

EL EFECTO DE LA CAFEINA SOBRE EL CRECIMIENTO E INTRACRUZAMIENTO DE  
PLEUROTUS OSTREATUS EN EL LABORATORIO \*

por Daniel Martínez-Carrera, \*\*  
Mercedes Sobal \*\* y  
Porfirio Morales \*\*

EFFECT OF CAFFEINE ON THE GROWTH AND INTRASTOCK MATINGS OF  
PLEUROTUS OSTREATUS IN THE LABORATORY

SUMMARY

The development of 2 Mexican and 2 foreign strains of Pleurotus ostreatus (Jacq. ex Fr.) Kumm. was studied in malt extract agar at 28° C, using 11 different concentrations of caffeine from 0.001 to 2.00 mg/ml. Intrastock matings of compatible monokaryons from 2 Mexican strains and 1 foreign strain were also studied, under the same conditions. The average growth rate was slightly stimulated in 0.001-0.06 mg/ml of caffeine concentrations in comparison with the control. However, mycelial growth rate was lower or completely inhibited at 0.250-2.00 mg/ml of caffeine concentration. Caffeine did not affect intrastock matings. These results suggest that caffeine is not assimilated by Pleurotus mycelium.

RESUMEN

Se investigó el comportamiento de 2 cepas mexicanas y 2 extranjeras de Pleurotus ostreatus (Jacq. ex Fr.) Kumm., en medio de cultivo de agar con extracto de malta a 28° C, al cual se le adicionó cafeína en 11 concentraciones diferentes (de 0.001 a 2.00 mg/ml). También bajo las mismas condiciones, se realizaron intracruzamientos de monospóricos compatibles de las cepas. La velocidad de crecimiento de las cepas estudiadas, se vió ligeramente estimulada en concentraciones de cafeína de 0.001-0.06 mg/ml con respecto al testigo; mientras que de 0.250-2.00 mg/ml el crecimiento del micelio se limitó progresivamente hasta ser completamente inhibido. La cafeína no inhibió el intracruzamiento de los monospóricos compatibles, los cuales se dicarionizaron normalmente. Estos resultados sugieren que la cafeína no es asimilada como tal por el micelio del hongo.

INTRODUCCION

El cultivo de Pleurotus ostreatus sobre la pulpa de café, se ha manifestado como una alternativa en la biodegradación y reciclaje de la misma, así como en la producción de alimentos (Martínez-Carrera, 1987). Sin embargo, la pulpa de café fresca contiene 12 g de cafeína por kilogramo de pulpa en

\* Trabajo financiado por el CONACYT a través del Proyecto PCECCNA-040381 que dirige el Dr. Gastón Guzmán.

\*\* INIREB, Proyecto Micología, Apartado Postal 63, Xalapa, Veracruz 91000, México.

promedio. La cafeína es una metilxantina análoga de las purinas, que tiene efectos adversos en el metabolismo celular de diversos organismos (Braham y Bressani, 1979). Por su parte, Dubovoy y Muñoz (1977) demostraron que la cafeína provocaba anomalías y malformaciones en los cuerpos fructíferos de Schizophyllum commune Fr., así como mutaciones. Por estas razones, en el presente estudio se investigó el efecto de la cafeína sobre el crecimiento e intracruzamiento de diversas cepas de Pleurotus ostreatus.

#### MATERIALES Y METODOS

##### 1) Cepas

Se utilizaron 2 cepas nativas de Pleurotus ostreatus (Jacq. ex Fr.) Kumm. registradas como INIREB-20 (ATCC-56277) y 8, las cuales fueron aisladas a partir de especímenes que crecían silvestres sobre pulpa de café en la región de Coatepec, Ver.; también 2 cepas extranjeras de la misma especie, una proveniente de Japón y registrada como INIREB-12 y otra de Alemania Federal (tipo "florida") registrada como INIREB-4, las cuales fueron donadas al Cepario por varios especialistas.

Para el caso de las cepas mexicanas de P. ostreatus los intracruzamientos se realizaron empleando los monospóricos compatibles "4 x 9", "6 x 8" y "3 x 14" de la cepa INIREB-29 y "34 x 7" de la cepa INIREB-20. Asimismo, se intracruzaron los monospóricos "2 x 8" y "1 x 5" de la cepa extranjera INIREB-4.

##### 2) Cultivo de las cepas en medio con cafeína

Las cepas e intracruzamientos estudiados se inocularon por triplicado en cajas de Petri con medio de cultivo de agar con extracto de malta (AEM), al cual se le adicionó cafeína en las siguientes concentraciones: 0.001 mg/ml, 0.01 mg/ml, 0.02 mg/ml, 0.030 mg/ml, 0.06 mg/ml, 0.250 mg/ml, 0.500 mg/ml, 0.750 mg/ml, 1.00 mg/ml, 1.50 mg/ml y 2.00 mg/ml. Asimismo, tanto las cepas como los intracruzamientos se inocularon también en AEM sin adicionarle cafeína, para utilizarlas como testigo. Todas las cajas inoculadas, se incubaron a 28° C en oscuridad.

Se evaluó la variación morfológica macroscópica de las colonias con respecto al testigo, tomando en cuenta su textura, densidad y color. La velocidad de crecimiento se estimó midiendo el diámetro alcanzado por las colonias cada 24 hrs, hasta que cubrían la caja de Petri. Microscópicamente, se evaluó la abundancia, escasez o ausencia relativa de fíbulas.

#### RESULTADOS Y DISCUSION

El efecto de la cafeína sobre la velocidad de crecimiento de las cepas nativas y extranjeras de P. ostreatus se muestra en la figura 1. La velocidad de crecimiento de las cepas se vió ligeramente estimulada a bajas concentraciones de cafeína, con respecto al testigo; mientras que con altas concentraciones el crecimiento micelial quedó completamente inhibido. La cepa INIREB-20 alcanzó la máxima velocidad de crecimiento en una concentración de cafeína de 0.001-0.030 mg/ml; la INIREB-8 de 0.001 a 0.030 mg/ml; la INIREB-12 a 0.001 mg/ml y la INIREB-4 a 0.020 mg/ml. Este estímulo en la velocidad de crecimiento puede deberse a un ligero cambio del

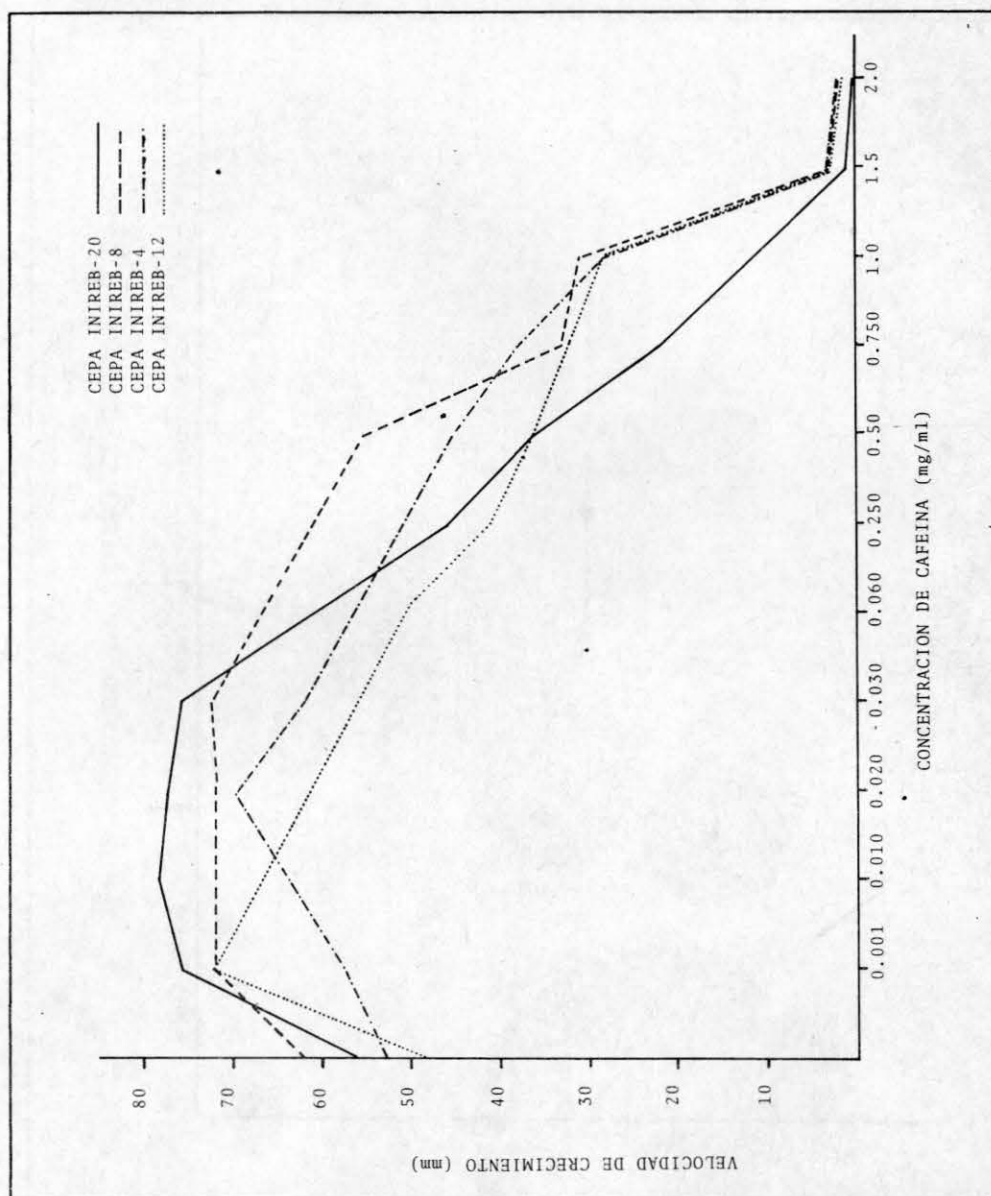


Fig. 1. Velocidad de crecimiento de diferentes cepas de *Pleurotus ostreatus*, a los 6 días de desarrollo en agar con extracto de malta con diferentes concentraciones de cafeína y mantenidas a 28° C.

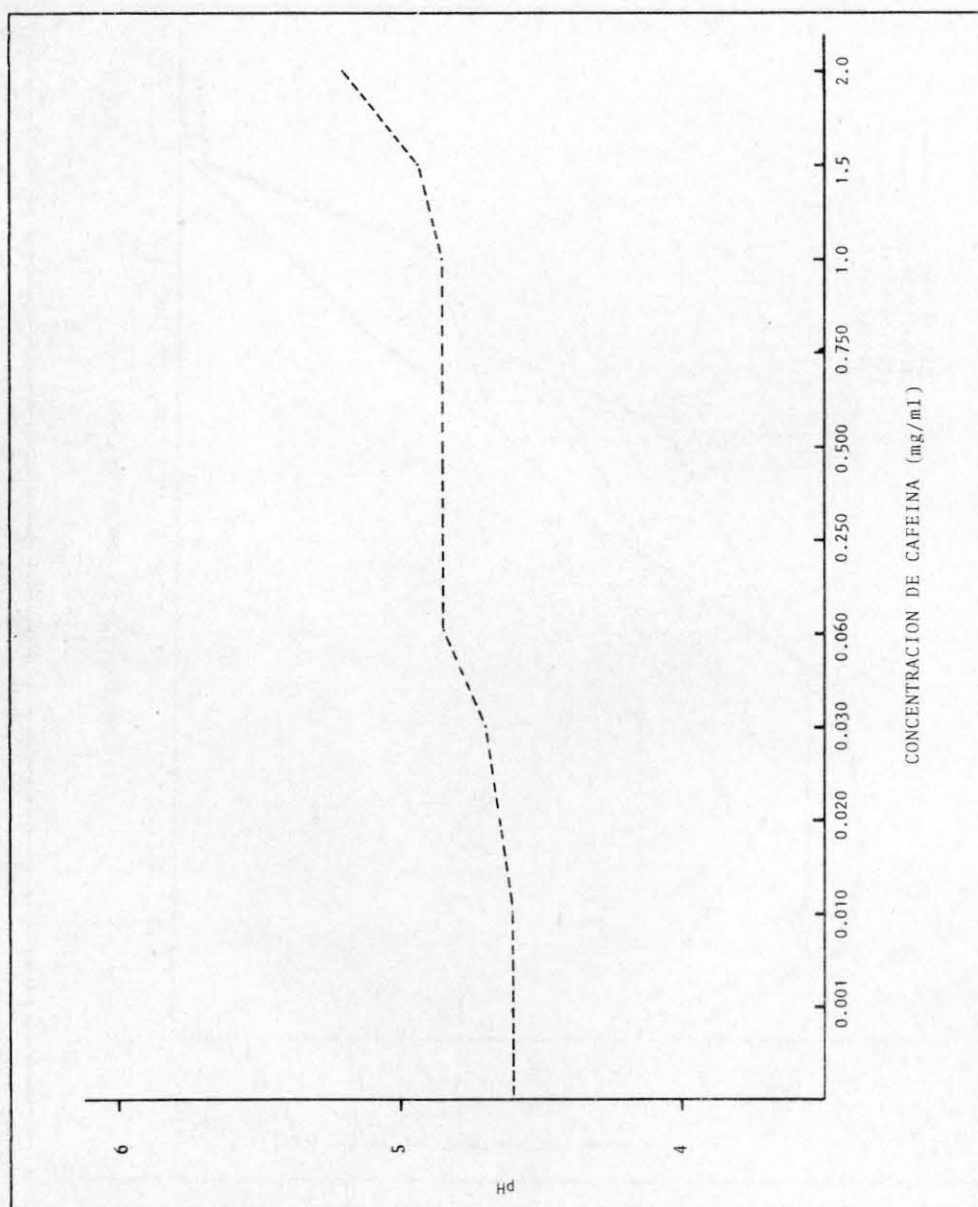


Fig. 2. Cambio observado en el pH del medio de cultivo de agar con extracto de malta, al adicionarse diversas cantidades de cafeína.

pH del medio de cultivo (Fig. 2), por la adición de bajas concentraciones de cafeína. Sin embargo, aunque el pH continúa cambiando al adicionar más cafeína (hasta llegar a 2.0 mg/ml), su efecto sobre el crecimiento micelial es negativo debido a las altas concentraciones.

La textura, color y densidad de las colonias de las cepas, con las diversas concentraciones de cafeína, no mostraron variación significativa respecto al testigo. Microscópicamente no se observó variación en la abundancia relativa de fibras, ni desdicarización del micelio.

Por otro lado, los apareamientos realizados entre aislamientos monospóricos compatibles de las cepas INIREB-20, 29 y 4, solo lograron intracruzarse en concentraciones de cafeína de 0.001-1.0 mg/ml, ya que a mayores concentraciones 1.0-2.0 mg/ml no había crecimiento micelial. Al efectuarse el intracruzamiento, se observó un proceso de fibulación sin variación respecto del testigo. Tampoco se observó variación en la abundancia relativa de fibras entre los dicariones formados.

Con base en los resultados del presente estudio, se sugiere que la cafeína no es asimilada por parte del micelio de P. ostreatus, ya que inhibe completamente su desarrollo en concentraciones superiores a 2.0 mg/ml y no influye en el establecimiento del dicarion al intracruzar micelios monospóricos compatibles. Además, dicho alcaloide tiene un peso molecular muy elevado ( $C_8H_{10}N_4O_2$ , peso molecular 194.19), lo cual hace difícil su asimilación directa, ya que los hongos solo absorben sustancias de bajo peso molecular para su nutrición.

#### AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Dr. Frantisek Zadrazil, del Institut für Bodenbiologie, Braunschweig, Alemania Federal, por haber donado las cepas extranjeras estudiadas en el presente trabajo.

#### LITERATURA CITADA

- Braham, J.E. y R. Bressani (Eds.), 1979. Pulpa de café, composición, tecnología y utilización. CIID, Bogotá.
- Dubovoy, C. y A. Muñoz, 1977. Anormalidades de los cuerpos fructíferos de Schizophyllum commune Fr. en medios con metilxantinas. Bol. Soc. Mex. Mic. 11: 9-13.
- Martínez-Carrera, D., 1987. Design of a mushroom farm for growing Pleurotus on coffee pulp. Mush. J. Tropics 7: 13-23.