



Original

## Adaptabilidad de cepas brasileñas de *Agaricus subrufescens* Peck a la fructificación sobre diferentes capas de cobertura en cultivo comercial

Arturo Pardo-Giménez<sup>a,\*</sup>, José Emilio Pardo González<sup>b</sup>, Vinícius Reis de Figueirêdo<sup>c</sup>  
y Diego Cunha Zied<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del Champiñón (CIES), Quintanar del Rey, Cuenca, España

<sup>b</sup> Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete, España

<sup>c</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, Santa Inês, BA, Brasil

<sup>d</sup> Faculdades Integradas de Bauru (FIB), Bauru, SP, Brasil

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 31 de enero de 2013

Aceptado el 6 de mayo de 2013

On-line el 28 de mayo de 2013

#### Palabras clave:

*Agaricus blazei*

Hongo medicinal

Cepa

Capa de cobertura

Producción

Rendimiento

### RESUMEN

**Antecedentes:** *Agaricus subrufescens* Peck es un hongo cuyo cultivo ha despertado gran interés en todo el mundo en los últimos años, adquiriendo gran popularidad. Sus propiedades medicinales y culinarias hacen prever una rápida expansión del cultivo en todo el mundo.

**Objetivos:** El trabajo plantea como objetivo la evaluación del efecto sobre los principales parámetros de producción de 3 cepas de *Agaricus subrufescens* que se han hecho fructificar sobre 5 capas de cobertura diferentes.

**Métodos:** Se ha llevado a cabo un ciclo de cultivo de *Agaricus subrufescens* en condiciones controladas en el que se han evaluado los principales parámetros de producción.

**Resultados:** Los mejores resultados han sido proporcionados por la cepa ABL 99/30. Las coberturas basadas en turba presentan mejor comportamiento que las basadas en suelo mineral. El mayor rendimiento ( $6.75 \text{ kg/m}^2$ , eficiencia biológica 27.57 kg/dt) ha sido proporcionado por la combinación ABL 99/30-Euroveen.

**Conclusiones:** Nuestros resultados evidencian que la combinación de la cepa ABL 99/30 utilizando una capa de cobertura basada en turba (Euroveen) ofrece un alto potencial para ser utilizada a escala comercial por el sector productor de hongos. La disponibilidad de alternativas a las especies de hongos comestibles cultivadas habitualmente puede suponer un mejor aprovechamiento de recursos y una mayor rentabilidad económica de la actividad.

© 2013 Revista Iberoamericana de Micología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

## Adaptability of Brazilian strains of *Agaricus subrufescens* Peck to fruiting on various casing materials in commercial crops

### ABSTRACT

#### Keywords:

*Agaricus blazei*

Medicinal mushroom

Strain

Casing layer

Production

Yield

**Background:** *Agaricus subrufescens* Peck is a mushroom whose cultivation has aroused great interest worldwide in recent years, and is becoming increasingly popular. A rapid expansion of culture throughout the world is foreseen because of its medicinal and culinary properties.

**Aims:** This work assesses the effect of 5 different casing layers on the production of 3 strains of *Agaricus subrufescens*.

**Methods:** A growth cycle of *Agaricus subrufescens* under controlled conditions has been carried out. The main production parameters were evaluated.

**Results:** The best results were provided by the ABL 99/30 strain. Peat-based casings have a better yield than those based on mineral soil. The highest yield ( $6.75 \text{ kg/m}^2$ , biological efficiency 27.57 kg/dt) was provided by the combination ABL 99/30-Euroveen.

**Conclusions:** Our results suggest that the combination of the strain ABL 99/30 using a peat-based casing layer (Euroveen) offers a high potential for use on a commercial scale by the edible mushroom production

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [apardo.cies@dipucuenca.es](mailto:apardo.cies@dipucuenca.es) (A. Pardo-Giménez).

sector. The availability of alternatives to the usually cultivated species can make better use of resources, and increase the profitability of this activity.

© 2013 Revista Iberoamericana de Micología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

En los últimos años, el cultivo del hongo *Agaricus subrufescens* Peck ha despertado gran interés en todo el mundo, adquiriendo gran popularidad. Es frecuente encontrar referencias al mismo como *Agaricus blazei* (Murrill) ss. Heinemann o *Agaricus brasiliensis* Wasser, aunque estos nombres se presentan, no sin cierta polémica, como incorrectamente aplicados o ilegítimos<sup>9,21</sup>. Más comúnmente se le conoce como «Cogumelo Piedade», «Cogumelo do sol», «Cogumelo de Deus», «Portobello de almendra» o «Cogumelo medicinal» en Brasil, «Himematsutake», «Agarikusutake» y «Kawariharatake» en Japón, «Ji Song Rong» en China y «Almond mushroom» en Norteamérica<sup>6,14,28</sup>.

El cultivo se encuentra bien establecido en Brasil, Japón, China y Corea<sup>8</sup>, aunque se está originando la expansión del cultivo a otros muchos países, debido a su alto precio en los mercados internacionales, hecho que puede asociarse no solo a su importante valor medicinal, debido a los numerosos compuestos bioactivos que contiene, sino también al culinario, dado su agradable aroma ligeramente almendrado<sup>11</sup>. Se comercializa en fresco, pero mayoritariamente deshidratado o pulverizado, en cápsulas, comprimidos e infusiones, siendo también utilizado como ingrediente de productos cosméticos<sup>20,21</sup>.

Las propiedades medicinales de *A. subrufescens* han sido destacadas en diversos estudios revisados recientemente por Wisistrassameewong et al. (2012)<sup>21</sup>. Se ha utilizado tradicionalmente para tratar muchas enfermedades comunes, como aterosclerosis, hepatitis, hiperlipidemia, diabetes, dermatitis y cáncer<sup>6</sup>. Entre las propiedades beneficiosas de *A. subrufescens* que han sido publicadas se encuentran reducciones en el crecimiento de tumores, actividades inmunomoduladoras, efectos inmunoestimuladores, actividades antimicrobianas y antivirales, y efectos antialérgicos<sup>21</sup>.

Para su cultivo se han adoptado los procesos y técnicas previamente establecidos para la producción de champiñón *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach, aunque la tecnología específica de cultivo se encuentra todavía en desarrollo<sup>17</sup>. Diferentes parámetros, como las condiciones de cultivo en las diferentes etapas del ciclo (temperatura, humedad relativa, concentración de dióxido de carbono, iluminación), los materiales, el proceso de elaboración de los composts y su contenido en humedad, unido a los diferentes aspectos relativos a las capas de cobertura y la fructificación deben ser estudiados para incrementar los rendimientos, adaptando el cultivo a las condiciones específicas de los distintos países productores.

La aplicación de una capa de cobertura sobre el compost colonizado de micelio es una operación imprescindible en la producción comercial tanto de *A. bisporus* como de *A. subrufescens*. En esta capa es donde se produce el cambio de la fase de crecimiento vegetativo al reproductivo. En el caso de *A. bisporus*, numerosos materiales son usados con este fin, siendo diferentes tipos de turbas los más extendidos en todo el mundo, debido principalmente a sus excepcionales propiedades estructurales y de retención de agua<sup>22</sup>. Para el caso de *A. subrufescens*, los materiales utilizados vienen condicionados en la mayoría de los casos por su disponibilidad en los países productores. Así, se utilizan habitualmente coberturas basadas en suelos minerales y distintos tipos de turbas locales, aunque podemos encontrar entre sus ingredientes otros materiales, como esquisto calizo, carbón vegetal, serrines, arena, vermiculita, corteza de pino y fibra de coco, entre otros<sup>1,2,18,19,23,24,26</sup>.

Debido a sus requerimientos en cuanto a las condiciones de cultivo necesarias, en concreto a la alta temperatura ambiental, la producción de *A. subrufescens* constituye una alternativa a considerar por parte del sector productor de hongos comestibles en España

y otros países para mantener la actividad en los meses de verano. En la actualidad este sector se centra principalmente en la producción de *A. bisporus*, *Agaricus bitorquis* y *Pleurotus* spp. Dada la limitada capacidad tecnológica de muchas de las instalaciones de cultivo y el elevado coste energético, la producción se reduce de manera notable en la época estival. Estas mismas instalaciones podrían ser aprovechadas por los productores para llevar a cabo un ciclo de cultivo de *A. subrufescens* en esos meses<sup>17</sup>. La tecnología de producción de *A. bisporus*, en cuanto a la elaboración de sustratos y manejo del ciclo de cultivo, se puede aplicar en su mayoría a *A. subrufescens*, por lo que no debe producirse ningún problema de adaptación de los productores a la nueva especie cultivada. Además, las condiciones de comercialización del hongo, principalmente deshidratado, evitan la limitación que supone la corta vida útil que presentan en general los hongos comestibles cultivados y permite una comercialización escalonada a lo largo del año. Recientemente, Savoie et al. (2012) han estudiado la viabilidad del cultivo de *A. subrufescens* utilizando tecnologías e instalaciones existentes en Europa para la producción de champiñón en las diferentes etapas del proceso<sup>17</sup>.

Con objeto de facilitar la implantación de este cultivo, sirviendo de orientación a los productores, se han evaluado en el presente trabajo los principales parámetros de producción de *A. subrufescens* a partir de 3 cepas de origen brasileño que se han hecho fructificar sobre 5 capas de cobertura diferentes utilizadas habitualmente en Europa para el cultivo de *A. bisporus*.

## Materiales y métodos

### Análisis físicos, químicos y biológicos

Para la caracterización física, química y biológica del compost y las mezclas de cobertura se realizaron las siguientes determinaciones: humedad, pH, conductividad eléctrica, contenido en nitrógeno total, materia orgánica y cenizas, relación carbono/nitrógeno, fibra bruta, grasa bruta, celulosa, hemicelulosa, lignina y compuestos solubles neutrodetergentes, densidad real, densidad aparente, porosidad total y capacidad de retención de agua, nematodos, ácaros y hongos competidores. Se utilizó para ello la metodología descrita por Pardo-Giménez et al. (2012)<sup>16</sup>.

### Compost

Como sustrato de base para el cultivo de *A. subrufescens* se utilizó un compost comercial, correspondiente al grupo de los denominados «semisintéticos» y elaborado según la tecnología adoptada para el cultivo de *A. bisporus*. El proceso de compostaje se llevó a cabo en las siguientes etapas: mezcla de materiales y premolado (4 días con volteo diario), fase I de fermentación en túnel (8 días, con volteos cada 2 días) y fase II de pasteurización ( $60 \pm 2^\circ\text{C}$ , 8 h) y acondicionamiento ( $45-50^\circ\text{C}$ , 5 días). Las materias primas utilizadas fueron paja de trigo como material de base, gallinaza y urea como suplementos nitrogenados, y yeso como mejorador de estructura y corrector de pH. Las características analíticas fueron las siguientes: humedad = 648 g/kg; pH (1:5, p/v) = 7,55; materia orgánica = 678,1 g/kg; nitrógeno total = 22,7 g/kg; relación carbono/nitrógeno = 17,3; contenido en cenizas = 321,9 g/kg; fibra bruta = 243,4 g/kg; grasa bruta = 2,5 g/kg; hemicelulosa = 94,9 g/kg; celulosa = 189,3 g/kg; lignina = 174,6 g/kg y compuestos solubles neutrodetergentes = 219,3 g/kg. Todos los valores observados se ajustaron al rango considerado como óptimo para el cultivo de

**Tabla 1**

Caracterización analítica de los materiales de cobertura utilizados

	Euroveen	Infertosa	SM + TN, 3:1 (v/v)	SM + TR, 3:1 (v/v)	SM + FC, 3:1 (v/v)
Humedad (g/kg)	811	801	221	252	227
pH (1:5, v/v)	8,03	8,27	8,14	8,45	8,49
Conductividad eléctrica ( $\mu\text{s}/\text{cm}$ )	233	785	821	153	176
Densidad aparente (fresco) ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	0,647	0,654	0,962	1,043	1,037
Densidad aparente (seco) ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	0,122	0,130	0,749	0,780	0,802
Densidad real ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	1,811	1,938	2,541	2,538	2,564
Porosidad total (mL/L)	932	933	705	693	687
Capacidad de retención de agua (kg/kg)	4,70	5,09	0,49	0,54	0,51
Cenizas (g/kg)	347,5	482,3	939,6	937,6	952,8
Materia orgánica (g/kg)	652,5	517,7	60,4	62,4	47,2
Caliza activa (g/kg)	52	85	134	197	167
Carbonatos totales (g/kg)	138	207	445	429	420
Ácaros	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Nematodos	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Hongos competidores	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

FC: fibra de coco; TN: turba negra; TR: turba rubia; SM: suelo mineral.

champiñón<sup>27</sup>. La ausencia de ácaros y nematodos fue indicadora de un proceso de pasteurización suficiente.

#### Cepas de micelio seleccionadas

Las 3 cepas objeto de estudio fueron obtenidas de la micoteca del Módulo de Cogumelos de la Facultad de Ciencias Agronómicas (Universidad Estadual Paulista, Brasil): ABL 99/30, aislada en Piedade, São Paulo, Brasil, en 1999; ABL 03/44, aislada en Lençóis Paulista, São Paulo, Brasil, en 2003; y ABL 04/49, aislada en São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil, en 2004. En el trabajo de Zied (2011) se recopilan las principales características específicas de las cepas seleccionadas<sup>23</sup>. El sustrato para la preparación del inóculo consistió en una mezcla de granos de trigo, carbonato cálcico y yeso. Se sometió el grano de trigo a ebullición en agua durante unos 25 min hasta alcanzar un contenido en humedad aproximado del 50%, tras lo cual se añadieron  $\text{CaCO}_3$  (20 g/kg) y yeso (10 g/kg). Tras la homogeneización se transfirió el sustrato a frascos de vidrio, procediéndose a su autoclavado a 121 °C durante 2 h. Una vez frío, el sustrato se inoculó de acuerdo con la metodología descrita por Zied et al. (2011)<sup>23</sup>.

#### Coberturas

Se evaluaron 5 tipos de cobertura diferentes, 2 de ellos mayoritariamente orgánicos, basados en turbas, y 3 mayoritariamente inorgánicos, basados en suelo mineral: a) Euroveen, cobertura comercial de origen holandés (Euroveen B.V., Grubbenvorst, Holanda); b) Infertosa, cobertura comercial de origen español (Infertosa, Valencia, España); c) suelo mineral (SM) + turba negra, mezcla de SM y turba negra en proporción 3:1 (v/v); d) SM + turba rubia, mezcla de SM y turba rubia en proporción 3:1 (v/v), y e) SM + fibra de coco (FC), mezcla de SM y fibra de coco en proporción 3:1 (v/v). Las principales características de las mismas se presentan en la tabla 1. Antes de su aplicación, todas las coberturas fueron sometidas a un tratamiento desinfectante con formalina (1,5 L/m<sup>3</sup>). Debido a las diferentes características de las coberturas y con objeto de conseguir una aparición de micelio uniforme en la sala de cultivo en el momento de la inducción de la fructificación, se aplicaron las mismas sobre el compost con diferentes espesores, 3,75 cm en el caso de Euroveen e Infertosa, y 3 cm para las basadas en suelo mineral.

#### Diseño experimental

El diseño experimental utilizado fue un plan factorial equilibrado  $5 \times 3$  con 6 repeticiones. El factor 1, con 5 niveles,

correspondió al tipo de cobertura. El factor 2, con 3 niveles, correspondió a la cepa utilizada. Se utilizaron un total de 90 cajas, colocadas en 2 niveles, a ambos lados de la sala de cultivo. Cada una de las cajas se llenó con 10 kg de compost, compactado a razón de 450 kg/m<sup>3</sup>, presentando una superficie a cubrir de 1.450 cm<sup>2</sup> (peso de llenado 69,0 kg/m<sup>2</sup>).

#### Conducción y seguimiento del ciclo de cultivo

El ciclo de desarrollo de *A. subrufescens* se llevó a cabo en una sala de cultivo experimental, provista de sistemas de humidificación, calefacción/refrigeración, y recirculación/ventilación exterior, que permite el control automático de la temperatura y la humedad relativa, así como de la concentración de dióxido de carbono.

El compost fue inoculado con 12 g/kg de micelio sobre grano en relación con el peso fresco de compost e incubado durante 20 días a  $28 \pm 1$  °C, con humedad relativa del 95 ± 2% y sin ventilación exterior ni iluminación. Completada la incubación se procedió a aplicar las capas de cobertura, manteniendo las condiciones ambientales de crecimiento vegetativo para facilitar la invasión de las mismas por parte del micelio del hongo. Las coberturas se rastillaron 8 días después de su aplicación, al aparecer el micelio en superficie, y un día más tarde se procedió a inducir la fructificación reduciendo la temperatura ambiental ( $19 \pm 1$  °C), la humedad relativa ( $88 \pm 2\%$ ) y el nivel de dióxido de carbono (< 800 ppm), con iluminación (150 lux, 12 h/día). Tres días después se procedió a elevar de nuevo la temperatura ambiental ( $24 \pm 1$  °C), manteniéndola así a lo largo del ciclo de cultivo, disminuyendo puntualmente de nuevo a  $19 \pm 1$  °C para inducir la segunda y tercera cosechas. La duración total del ciclo de cultivo fue de 82 días, recolectándose 3 cosechas.

#### Cosecha y parámetros de producción

La recolección de los carpóforos se realizó diariamente en el estado óptimo comercial de desarrollo, con el mayor peso posible antes de la apertura del sombrero.

Para el establecimiento del rendimiento por unidad de superficie, se pesó, con precisión de 1 g, la cantidad de carpóforos producidos diariamente por cada caja (1.450 cm<sup>2</sup>), contando el número de hongos obtenidos. La eficiencia biológica (EB), una estimación práctica de la capacidad de los hongos de convertir sustrato en cuerpos fructíferos, se calculó dividiendo el peso total de champiñones producidos en el cultivo (3 cosechas) por el peso seco total del sustrato, expresando la fracción como kilogramos por 100 kg (dt) de compost. La tasa de producción (EB media diaria) se calculó dividiendo la EB por el número total de días de producción desde el momento de la inoculación, expresando la fracción

**Tabla 2**

Parámetros de producción obtenidos para cada uno de los tratamientos evaluados al cultivar 3 cepas de *Agaricus subrufescens* y aplicar 5 tipos diferentes de cobertura

	Número de carpóforos ( $m^{-2}$ )	Peso promedio (g)	Rendimiento ( $kg/m^2$ )				Eficiencia biológica (kg/dt)	Tasa de producción (kg/dt/d)	Materia seca (g/kg)
			Primera cosecha	Segunda cosecha	Tercera cosecha	Total			
ABL 99/30-Euroveen	158 (23) <sup>a</sup>	42,2 (6,1) <sup>ab</sup>	3,31 (0,60) <sup>a</sup>	2,80 (0,46) <sup>a</sup>	0,64 (0,53) <sup>a</sup>	6,75 (1,23) <sup>a</sup>	27,57 (5,07) <sup>a</sup>	0,346 (0,056) <sup>a</sup>	111,1 (10,5) <sup>d</sup>
ABL 99/30-Infertosa	119 (58) <sup>ab</sup>	38,6 (10,6) <sup>ab</sup>	1,57 (0,84) <sup>ab</sup>	2,28 (1,28) <sup>ab</sup>	0,67 (0,25) <sup>a</sup>	4,52 (1,67) <sup>b</sup>	18,47 (6,86) <sup>b</sup>	0,225 (0,083) <sup>b</sup>	134,2 (12,7) <sup>bc</sup>
ABL 99/30-SM + TN	63 (61) <sup>bcd</sup>	24,9 (12,8) <sup>b</sup>	0,15 (0,12) <sup>c</sup>	0,81 (0,33) <sup>c</sup>	0,08 (0,09) <sup>a</sup>	1,04 (0,38) <sup>cd</sup>	4,23 (1,57) <sup>cd</sup>	0,056 (0,019) <sup>cde</sup>	119,5 (14,0) <sup>bcd</sup>
ABL 99/30-SM + TR	38 (10) <sup>cd</sup>	34,7 (5,1) <sup>b</sup>	0,00 (0,00) <sup>c</sup>	0,97 (0,26) <sup>bc</sup>	0,34 (0,18) <sup>a</sup>	1,31 (0,33) <sup>cd</sup>	5,37 (1,37) <sup>cd</sup>	0,068 (0,015) <sup>cde</sup>	157,9 (9,2) <sup>a</sup>
ABL 99/30-SM + FC	34 (18) <sup>cd</sup>	31,0 (9,0) <sup>b</sup>	0,00 (0,00) <sup>c</sup>	0,75 (0,43) <sup>c</sup>	0,45 (0,50) <sup>a</sup>	1,20 (0,68) <sup>cd</sup>	4,88 (2,78) <sup>cd</sup>	0,062 (0,035) <sup>cde</sup>	151,4 (13,1) <sup>ab</sup>
ABL 03/44-Euroveen	89 (56) <sup>bcd</sup>	30,9 (10,9) <sup>b</sup>	1,07 (0,76) <sup>bc</sup>	1,21 (0,33) <sup>bc</sup>	0,18 (0,20) <sup>a</sup>	2,46 (0,88) <sup>c</sup>	10,05 (3,60) <sup>c</sup>	0,131 (0,047) <sup>bc</sup>	114,5 (15,5) <sup>cd</sup>
ABL 03/44-Infertosa	55 (25) <sup>bcd</sup>	41,7 (14,6) <sup>ab</sup>	0,74 (0,49) <sup>bc</sup>	0,97 (0,55) <sup>bc</sup>	0,25 (0,19) <sup>a</sup>	1,97 (0,65) <sup>cd</sup>	8,05 (2,63) <sup>cd</sup>	0,110 (0,032) <sup>cd</sup>	125,9 (9,1) <sup>bcd</sup>
ABL 03/44-SM + TN	17 (19) <sup>d</sup>	27,8 (5,2) <sup>b</sup>	0,07 (0,12) <sup>c</sup>	0,44 (0,41) <sup>c</sup>	0,00 (0,00) <sup>a</sup>	0,51 (0,49) <sup>cd</sup>	2,08 (2,01) <sup>cd</sup>	0,028 (0,027) <sup>de</sup>	147,3 (11,4) <sup>ab</sup>
ABL 03/44-SM + TR	1 (2) <sup>d</sup>	56,0 (-) <sup>a</sup>	0,00 (0,00) <sup>c</sup>	0,00 (0,00) <sup>c</sup>	0,06 (0,11) <sup>a</sup>	0,06 (0,11) <sup>d</sup>	0,27 (0,43) <sup>d</sup>	0,003 (0,005) <sup>e</sup>	—
ABL 03/44-SM + FC	5 (5) <sup>d</sup>	37,0 (4,4) <sup>ab</sup>	0,12 (0,09) <sup>c</sup>	0,05 (0,07) <sup>c</sup>	0,00 (0,00) <sup>a</sup>	0,17 (0,13) <sup>d</sup>	0,68 (0,54) <sup>d</sup>	0,014 (0,010) <sup>de</sup>	—
ABL 04/49-Euroveen	8 (22) <sup>d</sup>	43,6 (12,3) <sup>ab</sup>	0,00 (0,00) <sup>c</sup>	0,33 (0,13) <sup>c</sup>	0,00 (0,00) <sup>a</sup>	0,33 (0,13) <sup>d</sup>	1,35 (0,52) <sup>d</sup>	0,019 (0,007) <sup>de</sup>	—
ABL 04/49-Infertosa	10 (8) <sup>d</sup>	40,0 (7,5) <sup>ab</sup>	0,00 (0,00) <sup>c</sup>	0,44 (0,31) <sup>c</sup>	0,00 (0,00) <sup>a</sup>	0,44 (0,31) <sup>cd</sup>	1,78 (1,30) <sup>cd</sup>	0,024 (0,017) <sup>de</sup>	130,1 (14,0) <sup>bcd</sup>
ABL 04/49-SM + TN	1 (2) <sup>d</sup>	45,0 (-) <sup>ab</sup>	0,00 (0,00) <sup>c</sup>	0,05 (0,09) <sup>c</sup>	0,00 (0,00) <sup>a</sup>	0,05 (0,09) <sup>d</sup>	0,22 (0,35) <sup>d</sup>	0,003 (0,005) <sup>e</sup>	—
ABL 04/49-SM + TR	1 (2) <sup>d</sup>	36,2 (-) <sup>ab</sup>	0,00 (0,00) <sup>c</sup>	0,04 (0,07) <sup>c</sup>	0,00 (0,00) <sup>a</sup>	0,04 (0,07) <sup>d</sup>	0,18 (0,30) <sup>d</sup>	0,003 (0,005) <sup>e</sup>	—
ABL 04/49-SM + FC	0 (0) <sup>d</sup>	—	0,00 (0,00) <sup>c</sup>	0,00 (0,00) <sup>c</sup>	0,00 (0,00) <sup>a</sup>	0,00 (0,00) <sup>d</sup>	0,00 (0,00) <sup>d</sup>	0,000 (0,000) <sup>e</sup>	—
Media	40	42,2	0,47	0,74	0,18	1,39	5,68	0,073	13,20

FC: fibra de coco; TN: turba negra; TR: turba rubia; SM: suelo mineral.

Sustrato: compost de champiñón. Fructificación a  $19 \pm 1$  °C. Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar. Para cada columna, los valores seguidos de distinta letra en superíndice son significativamente diferentes entre sí ( $p \leq 0,05$ , test de Tukey).

como kilogramos por dt de compost y por día. El peso promedio de los carpóforos, expresado en gramos, se determinó a partir del rendimiento obtenido y el número de carpóforos cosechados.

En el día de la máxima producción de la primera cosecha, se eligieron carpóforos de tamaño y madurez uniformes para el análisis del contenido en materia seca de los mismos. El método utilizado para ello consistió en la medida de la pérdida de peso tras desecación a 105 °C durante al menos 72 h, hasta peso constante<sup>12</sup>.

#### Análisis estadístico

Para la realización del análisis estadístico se utilizó el paquete informático StatGraphics Plus v. 4.1 (Statistical Graphics Corp., Princeton, NJ, EE. UU.). Se empleó la técnica de análisis de varianza para evaluar los datos. Para el establecimiento de diferencias significativas entre medias se utilizó el test de Tukey-HSD ( $p = 0,05$ ).

#### Resultados y discusión

Las características analíticas de las diferentes capas de cobertura evaluadas se presentan en la tabla 1. Como aspectos destacables encontramos que las coberturas basadas en turbas (Euroveen e Infertosa) presentan, con respecto a las basadas en suelo mineral, valores muy superiores de porosidad y capacidad de retención de agua, 2 de los principales atributos de una buena capa de cobertura. Un material poroso mejora la fructificación al facilitar el intercambio gaseoso, mientras que una alta capacidad de retención de agua supone una mayor disponibilidad para la formación y desarrollo de los carpóforos y aporte de humedad al microclima donde se produce la fructificación, a la vez que facilita las operaciones de riego. La utilización de suelo mineral en la preparación de las capas de cobertura implica un menor contenido en materia orgánica en las mismas, con mayores contenidos en caliza activa y carbonatos totales. La alta conductividad de las coberturas Infertosa y SM + turba negra (785 y 821  $\mu S/cm$ , respectivamente) es consecuencia del origen de las turbas utilizadas, aunque se encuentran por debajo del umbral encontrado como limitante para el caso de *A. bisporus*. Pardo-Giménez et al. (2004) fijaron en torno a 1.600  $\mu S/cm$  el umbral a partir del cual cabría esperar disminuciones notables de rendimiento<sup>15</sup>.

En la tabla 2 se presentan los resultados obtenidos para los parámetros de producción en cada uno de los tratamientos. Los datos de materia seca se presentan incompletos por producción insuficiente. Entre los aspectos más destacables, el mayor número de carpóforos por  $m^2$  (158) fue producido por la combinación ABL 99/30-Euroveen, seguido de la ABL 99/30-Infertosa (119). Estas mismas combinaciones proporcionaron los mayores valores de rendimiento, tanto total como en la primera y segunda cosechas, y también de EB. El mayor rendimiento (6,75  $kg/m^2$ ), con EB de 27,57 kg/dt, significativamente superior a todos los demás, se obtuvo a partir de la combinación ABL 99/30-Euroveen, aunque los carpóforos presentaron un bajo contenido en materia seca (111,1 g/kg). Esta combinación presentó igualmente el mayor valor de la tasa de producción (0,346 kg/dt/d). Este parámetro resulta de gran interés para los productores, ya que altos valores del mismo van asociados a altos rendimientos y/o ciclos de producción cortos. Altos valores de EB suponen mayores ingresos, mientras que al reducir la duración de los ciclos de producción se consigue una recuperación más rápida de la inversión, a la vez que se reduce la posible incidencia de plagas y enfermedades. Teniendo en cuenta la humedad del compost y el contenido en materia seca de los carpóforos, el rendimiento proporcionado por la combinación ABL 99/30-Euroveen, expresado en base a materia seca de carpóforos sobre peso fresco de compost, supone una productividad del 1,08%. De acuerdo con Silva et al. (2007), en Brasil se considera que la productividad así expresada debe ser al menos del 1% para que el cultivo sea económico viable<sup>18</sup>. La combinación ABL 99/30-Infertosa, con rendimiento total de 4,52  $kg/m^2$  y una EB de 18,47 kg/dt, supuso un productividad del 0,87%. El resto de combinaciones proporcionaron rendimientos significativamente inferiores.

Kopytowski-Filho y Minholi (2007) evaluaron el comportamiento de la cepa ABL 99/30, utilizada en este trabajo, sobre 3 tipos de compost y 2 ambientes de cultivo, registrando valores de EB entre 21,1 y 34,9 kg/dt compost, utilizando como cobertura una mezcla de suelo mineral y carbón vegetal<sup>10</sup>, aunque la duración del ciclo de cultivo adoptado por los autores fue de 177 días, más de 2 veces superior al empleado en la presente investigación.

Una revisión del efecto de diferentes tipos de cobertura sobre la producción de *A. subrufescens* observados por diferentes autores muestra cómo en Taiwán, Liang et al. (2008) obtuvieron un

rendimiento máximo de 1,93 kg/m<sup>2</sup> utilizando como coberturas diferentes materiales locales<sup>13</sup>. Gregori et al. (2008) utilizaron en Eslovenia cobertura comercial para *A. bisporus*, llegando a obtener 700 g de hongos a partir de 3 kg de compost<sup>8</sup>. También en 2008, Cavalcante et al. evaluaron en Brasil diferentes coberturas basadas en suelos locales y arena con diferentes aditivos, obteniendo valores de EB entre 17,73 y 25,97 kg/dt<sup>1</sup>. Siqueira et al. (2009) llegaron a obtener valores de EB considerables, de 54,6 kg/dt compost, evaluando diferentes suelos locales<sup>19</sup>. Zied et al. (2009), también con coberturas basadas en suelos, registraron valores de EB entre 23,25 y 36,25 kg/dt<sup>25</sup>. Colauto et al. obtuvieron valores de EB de 27,3 kg/dt compost utilizando como cobertura turba brasileña pasteurizada<sup>3</sup>, y de 36,1 kg/dt compost con esquisto calizo, también pasteurizado<sup>4</sup>. Estos mismos autores volvieron a evaluar el esquisto calizo como material de cobertura en otros trabajos, obteniendo una EB de 46,8 kg/dt en un ciclo de 66 días<sup>2</sup>, llegando a 60,4 kg/dt en un ciclo de 90 días<sup>5</sup>. González Matute et al. (2011) obtuvieron valores de EB entre 13,1 y 34,3 kg/dt a partir de sustratos no compostados, con una mezcla de turba y carbonato cálcico como cobertura<sup>7</sup>.

La producción obtenida en este trabajo combinando la cepa ABL 99/30 y la cobertura Euroveen se encuentra, en general, en el mismo orden de magnitud que la mayoría de las referencias consultadas, dentro de lo que podría considerarse normal teniendo en cuenta la frecuencia con la que se producen resultados anómalos y las grandes diferencias observadas en el cultivo de esta especie. Hay que tener en cuenta que no es fácil comparar datos de los diferentes estudios llevados a cabo a distintas escalas, con desiguales cepas, composts, condiciones de cultivo y duraciones de los períodos de cosecha<sup>17</sup>.

En la tabla 3 se presentan los resultados de los diferentes parámetros de producción por los 2 factores considerados en el diseño experimental. Entre las diferentes cepas, el mejor comportamiento se observó en la ABL 99/30, que proporcionó el mayor número de carpóforos y el mayor rendimiento total y en las 3 cosechas, así como el mayor valor para la EB y la tasa de producción, significativamente superiores todos ellos a los proporcionados por las otras 2 cepas, resultados similares a los obtenidos en Brasil por Zied (2011)<sup>23</sup>. En este caso la cepa ABL 04/49 presentó el peor comportamiento. Los carpóforos proporcionados por la cepa ABL 99/30 presentaron además menor peso promedio y mayor contenido en materia seca, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas con respecto a las otras cepas. En cuanto a los materiales de cobertura, se observaron grandes variaciones en los comportamientos de las coberturas con base orgánica (Euroveen e Infertosa) con respecto a las basadas en suelo mineral.

A partir de las primeras se cosechó mayor número de carpóforos con mayor peso promedio, dando como consecuencia un mayor rendimiento total, debido básicamente al mejor comportamiento en la primera y segunda cosechas y, como consecuencia, mejores registros para la EB, aunque los carpóforos presentaron menor contenido en materia seca. Los contenidos en materia seca de los carpóforos están directamente influidos por las características de la capa de cobertura (tabla 3), y resultan extremadamente importantes en la producción de *A. subrufescens* ya que su comercialización se lleva a cabo mayoritariamente tras un proceso de deshidratación. Esto afecta directamente al rendimiento final del proceso, de manera que cuanto mayor sea el contenido de materia seca, mayor será la eficiencia del procesado (lavado, laminado y deshidratación).

Los resultados obtenidos avalan la potencialidad del cultivo de *A. subrufescens* como alternativa a las especies cultivadas habitualmente, buscando un mejor aprovechamiento de recursos y una mayor rentabilidad económica. El presumible beneficio económico se apoya en unos costes de producción de compost y micelio similares al caso de *A. bisporus*, con un mayor precio de mercado del producto, a lo que se une la disponibilidad de infraestructuras existentes (centrales de compostaje, salas de producción y comercializadoras) infrautilizadas en la época estival, dadas las limitaciones estacionales. No obstante, el hecho de que se presenten con frecuencia rendimientos anómalos, cosechas no bien definidas y largos ciclos de producción, implica la necesidad de seguir avanzando en el establecimiento de las condiciones óptimas de cultivo, la selección de cepas bien adaptadas y el desarrollo de sustratos que faciliten la regularidad de la producción. La optimización se puede ver económicamente favorecida por la existencia de instalaciones y tecnologías desarrolladas para la producción de champiñón, que pueden ser utilizadas en cultivos comerciales de *A. subrufescens*. Una propuesta factible sería cultivar en las mismas instalaciones *A. subrufescens* en verano (un ciclo de cultivo) y *A. bisporus* el resto del año (5-6 ciclos). Los tratamientos desinfectantes habituales a las que son sometidas las salas de cultivo entre ciclos y las medidas higiénicas preventivas llevadas a cabo para limitar la incidencia de enfermedades deben ser suficientes para limitar los riesgos de intercontaminación. La experiencia previa con la alternancia del cultivo de *A. bisporus* y *Agaricus bitorquis* en las mismas instalaciones así lo evidencia. Esta alternancia de cultivos puede incluso ser beneficiosa en caso de incidencia endémica de enfermedades en alguna sala de cultivo. Por otro lado, y dado que el sustrato se comercializa inoculado por las centrales de compostaje, las precauciones en las mismas se deben centrar en una adecuada limpieza de la maquinaria de siembra y ensacado, práctica habitual al cambiar

**Tabla 3**

Parámetros de producción obtenidos para los factores considerados en el diseño experimental al cultivar 3 cepas de *Agaricus subrufescens* y aplicar 5 tipos diferentes de cobertura

	Número de carpóforos (m <sup>-2</sup> )	Peso promedio (g)	Rendimiento (kg/m <sup>2</sup> )				Eficiencia biológica (kg/dt)	Tasa de producción (kg/dt/d)	Materia seca (g/kg)
			Primera cosecha	Segunda cosecha	Tercera cosecha	Total			
ABL 99/30	82 (55) <sup>a</sup>	34,3 (10,5) <sup>a</sup>	1,01 (0,98) <sup>a</sup>	1,52 (0,85) <sup>a</sup>	0,44 (0,37) <sup>a</sup>	2,96 (1,81) <sup>a</sup>	12,10 (7,41) <sup>a</sup>	0,151 (0,091) <sup>a</sup>	136,0 (21,5) <sup>a</sup>
ABL 03/44	33 (39) <sup>b</sup>	36,1 (12,3) <sup>a</sup>	0,40 (0,48) <sup>b</sup>	0,53 (0,46) <sup>b</sup>	0,10 (0,14) <sup>b</sup>	1,03 (0,83) <sup>b</sup>	4,23 (3,42) <sup>b</sup>	0,058 (0,045) <sup>b</sup>	124,7 (17,8) <sup>a</sup>
ABL 04/49	4 (5) <sup>c</sup>	41,9 (9,1) <sup>a</sup>	0,00 (0,00) <sup>c</sup>	0,17 (0,19) <sup>b</sup>	0,00 (0,00) <sup>b</sup>	0,17 (0,19) <sup>c</sup>	0,71 (0,79) <sup>c</sup>	0,010 (0,011) <sup>c</sup>	130,1 (14,0) <sup>a</sup>
Euroveen	85 (61) <sup>a</sup>	38,6 (11,0) <sup>ab</sup>	1,46 (1,08) <sup>a</sup>	1,44 (0,77) <sup>a</sup>	0,27 (0,36) <sup>a</sup>	3,18 (2,01) <sup>a</sup>	12,99 (8,21) <sup>a</sup>	0,165 (0,101) <sup>a</sup>	112,6 (12,4) <sup>c</sup>
Infertosa	61 (51) <sup>a</sup>	40,1 (11,0) <sup>a</sup>	0,77 (0,69) <sup>b</sup>	1,23 (0,94) <sup>a</sup>	0,31 (0,25) <sup>a</sup>	2,31 (1,52) <sup>a</sup>	9,43 (6,22) <sup>a</sup>	0,120 (0,075) <sup>a</sup>	130,4 (11,5) <sup>b</sup>
SM + TN	27 (41) <sup>b</sup>	27,8 (11,7) <sup>b</sup>	0,08 (0,10) <sup>c</sup>	0,43 (0,36) <sup>b</sup>	0,03 (0,06) <sup>a</sup>	0,53 (0,44) <sup>b</sup>	2,18 (1,79) <sup>b</sup>	0,029 (0,023) <sup>b</sup>	138,0 (16,1) <sup>ab</sup>
SM + TR	13 (15) <sup>b</sup>	37,8 (8,6) <sup>ab</sup>	0,00 (0,00) <sup>c</sup>	0,34 (0,34) <sup>b</sup>	0,13 (0,19) <sup>a</sup>	0,47 (0,45) <sup>b</sup>	1,94 (1,85) <sup>b</sup>	0,025 (0,023) <sup>b</sup>	157,9 (9,2) <sup>a</sup>
SM + FC	13 (16) <sup>b</sup>	33,0 (8,1) <sup>ab</sup>	0,04 (0,06) <sup>c</sup>	0,26 (0,33) <sup>b</sup>	0,15 (0,31) <sup>a</sup>	0,45 (0,52) <sup>b</sup>	1,86 (2,13) <sup>b</sup>	0,025 (0,027) <sup>b</sup>	151,4 (13,1) <sup>ab</sup>
Media	40	36,2	0,47	0,74	0,18	1,39	5,68	0,073	132,0

SM: suelo mineral; TN: turba negra; TR: turba rubia; FC: fibra de coco.

Sustrato: compost de champiñón. Fructificación a 19 ± 1 °C. Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar. Para cada factor en cada columna, los valores seguidos de distinta letra en superíndice son significativamente diferentes entre sí ( $p \leq 0,05$ , test de Tukey).

de cepa de la misma especie. Todas estas medidas de optimización del cultivo facilitarán su expansión a nuevos países productores.

## Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

1. Cavalcante JLR, Gomes VFF, Kopytowsky-Filho J, Minhonei MTA, Andrade MCN. Cultivation of *Agaricus blazei* in the environmental protection area of the Baturité region under three types of casing soils. *Acta Sci Agron.* 2008;30:513–7.
2. Colauto NB, Silveira AR, Eira AF, Linde GA. Alternative to peat for *Agaricus brasiliensis* yield. *Bioresource Technol.* 2010;101:712–6.
3. Colauto NB, Silveira AR, Eira AF, Linde GA. Pasteurização de turfa brasileira para o cultivo de *Agaricus brasiliensis*. *Semina Cienc Agrar.* 2010;31 Supl 1:1331–6.
4. Colauto NB, Silveira AR, Eira AF, Linde GA. Tratamentos térmicos do calcisto para uso como camada de cobertura no cultivo de *Agaricus brasiliensis*. *Ciencia Rural.* 2010;40:1660–3.
5. Colauto NB, Silveira AR, Eira AF, Linde GA. Production flush of *Agaricus blazei* on Brazilian casing layers. *Braz J Microbiol.* 2011;42:616–23.
6. Firenzuoli F, Gori L, Lombardo G. The medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murrill: Review of literature and pharmacotoxicological problems. *Adv Access Publ.* 2007;27:3–15.
7. González Matute R, Figlas D, Curvetto N. *Agaricus blazei* production on non-composted substrate based on sunflower seed hulls and spent oyster mushroom substrate. *World J Microbiol Biotechnol.* 2011;27:1331–9.
8. Gregori A, Pahor B, Glaser R, Pohleven F. Influence of carbon dioxide: Inoculum rate, amount and mixing of casing soil on *Agaricus blazei* fruiting bodies yield. *Acta Agr Slovenica.* 2008;91:371–8.
9. Kerrigan RW. *Agaricus subrufescens*, a cultivated edible and medicinal mushroom, and its synonyms. *Mycologia.* 2005;97:12–24.
10. Kopytowsky-Filho J, Minhonei MTA. Produtividade e eficiência biológica da linhagem ABL 99/30 de *Agaricus blazei* em três tipos de compostos e em dois ambientes de cultivo. *Energ Agric.* 2007;22:65–78.
11. Largeau ML, Llarena-Hernández RC, Regnault-Roger C, Savoie J-M. The medicinal *Agaricus* mushroom cultivated in Brazil: Biology, cultivation and non-medicinal valorisation. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011;92:897–907.
12. Lau O. Methods of chemical analysis of mushrooms. En: Chang ST, Quimio TH, editores. Tropical mushrooms. Biological nature and cultivation methods. Hong Kong: The Chinese University Press; 1982. p. 87–116.
13. Liang ZC, Liang CH, Wang JC, Ho WJ, Wu CY. Heavy metal contents of the cultivated culinary-medicinal Royal Sun Agaricus (the himematsutake mushroom) *Agaricus brasiliensis* S. Wasser et al. (agaricomycetidae) using different casing materials. *Int J Med Mushrooms.* 2008;10:181–8.
14. Moukha S, Ferandon C, Mobio T, Creppy EE. Safety evaluation of *Agaricus subrufescens* varieties and their products of therapeutic interest or for disease prevention. En: Savoie J-M, Foulongne-Oriol M, Largeau M, Barroso G, editores. Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products. 2011. p. 290–301.
15. Pardo-Giménez A, Navarro MJ, López MJ, Gea FJ. Uso del compost agotado de hongos cultivados reciclado como material de cobertura para el cultivo de champiñón. En: Agroecología: referente para la transición de los sistemas agrarios. Valencia: Sociedad Española de Agricultura Ecológica; 2004. p. 1599–609.
16. Pardo-Giménez A, Zied DC, Álvarez-Ortí M, Rubio M, Pardo-González JE. Effect of supplementing compost with grapeseed meal on *Agaricus bisporus* production. *J Sci Food Agric.* 2012;92:1665–71.
17. Savoie JM, Llarena-Hernandez RG, Mata G, Largeau ML. Cultivation of medicinal almond mushrooms, *Agaricus subrufescens*, in Europe. En: Petre M, Berovic M, editores. Mushroom biotechnology and bioengineering. Bucarest: CD Press; 2012. p. 115–25.
18. Silva VA, Dias ES, Vale RHP, Silva R, Moreira GF. Isolamento e identificação de bactérias presentes nos solos de cobertura utilizados no cultivo do cogumelo *Agaricus blazei* Murrill. *Cienc Agrotecnol.* 2007;31:1374–9.
19. Siqueira FG, Dias ES, Silva R, Martos ET, Rinker DL. Cultivation of *Agaricus blazei* ss. Heinemann using different soils as source of casing materials. *Scientia Agricola.* 2009;66:827–30.
20. Stamets P. The Himematsutake mushroom *Agaricus blazei*. En: Growing gourmet and medicinal mushrooms. 3rd ed. Berkeley, CA: Ten Speed Press; 2000. p. 208–16.
21. Wisitrasameewong K, Karunaratna SC, Thongkland N, Zhao R, Callac P, Moukha S, et al. *Agaricus subrufescens*: A review. *Saudi J Biol Sci.* 2012;19:131–46.
22. Yeo SG, Hayes WA. A new medium for casing mushroom beds. *Mush Sci.* 1979;10:217–29.
23. Zied DC. Produtividade e teor de β-glucana de *Agaricus subrufescens* Peck (*A. blazei* [Murrill] ss. Heinemann) em função de diferentes práticas de cultivo e conversões energéticas [Tesis Doctoral]. Faculdade de Ciências Agronômicas, Câmpus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho; 2011.
24. Zied DC, Minhonei MTA, Kopytowski-Filho J, Andrade MCN. Production of *Agaricus blazei* ss. Heinemann (*A. brasiliensis*) on different casing layers and environments. *World J Microbiol Biotechnol.* 2010;26:1857–63.
25. Zied DC, Minhonei MTA, Kopytowski-Filho J, Arruda DP, Andrade MCN. Produção de *Agaricus blazei* ss. Heinemann (*A. brasiliensis*) em função de diferentes camadas de cobertura e substratos de cultivo. *Interciencia.* 2009;34:437–42.
26. Zied DC, Minhonei MTA, Kopytowski-Filho J, Barbosa L, Andrade MCN. Medicinal mushroom growth as affected by non-axenic casing soil. *Pedosphere.* 2011;21:146–53.
27. Zied DC, Pardo-González JE, Minhonei MTA, Pardo-Giménez A. A reliable quality index for mushroom cultivation. *J Agric Sci.* 2011;3:50–61.
28. Zied DC, Pardo-Giménez A, Minhonei MTA, Villas Boas RL, Alvarez Ortí M, Pardo-González JE. Characterization, feasibility and optimization of *Agaricus subrufescens* growth based on chemical elements on casing layer. *Saudi J Biol Sci.* 2012;19:343–7.