

PRINCIPALES CONTAMINANTES QUE AFECTAN EL CULTIVO DE HONGOS COMESTIBLES EN EL INIFAT.

Liuba Plana Pérez, Rafael F. Castañeda Ruíz, Nirva González López, Mirta Caraballo Fernández, Aliana Sosa León, Irma Marrero, Raiza Garbey y Rubén Fernández.

Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt”. Calle 1, Esquina 2, Santiago de las Vegas, La Habana, Cuba.

RESUMEN

En el Instituto de Investigaciones Fundamentales de la Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt” (INIFAT), contando con el apoyo financiero y asesoría de la Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), se ha creado un laboratorio especializado para la producción del micelio de hongos comestibles y una casa experimental de referencia nacional para el desarrollo de este cultivo; en el cual se han detectado contaminaciones con otros hongos no deseados. En este trabajo, se exponen varios de los agentes causantes de dichas contaminaciones que fueron aislados e identificados como: *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Cladosporium oxysporum*, *Chaetomium globosum*, *Chrysonilia sitophila*, *Myrothecium indicum*, *Penicillium candidum*, *Penicillium sp.* y *Trichoderma harzianum*. Este estudio permite conocer la micobiota que afecta la producción de hongos comestibles y así proponer el establecimiento de medidas de prevención y control de los contaminantes en busca de una óptima calidad y altos rendimientos de producción, lo cual también se desarrolla en este trabajo.

ABSTRACT

In the Institute of Fundamental Research of the Tropical Agriculture “Alejandro de Humboldt” (INIFAT), having the financial support and consultancy of the Organization of United Nations for the Agriculture and the Food (FAO), a specialized laboratory of the edible mushrooms spawn has been created and an experimental house for development of this cultivation; several fungal contaminations have been detected during the process. *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Cladosporium oxysporum*, *Chaetomium globosum*, *Chrysonilia sitophila*, *Myrothecium indicum*, *Penicillium candidum*, *Penicillium sp.* y *Trichoderma harzianum* were isolated and identified. Also have been established measures of prevention and control by a good quality and high production levels.

INTRODUCCION

Desde sus inicios el cultivo de hongos comestibles se ha visto afectado por plagas y enfermedades virales, bacterianas y fúngicas, manifestándose estas últimas durante todo el proceso de desarrollo del hongo comestible, desde la producción del inóculo a nivel de laboratorio hasta la preparación e inoculación del sustrato y la cosecha a nivel de casa de cultivo.

De acuerdo a su comportamiento, los hongos contaminantes se clasifican en hongos competitivos y hongos parásitos (Van Griensven *et al.*, 1988). Los hongos competitivos son aquellos que afectan el crecimiento micelial del hongo comestible y aparecen durante la colonización del sustrato; pues compiten por el carbono, nutrientes, H₂O y espacio. Los hongos parásitos son aquellos capaces de dañar el carpóforo del hongo comestible hasta la letalidad.

Reportándose dentro del primer grupo cepas de *Coprinus sp.*, *Chaetomium sp.*, *Neurospora sp.*, *Myceliophthora lutea*, *Thielavia thermophila*, *Trichoderma spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* y *Doratomyces stemonitis* (Pers.) F.J. Morton & G. Sm., entre otros. Y dentro de los parásitos cepas de *Cladobotryum dendroides* (Bull.) W. Gams & Hooz. (teleomorfo: *Hypomyces rosellus* (Alb. & Schwein.) Tul. & C. Tul.), *Hypomyces odoratus* G.R.W. Arnold (anamorfo: *Cladobotryum mycophilum* (Oudem.) W. Gams & Hooz), *Mycogone perniciosa* (Magnus) Delacr., *Verticillium fungicola* var. *fungicola* (Preuss) Hassebr. y *V. fungicola* var. *aleophilum* W. Gams & Zaayen (Fletcher *et al.*, 1986; Van Griensven *et al.*, 1988; Gea *et al.*, 2001 y Rodríguez *et al.*, 2005).

En el Instituto de Investigaciones Fundamentales de la Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt” (INIFAT), se desarrolla este tipo de cultivo en base a las especies *Volvariella volvacea*, *Pleurotus ostreatus*, *P. sajor- caju* y *P. eryngii* con ayuda de un proyecto financiado y asesorada por la FAO. Estas producciones se han visto afectadas por una serie de contaminaciones ocasionadas en su totalidad por hongos microscópicos.

Por tal motivo se ha propuesto como objetivo de este trabajo:

🚧 Identificar la micobiota que afecta la producción de los hongos comestibles en el
INIFAT (en el laboratorio y en la casa de cultivo)

🚧 Establecer medidas de prevención y control de los posibles contaminantes.

MATERIALES Y METODOS

Aislamiento directo.

Los aislamientos se realizaron a partir de cepas de *Volvariella volvacea* Singer & Wasser y *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Qué. contaminadas crecidas sobre semillas de mijo, maíz y paja arroz como sustrato. Cuando en la muestra infectada o colonizada se observó la esporulación del hongo contaminante se obtuvieron los cultivos respectivos mediante el uso de una aguja estéril y el auxilio del microscopio estereoscopio con lente 10x (MBC-9, Rusia), se tomaron varios conidios e inocularon en placas de Petri estéril conteniendo medio de

cultivo (MA). Para facilitar la captura de los conidios con la aguja se empleó glicerina estéril cuando fue necesario.

Las muestras donde no se observó esporulación se incubaron a 27 °C durante 24-48 horas en cámara húmeda preparada con agua estéril mas 1 ó 2 gotas de glicerina, con el objetivo de acelerar y favorecer la producción de conidios.

Composición del medio de cultivo empleado.

Se utilizó Medio Agar-Malta (MA) a pH = 6,5.

Extracto de Malta	20g
Agar	10g
Agua	1L

Medio de montaje.

Para obtener las preparaciones microscópicas requeridas se empleó Ácido láctico según Johnston y Booth (1983).

Ácido láctico	20 g
Agua destilada	20 ml

Además se realizaron preparaciones microscópicas empleando agua destilada y una vez cubiertas con el cubreobjeto, se le añadió una gota de ácido láctico, colocándose sobre una superficie metálica a temperatura entre 70 y 80°C para facilitar la difusión del ácido y eliminar las burbujas de aire.

Las identificaciones se realizaron mediante el uso de un microscopio óptico de contraste de fase y efecto Barel, marca Zeiss, modelo Axioskop 40(Alemania).

RESULTADOS Y DISCUSION

Durante la producción del inóculo en el laboratorio, se detectaron colonias de otros hongos no deseados en bolsas con semillas sin inocular, en bolsas inoculadas y en las canecas sembradas con el hongo comestible. Estas contaminaciones en su mayoría se hacen fácilmente distinguibles por la amplia gama de colores que presentan sus micelios desde el verde-azul, verde oliváceo, negro, hasta el naranja rosa; con relación al micelio blanco algodón del *Pleurotus ostreatus* y blanco grisáceo de la *Volvariella volvacea*, por lo que se observa un contraste definido.

Las cepas contaminantes se aislaron e identificaron como *Aspergillus terreus* Thom, *A. fumigatus* Fresen., *A. niger* Tiegh., *Cladosporium oxysporum* Berk. & M.A. Curtis, *Chrysomilia sitophila* (Mont.) Arx, *Penicillium candidum* Link, *Penicillium sp.*, *Trichoderma harzianum* Rifai y *Myrothecium indicum* P.Rama Rao.

En su mayoría estas especies concuerdan con las reportadas en la literatura por otros investigadores. En 1988, Van Griensven describió de manera general en el cultivo de hongos comestibles sobre paja de arroz, las afectaciones causadas

por especies de *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium* y *Coprinus*, además de *Chaetomium* sp., *Neurospora* sp., *Myceliophthora lutea* Costantin, *Scopulariopsis fimicola* (Costantin & Matr.) Vuill. teleomorfo: *Athelia coprophila*(Wakef.) Jülich, *Thielavia thermophila* Fergus & Sinden, *Trichothecium roseum* (Pers.) Link, *Minimedusa polyspora* (H.H. Hotson) Weresub & P.M. LeClai, *Doratomyces stemonitis* y *Peziza ostracoderma* Korf anamorfo: *Chromelosporium fulvum* (Link) McGinty, Hennebert & Korf.

Rajharathnam en 1991, al igual que Gaitán y su equipo de trabajo en el 2002, encontraron en el cultivo de *Pleurotus* spp. sobre paja de cereales, contaminaciones provocadas por *Trichoderma* spp., *Monilia* spp., *Fusarium* spp., *Trichothecium* spp., *Mucor* spp., *Sclerotium* spp., *Coprinus* spp., *Pluteus* spp. y *Papulaspora* spp..

En el 2005, Rodríguez y colaboradores, en el cultivo de *Pleurotus* spp. sobre subproductos del café, destacaron las ocasionadas por hongos de los géneros *Aspergillus* spp., *Trichoderma* spp., *Penicillium* spp., *Neurospora* spp. y *Coprinus* spp..

Durante la producción de *Pleurotus* spp., en la casa de cultivo, no se detectó contaminación alguna; sin embargo, la producción de *Volvariella volvacea* que no se realiza en bolsas colgantes sino en pacas de paja previamente fermentada y pasteurizada colocadas en literas de madera y acero inoxidable se vio afectada por la contaminación de un hongo, cuyo micelio verde oscuro aparece durante los 3 ó 4 días siguientes a la colonización del sustrato por el hongo comestible, el cual se identificó como *Chaetomium globosum*; su presencia indica una pobre calidad del compost utilizado. En este sentido según Van Griensven en 1988, una marcada fluctuación en la temperatura durante el proceso de pasteurización de la paja, trae como consecuencia un alto nivel de amoníaco en dicho sustrato, ideal para el desarrollo de especies de *Chaetomium* que crecen en estados anaerobios a concentraciones de O₂ menores del 16%. Combinado con esto, un alto valor de temperatura mayor a los 62°C trae consigo la aparición de sustancias tóxicas que inhiben el desarrollo micelial del hongo comestible y esto particularmente promueve el desarrollo del *Chaetomium* (Harvey et al., 1982).

Éste género además de degradar la celulosa, es capaz de degradar la lignina, señalándose como especies de mayor incidencia sobre el cultivo de los hongos comestibles, las especies *Ch. globosum* y *Ch. olivaceum* (Geels et al. 1988).

Teniendo en cuenta todo lo antes expuesto, se proponen a partir de la experiencia acumulada una serie de medidas para disminuir el riesgo de contaminación:

A nivel de laboratorio:

- Utilizar preferentemente semilla fresca con máximo de 15 días de cosechada y de excelente calidad; de no ser así, emplear semillas almacenadas en óptimas condiciones para evitar el riesgo de que la semilla llegue ya colonizada por algún contaminante.
- Cocinar la semilla antes de esterilizarla (maíz: 40 minutos y mijo: 30 minutos), enjuagar y escurrir.
- Esterilizar a 121 °C dos veces la semilla en erlenmeyers y frascos de cristal recuperados, durante una hora y media días alternos.
- Utilizar fosforera para el encendido del mechero y no fósforos.
- La óptima higienización de los locales: cuarto de incubación y cuarto de siembra (sanitización de los estantes y los flujos laminares con alcohol; mantener por mayor tiempo la luz ultravioleta y montar mezcla descontaminadora de Permanganato de Potasio cada semana).
- Usar permanentemente dentro del laboratorio la bata sanitaria.
- Mantener el acceso restringido de personal al laboratorio para evitar el flujo de esporas de hongos no deseados.

A nivel de casa de cultivo:

- Óptima higienización del local y de las literas de acero inoxidable utilizadas como soporte para las pacas de paja.
- Colocar a la entrada de la casa de cultivo un recipiente con formol comercial al 5 % (50 ml de Formol por cada 950 ml de H₂O), para sumergir el calzado con el que se entra a esta área.
- Usar dentro de la casa permanentemente el overol de trabajo por parte de los obreros de la misma.
- Desinfectar previo a la recolección los utensilios utilizados con solución Formol comercial al 5%.
- Lograr una adecuada pasteurización del substrato que garantice un valor estable de temperatura durante 12 horas.

La importancia de la higiene dentro del cultivo de los hongos comestibles, se reconoce hoy como el método más eficaz de control de las enfermedades ocasionadas por hongos contaminantes (Fletcher *et al.*, 1986). Pues por el contrario de otros cultivos que utilizan los productos químicos durante el ciclo del cultivo, este se encuentra limitado, ya que los hongos son altamente susceptibles a los plaguicidas, además de correr el riesgo de acumulación de residuos de estos productos en los cuerpos fructíferos de los mismos y luego transmitirlos al hombre una vez que sean consumidos (Gea *et al.*, 2001).

CONCLUSIONES

- Se identificaron 10 especies que contaminan la producción de hongos comestibles bajo las condiciones de cultivo del INIFAT: *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Cladosporium oxysporum*, *Chaetomium globosum*, *Chrysosporium sitophila*, *Myrothecium indicum*, *Penicillium candidum*, *Penicillium sp.* y *Trichoderma harzianum*.
- Se estableció un paquete de 12 medidas higiénico-sanitarias para prevenir la aparición de estos contaminantes sobre el cultivo de los hongos comestibles a nivel de laboratorio y casa de cultivo.

REFERENCIAS.

- Amortegui, I. y Suárez, L.** Cultivo de setas comestibles sobre los residuos agroindustriales del arroz y el algodón en la región del Tolima. Ibagué. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería Industrial, 2003. p.50.
- Fletcher, J. T.; P. F. White and R. H. Gaze. Mushrooms.** Pest and disease control. 2. Ed. Londres, Intercept. Limited, 1986. p. 159.
- Gaitán, H. R.; Almones, D.; Pérez, M. R. y Mata, G.** Manual Práctico del cultivo de setas. Aislamiento y producción. Xalapa, Instituto de Ecología, 2002. p. 56.
- Gea, F. J.** Plagas y enfermedades del género *Pleurotus spp.* In: Sánchez, J. E. y Royce, D. J. Eds. La biología y el cultivo de *Pleurotus spp.* México. Editorial Limusa, 2001. p. 205-224.
- Geels, F. P.;** J. Van de Geijn and A. J. Rutjens. The cultivation of mushrooms. Chapter 13. Pest and Diseases, 1988. p. 361-419.
- Harvey, C. L.; Wuest, P. J. and Schisler, L. C.** Diseases, Weed Molds, Indicator Molds and Abnormalities of the Commercial Mushroom. In: Wuest, P. J. and Bengston, G. D. (eds.), Penn State Handbook for Commercial Mushrooms Growers, 1982. p. 19-33.
- Johnson, A. and Booth, C.** Pathologist Pocketbook. 2nd edn. Commonwealth Mycological Institute, Kew, 1983. pp. 438.
- Rajaratnam, S. and Bano, Z.** Biological utilization of edible fruiting fungi. In: Anra, D.; Mukerji, K. and Math, E. Eds. Handbook of applied mycology. Foods and feeds. Volume 3. New York, Marcel Dekker, 1991. p. 241-292.
- Rodríguez, N. V. y Jaramillo, C. L.** Cultivo de Hongos comestibles del genero *Pleurotus* sobre residuos agrícolas de la zona cafetera. Boletín técnico No. 27/ 2005. ISSN 0120-047X.
- Van Griensven, L. J. L. D.** The cultivation of Mushrooms, 1988. ISBN: 0951395904.