

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO**

**DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA**

**DETERMINACION DE CONTAMINANTES  
EN EL CULTIVO DE *Pleurotus spp***

**TESIS**

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**EN HORTICULTURA**



**PRESENTA:**

**DIRECCION ACADEMICA  
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES  
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES**

**RAFAEL CUAUHTEMOC TRUJANO CHAVEZ**

**BIB 95647**

Chapingo, Estado de México, mayo de 1995



# DETERMINACION DE CONTAMINANTES EN EL CULTIVO DE *Pleurotus spp*

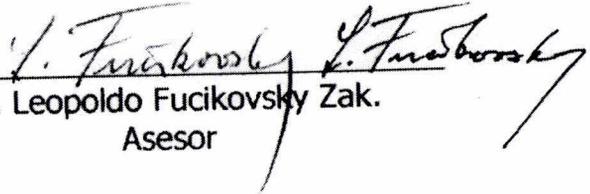
Tesis realizada por **Rafael Cuauhtémoc Trujano Chávez** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

## MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA



---

M.C. José Merced Mejía Muñoz.  
Director



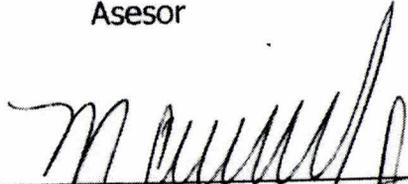
---

Dr. Leopoldo Fucikovský Zak.  
Asesor



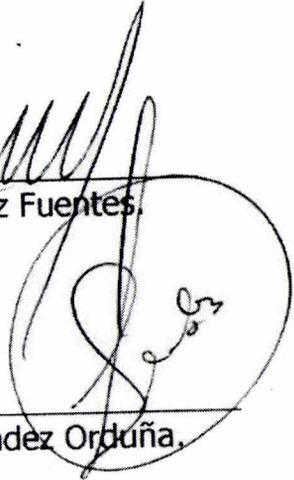
---

Dr. Jaime Sahagún Castellanos.  
Asesor



---

Dra. María Cristina López Fuentes.  
Asesor



---

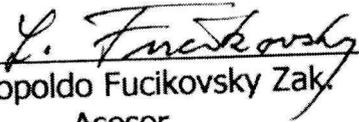
M.C. Víctor Manuel Fernández Orduña.  
Asesor

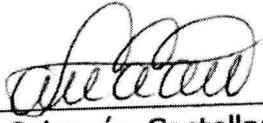
38231

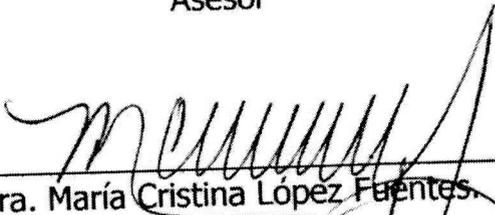
## DETERMINACION DE CONTAMINANTES EN EL CULTIVO DE *Pleurotus spp*

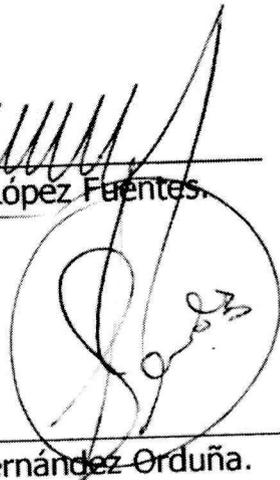
El jurado que revisó y aprobó el examen de grado de **Rafael Cuauhtémoc Trujano Chávez** autor de la presente tesis de Maestría en Ciencias en Horticultura estuvo constituido por:

  
M.C. José Merced Mejía Muñoz.  
Presidente

  
Dr. Leopoldo Fucikovsky Zak.  
Asesor

  
Dr. Jaime Sahagún Castellanos.  
Asesor

  
Dra. María Cristina López Fuentes.  
Vocal

  
M.C. Victor Manuel Fernández Orduña.  
Vocal

DEDICATORIA

A Rafael Pozas:

"....and she said We are all just prisoners here, of our own device..."

(D. Felder/D. Henley/G. Frey/. Hotel California. The Eagles.)

## CONTENIDO

	PAGINA
INDICE DE CUADROS.....	viii
INDICE DE FOTOS.....	ix
RESUMEN.....	x
SUMMARY.....	xi
I. INTRODUCCION.....	1
II. OBJETIVOS.....	2
III. REVISION DE LITERATURA.....	2
3.1. ORIGEN, USOS, PRODUCCION MUNDIAL, NACIONAL Y VENTAJAS.....	2
3.1.1. ORIGEN DEL CONSUMO DE HONGOS Y SU CULTIVO.....	2
3.1.2. USOS DE LOS HONGOS.....	3
3.1.3. PRODUCCION MUNDIAL DE HONGOS COMESTIBLES.....	3
3.1.4. PRODUCCION NACIONAL DE HONGOS COMESTIBLES.....	4
3.1.5. APROVECHAMIENTO DE DESECHOS AGROINDUSTRIALES.....	4
3.1.6. VENTAJAS DEL PROCESO DE PRODUCCION DE HONGOS COMESTIBLES	5
3.2. PROCESO DE PRODUCCION DE <i>Pleurotus</i> .....	5
3.2.1. INSTALACIONES.....	5
3.2.2. METODOS DE PREPARACION DE SUSTRATO.....	6
3.2.3. SIEMBRA.....	7
3.2.4. REQUERIMIENTOS AMBIENTALES.....	7
3.3 CONTAMINANTES ASOCIADOS AL CULTIVO DE HONGOS COMESTIBLES.....	8
3.3.1 INTRODUCCION.....	8
3.3.1.1. BACTERIAS.....	8
3.3.1.1.1. CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS	
BACTERIAS.....	10

3.3.1.1.2. PROPAGACION/DISPERSION.....	10
3.3.1.1.3 SINTOMATOLOGIA.....	11
3.3.1.1.4 CONTROL.....	13
3.3.1.1.5. INOCULACION DE BACTERIAS.....	14
3.3.2. DIPTEROS.....	14
3.3.2.1. IDENTIFICACION DE DIPTEROS.....	16
3.3.2.2. HABITOS Y DAÑOS.....	17
3.3.2.3. CONTROL.....	17
3.3.3. NEMATODOS.....	18
3.3.3.1. TAXONOMIA.....	19
3.3.3.2. HABITOS Y DAÑOS.....	19
3.3.3.3. NEMATODOS COMO VECTORES.....	21
3.3.3.4. CONTROL.....	21
3.3.4. HONGOS INDICADORES.....	22
3.3.5. ACAROS QUE ATACAN A HONGOS COMESTIBLES.....	22
3.3.5.1. HABITOS Y DAÑOS.....	23
IV. MATERIALES Y METODOS.....	25
4.1. EL PROCESO DE PRODUCCION.....	25
4.1.1 INFRAESTRUCTURA.....	25
4.1.2. PROCEDIMIENTOS DE INOCULACION DE PAJA.....	27
4.2. OBTENCION, AISLAMIENTO Y PURIFICACION DE COLONIAS BACTERIALES... 28	
4.2.1. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD.....	30
4.3. OBTENCION E IDENTIFICACION DE DIPTEROS.....	31
4.3.1. DETERMINACION DE PROPAGACION DE CONTAMINANTES	
INTERNOS EN DIPTEROS.....	32
4.4. OBTENCION E IDENTIFICACION DE NEMATODOS.....	33
4.5. OBTENCION E IDENTIFICACION DE ACAROS.....	33

V. RESULTADOS.....	34
5.1. BACTERIAS.....	34
5.2. DIPTEROS.....	35
5.2.1. TRANSMISION DE PATOGENOS INTERNOS DE PUPA A ADULTOS...	35
5.3. NEMATODOS.....	36
5.4. ACAROS.....	36
VI. DISCUSION.....	39
VII. CONCLUSIONES.....	45
IX. LITERATURA CITADA.....	46

## INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1 Géneros de nemátodos detectados-----	36

## INDICE DE FOTOS

Foto	Página
1 Cultivo de <i>Pseudomonas spp</i> provenientes de carpóforo con daño visual (derecha) y resultado negativo (izquierda)-----	34
2 Adulto Díptero (detalle Venación de alas)-----	35
3 <i>T. putrescentiae</i> (sedas parte inferior del cuerpo del ácaro)-----	37
4 Cuerpos fructíferos de nulo valor comercial-----	38
5 Cuerpos fructíferos no comerciales en planta-----	39
6 Manejo no recomendable de la pasteurización-----	41

## RESUMEN

### Determinación de contaminantes en el cultivo de *Pleurotus spp*

Rafael Cuauhtémoc Trujano Chávez <sup>1</sup> y Leopoldo Fucikovsky Zak <sup>2</sup>

En una explotación comercial de cultivo de *Pleurotus spp* se tomaron muestras de los cuerpos fructíferos que presentaban diversos daños visuales para determinar los contaminantes responsables de la pérdida del valor comercial de éstos. Para ello, se seleccionó a una empresa que presentaban daños los cuales no eran reconocidos por los productores y provocando que la comercialización fuese nula y con riesgo a la empresa por desaparecer. La ubicación fue en San Vicente Chicoloapan, Estado de México, distante unos 15.0 Km. del Distrito Federal. Se dispuso para la determinación de colonias bacteriales la toma de muestras cada semana haciendo un total de 72 muestras durante el mes de Abril a Septiembre de 1994. Se procedió a colocarlas en medio de cultivo PDA y B de King y se probó reacción a fluorescencia obteniéndose 2 tipos de colonias, unas que fluorescían y otras no. La prueba de patogenicidad se realizó en papa var Alpha para observar desarrollo de pudrición. Otra prueba consistió en inoculación en hojas de tabaco y la última en cuerpos fructíferos de *Pleurotus spp* de calidad comercial aparentemente sanas. El resultado fue la determinación de bacterias del género *Pseudomonas*. Por otra parte, se capturaron "moscas" mediante un colector fabricado con un matraz Erlen Mayer de 500.0 ml. de capacidad y la identificación mostró la presencia de las Familias de Dípteros Scatópsidae, Sciaridae y Drosophilidae. De un total de 25 individuos contabilizados, la proporción Scatópsidae/Sciaridae fue de 7:1 y a Drosophilidae se le encontró rara vez. Para determinar la propagación de contaminantes internos en Dípteros se mostró que los adultos emergidos de pupas no poseen la capacidad de transmitir de ésta forma organismos que pudieran ser detectados en los medios de cultivo PDA y B de King. En el caso de nematodos, se tomaron 3 muestras de cuerpos fructíferos en los que se detectó e identificó los siguientes géneros de nemátodos: *Aphelenchoides*, *Monhistera*, *Paragrolaimus*, *Pelodera*, *Triphila*, *Acrobeloides* y *Rhabditis*. En cuanto a Acaros, se detectó e identificó a *Tyrophagus putrescentiae* SCHRANK como la única especie presente.

Lo anterior indica que el proceso de producción es inadecuado debido a ; desconocida calidad del inóculo utilizado, fases de producción con un deficiente control ambiental así como prácticas de sanidad no adecuadas.

**Palabras clave;** *Pleurotus*, Contaminantes Hongos, Bacterias, Nematodos, Acaros.

<sup>1</sup>Resumen de la tesis que presenta el autor como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Horticultura.

<sup>2</sup> Director de tesis: Profesor-Investigador de tiempo completo del Centro de Fitopatología, Colegio de Postgraduados (CP) de Montecillo, Estado de México, México. 56230

## ABSTRACT

Rafael Cuauhtémoc Trujano Chávez.

### Determination of contaminants in *Pleurotus spp* crop

May 1995

Under the direction of L. Fucikovzky Zak,

In a commercial facility of *Pleurotus spp*, samples of fruiting bodies with visual signs of detrimental conditions were taken for to detect the causal contaminants that caused the lost of commercial value. For that, it was chosen this facility with more than 90.0 % of fruiting bodies hurt and no idea from growers what caused it. This generated the risk of stop running the facility in order to prevent more financial losses. This place is located at San Vicente Chicoloapan, México State, about 15.0 Km from México City. For to determine bacterial colonies, 72 samples were taken each week through April to September 1994. PDA and B king media was utilized to test fluorescence reaction. As a result, 2 kind of bacterial colonies were isolated, one fluorescent and one no fluorescent. Patogenicity test were carried out in Potato slices var Alpha for develop pudrition condition, also inoculation in tobacco leaves and the last test was inoculation in apparently health fruiting bodies of *Pleurotus spp*. The bacterial genus detected was *Pseudomonas*. Besides this, flies inside the facility were caught up. One Family was detected; Diptera and genus were Scatópsidae, Sciaridae and Drosophilidae. The relation Scatópsidae/Sciaridae adults were 7:1 and Drosophilidae was found only from time to time. Another task was to test if Diptera pupae could transmit contaminants from its inner body but was negative using PDA and B King Media. It was also detected nematodes of the genus *Aphelenchoides*, *Monhistera*, *Paragrolaimus*, *Pelodera*, *Triphila*, *Acrobeloides* and *Rhabditis*. The last contaminant detected was acari *Tyrophagus putrescentiae* SCHRANK.

This work indicates that the production management was not adequate because ; *Pleurotus spp* quality inoculum was unknown, inadequate ambiental control through the several phases of production and sanitation practices also .

**Key words;** *Pleurotus*, Mushroom contaminants, Bacteria, Nematodes, Acari.

## I. INTRODUCCIÓN

En los últimos cinco años se han instalado diversas empresas en el Valle de México con el fin de producir el hongo comestible *Pleurotus* debido a la buena aceptación de este hongo en el mercado. Sin embargo, la mayoría de estas han desaparecido debido principalmente a una falta de control de los diversos contaminantes, lo que ha provocado pérdidas de hasta el cien por ciento del producto.

Así mismo, otro de los factores que han contribuido a limitar el proceso de producción es la obtención de inóculo, dado que es difícil determinar si éste es de calidad. Por otra parte, la obtención de asistencia técnica especializada es escasa o falta de experiencia en todas las fases del proceso. Aunado a lo anterior, se recurre a la literatura técnica disponible la cual es limitada y referida a condiciones distintas a las prevalencias en el Valle de México.

El panorama actual agropecuario es delicado debido a la falta de rentabilidad de diversos procesos de producción a nivel de pequeño productor, aunado a la problemática de carteras vencidas y alto costo del crédito. Por lo anterior, se considera necesario generar y divulgar los conocimientos básicos en condiciones del Valle de México para apoyar la viabilidad de dicho proceso.

Uno de los problemas más serios que preocupa a los productores es el referente a los contaminantes de *Pleurotus sp* de efectos devastadores que, en general, se presentan después que se han erogado gastos importantes.

## II. OBJETIVOS

- 2.1. Determinar los contaminantes en una explotación comercial de *Pleurotus sp.*
- 2.2. Caracterizar a las bacterias mas comunes asociadas a este proceso de producción comercial y probar su patogeneidad.

## III.- REVISIÓN DE LITERATURA

### 3.1. ORIGEN, USOS, PRODUCCIÓN MUNDIAL, NACIONAL Y VENTAJAS

#### 3.1.1. ORIGEN DEL CONSUMO DE HONGOS Y SU CULTIVO

El uso de hongos con fines alimenticios cruza todas las fronteras, culturales. Altamente apreciados por los griegos, el consumo de hongos en las naciones europeas tiene profundas raíces tradicionales (Stamets y Chilton, 1983).

Por miles de años los Japoneses y Chinos han apreciado una amplia variedad de especies de hongos debido a sus propiedades benéficas. En el Nuevo Mundo, los Aztecas y Mazatecas utilizaron a los hongos tanto por sus propiedades en beneficio de la salud como divinas (Stamets y Chilton, 1983).

El registro mas antiguo del cultivo de hongos en Europa fue en el siglo XVII cuando el agrónomo de Luis XIV, Oliver de Serres, colectó especímenes silvestres e implantó micelio de hongo en sustratos preparados. En Asia los Japoneses han cultivado el hongo Shiitake (*Lentinus edodes*) por aproximadamente dos mil años (Zadrazil, 1978; Stamets y Chilton, 1983.)

### 3.1.2. USOS DE LOS HONGOS

En general, los usos de los hongos se clasifican en tres grandes grupos (Flandroy, 1991):

1. Por propiedades medicinales.
2. Sus efectos filmigéne y antidesecantes para la industrial de cosméticos .....y por
3. Su alto valor alimenticio proteínico (Flandroy, 1991; Samajpati, 1982, citado por Chang y Chiu 1992).

### 3.1.3. PRODUCCIÓN MUNDIAL DE HONGOS COMESTIBLES

En 1983/1984 la producción a nivel mundial era de 1.4. millones de toneladas (Valencia *et al.*, 1993) mientras que para 1992, la producción mundial fue de más de 2.0 millones de toneladas métricas, de las cuales, el champiñón (*Agaricus sp*) representó el 56.0%, el Shiitake (*L. edodes*) el 14.0% y el hongo de paja (*Volvariella*) un 8.0% (Nichols, 1993).

La importancia del cultivo de hongos comestibles en la horticultura se pone de manifiesto en el caso del Reino Unido, el cual produjo 84.0 mil toneladas de *Agaricus bisporus* y que excede en valor las 100.0 millones de libras esterlinas, lo que implica que es el cultivo de mayor valor en la horticultura inglesa. Los Estados Unidos de Norte América (E.U.A.) produce 3.5. veces mas y Francia 2.2 veces mas (Lynch, 1985).

La importancia del hongo comestible *Pleurotus* se manifiesta en los datos de la producción mundial del año 1986, donde Chang y Chiu (1992) asientan que se produjeron 2, 182,000.0 toneladas, de las cuales el 7.7.% correspondió a *Pleurotus*, 8.2% a *Volvariella volvacea*, el

4.4% para *L. edodes*, el 56.2% para *Agaricus spp* y el restante 13.5% lo componen por lo menos 4 hongos comestibles mas. Para 1990, todos los hongos comestibles incrementaron su volumen de producción, siendo el de mayor incremento (5.3 veces) el *Pleurotus*, aportado por China (Flandroy, 1991).

#### 3.1.4. PRODUCCION NACIONAL DE HONGOS COMESTIBLES

En México existen cerca de 250.0 especies registradas, de los cuales más del 50% son comestibles, aunque no todas se pueden cultivar (Anónimo, 1993, a) y Guzmán (1993) señala que se conocen más de 200 especies silvestres que se utilizan para consumo.

El hongo *Pleurotus ostreatus* es llamado por los campesinos "hongo de izote" "oreja de cazahuate", "hongo de bagazo" (Martínez *et al.*, 1991) el cual es aceptado dentro de la población rural y es objeto de venta en diversos mercados del país (Moreno, 1990).

La producción nacional de *Pleurotus* cultivados es de 3.0 toneladas por día y de 8.0 toneladas la demanda por día (Salmones, 1993, comunicación personal).

#### 3.1.5. APROVECHAMIENTO DE DESECHOS AGROINDUSTRIALES

Los materiales lignocelulósicos son los mas abundantes sobre la tierra, y se considera el 50.0% de toda la biomasa con una producción anual estimada de  $10^{10}$  Ton/ año (Walker y Blackwell, 1973). Uno de los procesos de bioconversión mas económicamente viables es el cultivo de hongos comestibles y aunque esto se ha reconocido por siglos, sólo cerca de diez especies de basidiomicetes saprófitos han sido cultivados exitosamente a un nivel que puede considerarse comercial (Smith, 1988).

Lynch (1985), cita a la Gran Bretaña como ejemplo de la problemática respecto a uno de los insumos básicos para el cultivo de hongos comestibles (específicamente el de *Pleurotus spp*), donde la producción anual de paja entre éste país y Gales es de 11.0 a 13.5 millones de toneladas, de las cuales la mitad es quemada. Un problema es trasladarla a donde se requiere, lo que es caro por lo que su utilización es *in situ* es lo recomendable.

Cada año la industria de *Agaricus spp* en el Reino Unido consume aproximadamente 300 mil toneladas de paja en la producción de composta (Smith, 1988).

### 3.1.6. VENTAJAS DEL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE HONGOS COMESTIBLES

El potencial es alto para los países en Desarrollo debido a que se requiere considerable mano de obra, espacio y los sustratos utilizados provienen del desecho de cultivos en campo los cuales se aprovechan antes de ser reciclados para acondicionar el suelo. La investigación científica aporta los resultados que dan certeza al proceso (Nichols, 1993).

## 3.2. PROCESO DE PRODUCCIÓN DE *Pleurotus*

### 3.2.1 INSTALACIONES

Laborde (1989), menciona que en Francia existen varios tipos de locales que usan los productores que son cuevas que se utilizaron para cultivo de *Agaricus spp*. Túneles desinfectados, salas y estructuras ligeras plásticas. El tipo a utilizar depende de las exigencias del mercado, aunque sugiere que una instalación debe permitir obtener regularidad en la producción, rendimientos elevados y buena calidad, lo que se logra controlando las condiciones ambientales mediante equipos de climatización, una profilaxis rigurosa y variedades capaces de producir buenos rendimientos.

En Francia, existen dos tipos de productores en función de la obtención del sustrato: quienes adquieren el sustrato "sembrado" y los que lo preparan ellos mismos, por lo que propone un método de manejo suponiendo que el sustrato se adquiere "sembrado" (Laborde, 1989).

Laborde (1989), indica que en Francia se utilizan cinco sistemas de producción que son; a) el cultivo en bolsas de plástico, el cual se adapta bien a los ambientes húmedos de las cuevas, b) en tubos negros, la cual es una técnica propuesta por el Institut National de la Recherche Agronomique (Instituto Nacional de la Investigación Agronómica, Bordeaux, Francia) (INRA) que no requiere aplicación de riesgos, c) el cultivo en bloques rectangulares, el cual se le conoce también como técnica Compo Maine, d) en *tuyaux o gaines* cilíndricos de corto diámetro y e) en muros de aluminio. Las dos últimas tecnologías las utilizan algunos productores y son en las que se obtienen los más altos rendimientos, aunque también son los de más alto costo.

### 3.2.2. METODOS DE PREPARACIÓN DEL SUSTRATO

El sustrato básico mas común esta hecho por pajas de cereales, las cuales deben triturarse para formar segmentos de longitud menores a 6.0 o 7.0 cm. aunque Zadrazil (1985) señala que pueden ser de 1.0 a 5.0 cm. Posteriormente se tienen dos formas de tratar el sustrato básico: a) Inmersión total durante 48 hr. y escurrir y b) la segunda forma, trata de aportar rápidamente agua a la paja y mezclar. Zadrazil (1985) sugiere que el contenido de agua del sustrato sea del 70.0 % en base a peso. Se pueden aportar aditivos, proteínas y yeso antes de pasteurizar con vapor de agua o desinfectar con agua caliente a 60° C. Cualquiera que sea el caso, hay que desinfectar los aditivos.

La pasteurización se realiza de dos forma, en grandes recipientes bajo condiciones aerobias. Puede ser corta, es decir, mantener a 60.0 °C el sustrato durante 24 hr o puede ser larga, manteniendo algunas horas a 60.0 °C y cambiar a 50.0 °C durante varias días. El método del "agua caliente" se considera artesanal, la cual consiste en sumergir una canastilla llena de sustrato en agua

caliente (Zadrazil, 1985; Laborde, 1989), mantener a 50.0 °C durante una a dos horas, drenar, enfriar, sembrar y complementar con aditivos proteicos previamente tratados con formol (Laborde, 1989).

### 3.2.3 SIEMBRA

Zadrazil (1985) sugiere que la cantidad de micelio a aplicar debe ser del orden de 3.0 % a 5.0 % en relación al peso mientras que Laborde (1989) indica que la cantidad de micelio está en función de la tecnología a utilizar, así entonces en el caso de la tecnología mencionada en a) se indica aplicar 2.0 % en base a peso, mientras que en la tecnología que propone I.N.R.A., así como en otras tecnologías donde se incluye aditivos, se recomiendan cantidades superiores al 3.0 %.

### 3.2.4. REQUERIMIENTOS AMBIENTALES

La producción se puede obtener en dos tipos de locales; en cuevas utilizadas para el cultivo de *Agaricus spp* y en salas construidas en el exterior (Laborde, 1989). En ambos casos se permite obtener producción regular todo el año. (Laborde, 1989). El diseño más simple consiste en disponer de dos locales, uno para la incubación o invasión del sustrato por el micelio lo cual toma de dos a tres semanas y otra sala para la fase de producción o cosecha que puede durar de seis a doce semanas (Laborde, 1989). Laborde (1989) plantea que la fase de incubación no requiere iluminación, la temperatura del sustrato no debe exceder de 27.0 a 28.0 °C, según Zadrazil (1985) de 33.0 °C y según Stamets y Chilton (1983) a los 40.7 °C durante 72 horas ocurre muerte termal y en función de este dato se regulará la temperatura del aire, la humedad relativa del 90.0 al 100.0 % y 20.0 % de CO<sub>2</sub> sin renovación de aire (Stamets y Chilton, 1983). La sala de producción deberá contar con aportes de aire nuevo del orden de 150.0 m<sup>3</sup> por tonelada por hora (Laborde, 1989) o 4 a 6 renovaciones por hora (Stamets y Chilton, 1983) y humedad relativa no menor de 80.0 % y no mayor a 95.0 % según la fase de desarrollo de los primordios de fructificación (Laborde, 1989) o de 85.0 a 92.0 % (Stamets y Chilton, 1983). Aquí se requieren doce horas de luz entre 100 a 200 lux según Laborde (1989) y es del orden de

2000 lux durante doce horas por día así como temperatura del aire de 20.0 a 22.5 °C según Stamets y Chilton (1983).

En las salas se requiere utilizar equipos para el control ambiental en verano/invierno tales como ventilación de rendimiento variable, humidificadores nebulizadores de alta presión con difusores controlados por higrómetros, sondas para registro de la temperatura del sustrato cuando se trate de bloques e instalar tubos de iluminación tipo fluorescentes (Laborde 1989).

### 3.3. CONTAMINANTES ASOCIADOS AL CULTIVO DE HONGOS COMESTIBLES

#### 3.3.1. INTRODUCCIÓN

Vedder (1986) señala que los contaminantes pueden dividirse en dos grupos bien definidos. En el primer grupo se encuentran los que atacan a los hongos y se les denomina patógenos, mientras que aquellos que compiten por el sustrato se les llama indicadores o competidores. Los patógenos de los hongos cultivados son mohos, bacterias, virus y nematodos, mientras que los indicadores son siempre hongos de algún tipo y los patógenos no son tan numerosos en comparación con los competidores aunque pueden ser mucho más devastadores.

##### 3.3.1.1 BACTERIAS

Guzmán *et al.*, (1993) mencionan que las bacterias son comunes al proceso de cultivo de los hongos, principalmente en las cajas petri, tubos de ensaye y frascos de inóculo (o "semilla"). Por su parte, Stamets y Chilton (1983) señalan que los diferentes contaminantes están asociados a diversas fases del cultivo de hongos e Ivanovich-Bisenka (1972) citado por Stamets y Chilton (1983) escribe que el grano utilizado en la preparación del inóculo posee esporas de hongos imperfectos, levaduras y bacterias.

El género mas importante que ataca a los hongos cultivados es *Pseudomonas*. En el hongo cultivado *Agaricus spp* se reporta comunmente *Pseudomonas tolaasii* PAINE (Vedder, 1986; Guzmán *et al.*, 1993) cuyo nombre vulgar es "Mancha Parda" (Brown Blotch) (Fletcher *et al.*, 1991), mientras que Samson *et al.* (1986) dice que *Pseudomonas fluorescense* representa en promedio el 10.0% de las poblaciones bacteriales en la composta que se prepara en Francia y en ocasiones es mas del 50.0 % cuando se trata del suelo de cobertura. Las especies de las que se trata son *P. Putida* y *P. fluorescens*, el biovar 5 es la mas frecuente (la cual incluye a *toalaasii*).

En México también se ha encontrado dicha bacteria en los hongos comestibles *Pleurotus*, *Volvariella* y *L. edodes* (Guzmán *et al.*, 1993), aunque Stamets y Chilton (1983) indican que las bacterias están algunas veces asociadas con las esporas o micelio del hongo. Stamets y Chilton (1983) describen el género *Bacillus* como agente causal de la "Mancha Húmeda" (Wet Spot) sobre hongos comestibles en general.

Sin embargo, Stanek (citado por Fermor, 1988) notó cierta relación entre Pseudomonadaceas y la estimulación del micelio en crecimiento de *Agaricus bisporus* y que existen hongos y otras bacterias (incluyendo Actinomycetes) que pueden estimular el crecimiento del micelio mediante la producción de enzimas y vitaminas. Stamets y Chilton (1983) mencionan a algunos microorganismos que favorecen al rendimiento y se trata de varios hongos termófilos y bacterias de los géneros *Humícola*, *Torula*, *Actinomyces*, *Streptomices*, *Pseudomonas* y *Bacillus* seleccionadas para hongos cultivados en general.

Otro aspecto a considerar por Fermor (1988) es que se ha descubierto que varios hongos filamentosos (entre ellos *Agaricus*, *Pleurotus* y *Volvariella*) son capaces de degradar y asimilar células bacteriales en cultivo *in vitro*, lo que sugiere un importante eslabón en la cadena alimenticia microbiana, pero no se ha probado que lo puedan hacer en madera, pajas, o desperdicios de paja de trigo y/o algodón.

Por otra parte, Singer (1964) señala que siempre hay bacterias entre los contaminantes fungosos, especialmente en la fase final de producción y cita los siguientes aspectos: Se encuentran bacterias comúnmente en especímenes adultos aparentemente sanos, su presencia no indica patogenicidad, quizás las bacterias son secundarias a los ácaros, viviendo de las deposiciones fecales de éstos y que las bacterias viven saprofiticamente de hifas colapsadas.

#### 3.3.1.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS BACTERIAS

El género mas común en *Pleurotus* y otros hongos comestibles es *Pseudomonas* (Stamets y Chilton, 1983). Las bacterias son de forma recta o ligeramente curvadas, con paredes celulares rígidas y metabolismo aeróbico o facultativo aeróbico. La mayoría de las especies son gram negativas y pertenecen a los géneros *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia* y *Agrobacterium* (Anónimo, 1983). El género *Bacillus* son células de forma alargada, gram positivas (Stamets y Chilton, 1983) *Pseudomonas* contiene un grupo muy grande de patógenos que producen un pigmento soluble en agua, el cual es de color verde fluorescente cuando se encuentra en el medio adecuado, por ejemplo, B de King (King, *et al* 1954) y estas *Pseudomonas* fluorescentes se dividen posteriormente en cinco grupos más por medio de la prueba de Lelliot (Lelliot *et al.*, 1966 en; Anónimo, 1983). Las formaciones llamadas colonias son agregaciones "gelatinosas", de color amarillo a café y de olor fétido.

El tamaño se encuentra entre 0.5 –5.0 micrones. Son detectados por microscopio de luz y con ultracentrifugación, las colonias grandes son visibles a simple ojo (Stamets y Chilton, 1983).

#### 3.3.1.2. PROPAGACIÓN/DISPERSIÓN

La transmisión de los patógenos se realiza de dos maneras, una cuando el patógeno es trasladado de un material enfermo a uno sano, esto incluye la transmisión por, insectos, nematodos, el hombre y sus prácticas culturales (Anónimo, 1983). Garcia (1978) señala que las posibles vectores son además los ácaros y para el caso de *Pseudomonas tolaasii* (Fletcher *et al.*, 1991) especifica que las fuentes primarias de contaminación son las moscas de la familia *Sciaridae*, ácaros, hombre, escaleras, riego y material de cobertura (en cultivo de *Agaricus spp*) y Stamets y Chilton (1983) enlistan a los cinco vectores mas probables de contaminantes que son; a) el productor, b) el aire, c) el sustrato a ser inoculado, d) el micelio que va a ser transferido y e) las herramientas de inoculación, equipo, contenedores, infraestructura. Específicamente el origen de los contaminantes en cultivo en agar proviene mayoritariamente de esporas contenidas en el aire, así como los cultivos en grano o de alguna otra fuente que generalmente el productor no alcanza a definir (Stamets y Chilton, 1983).

Fletcher *et al.*, (1991) acotan que la transmisión por insectos a distancias cortas e intermedias pueden ser importantes. Los insectos que se alimentan chupando o mordiendo el material frecuentemente transmiten bacterias y que los insectos voladores pueden incrementar la velocidad de dispersión rápidamente.

### 3.3.1.3. SINTOMATOLOGIA

La bacteria se alimenta del liquido proveniente de los cuerpos fructíferos y del micelio y se hace virulenta cuando se desarrolla sobre los champiñones vivos, donde produce manchas color café a negro. Cabe señalar que se sabe que en el caso de *Agaricus spp* produce toxinas que pueden impedir el desarrollo del micelio (Guzmán *et al.*, 1993). Los factores que definen el tipo y severidad de los síntomas son las condiciones climáticas, resistencia del hospedero, sitio y método de infección y posiblemente, la cantidad de inóculo (Anónimo 1983). García (1978) indica que para el caso de *Agaricus*, las bacterias producen "manchas" que penetran poco en el carpóforo, generalmente no más de un milímetro y que a veces éstas producen cavidades mucilaginosas en el cuerpo fructífero que alojan a

ácaros aunque este síntoma también está caracterizado por la presencia de *Bacillus polymixa*, *Bacterium carotovorum*, *Pseudomonas fluorescens*. Fletcher *et al.*, (1991) acota que los síntomas son mas acusados en otoño. En el caso de inducción de síntomas, Singer (1964) aclara que nadie lo ha logrado por medio de inoculación de aislamiento de bacterias.

Stamets y Chilton (1983) incluyen una clave sintomatológica para ser utilizada por los productores en su área de trabajo, el cual se desglosa únicamente en los apartados que conducen a determinar la presencia o ataque de bacterias en diversos hongos comestibles, incluyendo *Pleurotus spp* y son:

- 1) Contaminantes parasitando el cuerpo fructífero. \_\_\_\_\_2
- 2) El contaminante provoca que el hongo se convierta en "aguanoso", "pegajoso" o presente lesiones de las cuales fluye un liquido pero que no está cubierto con micelio polvoriento.
- 3) El cuerpo fructífero no está como se describió anteriormente. Primeramente presenta manchas cafés que se agrandan y en las cuales se forma una capa delgada color grisáceo café. Los hongos eventualmente se desintegran en una masa viscosa oscura. ----- *Pseudomonas tolaasii*.

Vedder (1986) enlista los síntomas generales provocados por *P. tolaasii* y a *Erwinia* como agente causal de la "Gota Húmeda". En el caso de *Pseudomonas* señala los cambios de color en función del tiempo transcurrido los cuales son; a) los carpóforos presentan manchas brillantes color pardo-amarillento, b) pasan a color pardo- herrumbre y c) finalmente a color pardo-chocolate. En cuanto al síntoma típico provocado por *Erwinia*, se tiene que el líquido producido es de apariencia limpia y clara (Vedder, 1986).

García (1978) y Vedder (1986) atribuyen a diversas *Pseudomonas* la enfermedad de la momificación, cuya sintomatología en los carpóforos es que no se pudren y el aspecto es reseco.

#### 3.3.1.4. CONTROL

En las explotaciones de cultivo de *Pleurotus spp* y de cualquier otro hongo comestible, el control exitoso involucra el rompimiento del ciclo de la enfermedad (Anónimo, 1983). García (1978) advierte que el control de bacterias suele ser difícil y a menudo inútil, por lo que recomienda hacer el control preventivo y con base en enérgicas desinfecciones.

Los mohos y bacterias no desarrollan bien en áreas específicamente ajustadas para el cultivo de hongos. Aunque tanto los hongos comestibles como los contaminantes prefieren condiciones húmedas. Los contaminantes son la mayor amenaza en condiciones de ambiente con aire estancado mientras que a los hongos de interés no. Las diferencias en humedades relativas y aire fresco en sala de fructificación que benefician al cultivo preferencialmente son de pocos puntos porcentuales (Stamets y Chilton, 1983).

Fletcher *et al.*, (1991), Vedder (1986) y García (1978), sugieren una serie de pasos para el control de infestaciones en *Agaricus*, de los cuales presentan los que se refieren a prácticas culturales generales y que son: a) ventilar bien tras los riesgos, b) desinfectar totalmente las instalaciones tras el cultivo y c) ajustar el ambiente.

Con respecto al punto c) anotado anteriormente, García (1978) indica que en el caso de *Agaricus spp* el control de la "Mancha Bacteriana" es el ejemplo mejor documentado de un éxito y se basa en que *P. tolaasii* necesita para multiplicarse condiciones de alta humedad y que la decoloración de los champiñones sólo tiene lugar cuando la población de bacterias es muy grande. Las

fluctuaciones de temperatura provocan que se alcance con frecuencia el "punto de rocío", lo cual mantiene húmedos a los hongos y puede originar graves síntomas de "Mancha Bacteriana". Para evitar tales condiciones, es necesario contar con un control muy preciso de la temperatura y de la humedad relativa por medio de acondicionamiento del aire en correspondencia con el sistema de calefacción en los meses de otoño.

El crecimiento de las bacterias se evita utilizando antibióticos bacteriales como el sulfato de gentamicina (Stamets y Chilton, 1983). Hablando de hongos comestibles en general, Beelman (1988) citado por Chang y Chiu (1992) señalan que el lavado postcosecha con agua clorada abate dramáticamente las poblaciones bacteriales y preserva la calidad de los hongos durante el almacenamiento.

#### 3.3.1.5. INOCULACIÓN DE BACTERIAS

El almacenamiento en agua de colonias bacteriales es barato y fácil (Ellis, 1979 citado por Anónimo, 1983). En inoculaciones a vegetales la infiltración requiere una aguja hipodérmica y aspersores de agua fina para forzar al inóculo a ingresar por pequeñas rupturas o estomas.

#### 3.3.2. DIPTEROS

Los dípteros presentan como característica principal el poseer únicamente un par de alas, ya que el segundo par se ha reducido a unas pequeñas estructuras llamadas halterios cuya función es proporcionar equilibrio (Borror, 1981 citado por Domínguez, 1981; Davies, 1991).

Borror (1981) señala que las partes bucales de los dípteros son de tipo chupador, aunque existe dentro del orden considerable variación en su estructura. Una alta proporción de las larvas medran en hábitats acuáticos, ya sea en charcos, ríos, aguas salobres y/o salinas, etc.

Fletcher *et al.*, (1991) cataloga a los dípteros como la plaga más seria en la producción comercial de hongos comestibles.

Los principales dípteros que atacan a los hongos comestibles pertenecen al género *Lycoriella* (Familia; Sciaridae) y en México se les ha encontrado en cultivos de *Pleurotus* y *Lentinus* (Guzmán *et al.*, 1993). Vedder (1986) indica que otro género común que ataca hongos, particularmente en *Agaricus spp es Megasiela* (Familia: Foridae) pero que se conoce poco su efecto en *Pleurotus spp*. Otro díptero común en *Agaricus* son Sciaridos y Cecidomidos (*Mycophila spp*), los cuales también son atraídos por los aromas desprendidos de las instalaciones, entre ellos el de residuos.

En las instalaciones de cultivo de hongos en Pennsylvania (E.U.A.) los productores han clasificado a las moscas por facilidad de descripción práctica a dos grupos, conociéndose al primer grupo como mosquitos de hongos (Fungus gnats; Familia; Sciaridae), por ejemplo, *Sciara coprophila* Linther y al segundo grupo como "Moscas del Estiércol" (Familia: Phoridae), como *Aphiohacta albidihalteris* (Anónimo, 1931).

Fletcher *et al.*, (1991) hacen la observación que los dípteros de la familia Sciaridae tienden a permanecer en la champiñonera, a diferencia de la Familia Foridae (Phoridae), lo que puede ser importante para el productor, ya que los adultos son vectores de enfermedades como *Verticillium fungicola* var *fungicola* (en *Agaricus spp*) y de ácaros portadores de bacterias.

Las familias ya mencionadas que atacan a hongos comestibles como Sciaridae y Cecidomyiidae pertenece a la orden Nematóceras (Dípteros primitivos). Superfamilia Mycetophiloidea (Borror, 1981), actualmente Fungivoridae (Mallis, 1990), mientras que Phoridae pertenece al Orden Cyclorrhapha (dípteros superiores) (Davies, 1991), Superfamilia Phoridae y en cuanto a Drosophilidae ésta pertenece al mismo Orden aunque a la Superfamilia Drosophiloidea (Borror, 1981).

Las principales características prácticas del Suborden Nematóceras es que las antenas están compuestas de muchos artejos, generalmente más largos que la cabeza y el Tórax en conjunto (Davies, 1991).

### 3.3.2.1. IDENTIFICACIÓN DE DíPTEROS

Familia Sciaridae (Borror *et al.*, 1989): Usualmente son de color negruzco y se les encuentra comúnmente en lugares húmedos y sombreados. La larva de la mayoría de las especies vive en hongos y ocasionalmente se convierte en plagas en las instalaciones dedicadas al cultivo de éstos. Las antenas son consideradas largas, es decir, de diez y seis segmentos, por lo regular, tan largos como la cabeza y el tórax juntos. Una característica importante es la presencia de "espina" en el extremo distal de la tibia (la cual no se encuentra en Scatopsidae). Los ojos se pegan por encima de la base de las antenas.

Familia Scatópsidae (Borror *et al.*, 1989): Son de color negro o café, de antenas cortas. Las larvas se alimentan de material en descomposición y excremento. Este grupo es pequeño (catorce especies en Norteamérica) pero sus miembros son en ocasiones muy abundantes. No presentan "espina" en la tibia (Domínguez, 1981).

Familia Phoridae (Borror *et al.*, 1989): Son moscas pequeñas que se reconocen fácilmente por la apariencia de una "joroba". Los adultos son comunes en diversos hábitats, pero son más abundantes donde hay vegetales en descomposición. Los hábitats de las larvas son bastante variados, pues pueden darse en materia en descomposición vegetal o animal, sobre hongos, como parásitos de otros insectos o comensales en nidos de hormigas o termitas. Las antenas consisten aparentemente de un solo segmento globular (Domínguez, 1981).

Familia Cecidomyiidae (Borror *et al.*, 1989); son de corta longitud (1-5 mm), con patas largas y por lo regular antenas largas y escasa venación. Este grupo es grande, pues contiene alrededor de mil doscientas especies en América del Norte. Dos terceras partes producen agallas. Las larvas de las especies restantes no producen agallas y viven en madera o vegetación en descomposición o sobre hongos.

Familia Drosophilidae (Borror *et al.*, 1989); Estas moscas son de 3-4 mm de longitud y regularmente de color amarillento. Se le encuentra comúnmente en vegetación y frutas en descomposición. En Norteamérica existen ciento noventa especies. Las larvas de la mayoría de éstas viven en frutas y hongos en descomposición.

#### 3.3.2.2. HÁBITOS Y DAÑOS

García (1978) indica que los dípteros aceleran la descomposición de los hongos, los daños directos provocados por las larvas es que realizan galerías en los estípites y se alimentan de las hifas del micelio y los daños indirectos serían la de transmitir enfermedades y contribuyen a la diseminación de ácaros y nematodos. Vedder (1986) menciona a nematodos y hongos con y sin virus. Guzmán *et al.*, (1993) indican que son vectores de enfermedades fungosas, bacterianas y virosas al transmitir las por medio de las patas.

Fletcher *et al.*, (1991) observan que el primer flujo de adultos se da cuando se está enfriando la composta y antes de la inoculación.

#### 3.3.2.3. CONTROL

Guzmán *et al.*, (1993) recomienda desechar las bolsas contaminadas inmediatamente, proteger las entradas con malla contra insectos, colocar cebos combinados con

mosquicidas y trabajar con cepas de rápido crecimiento micelial. También recomienda monitorear la población utilizando tiras de plástico impregnadas de un adherente (por ejemplo, aceite casero). Si el caso es grave, hay que desocupar el local y desinfectar mediante la aplicación de insecticidas piretroides.

Fletcher *et al.*, (1991) mencionan que los controles actuales sólo funcionan en las fases larvales y adultos que emergen de poblaciones iniciales no controladas. Como ensayo particular se probó tres tipos de control químico, el primero un antialimentador, el segundo aplicación de repelente y el tercero fue insecticidas de baja toxicidad para mamíferos. El mejor control lo consiguieron los insecticidas Cyromazina (Food Machine Co.) y Diflubenzuron. La Cyromazina se aplica doble vez (antes de la "pasteurización" y al momento de inocular) aunque se requirieron aplicaciones posteriores para controlar a las siguientes generaciones.

Vedder (1986) hace incapié en que el control principal de *Agaricus* comprende desde la fase de enfriamiento hasta quince días después de la cobertura. Así mismo, es muy importante destruir los residuos.

Sin embargo, Fletcher *et al.*, (1991) llaman la atención al comentar que se han registrado casos de resistencia por parte de larvas de la Familia Sciaridae a compuestos organofosforados como el Diazinón y agrega que para evitar la incursión de dípteros de la familia Foridos (Phoridae) en las salas de incubación, se vaporiza Diclorvos, aunque estos productos no mantienen su eficacia inicial si se emplean dos o tres veces por semana.

Existen plaguicidas autorizados en el extranjero para su uso contra dípteros y en especial contra los individuos de la Familia Sciaridae que inciden sobre el cultivo de hongos como el Metopreno y otro plaguicida con registro por lograrse en el Diflubenzuron (Pedigo, 1989).

### 3.3.3. NEMATODOS

Existen pocos reportes acerca de problemas provocados por nematodos en hongos comestibles diferentes de *Agaricus spp.* *Pleurotus spp* es resistente al ataque de nematodos micófagos e incluso algunas especies de *Pleurotus* son capaces de parasitar a nematodos saprófagos y utilizarlos como fuente alimenticia (Barrow *et al.*, 1975 en Evans *et al.*, 1993).

#### 3.3.3.1. TAXONOMIA

Los nematodos parásitos se dividen en tres grupos. Tilenchidos (que incluye a tylenchidos y aphelenchidos); longidóridos y trichodóridos. El género *Dytilenchus* pertenece a la Familia Anguinidae, suborden Tylenchina y el género *Aphelenchoides* a la familia Aphelenchoidiae, suborden Aphelenchina y ambos al orden Tylenchida (Luc *et al.*, 1990).

#### 3.3.3.2. HÁBITOS Y DAÑOS

*Aphelenchoides spp* son parásitos de hojas, tallos y otras partes de las plantas superiores. La mayoría de las especies pueden cultivarse fácilmente en hifas de diversos hongos (Luc *et al.*, 1990).

Con *Aphelenchoides spp* es bien conocido su asociación en el cultivo de *Agaricus bisporus* y únicamente *A. composticola* es económicamente importante en todo el mundo (Richardson y Grewal, 1990, en Evans *et al.*, 1993).

Los primeros síntomas de su presencia es reducción del rendimiento (Richardson y Grewal, 1990, en Evans *et al.*, 1993).

*A. composticola* sobrevive a la escasez de alimentos, frío, desecación y al darse una recuperación del ambiente éstos son diseminados por los trabajadores e insectos (Hesling, 1968).

*Ditylenchus spp* son ectoparásitos de los tallos y hojas de plantas, pero también se le encuentra dentro de los tejidos (Luc *et al.*, 1990).

Se han registrado varias especies de *Ditylenchus*, pero sólo *D. myceliophagus* es económicamente importante en el cultivo comercial de *A. bisporus* y es de carácter endémico en la mayor parte de las regiones templadas donde se cultivan hongos (Hesling 1968, en Evans *et al.*, 1993).

*D. myceliophagus* es capaz de utilizar como alimento a diversos hongos que se encuentran en el sustrato de cultivo (Choleva, 1973, en Evans *et al.*, 1993). Las hembras ovipositan alrededor de cincuenta huevos y la relación número de hembras-machos esta en función del desarrollo de la población y las condiciones de nutrición (Cayrol, 1970, en Evans *et al.*, 1993). La dispersión de estos puede darse a través de las películas de agua existentes cuando se forman sobrepoblaciones, pero es más común su dispersión por medios pasivos, como el agua de drenaje y los implementos de trabajo contaminados (Richardson y Grewal, 1990 en Evans *et al.*, 1993). El síntoma más común es la reducción del rendimiento o fallo total en el desarrollo del cultivo (Hesling, 1968, en Evans *et al.*, 1993).

Vedder (1986) señala que *Aphelenchoides composticola* y *Ditylenchus myceliophagus* perforan a las hifas con su estilete y absorben el contenido de estas. Sobre éste micelio suelen desarrollarse bacterias que continúan la destrucción del micelio dañado o que dicho micelio sea devorado por otro tipo de nematodos. También señala que los nematodos propagan el "Virus de la Marchitez".

Los nematodos saprófagos no poseen estilete, sino una "boca" ventosa que en algunas especies representa "ganchos", se alimentan de residuos y de las bacterias y hongos que se desarrollan sobre ellos, por ejemplo, *Botrytis* (hongo contaminante). Hesling (1968) refiere que los nematodos saprobios son comunes en el cultivo de hongos, inclusive en las instalaciones mas higiénicas que haya. Este autor concluyó que dichos nematodos no tiene efecto en el rendimiento de hongos, por lo que se les debe tomar como indicadores y no como causantes de enfermedad.

#### 3.3.3.3. NEMATODOS COMO VECTORES

Vedder (1986) señala que *Aphelenchoides compostícola* y *Ditylenchus myceliophagus* son vectores del "Virus de la Marchitez" en *Agaricus spp.* Con respecto a *Rhabditis* (saprófago), este mismo autor agrega que puede aportar bacterias, ya que posee relaciones simbióticas y estas pueden atacar al hongo de interés. Una fuente de nematodos es la paja húmeda (Vedder, 1986).

#### 3.3.3.4. CONTROL

La eliminación de los nematodos en la paja depende únicamente de la "pasteurización", ya que bajo condiciones secas, algunas especies pasan a la condición llamada "anabiosis", en la cual pueden soportar temperaturas de 65.0-70.0 °C por lo que habrá de humedecer el sustrato y los nematodos morirán a 50.0-60.0 °C (Vedder, 1986). En cultivo de *Agaricus spp* se han aplicado productos biológicos comerciales a base de "hongos atrapadores de nematodos", aunque los resultados han sido inconsistentes (Cayrol *et al.*, 1978, en Stirling, 1991). Mankau (1981) refiere que el aislamiento corresponde al hongo *Arthrobotrys robusta*, predator de *Ditylenchus myceliophagus*, provocando incrementos en el rendimiento mayores al 20.0% y reduciendo en aproximadamente 40.0 % las poblaciones de *Ditylenchus* en el compost. En la India se ha probado el efecto nematocida de diversas plantas como *Ricinus communis*, específicamente sobre *Aphelenchoides compostícola* y *A. sacchari*, lo que

ha provocado incremento en los rendimientos de los hongos de interés en hasta 19.0 % (Grewal, 1989 en Richardson y Grewal, 1990).

La exclusión o control de moscas es un método obvio y el uso de filtros y sellado de puertas así como el uso de insecticidas piretroides en forma de aerosoles o humos es necesario (Fletcher *et al.*, 1991).

Existen perspectivas para el control biológico de moscas de la Familia Sciaridae por medio del nematodo parasitador *Steinernema feltiae* (Richardson y Grewal, 1991), bacterias patógenas de insectos (White *et al.*, 1990 en Evans *et al.*, 1993) y con ácaros predadores (Al-Amidi *et al.*, 1991 en Evans *et al.*, 1993).

#### 3.3.4. HONGOS INDICADORES

El *Pleurotus* coloniza el sustrato a base de paja en aproximadamente 10 a 14 días y una alta concentración de CO<sub>2</sub> dentro del sustrato ha mostrado ser benéfico para el crecimiento del micelio además de inhibir en algunos casos a microorganismos competidores (Smith *et al.*, 1988).

Si en el sustrato se forma un área anaerobia, se desarrolla una microflora no deseable. Para proteger al sustrato de los mohos (por ejemplo, *Trichoderma hamatum*, *Fusarium equiseti* o *Mucor spp*) es necesario obtener una microflora deseable consistente de *Bacillus spp* (por ejemplo, *Bacillus subtilis*, *Bacillus polymixa etc.*). Para el desarrollo de organismos deseables también es necesario tener temperaturas absolutamente iguales en todo el cuarto de pasteurización, ya que de lo contrario se crean grandes problemas con un sustrato no homogéneo (Smith *et al.*, 1988). El efecto es una disminución del rendimiento y contaminación que puede manifestarse posteriormente y el control en estos casos está asociado a la prevención necesariamente (Houdeau y Olivier, 1989).

### 3.3.5. ÁCAROS QUE ATACAN HONGOS COMESTIBLES

No se han encontrado reportes sobre ataque de ácaros en cultivo de *Pleurotus spp* ya que lo que existe está referido en *Agaricus spp*. García (1978) menciona a los siguientes ácaros como plagas de hongos comestibles, siendo estos *Tyrophagus mycophagus* MEGN, *T. longior* GER, *T. putrescentiae* SCHRANK, *T. lintneri* y *T. dimidatus* HERN. (Familia; Tiroglífidos).

Así mismo Fletcher *et al.*, (1991) mencionan a *Tyrophagus sp. Histiosstoma ferreserratum* (Familia: Histiosstomidae. Hughes, 1976) y Vedder (1986) añade a *Caloglyphus mycophagus* MAGN (Familia; Caloglyphus, Hughes, 1976), *Pygmaeophorus mesembrinae* Conestrini, *P. Stereoricola* y *P. tarsalis* y a ácaros de la Familia Rhyzoglyphus. Tarsomenidos (*Tarsonemus myceliophagus* HUSSEY) y a *Glycyphagus destructor* SCHRANK (Familia Glycyphagidae. Woolley. 1988).

#### 3.3.5.1. HÁBITOS Y DAÑOS

Respecto a *Tyrophagus longior* GER, García (1978) menciona que algunas de sus características es que son de movimientos lentos y se le encuentra frecuentemente en pajas de cereales. Con respecto a *T. putrescentiae* SCHRANK, este ácaro también es de movimientos lentos, cuerpo transparente y se le encuentra con frecuencia en pajas mohosas de alimentos proteicos. Con respecto a *T. lintneri*, solo acota que es de color rojo y en relación a *T. dimidatus* se le encuentra comúnmente en residuos orgánicos.

Fletcher *et al.*, (1991) generalizan respecto a *Tyrophagus* en el sentido de que este género se alimenta de esporas y micelio del hongo *Verticillium fungicola var fungicola* (patógeno de *Agaricus*) y que se han obtenido esporas viables de *Verticillium* en las deposiciones fecales de *Tyrophagus*. Vedder (1986) añade que estos ácaros son transportados de sala a sala o de una

"champiñonera" a otra, ya que se les puede encontrar en donde sea, principalmente sobre residuos orgánicos y se nutre del micelio que crece sobre ellos, prefiriendo la humedad relativa alta.

*Tyrophagus spp., Rhizoglyphus spp., Glyciphagus spp y Caloglyphus* pertenecen a el Orden Astigmata (Woolley, 1988), Superfamilia Ácaroidea, Familia Acaridae (Hughes, 1976.; Krantz, 1975). Todas estas especies son de vida libre y están asociadas a insectos o se les encuentra en nidos de mamíferos pequeños (Hughes, 1976) así como de hábitos alimenticios tales como saprófagos, gramívoros, fungívoros y fitófagos. Se les encuentra en hábitats extremos como húmedos a muy secos, generalmente alimentándose de residuos orgánicos de plantas y animales. Algunos sin embargo, se alimentan directamente de granos almacenados y a menudo provocan daños serios (Cárcamo y Espinoza, 1988). En especial *T. putrescentiae* SCHRANK es un contaminante común de productos almacenados, los cuales, debido a su sorprendente fecundidad es un problema serio, incluso en los cultivos de insectos en laboratorio (Krantz, 1975).

## IV MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. EL PROCESO DE PRODUCCIÓN

#### 4.1.1. INFRAESTRUCTURA

Esta empresa fue seleccionada para realizar el presente trabajo debido a que presenta características similares a otras instalaciones en el área, así como porque más del 90.0 % de los cuerpos fructíferos presentaban daños por infestaciones de diversos tipos los cuales no eran reconocidos por los productores y la gravedad estriba en que la posibilidad de comercialización es nula.

La ubicación es la comunidad de San Vicente Chicoloapan, Estado de México, a aproximadamente 15.0 Km. de el Distrito Federal. Físicamente la instalación se compone de tres salas, a saber, a) sala de siembra, b) sala de incubación y c) sala de fructificación. Las tres salas se formaron dividiendo la nave mediante paredes, una de plástico con marco de madera y la segunda pared de ladrillo ya existente.

La nave tiene techo tipo túnel con doble cubierta de plástico flexible, siendo la capa exterior plástico transparente y la interior color negro.

La nave en su conjunto tiene 35.16 m de largo, 9.04 m de ancho, 3.05 m de altura de pared y 4.34 m de altura al cenit. Carece de sistema de calefacción, excepto en la sala de incubación, así como de sistema de enfriamiento de aire, excepto la sala de fructificación que cuenta con renovación de aire natural mediante dos ventanas ubicadas en cada pared, con mosquitero y cuyas dimensiones son 1.95 m de altura y 2.0 m de ancho. Con respecto al aporte de humedad relativa, éste se realiza mojando el suelo con agua corriente conducida por manguera de plástico flexible tipo industrial únicamente en la sala de fructificación.

La disposición de las salas es la siguiente:

La sala de siembra se encuentra en el acceso principal y en la posición intermedia de la nave. Las dimensiones son 6.0 m de largo y 8.2 m de ancho. Contiene un recipiente construido con un tambor metálico de 200.0 l de capacidad y recubierto lateralmente con revestimiento a base de cemento. En la parte inferior existe una cavidad donde se coloca un quemador doméstico de gas butano. En la parte superior del recipiente está un riel que transporta del recipiente a la mesa de siembra una canastilla fabricada con malla de alambre y reforzado con segmentos de varilla corrugada siendo las dimensiones de 1.25 m de altura y 0.52 m de diámetro la cual tiene capacidad para albergar una paca de paja de trigo con un peso aproximado de 20.0 kg. Esta canastilla contiene a la paja que esta tratada en agua caliente. En la mesa de siembra se vierte la paja enfriada y se extiende. Se llenan bolsas de polietileno transparente de 40.0 cm de ancho por 60.0 cm de altura. Se vierten 5.0 kg de paja húmeda y 125 g de inóculo por bolsa. El acceso es un pasillo cubierto con plástico enmarcado en tira de madera y en el piso existe un colchón sanitario de 4 cm de profundidad, 1.0 m de ancho y 2.25 m de largo. La puerta es corrediza con marco de tubo y lamina de plástico flexible PF 602.

Por el lado Sur de la sala de siembra se encuentra la sala de incubación, la cual presenta 7.4 m de largo y 8.2 m de ancho. Está dividida por una pared formada de plástico negro flexible y marcos de madera. En el extremo Oeste se encuentra la puerta de acceso, construida de la misma forma que la pared. La sala de incubación tiene techo negro para impedir la entrada de luz.

Las bolsas con sustrato inoculado se colocaron en tres estantes de metal ángulo de cuatro pisos, con espacio entre pisos de 57.0 cm de altura y 58.0 cm de fondo. Se encuentran alineados a la pared, por lo que el centro del espacio está libre, donde se coloca un calefactor eléctrico casero. La capacidad total de bolsas a incubar es de 768.0.

Las dimensiones de la sala de fructificación son, 18.7 m de longitud y 9.04 m de ancho. El sistema de acomodo de las bolsas es colocado una bolsa debajo de otra hasta completar cinco. Estas se unen en serie con ganchos de acero, sujetándose gracias a la disposición de rafia alrededor de las bolsas en forma de meridianos y que convergen en la parte superior y media de la bolsa respectiva. La sala tiene capacidad para albergar 1670.0 bolsas, lo que significa un rendimiento estimado de 1670.0 kg mínimo cada 40 a 50 días.

#### 4.1.2. PROCEDIMIENTO DE INOCULACIÓN DE PAJA

La paja se obtiene en forma de pacas que pesan aproximadamente 20.0 kg cada una y provienen de la zona temporalera del Estado de Tlaxcala, la cual se almacena al aire libre, aunque se le protege con láminas de polietileno flexible en caso de posibles lluvias.

La paja se coloca en una canastilla elaborada con malla de alambre que de cabida a una paca de paja. Esta se sumerge en agua caliente (70.0 °C aproximadamente) durante 40 min. Se retira mediante una garrucha y se deja escurrir y enfriar a 28.0 °C y posteriormente se esparce en la mesa de siembra, donde se colocan 5.0 kg de paja en base a peso húmedo en una bolsa de 40 cm de ancho y 60 cm de largo mas 125 g de inóculo, el cual se refiere a la masa de granos de trigo colonizado por micelio de *Pleurotus spp* y que se obtiene en frascos de vidrio de 1.0 litro de volumen o bolsas de polipapel término con capacidad de 0.5 kg. El material se disgrega para colocarlo en capas alternas de inóculo y paja, comenzando en el fondo de la bolsa con una capa de inóculo y terminando con una capa de paja.

Se cierra la parte superior de la bolsa mediante un nudo realizado manualmente, se etiqueta y se coloca en la sala de incubación donde se mantiene hasta que muestre la formación de primordios. Se procura mantener una temperatura de alrededor de 28 °C y obscuridad. Se supervisa constantemente para detectar bolsas contaminadas y en su caso desecharlas.

Las bolsas se trasladan a la sala de fructificación, donde se les hace una serie de incisiones con el fin de estimular la "brotación" de los cuerpos fructíferos. El número de incisiones variará en alrededor de 15 a 20 y tienen una longitud de unos 6 a 7 cm. Entre tanto se ventilará naturalmente y se apoyará en ocasiones con un ventilador casero. Se aplica agua al piso una vez por la mañana y en ocasiones directamente a las bolsas de producción. El momento de la cosecha es cuando el hongo ha alcanzado el tamaño comercial, el cual se realiza utilizando un cuchillo y cortando el estípite principal, que generalmente sostiene varios cuerpos fructíferos. Estos se colocan en una caja de plástico del tipo utilizado en la comercialización de leche en caja. El cuchillo se enjuaga en alcohol al 96.0 % cada que se realizan dos o tres cortes. La cosecha se lleva a cabo por la tarde o noche para entregarse en la madrugada siguiente al mercado al mayoreo en el Distrito Federal.

Finalmente, se desinfecta el local de la sala de siembra diariamente con una solución de agua y cloro y las bolsas se desechan al momento de aportar un tercer corte. Las bolsas contaminadas parcialmente durante el proceso de producción pueden ser apartadas a un área específica dentro de la misma sala para tratar de obtener un mayor rendimiento.

#### 4.2. OBTENCIÓN, AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE COLONIAS BACTERIALES

Se colectaron al azar de 3 a 4 cuerpos fructíferos de tres a cuatro bolsas diferentes que están en fase de fructificación cada semana. Se colocan en bolsas limpias de polipapel, separando los cuerpos fructíferos de aspecto "seco" de los cuerpos fructíferos de aspecto "viscoso". Se etiquetaron y se trasladaron al Laboratorio de Bacterias del Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados. Estas colectas se realizaron durante los meses de Abril a Septiembre de 1994, y se tomaron en total 72 muestras.

Previamente se preparó medio de cultivo PDA en cajas *petri* de 90 mm X 20 mm. Al arribar las muestras, el área aledaña al microscopio se desinfectó con alcohol al 96 % y este mismo. El cuerpo fructífero a examinarse se colocó en una caja *petri* y se observó al microscopio utilizando 10 X. Se revisó la presencia de micelios extraños al hongo de interés y en caso de localizarlos, se tomó una porción mediante asa de platino previamente flameada y enfriada. La porción se depositó en una caja de *petri* desinfectada conteniendo medio de cultivo PDA, se selló y etiquetó.

En caso de bacterias, en la superficie del hongo donde se sospechó que existían poblaciones bacterianas, se tomó de estos cuerpos mediante asa de platino previamente flameada y enfriada y enseguida se transfirió este material a una caja *petri* que contenía medio de cultivo PDA o B de King. Se selló, se etiquetó y se colocó en una incubadora (marca imperial II) a 28 °C constante o a temperatura ambiente de laboratorio, si se deseaba disminuir el ritmo de crecimiento de los materiales.

Se revisaron las cajas *petri* 24 horas después y las colonias bacterianas que aparecen en medio B de King se observaron en la banda de luz ultravioleta 366 nm (marca Desaga Uvis) para determinar si fluorescen o no. Se realizaron las transferencias necesarias para purificar los materiales de interés que se determinaron bajo la inspección con microscopio.

En caso de micelio de hongo, éste se purificó y preservó en tubos de ensayo de 10 ml de capacidad con tapa rosca y conteniendo medio de cultivo agar-agar y una vez transferido, se cubrió el micelio con aceite mineral estéril.

En caso de las colonias bacteriales ya purificadas, se preservaron en tubos de ensayo de 10 ml de capacidad, tapa rosca y conteniendo aproximadamente dos terceras partes de su volumen con agua destilada estéril. Se transfirió el material mediante asa de platino hasta conseguir que el agua se mostrara turbia, ayudándose con un vortex. Se etiquetó y se guardó.

#### 4.2.1. PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

De las suspensiones bacterianas se purificaron dos colonias diferentes, una de ellas fluorescente y la otra no fluorescente. Estas se preservaron en agua destilada estéril y posteriormente se utilizaron para realizar las pruebas de patogenicidad que fueron a) inoculación en cuerpos fructíferos, b) pudrición de papa y c) inoculación en hojas de tabaco.

Pudrición de papa: Se desinfectaron los tubérculos de papa (Var: Alpha) impregnando alcohol al 96% sobre las superficies y flameando brevemente. Se preparan cajas *petri* sin tapa colocándoles secciones de papel secante humedecidas con agua destilada. Los tubérculos se cortaron en rodajas de 1 cm de espesor y del tamaño que ajuste dentro de la caja. Mediante bisturí flameado y enfriado, se practica una incisión al centro de los tubérculos y a lo largo del eje mayor, procurando que tenga por lo menos 3.0 mm de profundidad y unos 4.0 cm de longitud.

Enseguida se tomó mediante el asa de platino una porción de la colonia bacterial de interés y se depositó a lo largo de la incisión. Una segunda rodaja se preparó como se describió, excepto que no se le inoculó material alguno para que pueda funcionar como testigo. Se taparon y revisaron 24 horas después y cada 24 horas hasta completar tres días. Si se desarrolló una pudrición en el área donde se distribuyó el material bacteriano, se consideró que la prueba fue positiva.

La inoculación de cuerpos fructíferos de *Pleurotus* se realizó escogiendo los cuerpos de tamaño de 4.0 cm hasta 6.0 cm en relación al eje mayor y sin síntomas evidentes de deterioro alguno. La suspensión bacteriana se agitó, se utilizó la aguja hipodérmica estéril de 5 mm de capacidad, con la cual se aplicó en dos puntos separados en el área cóncava de cada cuerpo fructífero, por lo menos 1.0 ml de suspensión bacteriana. Inmediatamente se protegieron los carpóforos utilizando como cubierta tela "agribón" para evitar la entrada de insectos. Esto se supervisó diariamente para detectar síntomas

visibles. Este procedimiento se repitió una vez más para asegurar el resultado. Si se desarrolló un síntoma de aspecto viscoso o algún otro síntoma de deterioro, la prueba se consideró positiva.

La inoculación en hojas de tabaco se realizó utilizando aguja hipodérmica estéril para infiltrar la suspensión bacteriana con  $1 \times 1,000,000.0$  de células / mm a la hoja y poder observar la flacidez del tejido indicando la reacción de hipersensibilidad en un máximo de unas horas o hasta un día.

#### 4.3. OBTENCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE DíPTEROS.

Se construyó un "colector" de moscas, que consistió de un matraz Erlen Mayer de 500.0 ml de capacidad. Se tomó un tapón de plástico No. 7 y se le practicaron dos horadaciones. Posteriormente se consiguieron 75 cm lineales de tubo de vidrio (Pyrex) de 5 mm de diámetro interior. Este tramo se dividió en dos tramos de 25 cm uno de ellos y de 50 cm el restante. El tramo de mayor longitud se dobló utilizando flama de tal manera que quedarse en forma de "S" aproximadamente, siendo el segmento inferior de forma recta y 25 cm de longitud y la segunda mitad tuviese el doblé a la mitad de dicho segmento.

Posteriormente se preparó una solución de alcohol y agua al 70.0 % en un tubo de ensaye de 10.0 ml. de capacidad, tapa enroscable y conteniendo la solución a dos terceras partes de su capacidad.

Se realizó una colecta definitiva de moscas. Se atraparon al azar recorriendo toda la sala de fructificación, considerando obtener por lo menos veinticinco individuos en la colecta.

Para evitar que los dípteros continuaran volando en el interior de el matraz, se vierten previamente al interior de este 10.0 ml de agua destilada para provocar que las moscas se humedecieran y fueran incapaces de volar.

Al terminar la colecta, se trasladaron inmediatamente al Laboratorio de Taxonomía de insectos del Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados, donde se identificaron utilizando las claves de Borror (1989).

Para mantener una población de dípteros al alcance en el Laboratorio, se construyó una cámara de cría. Las dimensiones fueron de 31 cm. de largo, 26 cm. de ancho y 25 cm. de altura. La tapa de la cámara de cría consistió de la tela "Agribón". Así entonces, se colocaron en el interior cuerpos fructíferos con síntomas de deterioro, procurando aportar humedad relativa a criterio, a temperatura ambiente del laboratorio (21.0 °C aproximadamente en el día). De esta forma también se logró aportar larvas y pupas de dípteros, nematodos y ácaros.

#### 4.3.1. DETERMINACION DE PROPAGACIÓN DE CONTAMINANTES INTERNOS EN DÍPTEROS.

Se tomaron 30 pupas de los cuerpos fructíferos colocados en la cámara de cría, las cuales fueron desinfestadas sumergiéndolas en una solución de hipoclorito de sodio al 0.05 % durante 5 min., posteriormente se les enjuagó con agua destilada hervida y se retiró el exceso de humedad con papel secante. 10 de éstas pupas desinfestadas se colocaron una de ellas por caja petri conteniendo medio de cultivo PDA, 10 pupas en cajas *petri* con medio de cultivo B de King y 10 pupas en medio agar-agar. Se sellaron y etiquetaron. Se mantuvieron en observación a temperatura ambiente del laboratorio (23.0 °C diurno aproximadamente) y bajo oscuridad. Al momento de emerger todos adultos se contaron cuatro días de observación, durante los cuales se les permitió deambular por toda la superficie y

tratando de detectar algún signo de crecimiento sobre el medio de cultivo. Se abrieron las cajas *petri* y mediante asa de platino desinfectada con flama se "raspó" la superficie del medio de cultivo y se transfirió el material adherido al asa de platino a la respectiva caja *petri* donde 15 cajas de éstas contenían medio de cultivo PDA y 15 cajas *petri* contenían medio de cultivo B de King, se sellaron y se etiquetaron y se dejaron a temperatura ambiente de laboratorio y bajo oscuridad. Se revisaron al cabo de 24 horas tratando de detectar crecimientos miceliales o bacteriales.

#### 4.4. OBTENCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE NEMATODOS

Al revisar al microscopio estereoscópico (10 X: Lámpara dirigida al espejo cóncavo), los cuerpos fructíferos de aspecto "viscoso", se detectaron nematodos, por lo que se trasladaron dichos cuerpos fructíferos al Laboratorio de Nematología Agrícola del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo para su identificación a nivel género. Se mandó un lote único de una colecta de cuatro cuerpos fructíferos realizada en Septiembre de 1994.

#### 4.5. OBTENCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE ÁCAROS

Estos organismos se encontraron tanto en cuerpos fructíferos con síntomas que lucen un aspecto "seco" como los que aportan un aspecto "viscoso". Se escogieron dos lotes de cuerpos fructíferos y los ácaros colectados se remitieron al Laboratorio de Acarología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo para su identificación, ya que se sabe (Anónimo, 1931; Hughes, 1976; García, 1979; Vedder, 1986; Fletcher, 1991) que estos organismos pueden ser problemáticos en el cultivo de hongos comestibles.

## V. RESULTADOS

### 5.1. BACTERIAS

De las muestras tomadas, se aislaron, purificaron y conservaron dos colonias, una presentó el fenómeno de fluorescencia en medio B de King (King *et al.*, 1954) y dieron negativo en las pruebas de patogenicidad (pudrición de papa, inoculación en hojas de tabaco e inoculación en cuerpos fructíferos de *Pleurotus*), por lo que se coloca en el género *Pseudomonas*. Este género se aisló a partir de cuerpos fructíferos de consistencia húmeda y no se obtuvieron en el caso de las muestras tomadas en cuerpos fructíferos de consistencia seca, por lo que se consideran bacterias saprófagas.



Foto 1. Cultivo de *Pseudomonas spp* provenientes de carpóforo con daño visual (derecha) y resultado negativo (izquierda)

## 5.2. DÍPTEROS

Se determinaron las siguientes familias de dípteros, las cuales se mencionan en orden de importancia en función de la mayor a menor presencia de individuos colectados y son; Scatopsidae, Sciaridae, y Drosophilidae. La proporción de los dípteros de las Familias Scatopsidae/Sciaridae fue de aproximadamente 7: 1 y a Drosophilidae se le encontró rara vez, de un total de 25 organismos contabilizados ( Fotografía 2 ).



Fotografía 2. Adulto Díptero. Detalle Venación de alas.

### 5.2.1. TRANSMISIÓN DE PATÓGENOS INTERNOS DE PUPA A ADULTOS

El ensayo mostró que los adultos emergidos de pupas desinfestada externamente no poseen la capacidad de transmitir internamente a organismos que pudieran ser detectados en medios de cultivo PDA o B de King.

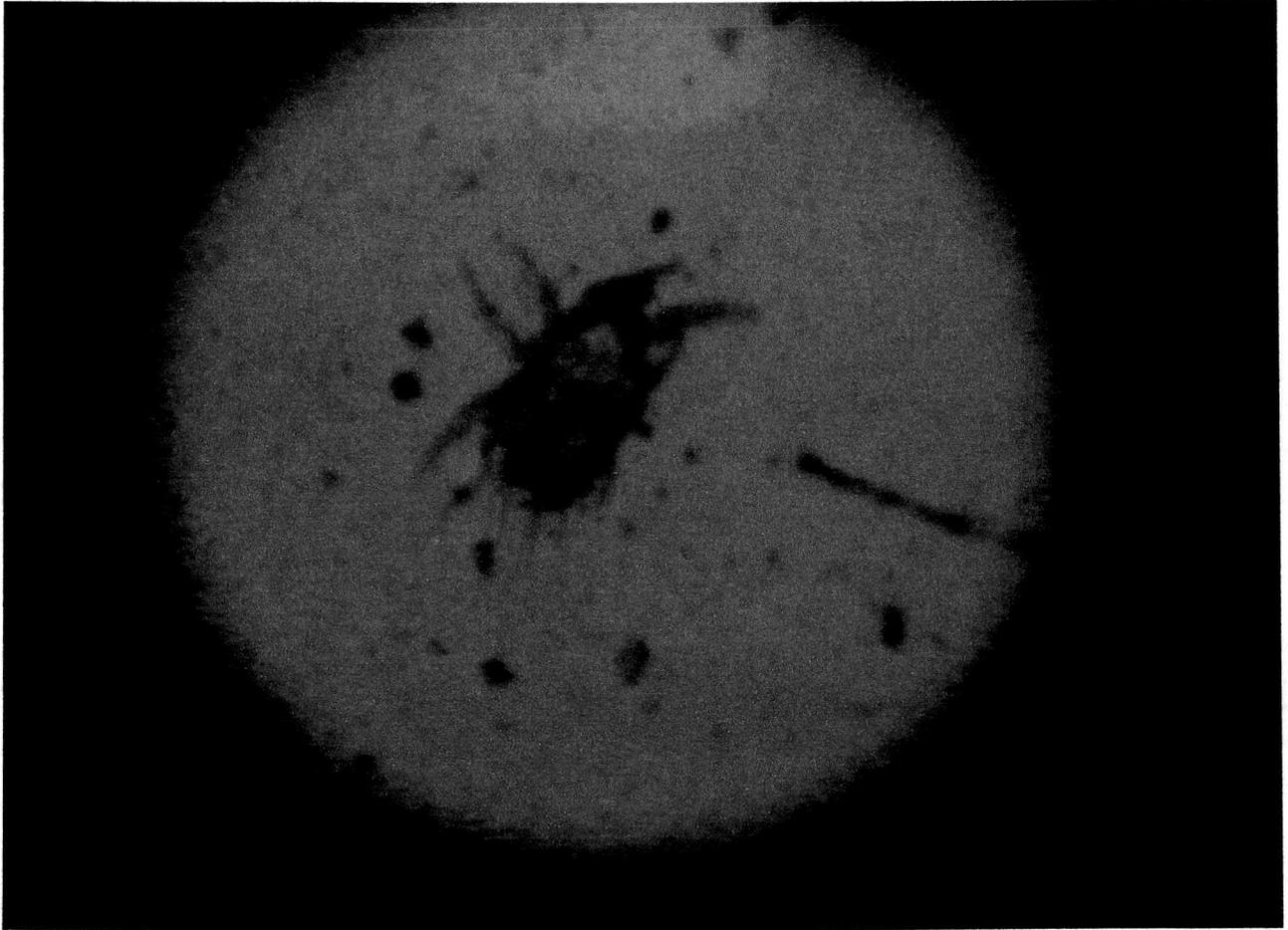
### 5.3. NEMATODOS

Se identificaron siete géneros de nematodos los cuales se enlistan y son:

Género	No. de Muestra		
	1	2	3
a) <i>Aphelenchus</i>	2	-	-
b) <i>Monhystera vulgaris</i>	5	-	-
c) <i>Paragrolaimus rigidus</i>	4	-	-
d) <i>Pelodera teres</i>	3	-	-
e) <i>Triphila</i>	3	-	-
f) <i>Acrobelooides butchsliei</i>	0	-	10
g) <i>Rhabditis</i>	0	-	11
TOTAL	17	-	21

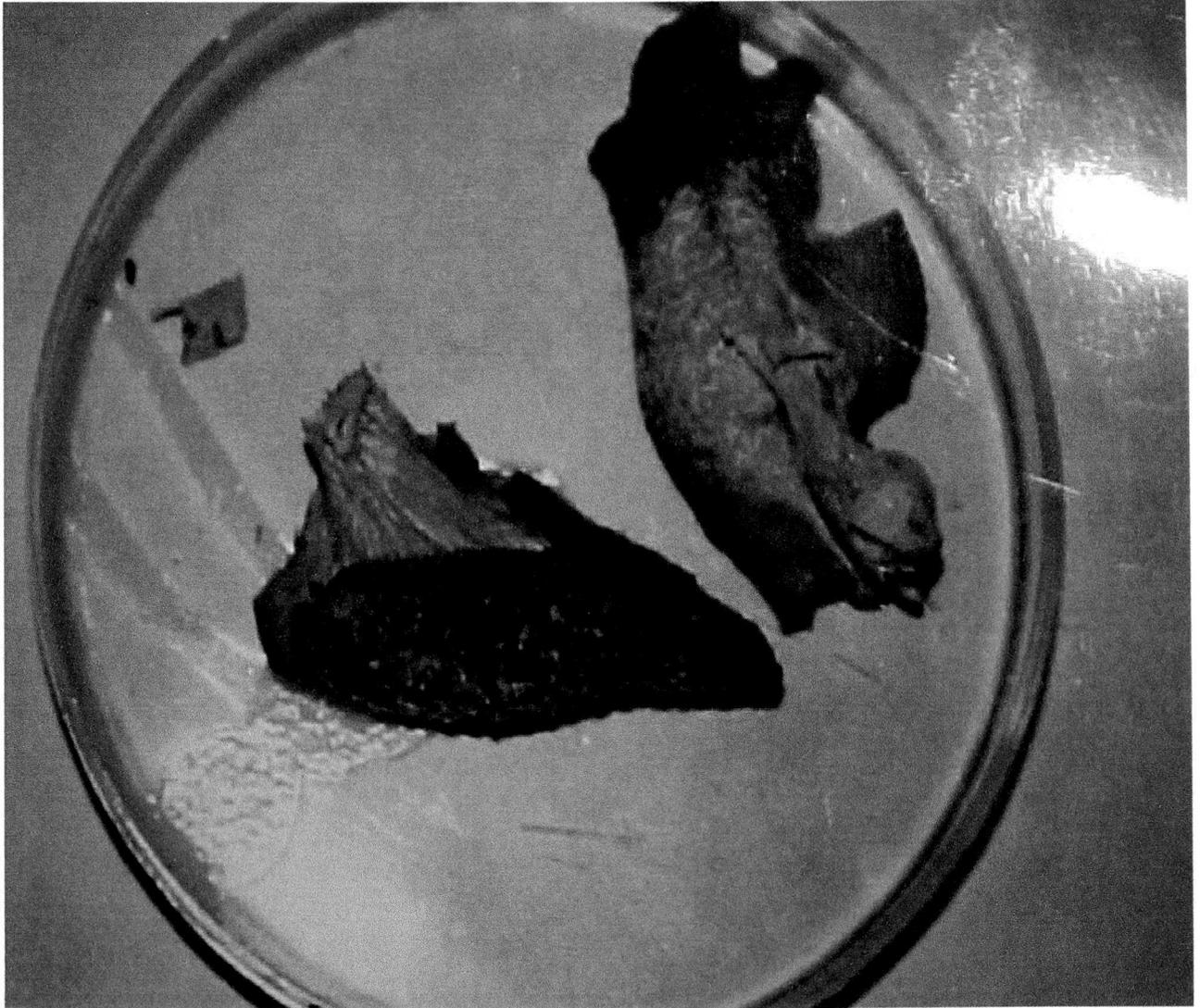
### 5.4. ÁCAROS

Se identificó al ácaro *Tyrophagus putrescentiae* SCHRANK como la única especie sobre los cuerpos fructíferos de *Pleurotus* estudiados. La Fotografía 2 se tomó en Microscopio Estereoscópico y es de *T. putrescentiae* donde se aprecian las sedas, las cuales permiten la dispersión de contaminantes bacteriales cuando el ácaro se desplaza por la superficie del carpóforo, lo cual incrementa la superficie inoculada por éste ácaro.



Fotografía 3. *T. putrescentiae* (sedas parte inferior del cuerpo del ácaro)

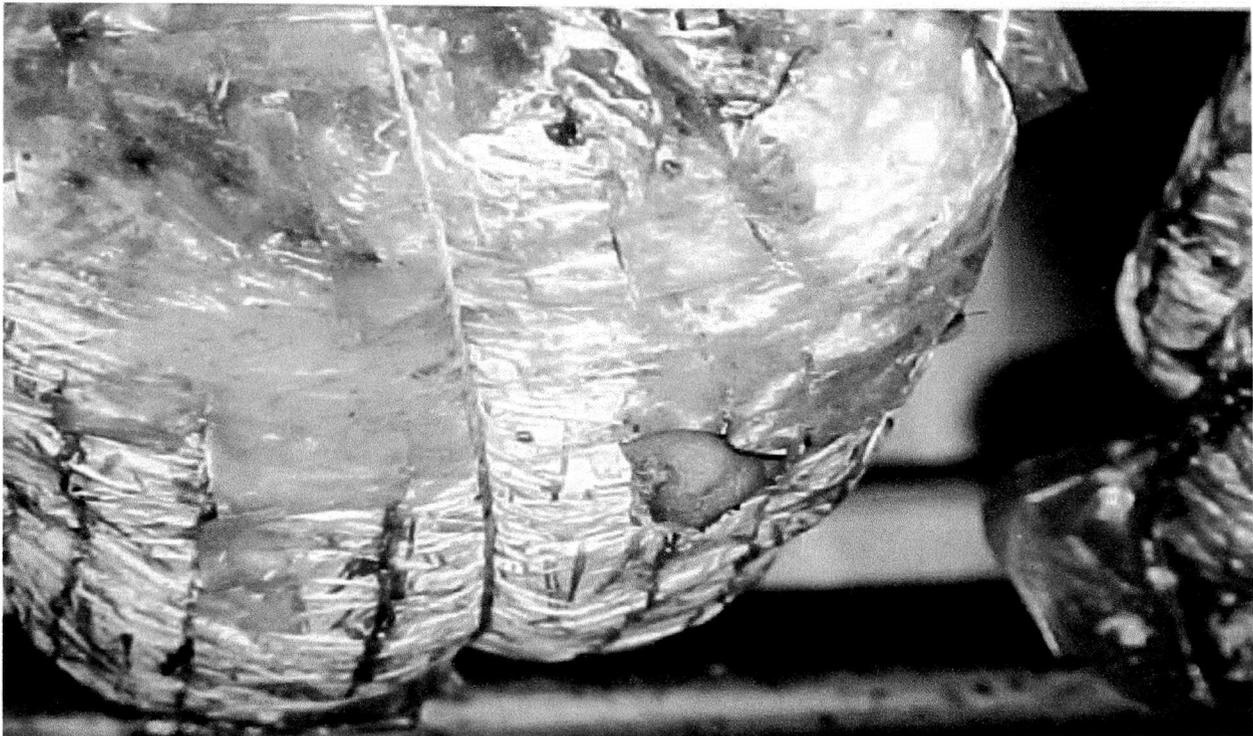
Por otra parte, la Fotografía 4 muestra cuerpos fructíferos bajo un ataque severo de ácaros, cuyo valor comercial es nulo.



Fotografía 4. Cuerpos fructíferos de nulo valor comercial

## VI. DISCUSIÓN

La empresa presenta producciones de cuerpos fructíferos con demandas en el mercado al mayoreo del Distrito Federal (Central de Abastos), sin embargo, los rendimientos comerciales son mínimos y se cree que es debido a la grave infestación de los diversos contaminantes detectados, los cuales de acuerdo a Vedder (1986) se consideran patógenos de hongos comestibles en cuanto a bacterias y nemátodos y cuyos efectos los califica de devastadores. (Fotografía 5).



Fotografía 5. Cuerpos fructíferos no comerciales en planta

Esto indica que la presencia de bacterias es común en *Pleurotus* y su detección a nivel de daño indica un bajo control de la calidad en inóculo y en las siguientes fases del proceso debido a un deficiente control ambiental, lo cual sensibiliza al hongo y favorece el incremento de las colonias bacterianas ya presentes.

Por su parte. Singer (1964) señala que las bacterias se encuentran en cuerpos fructíferos adultos aparentemente sanos, por lo que su presencia no implica patogenicidad, sin embargo, indica también que las bacterias se alimentan de hifas colapsadas. Es entonces de considerarse que en cuanto a los cuerpos fructíferos, éstos están sometidos constantemente a estrés por factores climáticos. Esto predispone al colapso de hifas en cualquier momento del desarrollo y permite la acción de las bacterias presentes, lo que lleva a pensar en las características del control de clima de la instalación, cuyo equipamiento es mínimo, lo que significa que los factores como temperatura, humedad relativa y concentración de CO<sub>2</sub> no son controlables con el suficiente rigor, pues Laborde (1989), Stamets y Chilton (1983) enlistan el nivel en que se deben controlar dichos factores como la humedad relativa entre 80.0 y 95.0 %, temperatura del aire entre 20.0 y 22.5 °C y de 4 a 6 renovaciones de aire fresco por hora, lo cual se percibe que esta instalación no es adecuada para obtener dichos controles.

En la sala de "pasteurización" y fructificación se encontraban comúnmente adultos de dípteros libres. García (1978), Anónimo (1983) y Fletcher (1991) mencionan que uno de los principales vectores de *Pseudomonas* son los dípteros, en particular la Familia Sciaridae. Garcia (1978) añade también a los ácaros en general. El hecho de que las pupas a nivel interno no sean vectores de microorganismos, sugiere que las bacterias detectadas fueron introducidas por los dípteros, lo que se pudo constatar al colocar adultos atrapados sobre medio de cultivo PDA y B de King y observarse la proliferación de colonias bacterianas. Estos autores indican también que la velocidad de dispersión de los contaminantes dentro de las instalaciones se ve incrementada debido a los insectos voladores, condición común encontrada en esta empresa debido al escaso control logrado puesto que se desconocían los hábitos de éstos.

Las condiciones antes mencionadas se encuentran presentes, lo que lleva a considerar las condiciones de la instalación y su independencia del ambiente exterior. Laborde (1989), Stamets y Chilton (1983) y Vedder (1986) y toda la literatura consultada respecto al cultivo de hongos comestibles enfatizan constantemente la necesidad fundamental de que las instalaciones permitan el control absoluto de los factores ambientales y una sanidad rigurosa. (Fotografía 6)



Fotografía 6. Manejo no recomendable de la pasteurización.

Esto se logra aislando las diferentes salas donde transcurre el proceso de producción del ambiente exterior, sin embargo, las instalaciones adecuadas de la manera en que se describió anteriormente indican que estas consideraciones no fueron tomadas en cuenta suficientemente, lo que propició que los productores fracasaran constantemente y se incrementaran los costos de producción.

Si señalamos a García (1978), éste indica que el control de bacterias presentes es difícil y a menudo inútil, ya que el control es preventivo y en base a enérgicas desinfecciones, lo cual es difícil de llevar a cabo debido a el constante ingreso de dípteros provenientes del exterior hacia el interior de la

instalación atraídos por el aroma de los hongos (Vedder, 1986), tanto al momento de enfriar el sustrato como en la sala de fructificación. Cabe señalar que entre los hábitos de los dípteros de las Familias detectadas como Sciaridae está la de preferir medrar en lugares húmedos y sombreados y normalmente las larvas viven en hongos silvestres. En cuanto a los dípteros de la Familia Scatópsidae se indica que las larvas se alimentan de material en descomposición y excrementos animales y la Familia Drosophilidae en su mayor parte viven en frutas y hongos en descomposición (Borror, 1989).

Fletcher *et al* (1991) hace la observación con respecto a los dípteros de la Familia Foridae como vector de ácaros y estos a su vez son portadores de bacterias.

En cuanto a la presencia de nematodos, estos se han estudiado poco en cuanto a hongos comestibles cultivados diferentes de *Agaricus spp*, sin embargo Luc *et al.*, (1990) indica que la mayoría de las especies de *Aphelenchoides* pueden cultivarse fácilmente en hifas de diversos hongos y Vedder (1986) señala que *A. composticola* perfora las hifas con su estilete, absorben el contenido de éstas y que posteriormente suelen desarrollarse bacterias que continúan la destrucción del micelio dañado o que otro tipo de nematodo devore el micelio restante. Sin embargo, el resto de los nematodos identificados no poseen estilete, lo que indica que son saprófagos y se alimentan mediante "ventosas" de los residuos de los hongos y bacterias que se desarrollan sobre ellos, por lo que su presencia se toma como indicador, no como patógenos. *Rhabditis* es un nematodo saprófago detectado en la instalación, sin embargo, es reportado como vector de bacterias (Vedder, 1968). Esto lleva nuevamente a considerar que la falta de equipo adecuado para el control del ambiente permite la fluctuación amplia de factores fundamentales como son temperatura y humedad relativa, lo que coloca a los cuerpos fructíferos en desarrollo en repetidas condiciones de estrés, lo que a su vez provoca colapso de hifas las cuales se convierten en sustrato aprovechable por los nematodos presentes y por lo tanto en el incremento de las poblaciones.

El ácaro detectado *Tyrophagus putrescentiae* SCHRANK está reportado en hongos comestibles en general (García , 1978; Fletcher, 1991) aunque no existe una mención precisa en relación a *Pleurotus*.

Es común encontrarlo en paja, sobre todo si están almacenadas (García, 1978). Hughes, (1976) indica que este ácaro soporta hábitats extremos, es sumamente prolífico, de vida libre, de hábitos alimenticios fungívoros entre otros y está asociado a insectos, lo que explicaría su presencia en los cuerpos fructíferos donde se hayan posado dípteros, pues se considera que la "pasteurización" es suficiente para eliminarlos de las pajas, por lo que éstos se instalan en los carpóforos al ser transportados por dípteros. De lo anterior se cree que ésta sea la primera mención respecto a éste ácaro en cultivo de *Pleurotus* en el Valle de México.

En base a lo anterior, es conveniente recordar a Zadrazil (1985) quien comenta que en el caso de Alemania el cultivo de setas fue un fracaso debido a las siguientes causas.

- 1) Los primeros productores de *Pleurotus* fueron idealistas, pues no tenían experiencia en el cultivo.
- 2) Se acondicionó infraestructura que no era adecuada al cultivo y se preveía su fracaso.

Estos dos puntos corresponden a la empresa descrita así como diversos casos que se conocieron. Algunas de ellas han desaparecido a consecuencia de la falta de experiencia y un acondicionamiento defectuoso, aunque aquí se agregaría la falta de personal técnico especializado disponible que ha incidido en la promoción del cultivo sin poder enfrentar la problemática generada.

Actualmente existe la certeza en el cultivo de *Pleurotus* debido a la obtención de los resultados de la investigación científica (Nichols, 1993), aunque estos son incipientes para las condiciones del Valle de México.

Se sugiere en base a lo expuesto que el desarrollo de éste proceso de producción requiere que se considere la necesidad de tomar iniciativas que beneficien a los pequeños productores actuales o

potenciales, como por ejemplo, instalar una entidad productora de inóculo que cumpla con altas normas de calidad y cantidad adecuadas a el tipo de explotación y mercado por alcanzar. Aunque ya existen diversos productores privados de inóculo, éstos carecen de una entidad que actúe como certificadora de calidad del producto comercial y por lo tanto los productores carecen de información imparcial y técnicamente autorizada.

Además, se sugiere la necesidad de planear, instalar y desarrollar una planta piloto productora de *Pleurotus*, la cual tendría como objetivos principales el de servir como propuesta técnica para productores interesados en incursionar o adaptar eficazmente sus propias instalaciones. El segundo objetivo fundamental se refiere a utilizar las instalaciones de la planta piloto para el establecimiento de ensayos de rendimiento de cepas que se consideren de interés con el fin de obtener recomendaciones para los productores, aunado a el paquete tecnológico respectivo. Esto lleva a un tercer objetivo que es el de capacitar a productores y técnicos que lo requieran.

## VIII. CONCLUSIONES

- 6.1. Se detectó la presencia de dípteros pertenecientes a la Familia Scatópsidae, que fue la más abundante, posteriormente Sciaridae y esporádicamente Drosophilidae.
- 6.2. Las pupas de la Familia Scatopsidae y Sciaridae desinfestadas externamente no fueron vectores de ningún organismo al emerger el adulto.
- 6.3. Se identificaron siete géneros de Nematodos reportados como saprobios en hongos comestibles cultivados, excepto *Pelodera sp.*, en el hongo *Auricularia polytricha*.
- 6.4. De las colonias bacteriales tomadas, una es *Pseudomonas* y la otra es saprobia.
- 6.5. Se identificó al ácaro *Tyrophagus putrescentiae* SCHRANK en los cuerpos fructíferos de apariencia tanto seca como viscosa.

## VIII. LITERATURA CITADA

- Thomas, C.A.. (1931). Mushroom insects. Their Biology and Control. Bulletin 270. October, 1931. The Pennsylvania State College, School of Agriculture and Experiment Station. State College. Pennsylvania. U.S.A.. pág.; 38.
- Anónimo.. Pennsylvania (1983). Plant Pathologist Pocketbook, 2<sup>nd</sup>. Edition. By the Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England, pp., 439.
- Anónimo.. (1993a). Annual report 1991-1992. Horticulture Research International.; Jim Flegg. (ed). U.K. pag.; 38-39
- Anónimo. (1993<sup>a</sup>). Gaceta Universitaria. Universidad de Guadalajara. No. 44. México, Noviembre 22. Pág.; 1.
- Borror, D.J.; D.M. DeLong.; C.A. Triplehorn.. (1981). An introduction to the study of the insects. 5<sup>th</sup>. Edición. Saunders College Publishing. New York, U.S.A. pp.; 775.
- Borror, D.J.; C.A Triplehorn., N.F. Johnson.. (1989). An introduction to the study of the insects. 6<sup>th</sup>. Edición. Saunders College Publishing. New York, U.S.A. pp.; 875.
- Cárcamo, R.; L.O. Espinoza. C.. (1989). Identificación del Acaro *Rhizoglyphus sp* (ACARIDAE-ASTIGMATA) que ataca el bulbo del ajo (*Allium sativum L.*) en la zona norte del Estado de Puebla. Memorias XXIV Congreso Nacional de Entomología. Oaxtepec, Mor.; México. pág.; 80-81.
- Cayrol, J.C.; J.P. Frankowsky.; A. Lamiece. G.; D' Hardware.; J.P. Talon..(1978). Contre les nematodes en champignonniere. Mise au point d' une methoed de lutte biologique a l'aide d'un Hyphomycete predateur: *Arthobotrytis robusta* souche' antipolis' (Royal 300). Pepinieristes, Horticulteurs, Maraichers, revue Horticole, 184, 23-30: In: Stirling, G.R.. (1991). Biological Control of Plant Parasitic Nematodes. Progress, problems and prospects. C.A.B. International. U.K..
- Cen. M.; H. X. Ji.. (1987). A preliminary study of the nematodes of wood ear *Auricularia polytricha* and *A. auricularia*. Chinese Journal of Zoology 22. 6-6 (In Chinese) citados por Richardson, P.N.; P.S. Grewal.. (1990). Nematode pests of Glasshouse crops and Mushrooms. In; Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture. (1993). K. Evans; D. L. Trudgill; J. M. Webster. (eds); C.A.B. International. U.K.pp.; 648.
- Chang, S.T..; Chiu, S.W.. (1992). Mushroom production-an economic measure in maintenance of food security. In; Biotechnology, economic and social aspects, Issues for developing countries. (1992). E.J. Dasilva.; C. Ratledge and A. Sasson. (eds). Cambridge University Press. Great Britain. Pág.; 110-141.
- Davies, R. G.. (1991). Introducción a la Entomología. Versión en Español de Manuel Arrollo Varela y Elisa Viñuela Sandoval. Edic. Mundi-Prensa. Madrid. España. pp; 173.
- Domínguez, R. R.. (1981). Claves para identificación de Familias de Ordenes mayores de la clase Insecta. Coleóptera, Lepidóptera, Díptera, Hymenoptera.. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo. México. pp.; 125.
- Evans, K.; D. L. Trudgill.; J. M. Webster.. (1993). Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture. C. A. B. International. U.K.pp.; 648.

- Fermor, T. R.. (1988). Significance of micro-organisms in the composting process for cultivation of edible fungi, In; Treatment of Lignocellulosic with white rot fungi. Lignocellulosics. Microbiological treatment. F. Zadrazil. (ed) (1988). Pág.; 23.
- Flandroy, L. (1991). Savez-vous planter des champignons.. á la mode des Chinois ?. Biofutur. 29 París. France. No. 29.
- Fletcher, J. T.; P.F. White; R.H. Gaze.. (1991). Champiñones. Control de las enfermedades y las plagas. Editorial Acribia. S.A.. Zaragoza. España. pp.; 157.
- García , R.M.. (1978). Plagas y enfermedades del champiñón y de las setas. Ministerio de Agricultura. Madrid. España. pp.; 77.
- Guzmán, G.. (1993). "El conocimiento tradicional de los Hongos Comestibles en México". In; I Simposium sobre Hongos Comestibles en México. México, D.F.. pag.; 9.
- Guzmán, G.; G. Mata.; D. Salmenes.; C. Soto-Velasco.; L. Guzmán-Dávalos.. (1993). El cultivo de los Hongos Comestibles, con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales. I.P.N. México, D.F., pág.; 121-132.
- Hesling, J. J.. (1968). Saprobic Nematodes in Mushroom Culture. In; Comptes Rendus du huiteme. Symposium International de Nematologie. 8<sup>th</sup>. Antibes, France. Edited by Leiden y Brill (1968).. pp.; 129.
- Houdeau, G.; J.M. Olivier.. (1989). Pathologie des Pleurotes. In; Dossier Pleurote. Bulletin. Novembre 1990. 9eme. Edition. I.N.R.A. Centre de recherches de Bordeaux. Station de recherches sur le Champignons. France. Pág.; 109-116.
- Hughes. A.M.. (1976). The mites os stored food and houses. 2<sup>nd</sup>. Edition. Ministry of Agriculture. Fisheries and Food. Technical Bulletin No. 9. London. U.K.. pp.; 396.
- King. E.O.; M.K. Ward.; D.E. Raney. (1954). Iwo simple media for the demostration of pyocianin and fluorescin. Journal of Laboratory and Clinical Medicine. **44**: 301-307.
- Krantz G.W.. (1975). A manual of Acarology. Oregon State University.. Book Stores Inc. Corvallis. Oregon. U.S.A.. pp.; 509.
- Laborde, J..(1989). Propositions pour une amélioration de la culture des Pleurotes. In: Dossiere Pleurote. Bulletin. Novembre 1990. 9eme. Edition. I.N.R.A.. Centre de recherches de Bordeaux. Station de Recherches sur le Champignons. France.
- Lee, D. L.; H. J. Atkinson.. (1976). Physiology of Nematodes. 2<sup>nd</sup> edition. Edited by Mcmillan Press. Ltd. pp.; 200.
- Luc, M.; R.A. Sikora; J. Bridge.. (1990). Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. C.A.B. International. International Institute of Parasitology. U.K..pp.; 629.
- Lynch, J.M.. (1985). Straw as a Fermentation Raw Material. In; Biotechnology and its aplication to Agriculture. Monograph No. 32. Copping, L. G.; P. Rogers. (eds). G.C.R.I.. Editorial; Craydon, England. British Crop Protection Council, 1985. England. pp.; 165.

- Mallis, A.. (1990). Handbook of Pest Control. 8<sup>th</sup>. Edition. Edited by Franzak and Foster Co., Cleveland. Ohio. U.S.A. pp.; 668.
- Mankau, R.. (1981). Biological control of Nematode pest of natural enemies. In; Fitonematología avanzada I. Editores; Marban, N.; I.J. Tromason. (1985) Colegio de Postgraduados. México. pag.; 153.
- Martínez, C. D.; R. Leben.; P. Morales.; M. Sobal.; A. Larqué S.. (1991). Historia del Cultivo comercial de Hongos comestibles en México. Ciencia y Desarrollo.. CO.NA. C.y T.. No. 16 México, D.F. pag.; 33-43.
- Meera, P.; R.P. Tewari.. (1989). Air and substrate mycoflora associated at various stage of Oyster Mushroom cultivation. Indian Phytopatology. Vol. **42**. Pag.; 173-177.
- Moreno. Z.C.. (1990). Los Hongos Comestibles: Un componentes de la productividad del Bosque de Santa Catarina del Monte. México. Tesis M.C. en Silvicultura. Colegio de Postgraduados. México. pag.; 117.
- Nichols, M.. (1993). Setas Comestibles. El arte de cultivar estos Caprichosos Hongos, en; Agricultura de las Américas. Marzo/Abril 1993.
- Nicholas. W.L.. (1975). The biology of free living nematodes. Edited by Clarendon Press. Oxford, North Ireland, pág.; 271.
- Pedigo, P.H.. (1989). Entomology and Pest Management. Edited by Macmillan Publishing Co.. New York, U.S.A., pág.; 446-447.
- Richardson, P.N.; P.S. Grewal.. (1990). Nematode Pests of Glasshouse crops and Mushrooms. Evans, K.; D.L. Trudgill; J.M Webster. (eds.). In: Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture. (1993). C.A.B. International. New Brunswick. Rutgers University, New Jersey. U.S.A.. pág.; 501-544.
- Samson, R.; G. Houdeau.; P. Khanna.; J. Guillaumes.; J.M. Olivier.. (1986). Variability of fluorescent Pseudomonas populationes in compost and caising soils used for mushroom cultures. In; Proceedings International Symposium Scientific and Technical aspects of cultivating Edible Fungi. The Pennsylvania State University, University Park, PA. U.S.A. July 1986. Elsevier Science Publisher. Netherlands (1987). Pag.; 19-25.
- Singer, R.. (1964). Las setas y las trufas. La botánica, el cultivo y la utilización. Traducción de Angel Zamora de la Fuente. Editado por Compañía Editorial Continental. México. pag.; 469.
- Smith, E.J.. (1988). Biotechnology. 2<sup>nd</sup>. Edition. New studies in biology. Edward Arnold (ed.). London. U.K.. pp.; 69.
- Smith, J.F.; T.R. Fermor.; F. Zadrazil.. (1988). Pretreatment of Lignocellulosics for Edible Fungi. In; Treatment of Lignocellulosics with white rot fungi. 1. Lignocellulosics. Microbiological. Treatment. 2.. F. Zadrazil. (ed.). 1988). Elsevier Science Publishing Co. Essex. England. U.K. pag.; 119.
- Stamets, P.; J.S. Chilton.. (1983) The Mushroom cultivator. Agarikon Press. Washington, U.S.A. pp.; 397.
- Stirling, G.R.. (1991). Biological Control of Plant Parasitic Nematodes. Progress, problems and prospects. C.A.B. International. U.K. Pág.; 127.

- Valencia del Toro, G.; Ma. E. Garin A.; V. Esparza, M.. (1993). Utilización de literas y torreras como soporte para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. en; I Simposium sobre Hongos Comestibles en México. México. D.F. pág.; 41.
- Vedder, P.J.. (1986). Cultivo Moderno del Champiñón. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España. Pág.; 289-344.
- Wallace, H.R.. (1983). Nematode Ecology and Plant Disease. Edward Arnold (ed.). pp.; 217.
- Walton, A.G.; J. Blackwell.. (1973). Biopolymers. American Press. New York. In; La utilización microbiológica de desperdicios lignocelulósicos. Potencialidades y Perspectivas. Leal, L. H.. (1984). Prospectiva de la Biotecnología en México. (1984). CO. NA. C. Y T.. México, D.F..
- White, P.. (1992). Mushrooms Pest Control of Sciarids. In; Annual Report 1991-1992. Horticulture Research International. Jim Flegg (ed). U.K., Editorial I.S.H.S. Wageningen.
- Zadrazil, F.. (1978) Cultivation of *Pleurotus*, In; The biology and cultivation of Edible Mushrooms. (1978). Chang, Shu-Ting; W.A. Hayes. (eds). Academic Press, New York, pp.; 819.
- Zadrazil, F.. (1985). Le basi della coltivazione del *Pleurotus*. (1 Parte). In; Mushroom information. Ano II. No. 7-8. Julio- Agosto 1985. Bolonia. Italia. Pág.; 26-33. Reproduit de "Der campignon" no. 251. Julliet 1982.
- Woolley, A.t.. (1988). Acarology. Mites and Human Welfare. Editd by John Wiley and sons. New York.. U.S.A.