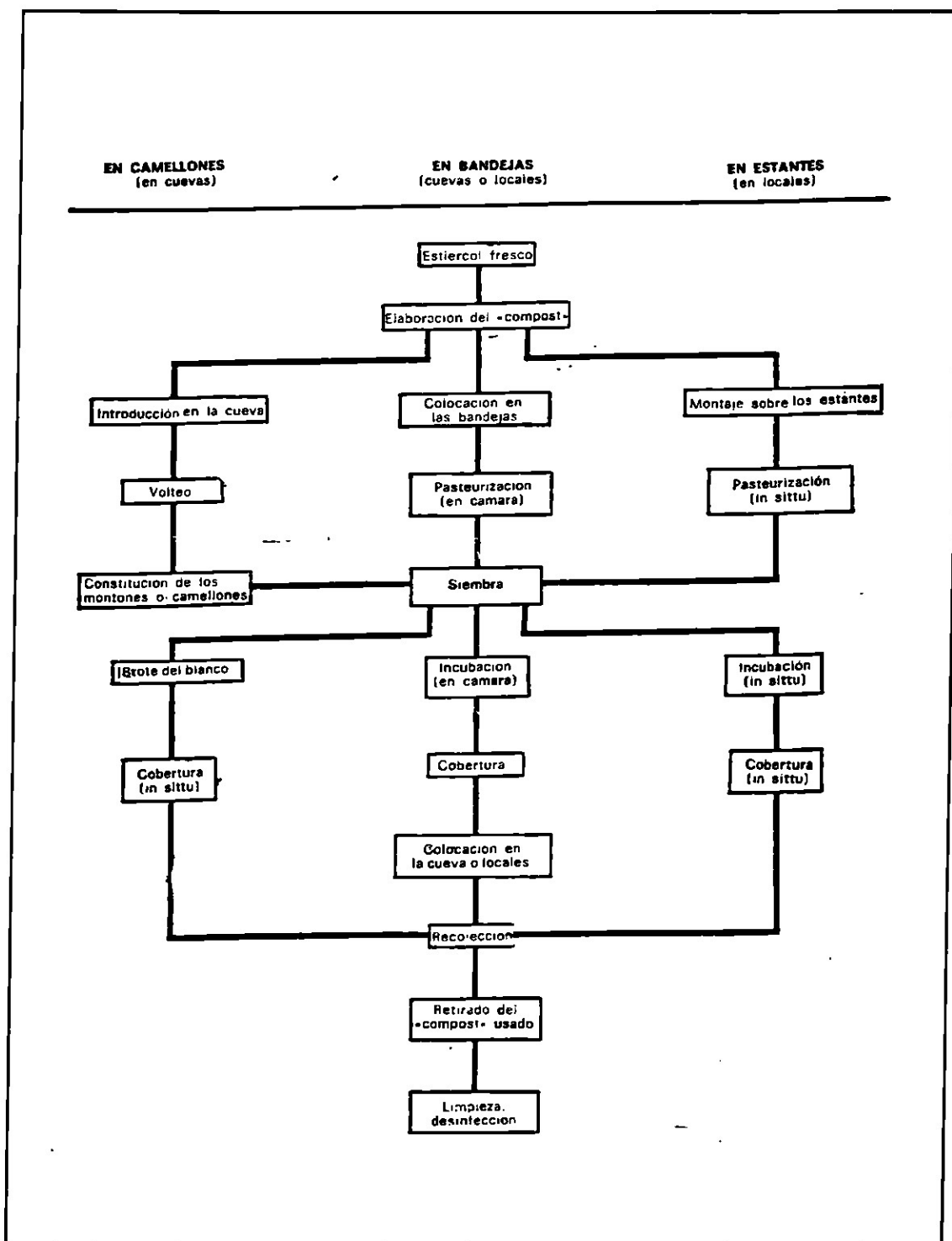


Figura 5. Esquema de un ciclo de cultivo (11).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. MATERIALES Y EQUIPO

La fuente genética empleada fué *Agaricus bisporus*. La siembra y el desarrollo del micelio se efectuó en un estrato a base de grano de trigo más las diferentes concentraciones de la solución Hoagland (tratamientos), todo contenido en botes de vidrio tapados. El uso de la autoclave fué necesario para esterilizar los frascos con sus tapas y para cocer el grano de trigo, el que se colocó en un vaso de precipitado de 1500 ml.

Las diferentes concentraciones fueron preparadas en vasos de precipitado de 100 ml, esterilizándose previamente con hipoclorito al 2%.

Para obtener los trozos de laminillas del hongo, se utilizó un bisturí estéril.

La siembra indispensablemente tuvo que realizarse en una cámara de transferencia. En el interior se tenían dos mecheros permanentemente encendidos para eliminar microorganismos del ambiente y calentar las pinzas con las que se efectuó la siembra.

En una incubadora a temperatura constante, desde la siembra hasta la toma de datos , permanecieron los tratamientos.

Para la toma de datos en el experimento se empleó un estereoscópio, un microscópio, cajas de Petri, pinzas y agujas de disección.

3.2. DESARROLLO DEL EXPERIMENTO.

El experimento se llevó a cabo, utilizando las instalaciones, equipo y materiales de los laboratorios de Fitopatología, Suelos y Agua de la F.A.U.A.N.L.

Fué realizado en los meses de Noviembre y Diciembre. La siembra se efectuó específicamente el 10 de Noviembre y a principios de Diciembre se concluyó la toma de datos.

El material genético se obtuvo de un supermercado de la ciudad de Monterrey

3.2.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para hacer el análisis estadístico se empleó el diseño completamente al azar, donde se tenían 6 tratamiento con 6 repeticiones.

Los tratamientos fueron:

T1 =	Concentración normal de la solución Hoagland	(100%)
T2 =	1/2 de la concentración normal de la solución	(50%)
T3 =	1/4 "	(25%)
T4 =	1/8 "	(12.50%)
T5 =	1/16 "	(6.25%)
T6(Testigo) =	0 concentración (agua destilada)	(0.00%)

El modelo que se empleó fué:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \xi_{ij}$$

$$i = 1, 2, \dots, t$$

$$j = 1, 2, \dots, n_i$$

Donde:

Y_{ij} = observación del tratamiento i en la repetición j

μ = efecto de la media general

τ_i = efecto del i -ésimo tratamiento

ξ_{ij} = error experimental

Se supone que:

Los errores (ξ_{ij}) se distribuyen normal e independientemente con media cero y varianza igual a σ^2 .

3.2.2. VARIABLE ESTUDIADA

La variable que se estudió para determinar los tratamientos en los que se obtendría la mayor cantidad de micelio, fué el número de hifas presentes en los granos de trigo seleccionados.

Para realizar la evaluación se hizo lo siguiente:

1°. De todos los granos de trigo presentes en cada frasco se sacaron 10 con todo y el micelio.

2°. Posteriormente fueron contabilizadas las hifas de cada uno de los 10 granos.

3°. Se determinó el número medio de hifas por grano de las repeticiones de cada tratamiento.

4°. Después se sumaron todas las repeticiones de cada tratamiento para obtener el número medio de hifas por grano de cada tratamiento.

5°. Por último, se sometieron los datos a el análisis estadístico.

3.2.3. PREPARACIÓN DEL MATERIAL, SIEMBRA Y MANEJO DEL EXPERIMENTO

Se partió de la solución Hoagland a concentración normal para realizar las diluciones. Como diluyente se empleó agua destilada.

Tabla 1. Solución Hoagland.

Nombre del compuesto	gr / lt de agua
Nitrato de amonio	35.2
Fosfato de calcio	20.3
Sulfato de potasio	18.2
Sulfato de magnesio	1.5
Ácido bórico	0.001
Sulfato de zinc	0.02
Sulfato de cobre	0.01
Sulfato de fierro	0.3

La esterilización, para el material y el equipo con el que se trabajó, era indispensable.

Para esterilizar los frascos de vidrio con sus tapas se empleó la autoclave, permaneciendo ahí por 15 minutos a 15 libras de presión. Los vasos de precipitado de 100 ml (donde se prepararon los tratamientos) y otros materiales, se esterilizaron con hipoclorito rebajado al 2%. En la cámara de transferencia se asperjó alcohol para eliminar microorganismos.

El grano de trigo se coció y esterilizó en la autoclave, permaneciendo ahí durante 10 minutos a 15 libras de presión. Se empleó para el experimento 1/2 kg de grano al que se le agregó 1/2 lt de agua destilada antes de cocerlo. El grano tuvo que reposarse por 24 horas antes de usarse como estrato de cultivo.

Inmediatamente antes de efectuar la siembra se hicieron los trozos de laminillas del hongo *Agaricus bisporus*. Con las pinzas se le quitó la cutícula de la parte superior del sombrero para eliminar los posibles contaminantes. Luego el hongo se colocó en una caja de Petri donde se partió con el bisturí para obtener los pequeños trozos, que posteriormente se usaron en la siembra.

Ya una vez teniendo el grano cocido y reposado, los trozos de laminilla del hongo y las disoluciones listas, se introdujo todo esto en la cámara de transferencia a la que anteriormente se le había asperjado alcohol. Durante toda la siembra se tuvieron dos mecheros de alcohol encendidos para mantener libre de patógenos el ambiente en el interior de la cámara. Además los mecheros sirvieron para esterilizar la espátula con la que se le agregó el trigo en los frascos y para calentar las pinzas después de cada colocación de los trozos de laminillas en los frascos. También sirvieron para calentar alrededor de la parte superior de los frascos antes de destaparlos y durante el tapado.

El procedimiento para efectuar la siembra fué el siguiente: primero se colocó el grano con la espátula en los botes, se agregó una pequeña cantidad de tal forma que se tenía una sola capa de grano en cada frasco. Después se agregaron 20 gotas (1 ml) de las concentraciones correspondientes a cada frasco. Por último, se introdujo el trozo de laminillas en el frasco. Así, esto se hizo hasta tener las 36 siembras listas.

Una vez que se terminó, se colocaron todos los frascos en la incubadora a 30°C.

Posteriormente se realizaron observaciones periódicas a la siembra, hasta llevar a cabo la toma de datos.

4. CALCULOS ESTADISTICOS

En base a los resultados obtenidos, se procedió a realizar un análisis de varianza para el diseño experimental completamente al azar.

En la tabla 2 se muestran los datos del número de hifas medio por grano, de cada repetición de los tratamientos.

Tabla 2. Número medio de hifas por grano de trigo.

Trat.	R1	R2	R3	R4	R5	R6
1	321.6	391.6	324.1	322.2	325.7	319.9
2	392.5	428.5	418.9	399.5	417.0	405.6
3	643.0	639.9	667.3	594.6	579.3	569.4
4	440.1	432.6	433.2	434.6	425.2	443.5
5	383.3	379.2	343.6	378.7	384.0	391.7
6	327.3	323.4	326.2	325.7	325.5	322.6

Ya con estos datos se realizó el análisis de varianza.

Tabla 3. Análisis de varianza.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F	P>F
Trat.	5	35403.5	70807.5	200.8913	0.0
Error	30	10574.0	325.466675		
Total	35	364611.5			

C.V. = 4.525090%

El análisis de varianza nos muestra que si existen diferencias significativas entre tratamientos, por lo que fué necesario hacer la comparación de medias.

Tabla 4. Medias.

Trat.	Nº de Rep.	Medias
1	6	322.1833
2	6	410.3333
3	6	615.5833
4	6	439.3666
5	6	376.7500
6	6	325.1166

Tabla 5. Resultados de la comparación de medias.

Trat.	Media
3	615.5833 A
4	439.3667 B
2	410.3333 C
5	376.7500 D
6	325.1167 E
1	322.1833 E

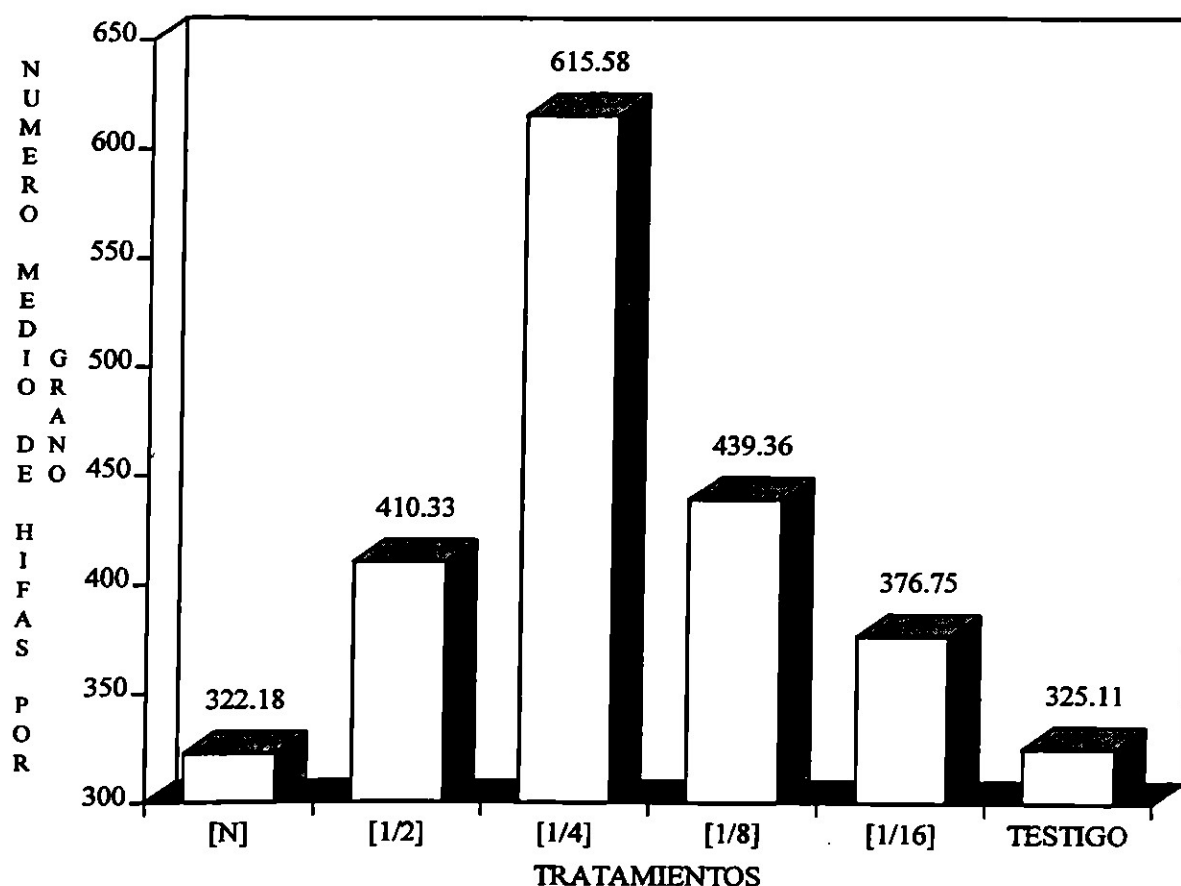
El nivel de significancia que se utilizó fue el de 0.05.

Se utilizó el método DMS para la comparación de medias.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

Como se aprecia en la tabla 4, existen diferencias significativas entre tratamientos. Las mejores concentraciones de la solución Hoagland muestran ser en primer término, la de 1/4, posteriormente la de 1/8, 1/2 y 1/6. En los tratamientos en los que se tuvieron los menores crecimientos miceliales fueron en el de la concentración normal de la solución y el testigo (agua destilada), los que no difieren.

Gráfica 1. Efecto de las diferentes concentraciones de la solución Hoagland en la producción de micelio, de *Agaricus bisporus*, sobre grano de trigo.



En la gráfica, se aprecia como las concentraciones intermedias de la solución Hoagland son las que presentaron el mayor crecimiento micelial. Mientras que las concentraciones tanto bajas como altas de la solución, muestran el crecimiento micelial menor. Esto es debido a que el estrato a base de grano de trigo, requiere de elementos nutritivos, para que se dé un mayor crecimiento de micelio, más sin embargo, la cantidad de elementos nutritivos debe ser tal, que no exceda un limite determinado (en este caso la concentración de 1/4 de la solución Hoagland) para así no provocar un daño de toxicidad.

BIBLIOTECA Agronomía U.A.N.I.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. La concentración del 25% de la solución nutritiva propició el mayor incremento en germinación de las esporas y crecimiento micelial de *Agaricus bisporus*.
2. Debido a que este trabajo es una primera aproximación, es necesario realizar otros experimentos con dosis cercanas al 25% de la concentración original y con intervalos de clase constantes que permitan obtener una dosis óptima.
3. Es preciso realizar investigación en otros tipos de soluciones nutritivas que permitan correlacionar los resultados obtenidos y así validar estas conclusiones.

7. RESUMEN

Poca es la información que existe actualmente sobre el empleo de soluciones nutritivas en la producción de micelio de los *Agaricus*, por lo que en el presente trabajo se efectuó investigación al respecto.

El objetivo específico fué el de encontrar la mejor concentración de la solución Hoagland en la producción de micelio de *Agaricus bisporus*, cuando se emplea el grano de trigo como estrato de cultivo.

El experimento se llevó a cabo, utilizando las instalaciones, equipo y materiales de los laboratorios de Fitopatología, Suelos y Agua de la F.A.U.A.N.L.

La variable estudiada para medir la producción de micelio o blanco fue el número de hifas presentes por cada grano de trigo.

Para efectuar el análisis estadístico se empleó el diseño completamente al azar, donde se tenían 6 tratamientos con 6 repeticiones. Los tratamientos fueron: T1 = concentración normal de la solución Hoagland, T2 = 1/2 de la concentración, T3 = 1/4, T5 = 1/16 y T6 (testigo) = 0 concentración (agua destilada).

El mejor crecimiento micelial se tuvo con la concentración de 1/4. Específicamente, la solución de 1/4, utilizada en una dosis de 1 ml por cada 5.5 gramos de grano de trigo cocido hizo que el crecimiento micelial, (número de hifas) se incrementara a casi el doble, comparativamente de cuando se utilizó el grano sin la solución nutritiva.

Además de la explicación del experimento, discusión de resultados y planteamiento de conclusiones del mismo, en el escrito se habla sobre la importancia económica del champiñón, su origen y ciertos aspectos de su biología.

Dentro de la parte de revisión de literatura, en el tema que más se profundiza es en el de producción de micelio, ya que por su relación con el experimento, se explican a detalle los métodos y técnicas usadas en la generación y multiplicación del micelio.

De la producción comercial del champiñón, se habla en forma general de los diferentes sistemas y fases del ciclo de cultivo del hongo.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Agrios, George N. 1985. Fitopatología. Ed. Limusa, México. P756.
2. Alan, R. et. al. 1990. A study on the nutritional value of the filed mushroom (*Agaricus bisporus* Fr.). Doga, Turk Tarim ve Ormancilik Dergis. 1990, 14:1, 1-7.
Horticultural Abstracts 1990 060-06272; Nutrition Abstracts and Reviews. Series-A 1990 060-05512.
3. Atkins, Fred, C. 1970. El cultivo moderno de las setas. Ed. Continental, México P228.
4. Benavides Pintos, Mónica. 1994. Efectos de formulaciones de compost sobre la producción de champiñón (*Agaricus bisporus*) en Linares N.L. Tesis ITESM, P39.
5. Diego Calonge, F. de. 1991. Setas; guía ilustrada. Ed. Mundi Prensa, 2ª edición, Madrid. P461.
6. García Rollán, Mario. 1991. Cultivo de setas y trufas. Ed. Mundi Prensa, 2ª edición Madrid. P174.
7. Gerrits, J.P.G. 1989. Supplementary manuring with Calprozyme. Champignoncultuur, 1989, 33: 8, 445. Horticultural Abstracts 1990 060-05364; 7N Soy bean Abstracts 1990 013-01493; Soils and Fertilizers 1990 053-12878.
8. Gerrits, J.P.G. 1989. Indoor compost based on horse manure or straw. Champignoncultuur. 1989, 33: 10, 555-561; 3pl. Horticultural Abstracts 1990 060-05365; 7L Biodeterioration Abstracts 1990 004-02123; Soils and Fertilizers 1990 053-12879.
9. Getpun, U. 1989. Out of season growing experiment on 5 strains of button mushroom (*Agaricus spp.*). Journal of the National Research Council of Thailand. 1989, 21: 2, 1-15. Plant Breeding Abstracts 1991 061-10707; Horticultural Absracts 1992 062-02204.

10. Kumar, S. et. al. 1988. Studies on the utilization of rice bran for spawn production of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. Indian Journal of Mushrooms. 1988, 14: 1-2, 10-15. Horticultural Abstracts 1991 061-06997; 7U Rice Abstracts 1991 014-02039; 7L Biodeterioration Abstracts 1991 005-02202; 6T Wheat, Barley and *Triticale* Abstracts 1992 009-00682.
11. Moll, Horacio Marco. 1970. El champiñón. Ed. Acriba, Zaragoza, España. P86.
12. Oei, Peter. 1991. Manual on mushroom cultivation. Tool Publications, Amsterdam. P249.
13. Phutela, R.P. et. al. 1986. Studies on spawn preparation of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. Annals of Biology 1986, 2: 2, 180-184. Horticultural Abstracts 1988 058-00362.
14. Singer, Rolf. 1964. Las setas y las trufas. Ed. Continental, México. P47.
15. Suman, B.C. et. al. 1988. Amodified method of grain spawn production of *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach. Indian Journal of Mushrooms. 1988, 14: 1-2, 57-58. Horticultural Abstracts 1991 061-06998; Wheat, Barley and *Triticale* Abstracts 1992 009-00685.
16. Suman, B.C. et. al. 1990. Serening of diferent varietiesof wheat (*Triticum aestivum* Linn.) for spawn production of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. in Himachal Prodesh. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology, 20: 1, 44-46. Horticultural Abstracts 1992 062-08369; Plant-Breeding Abstracts 1992 062-09680; 6T Wheat, barley and *Triticale* Abstracts 1992 009-05737.
17. Toovey, F.W. 1963. Cultivo del champiñón. Ed. Acriba, Zaragoza, España. P152.
18. Vijay, B. et. al. 1988. Effect of casing thickness on yield of *Agaricus bisporus*. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology. 1988, 18: 2, 209-210. Horticultural Abstracts 1991 061-1180.

19. Yash Gupta, et. al. 1989. Spawned casing: effect on yield of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology. 1989, 19: 2, 225-227. Horticultural Abstracts 1991 061-11181.

9. APENDICE

Tabla 6. Datos del experimento.

N° DE HIFAS PRESENTES EN CADA GRANO SELECCIONADO											
	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	N° DE HIFAS MEDIO / GRANO
T1R1	315	325	330	320	312	315	321	323	325	330	321.6
T1R2	318	315	316	325	320	300	321	323	330	328	319.6
T1R3	323	322	325	330	333	328	320	319	325	320	324.1
T1R4	323	318	316	325	316	327	329	328	320	320	322.2
T1R5	329	330	320	318	325	325	324	331	330	325	325.7
T1R6	328	327	325	324	320	320	318	311	300	326	319.9
T2R1	380	375	374	389	400	420	400	398	390	399	392.5
T2R2	420	415	425	428	430	440	430	432	435	430	428.5
T2R3	400	425	400	428	415	416	425	429	422	429	418.9
T2R4	381	389	385	380	399	405	403	425	400	428	399.5
T2R5	420	321	398	415	416	420	425	420	435	400	417.0
T2R6	410	420	418	430	380	389	399	400	410	400	405.6
T3R1	620	600	570	550	690	660	691	680	470	699	643.0
T3R2	575	625	610	680	650	677	681	693	600	608	639.9
T3R3	599	598	599	700	710	690	695	699	690	693	667.3
T3R4	660	666	670	555	560	551	562	565	577	580	594.6
T3R5	580	505	599	603	600	589	599	571	577	570	573.3
T3R6	550	585	570	560	570	579	589	551	550	590	569.4
T4R1	425	400	455	459	469	450	430	441	432	440	440.1
T4R2	430	420	445	420	435	432	430	435	440	439	432.6
T4R3	425	428	435	433	430	428	440	437	436	440	433.2
T4R4	430	425	422	420	440	453	458	420	440	438	434.6
T4R5	433	442	418	413	455	465	460	471	479	468	452.2
T4R6	485	460	455	430	425	430	450	433	428	439	443.5
T5R1	375	377	398	395	388	379	370	377	384	390	683.3
T5R2	377	381	388	371	368	375	374	379	388	391	379.2
T5R3	387	380	370	375	376	377	379	381	389	371	343.6
T5R4	379	371	370	389	391	391	387	389	330	390	378.7
T5R5	390	383	389	399	377	370	375	379	390	388	384.0
T5R6	385	380	379	380	375	399	425	400	405	389	391.7
T6R1	360	310	320	332	335	333	325	320	320	318	327.3
T6R2	300	312	325	321	329	331	330	318	329	339	323.4
T6R3	320	329	327	333	328	325	329	331	322	318	326.2
T6R4	325	320	318	322	325	325	329	329	335	333	325.7
T6R5	329	370	300	328	299	321	332	340	349	330	325.5
T6R6	311	307	318	325	337	325	328	343	320	312	322.6

