

Efecto de la presencia de compuestos solubles de lignina y fenoles sobre la producción de lacasa y biomasa en cultivos de *Pleurotus* spp.

Dulce Salmones

Gerardo Mata

Instituto de Ecología, Apartado postal 63, Xalapa, Veracruz 91000, México

Effect on laccase and biomass production by *Pleurotus* spp. cultures in the presence of soluble lignin and phenols derivatives

Abstract. Biomass mycelial rate and laccase activity by thirty *Pleurotus* strains were evaluated during two successive cultures on three culture media: malt extract agar (AEM), yeast and malt extract agar with induline (AEML-DSL) and coffee pulp agar (APC). The strains presented variable results, although in general they increased biomass rate on AEML-DSL, while the APC medium favoured laccase activity, in comparison with AEM cultures. The strains of *P. ostreatus* and *P. pulmonarius* presented more biomass rate than the strains of *P. djamon*, but the latter reached more laccase activity, therefore this species has a high potential capacity through substrate biodegradation.

Key words: *Pleurotus djamon*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius*, laccase, biomass rate, culture media.

Resumen. Se cuantificó la variabilidad en la producción de biomasa y lacasa de 30 cepas de *Pleurotus*, durante dos cultivos sucesivos en tres medios cultivo: agar con extracto de malta (AEM), agar con pulpa de café (APC) y agar con extracto de malta, levadura e indulina (AEML-DSL). Las cepas presentaron variabilidad en los resultados, aunque en general los cultivos en AEML-DSL incrementaron los valores en ambos parámetros, mientras que en APC sólo se incrementó la actividad de la enzima, en comparación con los cultivos en AEM. Las cepas de *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* presentaron mayor biomasa que las cepas de *P. djamon*, pero éstas tuvieron mayor actividad de lacasa, lo que indica la potencialidad de esta especie en el proceso biodegradativo del sustrato.

Palabras clave: *Pleurotus djamon*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius*, lacasas, biomasa micelial, medio de cultivo.

Received 7 July 2005; accepted 14 October 2005

Introducción

Al género *Pleurotus* se adscriben diversas especies comestibles de hongos. El interés en cultivarlas en residuos agroindustriales se basa, no sólo en sus propiedades organolépticas y nutritivas, sino además, en su reconocida capacidad biodegradativa [13,17,22]. Las especies de *Pleurotus* tienen capacidad de secretar diversas oxidasas y fenoloxidasas lo que les permiten crecer en

sustratos que contienen lignina y compuestos fenólicos [4,9,21]. Entre las enzimas más ampliamente estudiadas se encuentra la lacasa (EC 1.10.3.2), la cual ha mostrado participar activamente en la descomposición de la lignocelulosa, así como en la detoxificación del sustrato [3,5-7,13]. Esta enzima está asociada con una rápida adaptación del hongo a un nuevo sustrato, así como en la producción de metabolitos que impiden y/o disminuyen la competencia de mohos antagonistas [14,22]. La secreción de lacasa se ha visto incrementada en los cultivos contaminados con el moho *Trichoderma*, formando una línea oscura donde ocurre una

Autor para correspondencia: Dulce Salmones

dulce@ecologia.edu.mx

mayor actividad de la enzima, y consecuentemente, se logra inhibir el crecimiento del contaminante [2,20]. Por lo tanto, se considera que la inducción de la lacasa favorece una más rápida adaptación a un nuevo sustrato y una mejor competitividad a otros microorganismos.

En otras especies cultivadas de hongos comestibles como *Lentinula edodes*, la habilidad de producir lacasa se ha relacionado con la presencia de derivados solubles de lignina en el medio de cultivo, lo que ha permitido realizar selección de cepas basándose en esta característica [12]. Es por ello que en este trabajo se estudió el comportamiento de diversas cepas de *Pleurotus* en medios suplementados con derivados solubles de lignina y extractos solubles de pulpa de café, este último un sustrato altamente recomendado para el cultivo del hongo [8,10,21], con la finalidad de comparar la capacidad de producción de biomasa y la secreción de la enzima bajo las diferentes condiciones evaluadas y proponer un método de selección de cepas en el laboratorio, basándose en características de adaptación fisiológica del hongo.

Materiales y métodos

Cepas y medios de cultivo

En el estudio se emplearon 30 cepas de *Pleurotus* de procedencia diversa. Ocho de las cepas corresponden a la especie *P. ostreatus*, de las cuales dos provienen de Europa, una de China, una de Japón, y cuatro fueron seleccionadas de programas de entrecruzamiento genético desarrollados previamente en nuestro laboratorio. Once cepas corresponden a *P. pulmonarius*, cinco de las cuales provienen de Europa, dos de E.U.A., una de Japón y tres del laboratorio. Las once cepas restantes están identificadas como *P. djamor*, dos de ellas provienen de Cuba, una de Japón, dos de México y seis del laboratorio. Todas las cepas están depositadas en el Cepario de Hongos Comestibles del Instituto de Ecología (Xalapa, México). Para llevar a cabo el estudio, las cepas

fueron mantenidas en agar con extracto de malta (Bioxon) a 28°C.

Preparación de los medios de cultivo

El medio de agar con extracto de malta y levadura, suplementado con los derivados solubles de lignina (AEM-DSL), se preparó siguiendo la técnica de Mata *et al.* [12], utilizando indulina alcalina AT (Sigma Chemical Co.). Tres g de indulina fueron disueltos en 800 ml de agua destilada, calentándose con agitación constante hasta lograr la ebullición. La suspensión fue filtrada a través de papel filtro Whatman No. 1, y al filtrado obtenido se le determinó la concentración de fenoles, utilizando el reactivo de Folin Ciocalteu. Conocida la concentración de fenoles, la solución fue ajustada a 2 nM/l de fenoles y entonces, fueron disueltos el extracto de levadura (0.2%), el extracto de malta (2 %) y el agar bacteriológico (1.5 %). El agar con derivados solubles de pulpa de café (APC) fue preparado a partir de una solución de pulpa de café molida disuelta en agua destilada (2%). La suspensión obtenida fue ajustada a una concentración de 2 nM/l de fenoles hidrosolubles y posteriormente se le adicionó agar bacteriológico (1.5%). El agar con extracto de malta o medio de cultivo testigo, fue preparado disolviendo en agua destilada extracto de malta (1%) y agar bacteriológico (1.5%).

Resiembra de las cepas

Se preparó un pre-inóculo de cada cepa en el medio AEM. Después de 7 días de incubación, discos de micelio (7 mm de Ø) del pre-inóculo fueron colocados en la parte central de cada caja de Petri conteniendo los diferentes medios de cultivo, estos cultivos fueron identificados como C1. Una semana después, discos de micelio de los cultivos C1 fueron utilizados para la inoculación de los cultivos C2, que se incubaron por 7 días más. En todos los casos, las muestras se incubaron a 28°C, en la oscuridad.

Cuantificación de biomasa micelial

Para esta prueba, los tres medios de cultivo fueron preparados sin agar bacteriológico. La siembra fue a partir de discos de micelio colocados en frascos conteniendo 6 ml de cada medio de cultivo líquido estéril. Después de 7 días de incubación, la biomasa se determinó pesando el micelio retenido en papel filtro, secado a peso constante. El contenido micelial alcanzado se expresó en mg de micelio por ml de medio de cultivo utilizado.

Medición de la actividad de lacasa

Se siguió la metodología de Niku-Paavola *et al.* [16] modificada por Mata *et al.* [12], y consistió en tomar un disco de micelio (7 mm de Ø) de la periferia de la caja de Petri de cada cepa y colocarlo en un tubo conteniendo 1.5 ml de ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina6-sulfónico) (ABTS) al 2%, disuelto en buffer de acetato de sodio 0.1 M, pH 5. Las muestras se incubaron 15 min a 30°C. La concentración de la solución recuperada de ABTS fue leída a una longitud de onda de 436 nm. Una unidad de actividad de lacasa fue expresada como 1 µmol de ABTS oxidado por min por disco de micelio y fue calculado utilizando el valor de absorbancia molar de = 29300 M⁻¹cm⁻¹

Análisis estadístico

Para cada una de las condiciones, resiembras y medios de cultivo evaluados, se hicieron 10 réplicas por cepa. A los datos obtenidos se aplicó el análisis de varianza con un diseño completamente al azar y posteriormente se aplicó la prueba de comparación de rangos múltiples de Tukey (p<0.05). Además se realizó un análisis de correlación entre la producción de biomasa y lacasa alcanzada en cada resiembra, entre las cepas de cada especie de *Pleurotus* estudiada.

Resultados

Los resultados de producción de biomasa se presentan en la Tabla 1. Las cepas de *Pleurotus djamor* cultivadas en el medio AEM presentaron entre 21.2 a 41.1 mg/ml de biomasa micelial en los cultivos C1, con un promedio de 30.5 mg/ml, mientras que en la resiembra C2 los valores fluctuaron entre 19.6 a 41.2 mg/ml, con un promedio de 34.3 mg/ml. Cuando las cepas se desarrollaron en AEM-DSL, los intervalos de biomasa micelial fluctuaron entre 40 a 62.5 mg/ml en C1, y de 50.9 a 62.5 mg/ml en C2, con promedios de 49.7 y de 62.7 mg/ml, respectivamente; mientras que en APC se cuantificaron entre 3.9 a 16.7 mg/ml de biomasa en C1 y de 3 a 18.7 mg/ml en C2, con promedios de 7.9 y de 11.2 mg/ml. El análisis de varianza de los promedios de todas las cepas de *P. djamor* por medio de cultivo y resiembra, mostró diferencias significativas entre las condiciones estudiadas, apreciándose de manera general que los cultivos desarrollados en AEM-DSL, así como los correspondientes a la resiembra C2, favorecieron el incremento de producción de biomasa micelial. En las cepas de *P. ostreatus*, la biomasa cuantificada en los cultivos de AEM varió entre 29.5 a 48 mg/ml en C1, con promedio de 38.4 mg/ml, y de 37.9 a 45.8 mg/ml en C2, con promedio de 42.5 mg/ml. En la condición de AEM-DSL, la biomasa cuantificada en la resiembra C1 pesó entre 51.3 a 90.4 mg/ml, alcanzando un promedio de 74.7 mg/ml, mientras que en la resiembra C2 fue entre 59.1 a 83.9 mg/ml, alcanzando un promedio de 73.3 mg/ml. En el medio APC, la biomasa desarrollada en los cultivos C1 pesó entre 9.6 a 19.2 mg/ml, y en C2 entre 15.7 a 22.5 mg/ml, con promedios de 15.5 y 19.9 mg/ml, respectivamente. El análisis estadístico aplicado a los resultados obtenidos por todas las cepas de *P. ostreatus* para cada tratamiento indicaron que los cultivos en AEM-DSL incrementaron significativamente la biomasa de las cepas, siendo estadísticamente diferentes a los otros medios evaluados; mientras que la utilización de resiembras sucesivas sólo favoreció el incremento significativo de la

biomasa cuando las cepas se desarrollaron en los medios AEM y APC. Las cepas de *P. pulmonarius* cultivadas en AEM presentaron biomazas entre 25.1 a 43.7 mg/ml en C1, y de 29.1 a 41.3 mg/ml en C2, con promedios de 34.1 y de 34.9 mg/ml. En el medio AEML-DSL se alcanzaron pesos entre 57.5 a 80.4 mg/ml en C1, y de 60.7 a 86.6 mg/ml en C2, con promedios de 64.1 y de 69.8 mg/ml; y en APC de 6.4 a 19.5 mg/ml en C1, con media de 12.5 mg/ml, y de 10.9 a 20.9, con promedio de 17.3 mg/ml, en C2. El análisis del promedio de todas las cepas de *P. pulmonarius* en cada tratamiento mostró diferencias, siendo significativas entre los diferentes medios de cultivo y la resiembra en los medios AEML-DSL y APC. Al igual que *P. djamor* y *P. ostreatus*, *P. pulmonarius* incrementó significativamente su biomasa cuando se desarrolló en el medio AEML-DSL (Tabla 1).

Con respecto a la producción de lacasa (Tabla 1), las actividades de las cepas de *P. djamor* cultivadas en AEM variaron de 1.7 a 9.1 U/disco en C1, y de 1.9 a 9.5 U/disco en C2, con promedios de 4.5 y de 3.5 U/disco. En el medio de AEML-DSL, los valores fluctuaron entre 1.9 a 15.4 U/disco en C1, y de 1.5 a 17.6 U/disco en C2, con medias de 7.2 y 5.8; mientras que en APC variaron de 0.5 a 6.5 U/disco en C1, y de 1.1 a 3.7 U/disco en C2, con promedios de 3.2 y 2.5 U/disco, respectivamente. El análisis de varianza del promedio de todas las cepas de *P. djamor* en los diferentes tratamientos evaluados indicó diferencias, siendo significativas entre los medios de cultivo y entre las resiembras, correspondiendo a los cultivos de AEML-DSL y de C1 los valores más altos. Referente a la especie *P. ostreatus*, las cepas presentaron actividades en AEM entre 0.06 a 1.12 U/disco en C1, y de 0.2 a 0.8 U/disco en C2, con promedios de 0.5 y de 0.4 U/disco; cuando se las cepas se cultivaron en AEML-DSL alcanzaron entre 1.1 a 5.3 U/disco en C1, y de 0.7 a 2.8 U/disco en C2, con promedios de 1.8 y 1.3 U/disco. En el medio APC los valores fluctuaron entre 1.1 a 2.1 U/disco en C1 y de 0.2 a 1.6 U/disco, con promedios de 1.6 y 0.9 U/disco, respectivamente. El análisis de varianza realizado con los promedios de todas las

cepas indicó diferencias entre los medios de cultivo y las resiembras. Bajo las condiciones estudiadas, las cepas de *P. ostreatus* presentaron valores similares de actividad enzimática en AEML-DSL y APC, diferenciándose significativamente de los valores alcanzados en AEM. En general, la mayor actividad de la enzima correspondió a los cultivos de la resiembra C1 (Tabla 1).

En las cepas de *P. pulmonarius*, la actividad enzimática en AEM varió de 0.6 a 2.9 U/disco en C1, y de 0.5 a 2.1 en C2, con promedios de 1.3 y 1.1 U/disco; mientras que en AEML-DSL fueron de 1 a 3 U/disco en C1 y de 1.1 a 2.5, con medias de 1.9 y 1.6 U/disco. Para los cultivos en APC, los valores de alcanzados fueron de 0.6 a 2 U/disco en C1 y de 0.3 a 2.1 U/disco en C2, con promedios de 1.3 U/disco para ambas condiciones. El análisis de varianza del promedio de todas las cepas indicó diferencias entre los medios de cultivo y las resiembras cuantificadas en los medios AEM y AEML-DSL. Como en los resultados de las especies anteriores, las mayores actividades enzimáticas se presentaron en la resiembra C1 y los cultivos del medio AEML-DSL (Tabla 1).

Discusión

En general las cepas tuvieron la capacidad de aprovechar las fuentes energéticas para la producción de biomasa, especialmente cuando el medio de cultivo fue suplementado con inulina. En cuanto a los derivados fenólicos de la pulpa de café, se considera que el hongo fue capaz de utilizar los nutrientes presentes en el medio, pero inicialmente debió neutralizar los efectos tóxicos de algunos monómeros presentes, lo que repercutió en una baja formación de nuevas células fúngicas. Esta limitación en la producción de biomasa en extractos de pulpa de café, previamente había sido observada por Nieto López y Sánchez Vázquez [15] quienes obtuvieron bajos valores en comparación con un medio sintético de glucosa. También Fan *et al.* [4] citan baja

Tabla 1. Efecto del medio de cultivo en los promedios de biomasa micelial y actividad de lacasa obtenidos en los cultivos sucesivos de *Pleurotus*, agrupados por cada especie estudiada.

Especie	Medio de cultivo	Biomasa mg/ml		Lacasa μmol ABTS/mg/ml oxidado.disco micelio ⁻¹ .min ⁻¹	
		C1	C2	C1	C2
<i>P. djamor</i>	AEM	30.5(7.2)b	34.3(7.8)b	4.5(2.4)b	3.9 (2.7)b
	AEML-DSL	49.7(7.4)a	62.7(7.9)a	7.2(3.9)a	5.8(3.2)a
	APC	7.9(5.1)c	11.2(6.5)c	3.2(1.8)c	2.5(0.8)c
<i>P. ostreatus</i>	AEM	38.4(7.4)b	42.5(6.1)b	0.5(0.3)b	0.4(0.2)c
	AEML-DSL	74.7(13.1)a	73.3(10)a	1.8(1.4)a	1.3(0.4)a
	APC	15.5(5.4)c	19.9(2.9)c	1.6(0.4)a	0.9(0.3)b
<i>P. pulmonarius</i>	AEM	34(6.4)b	34.9(7)b	1.3(0.8)b	1.1(0.4)b
	AEML-DSL	64.1(10.7)a	69.8(9.5)a	1.9(0.9)a	1.6(0.7)a
	APC	12.5(4.9)c	17.3(3.2)c	1.3(0.6)b	1.3(0.7)b

*Letras diferentes en la misma columna de cada especie indican diferencias significativas entre los medios de cultivos, de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Tukey (p<0.05).

**C1=resiembra 1, C2=resiembra 2. Las celdas sombreadas corresponden a las condiciones que no presentaron diferencias significativas entre las resiembras

producción de biomasa de *Pleurotus* en medios de cultivo elaborados con residuos de granos de café, comparativamente similares a los alcanzados en el presente estudio.

Por otra parte y de acuerdo a estudios previos que demuestran el potencial que representa la secreción de lacasa para la colonización del sustrato [5,21], así como para la defensa del hongo [2,20], se esperaba que la suplementación de los medios favorecería las especies de *Pleurotus* de uso comercial, que habían sido previamente seleccionadas por su alta capacidad de colonización producción de fructificaciones [11,18,19]. Aunque las cepas de *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* si presentaron producción de la enzima en las condiciones evaluadas, especialmente en el medio de AEML-DSL, los valores alcanzados fueron marcadamente menores a los producidos por las cepas de *P. djamor*. De esta última especie se había citado la producción de la enzima durante su ciclo de cultivo [1,15], pero no se tenían estudios comparativos a nivel

de laboratorio con otras especies comerciales de *Pleurotus*. Con los resultados obtenidos en el presente estudio, *P. djamor* se muestra como un hongo con alto potencial para su aprovechamiento en procesos de delignificación de sustratos, aunque se requieren más estudios para purificar y caracterizar la lacasa que produce esta especie.

Por otra parte, la mayoría de las cepas incrementaron sus valores de biomasa micelial en la resiembra C2, lo que mostró que para este parámetro de evaluación, el uso de dos cultivos sucesivos favoreció la capacidad del hongo a la formación de un mayor número de células fúngicas. En contraposición, la producción de lacasa no se vio incrementada durante la segunda resiembra, por lo que se considera que la capacidad adaptativa de cada cepa fue variable y mayoritariamente expresada de manera temprana. Con respecto al análisis estadístico de correlación (Tabla 2), todas las condiciones produjeron correlaciones positivas,

siendo significativas para *P. pulmonarius* en ambas resiembras, mientras que para *P. ostreatus* y *P. djamor* sólo fueron significativas en la resiembra C2 y C1, respectivamente. Este análisis demostró, además de la interesante relación entre la producción de biomasa y lacasa, que las cepas de *P. djamor* y *P. pulmonarius* expresaron de manera temprana su capacidad adaptativa a los medios de cultivo evaluados.

En general el medio de AEML-DSL favoreció la producción de biomasa y lacasa en las cepas de las especies estudiadas, por lo que podría considerarse un método adecuado para la selección de cepas de *Pleurotus in vitro*, mientras que los resultados obtenidos en APC, muestran la factibilidad de utilizar este medio de cultivo para determinar la variabilidad de capacidad de las cepas en degradar compuestos fenólicos, basándose en la acción de la lacasa producida.

Agradecimientos

Los autores agradecen a las M. en C. Rosalía Pérez Merlo y Marnyye Angélica Velázquez su colaboración en la parte experimental del estudio, así como a las autoridades del Instituto de Ecología y del CONACYT (proyecto 28530-N) los apoyos otorgados para la realización del mismo.

Literatura citada

- Alarcón-Gutiérrez, E., 1997. Cambio de actividad de celulasa y lacasa y obtención de carpóforos de hongos comestibles (*Pleurotus* spp.) durante su crecimiento sobre algunos desechos lignocelulósicos. Tesis de maestría, Instituto Tecnológico de Veracruz, México.
- Alvarado Olivares, Z., 2003. Efecto de mohos antagonistas *Trichoderma* y *Monilia* en el género *Pleurotus* cultivados en pulpa de café y su producción de lacasa *in vitro*. Tesis de licenciatura, Universidad Veracruzana, México.
- Arora, D. S., P. K. Gill, 2000. Laccase production by some white rot fungi under different nutritional condition. *Bioresource Technology* 73: 283-285.
- Fan, L., A. Soccol, A., Pandey, C. R. Soccol, 2003. Cultivation of *Pleurotus* mushrooms on brazilian coffee husk and effects of caffeine and tannic acid. *Micología Aplicada International* 15(1):15-21.
- Homolka, L., J. Paltiel, I. Voláková, F. Nerud, Y. Hadar, 1997. The effect of growth conditions and genetic background on laccase production by the fungus *Pleurotus ostreatus*. *Folia Microbiology* 42 (5): 527-529.
- Hublik, G., F. Schinner, 2000. Characterization and immobilization of the laccase from *Pleurotus ostreatus* and its use for the continuous elimination of phenolic pollutants. *Enzyme and Microbiology Technology* 27: 330-336.
- Ishihara, T., 1980. The role of laccase in lignin biodegradation. In: Kirk, T. K., T. Higuchi, H.-M. Chang, H. (eds.), *Lignin Biodegradation, Microbiology, Chemistry and Potential Applications*. CRC Press, Boca Raton, pp. .
- Leifa, F., A. Pandey, C. R. Soccol, 1999. Cultivation of *Pleurotus* on coffee wastes. In: Broderick, A., T. Nair (eds.), *Proceedings of the 3rd International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products*, Sidney, pp. 301-311.
- Leonowicz, A., J. Rogalski, M. Jaszek, J. Luterek, M. Wojtas-Wasilewska, E. Malarczyk, G. Ginalska, M. Fink-Boots, N.-S. Cho, 1999. Cooperation of fungal laccase and glucose 1-oxidase in transformation of björkman lignin and some phenolic compounds. *Holzforschung* 53: 376-380.
- Martínez-Carrera, D., 1987. Design of a mushroom farm for growing *Pleurotus* on coffee pulp. *Mushroom Journal for the Tropics* 7: 13-23.
- Mata, G., D. Salmones. 2003. Edible mushroom cultivation at the Institute of Ecology in México. *Micología Aplicada International* 15(1): 23-29.
- Mata, G., J. M. Savoie, P. Delpech, 1997. Variability in laccase production by mycelia of *Lentinula boryana* and *Lentinula edodes* in the presence of soluble lignin derivatives in solid media. *Material und Organismen* 32(2):109-122.

- Medeiros, M. B., A. V. Bento, A. L. Nunes, S. C. Oliveira, 1999. Optimization of some variables that affect the synthesis of laccase by *Pleurotus ostreatus*. *Bioprocess Engineering* 21: 483-487.
- Murrieta Hernández, D.M., G. Mata, L. Iglesias Andreu, 2002. Cambios en la producción de lacasa por el hongo *Pleurotus pulmonarius* (Fr.)Qué. cultivado en pulpa de café en confrontación con *Trichoderma viride* Pers., un hongo contaminante. *Foresta Veracruzana* 4(1): 47-52.
- Nieto López, C., J. E. Sánchez Vázquez, 1997. Mycelial growth of *Pleurotus* and *Auricularia* in agroindustrial effluents. *Micología Neotropical Aplicada* 10: 47-56.
- Niku-Paavola, M., L. Raaska, M. Itavaara, 1990. Detection of white rot fungi by a non toxic stain. *Mycological Research* 94(1): 27-31.
- Rajarathanam, S., M. N. Shashirekha, Z. Bano, 1998. Biodegradation and biosynthesis capacities of mushrooms : present and future strategies. *Critical Review in Biotechnology* 18 (283) : 91-236.
- Salmones, D., R. Gaitán-Hernández, R. Pérez, G. Guzmán, 1997. Estudios sobre el género *Pleurotus* VII : Interacción entre crecimiento micelial y productividad. *Revista Iberoamerica de*

- Micología 14: 108-110.
- Salmones, D., Z. Durán-Barradas, 2001. Obtaining and selecting highly productive strains of *Pleurotus pulmonarius* under warm environmental conditions. *Mushroom Research* 10(2) : 59-65.
- Savoie, J. M., G. Mata, C. Billette, 1998. Extracellular laccase production during hyphal interactions between *Trichoderma* sp. and shiitake, *Lentinula edodes*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 49: 589-593.
- Velázquez-Cedeño, M. A., G. Mata, G., J. M. Savoie, 2002. Waste-reducing of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius* on coffee pulp, changes in the production of some lignocellulolytic enzymes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 18: 201-207.
- Upadhyay, R. C., W. Fritsche, 1997. Ligninolytic enzymes of *Pleurotus* species. In: Dhar, B. L., R. N. Verma (eds.), *Advances in mushroom biology and production*. National Research Centre for Mushroom, Solan. pp. 281-290.

Tabla 2. Correlación entre la biomasa y lacasa producida por las cepas de cada especie de *Pleurotus*, en cada resiembra estudiada.

Especie	Resiembras	
	C1	C2
<i>P. djamor</i>	0.45	0.11
<i>P. ostreatus</i>	0.08	0.27
<i>P. pulmonarius</i>	0.32	0.29