

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**“COMPARATIVO DE DOS SUSTRATOS Y CUATRO PAQUETES
TECNOLÓGICOS UTILIZADOS EN LA PRODUCCIÓN
COMERCIAL DE *Pleurotus ostreatus*”**

Presentado por:

ERIK NIKOL MUÑOZ CABALLERO

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE

INGENIERO AGRÓNOMO

Lima- Perú

2017

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA**

**“COMPARATIVO DE DOS SUSTRATOS Y CUATRO PAQUETES
TECNOLÓGICOS UTILIZADOS EN LA PRODUCCIÓN COMERCIAL
DE *Pleurotus ostreatus*”**

Tesis para optar el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

ERIK NIKOL MUÑOZ CABALLERO

Sustentada y Aprobada ante el siguiente jurado:

.....
Dr. Sady Javier García Bendezú
PRESIDENTE

.....
Ing. Ángel Alfonso Palomo Herrera
PATROCINADOR

.....
Ing. Mg. Sc. Carlos Cadenas Giraldo
MIEMBRO

.....
Ing. Mg. Sc. Liliana Aragón Caballero
MIEMBRO

Lima- Perú

2017

Dedicado a

*Mis padres, **Víctor y Gloria**, por su amor, apoyo y consejos que siempre me han dado, por su valor mostrado para salir adelante en momentos difíciles, por darme una carrera para mi futuro, todo se lo debo a ustedes.*

*Mi hermano **Aldo**, por estar siempre conmigo y apoyarme*

*Mi tía **Delta**, por su siempre apoyo incondicional*

Agradecimientos

Al Ing. Alfonso Palomo, patrocinador de la tesis, por su amistad y apoyo brindado a lo largo de mi carrera que ayudaron a mi desarrollo profesional.

Al Ing. Carlos Cadenas, por sus consejos y sugerencias que favorecieron la culminación del presente trabajo de investigación.

Al Dr. Sady García, por sus consejos y sugerencias que favorecieron la culminación del presente trabajo de investigación.

*Al Sr Jose Romero y Cesar Chimey por compartir sus conocimientos y experiencias en el cultivo de *Pleurotus ostretus*, que ayudaron en la parte empírica del presente trabajo de investigación.*

A mi amigo y colega Rafael Zárate, por el apoyo en la instalación del presente trabajo de investigación.

A mi amigo y colega Flavio Lozano, por el apoyo en el análisis estadístico de los resultados del presente trabajo de investigación.

Índice

1. Resumen.....	7
2. Introducción.....	8
3. Revisión Bibliográfica.....	9
3.1. Generalidades.....	9
3.2. <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.).....	10
3.3. Elaboración del inóculo de <i>P. ostreatus</i> para cultivar.....	11
3.3.1. Selección y preparación del material.....	11
3.3.2. Preparación del inóculo primario y secundario.....	11
3.3.3. Manejo del inóculo.....	12
3.3.4. Problemas en la elaboración del inóculo.....	12
3.4. Sustrato.....	13
3.4.1. Selección de sustratos.....	13
3.4.2. Tamaño de la partícula o granulometría.....	13
3.4.3. Humedad del sustrato.....	14
3.5. Tratamientos de desinfección de sustratos.....	14
3.5.1. Esterilización.....	15
3.5.2. Pasteurización a vapor.....	15
3.5.3. Hervido o pasteurización por inmersión.....	16
3.5.4. Inmersión alcalina.....	16
3.6. Producción de <i>P. ostreatus</i>	17
3.6.1. Inoculación o siembra.....	17
3.6.2. Incubación.....	18
3.6.3. Inducción.....	18
3.6.4. Fructificación.....	19
3.6.5. Cosecha.....	19
3.7. Plagas y enfermedades.....	20
3.7.1. Plagas.....	20
3.7.2. Enfermedades.....	21
3.7.3. Manejo.....	22
3.8. Factores que afectan el crecimiento y la fructificación de <i>P. ostreatus</i>	22
3.8.1. La temperatura.....	22
3.8.2. El pH.....	23

3.8.3.	El CO ₂	23
3.8.4.	La humedad relativa del ambiente.....	23
3.8.5.	La luz.....	24
3.8.6.	El carbono.....	24
3.8.7.	El nitrógeno.....	24
3.8.8.	La relación C/N.....	25
4.	Materiales y métodos.....	26
4.1.	Ubicación.....	26
4.2.	Proceso de producción de <i>P. ostreatus</i> utilizando dos sustratos y cuatro paquetes tecnológicos de producción	26
4.2.1.	Preparación de inóculo o semilla.....	26
4.2.2.	Preparación de sustratos e inoculación.....	27
4.2.3.	Incubación.....	33
4.2.4.	Inducción.....	33
4.2.5.	Fructificación.....	34
4.2.6.	Cosecha.....	34
4.2.7.	Diseño estadístico	34
4.3.	Variables evaluadas en el experimento.....	34
4.3.1.	Variables evaluadas y analizadas estadísticamente.....	34
4.3.2.	Variables complementarias.....	37
5.	Resultados y discusiones.....	39
5.1.	Velocidad de crecimiento (VC).....	39
5.2.	Precocidad (Pd).....	42
5.3.	Eficiencia biológica (EB).....	44
5.4.	Tasa de producción (Tp).....	47
5.5.	Tamaño del sombrero o píleo de los basidiocarpos.....	49
5.6.	Temperatura ambiental y del sustrato.....	51
5.7.	Humedad del sustrato.....	55
5.8.	Humedad relativa.....	56
5.9.	pH del sustrato.....	57
6.	Conclusiones.....	58
7.	Recomendaciones.....	59
8.	Referencias bibliográficas.....	60

9. Anexos.....	64
Anexo 1: Año de inicio del cultivo de hongos comestibles en Iberoamérica.....	64
Anexo 2: Producción mundial de hongos comestibles desde el año 2000 hasta el 2013.....	64
Anexo 3: Promedio de producción anual desde el 2000 al 2013 de los principales países productores de hongos comestibles.....	65
Anexo 4: Promedio porcentual de la producción anual de hongos comestibles por regiones, desde el año 2000 hasta el 2013.....	65
Anexo 5: Contenido nutricional del hongo <i>P. ostreatus</i>	66
Anexo 6: Análisis de variancia (ANVA) para la velocidad de crecimiento micelial de <i>P. ostreatus</i> en dos sustratos sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.....	66
Anexo 7: Análisis de variancia (ANVA) para la precocidad de <i>P. ostreatus</i> en dos sustratos sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.....	67
Anexo 8: Análisis de variancia (ANVA) de la eficiencia biológica de <i>P. ostreatus</i> en dos sustratos sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.....	67
Anexo 9: Análisis de variancia (ANVA) de la tasa de producción de <i>P. ostreatus</i> en dos sustratos sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.....	68
Anexo 10: Prueba de Tukey para la velocidad de crecimiento micelial de <i>P. ostreatus</i> en dos sustratos sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.....	68
Anexo 11: Prueba de Tukey para la precocidad de <i>P. ostreatus</i> en dos sustratos sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.....	69
Anexo 12: Prueba de Tukey para la eficiencia biológica de <i>P. ostreatus</i> en dos sustratos sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.....	69
Anexo 13: Prueba de Tukey para la tasa de producción de <i>P. ostreatus</i> en dos sustratos sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.....	70

Anexo 14: Prueba de Tukey para la velocidad de crecimiento de <i>P. ostreatus</i> utilizando cinco tratamientos diferentes de desinfección sobre los sustratos.....	70
Anexo 15: Prueba de Tukey para la precocidad de <i>P. ostreatus</i> utilizando cinco tratamientos diferentes de desinfección sobre los sustratos.....	71
Anexo 16: Prueba de Tukey para la eficiencia biológica de <i>P. ostreatus</i> utilizando cinco tratamientos diferentes de desinfección sobre los sustratos.....	71
Anexo 17: Prueba de Tukey para la tasa de producción de <i>P. ostreatus</i> utilizando cinco tratamientos diferentes de desinfección sobre los sustratos.....	72
Anexo 18: Prueba de Tukey para la velocidad de crecimiento micelial de <i>P. ostreatus</i> en dos sustratos diferentes, panca de maíz y paja de arroz.....	72
Anexo 19: Prueba de Tukey para la precocidad de <i>P. ostreatus</i> en dos sustratos diferentes, panca de maíz y paja de arroz.....	72
Anexo 20: Prueba de Tukey para la eficiencia biológica de <i>P. ostreatus</i> en dos sustratos diferentes, panca de maíz y paja de arroz.....	73
Anexo 21: Prueba de Tukey para la tasa de producción de <i>P. ostreatus</i> en dos sustratos diferentes, panca de maíz y paja de arroz.....	73
Anexo 22: Determinación del contenido de humedad de las muestras de todos los tratamientos.....	73
Anexo 23: Clasificación de basidiocarpos por tamaño (en porcentaje).....	74
Anexo 24: Registro fotográfico	75

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del proceso de producción de <i>P. ostreatus</i> , utilizando los cuatro paquetes tecnológicos de producción.....	28
Figura 2. Velocidad de crecimiento micelial de <i>P. ostreatus</i> , en dos sustratos, panca (PM) y paja de arroz (PA), sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.....	39
Figura 3. Velocidad de crecimiento micelial de <i>P. ostreatus</i> , en función al tratamiento de desinfección utilizado.....	40

Figura 4.	Velocidad de crecimiento micelial de <i>P. ostreatus</i> , en función al sustrato utilizado.....	41
Figura 5.	Precocidad del hongo <i>P. ostreatus</i> , en dos sustratos, panca (PM) y paja de arroz (PA), sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.....	42
Figura 6.	Precocidad del hongo <i>P. ostreatus</i> , en función al tratamiento de desinfección utilizado.....	43
Figura 7.	Precocidad del hongo <i>P. ostreatus</i> , en función al sustrato utilizado.....	44
Figura 8.	Eficiencia biológica del hongo <i>P. ostreatus</i> , en dos sustratos, panca (PM) y paja de arroz (PA), sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.....	45
Figura 9.	Eficiencia biológica del hongo <i>P. ostreatus</i> , en función al tratamiento de desinfección utilizado.....	46
Figura 10.	Eficiencia biológica del hongo <i>P. ostreatus</i> , en función al sustrato utilizado.....	46
Figura 11.	Tasa de producción del hongo <i>P. ostreatus</i> , en dos sustratos, panca (PM) y paja de arroz (PA), sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.....	47
Figura 12.	Tasa de producción del hongo <i>P. ostreatus</i> , en función al tratamiento de desinfección utilizado.....	48
Figura 13.	Tasa de producción del hongo <i>P. ostreatus</i> , en función al sustrato utilizado.....	49
Figura 14.	Distribución del tamaño de los sombreros de los basidiocarpos de <i>P. ostreatus</i> , obtenidos en todos los tratamientos.....	50
Figura 15.	Representación gráfica de la temperatura ambiental e interna de las bolsas con panca de maíz e inoculado con <i>P. ostreatus</i>	52
Figura 16.	Representación gráfica de la temperatura ambiental e interna de las bolsas con paja de arroz e inoculado con <i>P. ostreatus</i>	54
Figura 17.	Porcentaje de humedad del sustrato al momento de la siembra de <i>P. ostreatus</i>	55
Figura 18.	Representación gráfica de la humedad relativa diaria, durante el proceso de incubación e inducción de <i>P. ostreatus</i>	56

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Clasificación taxonómica del hongo <i>P. ostreatus</i>	10
Cuadro 2.	Análisis químico del rastrojo de arroz y de maíz (Mushworld 2005)	27
Cuadro 3.	Descripción de los paquetes tecnológicos.....	29
Cuadro 4	Codificación y descripción de los tratamientos.	30
Cuadro 5.	Clasificación de basidiocarpos por tamaño.....	37
Cuadro 6.	pH de los sustratos en todos los tratamientos.....	57

1. RESUMEN

Los objetivos del presente trabajo fueron comparar y determinar, el tipo de sustrato y paquete tecnológico más conveniente para el inicio de una producción comercial de *Pleurotus ostreatus* (Jacq). Se evaluaron dos sustratos comercialmente disponibles el rastrojo de maíz y paja de arroz, sometidos a diferentes tratamientos de desinfección: alcalino, hervido, pasteurizado, esterilizado y un tratamiento testigo. Los tratamientos fueron colocados en bolsas de polipropileno, inoculados con el hongo *P. ostreatus* e incubados a temperatura ambiente hasta completar su colonización, posteriormente se trasladaron al área de inducción y cosecha. El tratamiento de hervido en paja de arroz obtuvo la mayor velocidad de crecimiento con 11,7 mm/día, los tratamientos más precoces y sin diferencias significativas en sus resultados fueron: el hervido en rastrojo de maíz, alcalino en rastrojo de maíz y hervido en paja de arroz; con 12.7, 13.0 y 13.2 días respectivamente. Los tratamientos con mayor eficiencia biológica y sin presentar diferencias significativas en sus resultados fueron: el esterilizado en rastrojo de maíz, hervido en paja de arroz y el alcalino en rastrojo de maíz, con 95.4, 91.1 y 91.0 % respectivamente. La mayor tasa de producción lo obtuvieron los tratamientos: alcalino en rastrojo de maíz y hervido en paja de arroz, con 1.74 y 1.73 % respectivamente. El sustrato y método de desinfección más conveniente para el inicio de una producción comercial de *P. ostreatus* son; el rastrojo de maíz y el método alcalino respectivamente.

2. INTRODUCCIÓN

El cultivo de hongos comestibles es un proceso por el cual los residuos agrícolas son aprovechados y convertidos en un alimento nutritivo rico en proteínas y con propiedades medicinales. De acuerdo a los registros de la FAO (2014), su producción está en continua expansión, mientras que el año 2000 el total de hongos producidos era de 4,210,714.00 toneladas, para el 2013 la producción ascendió a 9,926,966.00 toneladas. Esto representa un incremento del 135 %, siendo China, Estados Unidos e Italia los principales países productores.

En Perú, la exportación de hongos comestibles silvestres creció el año 2015 a un valor de \$ 3.2 millones, 189 % más que el 2014, siendo Brasil el principal país destino representando \$ 2.1 millones del monto de exportación (Sierra exportadora, 2016)

Uno de los hongos comestibles cultivables que ha generado mayor crecimiento e interés en el Perú y el mundo es el *Pleurotus ostreatus*, debido a su facilidad de cultivo y su capacidad de utilizar como sustrato un gran número de residuos agrícolas, a los cuales degrada y obtiene su fuente de carbono y nitrógeno para su crecimiento.

Para el cultivo de *P. ostreatus* es importante utilizar técnicas que garanticen su crecimiento y desarrollo en todo el proceso del cultivo, y una de las etapas fundamentales de este proceso es la desinfección del sustrato, que tiene como finalidad eliminar o reducir los microorganismos nocivos presentes en estos. El proceso de desinfección puede darse por tratamientos térmicos, como son la esterilización, pasteurización o hervido, también existen los tratamientos químicos como es la inmersión alcalina, que se basa en el ajuste del pH del sustrato a valores de alcalinidad.

Debido a la importancia de contar con un sustrato limpio para el proceso de producción de hongos comestibles, se planteó el presente trabajo de investigación con el objetivo de comparar y determinar el sustrato y paquete tecnológico de producción más conveniente para el inicio de una producción comercial de *P. ostreatus*.

Los objetivos específicos fueron:

1. Determinar en cuál de los sustratos, paja de arroz o rastrojo de maíz, es el más conveniente para el inicio de una producción comercial de *P. ostreatus*.
2. Determinar cuál de los siguientes tratamientos de desinfección de sustrato de cada paquete tecnológico: Alcalino, hervido, pasteurizado o esterilizado; es el más conveniente para el inicio de una producción comercial de *P. ostreatus*.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Generalidades

Un hongo es un organismo vivo que carece de clorofila, por consiguiente no realiza fotosíntesis y debe incorporar nutrientes del medio externo para subsistir (heterótrofo). El “cuerpo” o soma del hongo está, en general, constituido por un conjunto de filamentos microscópicos que se ramifican en todas direcciones. Cada uno de los filamentos se denomina hifa y el conjunto de ellos se denomina micelio (Albertó, 2008).

Los hongos viven en la materia orgánica, ya sea viva o muerta, a la cual degradan para alimentarse de ella. Las especies que se desarrollan sobre materia viva son las parasitas o las simbióticas. Los que se desarrollan en la materia muerta son los saprofitos, que crecen en el suelo, tronco o sobre desechos agrícolas o agroindustriales. La mayoría de los hongos comestibles, pertenecen a esta clase de vida (Guzmán et al. 2002).

El cultivo de hongos comestibles representa un sistema de producción-consumo, el cual ha adquirido en el mundo gran relevancia social, económica y ecológica. Se trata de procesos biotecnológicos, que se desarrolla a pequeña y gran escala (Miles y Chang 2004).

Su cultivo genera un bajo impacto ambiental, dado que después de cultivar y cosechar los hongos, el sustrato degradado tiene un mayor contenido proteico comparado con el sustrato original, también tiene características mejoradas como acarreador para nutrientes líquidos y retiene mejor el agua que el rastrojo. Por estos motivos, el sustrato degradado puede ser reciclado, siempre y cuando esté libre de patógenos y micotoxinas (Sánchez y Royse 2001).

A nivel alimenticio, los hongos comestibles poseen el doble del contenido de proteínas que los vegetales y disponen de los nueve aminoácidos esenciales, contando con leucina y lisina (ausente en la mayoría de los cereales). Así mismo, poseen alta cantidad de minerales (superando a la carne de muchos pescados), bajo contenido de calorías y carbohidratos (Hernández y López 2012).

Los hongos comestibles también se caracterizan por tener propiedades medicinales, produce un número importantes de moléculas que presentan actividades biológicas anticancerígenas. Producen retardo en el crecimiento de tumores, posiblemente por la acción de un compuesto polisacárido que actúa como potenciador de la defensa del huésped, su ventaja sobre los fármacos que eliminan las células cancerosas radica en que no presenta efectos colaterales (Doroteo 2007).

3.2. *Pleurotus ostreatus* (Jacq.)

P. ostreatus, es un hongo que en su ambiente natural, crece en el suelo, troncos o sobre desechos agrícolas o agroindustriales, que están constituidos principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina en porcentaje de 40-60, 15-50 y 10-30 respectivamente, alimentándose de estos nutrientes y degradándolos, y donde las condiciones ambientales sean optimas (Sánchez y Royse 2001).

La especie fue descrita originalmente por Nikolaus Joseph Von Jacquin, pero con otro nombre (*Agaricus ostreatus* Jacq.). Posteriormente, Kumm. revisó la especie y le dio su nombre actual y publicó la nueva descripción en el año 1871.

Cuadro 1: Clasificación taxonómica del hongo *P. ostreatus* (Species Fungorum, 2016).

Reino	Fungi
División	Basidiomycota
Clase	Agaricomycetes
Orden	Agaricales
Familia	Pleurotaceae
Género	Pleurotus
Especie	<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm., 1871

La palabra Pleurotus proviene del griego “*Pleuro*”, que significa formado lateralmente o en posición lateral, refiriéndose a la posición del estípite respecto al píleo. La palabra ostreatus en latín quiere decir en forma de ostra y en este caso se refiere a la apariencia y al color del cuerpo fructífero (Stamets 1983).

Los basidiocarpos de *P. ostreatus* no presentan anillo ni volva. El píleo es de 5-25 cm de diámetro, ampliamente convexo y algunas veces casi plano en la madurez; de margen lobulado u ondulado; la superficie es lisa, presenta color variable según la intensidad de la luz, con tonos entre blanquecinos, grises o azulados; la carnosidad es blanca. Lamela formada por agallas decurrentes de color blanco, amarillentas en estado avanzado de desarrollo, no pubescentes. El estípite es corto y grueso, de 0.5 a 3.0 cm de longitud, 0.5 a 2.0 cm de espesor, excéntrico o lateral con pubescencia densa de color blanco en la base (Ardón 2007).

3.3. Elaboración del inóculo de *P. ostreatus* para cultivar

El inóculo o también llamado comercialmente “semilla” (*spawn*, en inglés), es el desarrollo masivo del micelio del hongo sobre un sustrato determinado, colocados dentro de un frasco, botella o bolsa de polipapel (Guzmán et al. 2002).

La semilla tiene un papel decisivo en el proceso de cultivo. Para ello se usan granos de gramíneas, ya que forman una cápsula micelial que aumenta el vigor de la cepa así como la rápida incubación del hongo en el sustrato (Stamets 1983).

Es la etapa más delicada del proceso. Lo ideal es contar con un laboratorio equipado, aislado de los insectos, que sea posible desinfectar y de acceso restringido (Ardón 2007).

3.3.1. Selección y preparación del material

La selección de granos busca elegir aquellos que se encuentren limpios, de buena calidad, sin residuos de productos químicos o contaminados con hongos o insectos. Aunque parezca obvio, se debe recordar que no se pueden utilizar granos desinfectados tratados con fungicidas u otros pesticidas, ya que afectaran el desarrollo de *P. ostreatus* (France et al. 2000).

La preparación de semilla comienza limpiando la semilla, eliminando cualquier partícula ajena, mediante enjuagues continuos con abundante agua. Se sumerge el grano en agua durante 24 a 36 horas o hervirlo durante 15 minutos, hasta que quede una consistencia blanda (Guzmán et al. 2002).

Después de dejar un tiempo para que se elimine el exceso de humedad, se llenan los recipientes con el grano, y se cierran con tapones de algodón. Se puede emplear varios tipos de recipientes, los más comunes son las bolsas de polipropileno (Albertó 2008).

La esterilización se realiza en autoclave u olla a presión a 121 °C y/o 15 libras de presión, durante 40 minutos (Guzmán et al. 2002).

3.3.2. Preparación del inóculo primario y secundario

Para la siembra de los frascos se utiliza una colonia del hongo en activo crecimiento, el cual proviene de una placa Petri completamente colonizada que se estuvo incubando a 24 °C y oscuridad total por aproximadamente 15 días (France et al. 2000).

El proceso se realiza en un área aséptica, de preferencia cerrada y ajena a corrientes de aire y con equipo esterilizado, se recomienda emplear una cámara de flujo laminar, o en

su defecto dos a tres mecheros bunsen colocados de tal manera que originen una zona aséptica. Con ayuda de un bisturí se depositan porciones de 1 cm² de micelio sobre los recipientes (Guzmán et al. 2002).

Finalizada la siembra, los recipientes se trasladan a la sala de incubación. En este recinto debe haber una temperatura de aproximadamente 25 °C, que es la óptima para la mayoría de especies. El proceso finaliza cuando todos los granos han sido cubiertos por micelio. La duración del proceso es variable pero en términos generales es un mes (Albertó 2008).

Los frascos inoculados a partir del micelio en agar reciben el nombre de frascos primarios y son empleados como productores de más micelio para una siguiente generación, a los cuales se les denomina secundarios o segunda generación (Guzmán et al. 2002).

3.3.3. Manejo del inóculo

El almacenamiento del inóculo, deberá realizarse a 5 °C y en la oscuridad, de lo contrario habrá la posibilidad de que se desarrollen las fructificaciones en los frascos o bolsas, lo que restaría vigor a dicho inóculo, se recomienda que el tiempo de refrigeración no sea mayor de seis meses, debido a que el micelio se puede envejecer y compactar (Guzmán et al. 2002).

Es necesario hacer revisiones periódicas del material almacenado y retirar cualquier frasco que presente contaminación, pequeñas gotas amarillentas sobre el inóculo, son causadas por la exudación de metabolitos del hongo, los cuales nos indican evitar periodos largos de incubación a altas temperaturas (Guzmán et al. 2002).

El inóculo almacenado en refrigeración, deberá ser incubado a 28 °C de 12 a 24 horas antes de ser empleado en la siembra (García 2007).

3.3.4. Problemas en la elaboración del inóculo

La mayoría de los problemas que se presentan durante la preparación del inóculo están asociados a un mal manejo de las semillas. Generalmente el productor de inóculo enfrenta problemas para obtener una hidratación correcta de los granos. Una hidratación deficiente limitará el crecimiento micelial durante la incubación, mientras que un exceso de humedad favorecerá la aparición de bacterias y mohos de diferentes especies (ECOSUR 2007).

El exceso en el tiempo de esterilización y/o agua en el sustrato, hará que se forme una masa compacta, que impide la buena colonización de micelio (Lopez 2007).

La esterilización del sustrato a temperaturas menores a 121 °C, corren el riesgo de que los granos mantengan una población de microorganismos, especialmente endosporas bacterianas que, aunque en bajas poblaciones, pueden colonizar rápidamente los granos o competir posteriormente con el hongo, provocando un total fracaso del cultivo (France et al. 2000).

3.4. Sustrato

Al material sobre el que crecen los hongos se le llama sustrato, al cual degradan para su alimentación. Las especies de *Pleurotus* toman de la degradación del complejo lignina-celulosa sus materiales nutritivos, por lo que crecen sobre madera o productos relacionados con los mismos (Guzmán et al. 2002).

3.4.1. Selección de sustratos

La calidad del sustrato va a redundar en la productividad, por ello es necesario que sea un sustrato de cosecha reciente, es decir, paja que no haya sido expuesta a la lluvia, a la humedad y que además esté limpia de impurezas y de hierbas ajenas a la paja (Flores y Contreras 2012).

Es importante obtener las materias primas a un bajo coste económico, por ello el cultivador debe procurar utilizar aquellas que más abunden en la zona de explotación (Sierra et al. 2002).

El sustrato ha de ser preparada de modo que sus componentes nutritivos sean los más adecuados para la especie elegida y no para sus competidores; además ha de quedar con una estructura y una composición lo más homogénea posible y capaz de sostener físicamente a las setas que se formen (Cisterna 2002).

3.4.2. Tamaño de la partícula o granulometría

El tamaño de la partícula es importante; aquellos sustratos formados por partículas muy pequeñas son muy compactos debido a que el espacio entre ellas es diminuto, lo que hace que los gases no difundan y en consecuencia que falte oxígeno necesario para la respiración del hongo. Por el contrario, si las partículas son muy grandes resulta un sustrato

muy “suelto” con peso específico que tendrá rendimientos bajos. Inclusive si se trata de pajas de cereales, un tamaño de caña muy grande no permite un buen compactado y, en ocasiones puede romper la bolsa (Albertó 2008).

3.4.3. Humedad del sustrato

Los sustratos deben ser remojados durante 24 a 48 horas. Tiempos de remojo menores al indicado no permiten una buena impregnación del agua, tampoco es recomendable tiempos mayores, ya que corre el riesgo de contaminarse con mohos. Una práctica habitual es dejar los sustratos sumergidos en estanques de agua o colocarlas en recipientes de gran tamaño donde se les adiciona agua con la ayuda de un aspersor o simplemente con una manguera flexible (Cisterna 2002).

Guzmán et al. (2002), menciona que *P. ostreatus* tendrá un crecimiento óptimo en sustrato que tengan 70 a 80 % de humedad. Y que debajo de estos porcentajes, el micelio crecerá de manera irregular y con poco vigor. Sin embargo, Starik (2008) recomienda valores más bajos de humedad del sustrato, entre 60 y 70 % de humedad.

De forma empírica la humedad se puede calcular, apretando un poco de sustrato con la mano, dejándose escurrir unas pocas gotas entre los dedos. Otro método más preciso es pesar una muestra y meterla en un horno (1 hora a 180°) o en un horno microondas (15 minutos); se pesa después y se calcula la diferencia (García 2007).

3.5. Tratamientos de desinfección de sustratos

Los métodos utilizados para el control del crecimiento microbiano tienen como objetivos reducir o eliminar la carga microbiana y limitar los efectos microbianos (Madigan et al. 2012).

Existen métodos que eliminan el crecimiento microbiano en su totalidad por medio de la esterilización. En ciertas circunstancias, sin embargo, la esterilidad no es alcanzable o práctico (Madigan et al. 2012).

Otros métodos para inhibir el crecimiento microbiano, incluyen la descontaminación y la desinfección. La descontaminación es el tratamiento de un objeto o superficie para que sea seguro de manejar. Desinfección, en contraste, se dirige directamente a los agentes patógenos, aunque puede no eliminar todo los microorganismos (Madigan et al. 2012).

3.5.1. Esterilización

Se denomina esterilización al proceso mediante el cual se elimina todo microorganismo del sustrato mediante la aplicación de altas temperaturas, superiores a los 100 °C. La única forma de lograr esto es mediante el uso de un autoclave (Albertó 2008).

Los microorganismos pierden viabilidad a temperaturas muy altas porque la mayoría de las macromoléculas pierden estructura y función, un proceso llamado desnaturalización. Hay Factores afectan a la susceptibilidad de un microorganismo al calor, en la que se incluye la temperatura y la duración del tratamiento térmico o si el calor es húmedo o seco (Madigan et al. 2012).

Este tratamiento se utiliza frecuentemente para esterilizar sustratos a pequeña escala. El sustrato picado y humedecido se coloca en bolsas de Polipropileno en cantidades no mayores a 4 kg. Se cierran las bolsas y se taponan con algodón hidrófobo para permitir algo de intercambio gaseoso. Se colocan en el autoclave durante 45 minutos (Cisterna 2002).

3.5.2. Pasteurización a vapor

La pasteurización es una actividad que tiene por función disminuir la cantidad de organismos, sobre todo nocivos, que pueden competir con el hongo en la utilización del espacio y de los nutrientes esta es una actividad que prepara al sustrato para una eficaz colonización por el hongo (García 2007).

La pasteurización es un tratamiento controlado que proporcionará las características microbiológicas, químicas y estructurales que el *P. ostreatus* requiere para su óptimo desarrollo, lográndose al final de este proceso un sustrato selectivo (Fernández 2004).

El sistema funciona mediante la acción del calor producido por el vapor. Los pioneros de este tipo de pasteurización, Zadrazil y Schneiderei (1972), prescribieron un tratamiento de 60 a 100 °C durante unas horas (Sánchez et al. s.f.).

Stölzer y Grabbe (1991) Indicaron que las temperaturas inferiores a 55 °C eran insuficientes para destruir otros organismos y que las temperaturas mayores de 85 °C provocaban la ruptura parcial de puentes de hidrógeno del complejo lignina-celulosa y contribuían a la solubilización de azúcares simples. Estas condiciones predisponían al sustrato para una colonización mayor por hongos contaminantes (Sánchez y Royse 2001).

La pasteurización a vapor se usa industrialmente en cámaras donde se inyecta vapor producido por una caldera, que mantiene al sustrato de 70 a 80 °C de dos a cuatro horas.

Las temperaturas son controladas por intermedio de varios termómetros de lectura a distancia (Albertó 2008).

De manera artesanal se emplea tanques de 200 L, que poseen una tapa y agua en la base, la fuente de calor evapora el agua, la tapa tiene una pequeña abertura para dejar escapar el vapor, lo que ocasiona que dentro del tanque todo se halle saturado de vapor. El sustrato se puede colocar en masa o bolsas de polipropileno (Albertó 2008).

3.5.3. Hervido o pasteurización por inmersión

Este método consiste en sumergir el sustrato en agua caliente. Los tiempos y rangos de temperatura en la pasteurización, varían de acuerdo a la experiencia de cada autor.

Guzmán (2002), sugiere que el sustrato se debe sumergir por 80 °C durante 35-45 minutos, menciona también que, con temperaturas superiores se corre el riesgo de modificar la composición química del material, limitando un aprovechamiento eficaz de las fuentes de carbono por el micelio del hongo. Además, los azúcares disueltos en el medio se hacen accesibles a otros microorganismos contaminantes, que lo pueden consumir con mayor facilidad y rapidez.

Mientras que Fernández (2004), recomienda un tiempo de pasteurización de 1:30 – 2:00 horas, que se debe tomar a partir de que el agua haya llegado a los 75°C. Terminado ese tiempo el sustrato debe ser retirado del agua.

3.5.4. Inmersión alcalina

Este es una de las técnicas más recientes que se practican en el cultivo de hongos. La desinfección con cal es un proceso propuesto como una alternativa, en la que se utiliza agua alcalinizada con cal comercial [Ca(OH)₂], destruyendo de esta manera semillas, insectos, parásitos, hongos y bacterias, que pueden contaminar el sustrato y que pueden competir con el hongo de interés (Bermabé-Gonzalez y Cayetano-Catarino 2009).

La capacidad de desinfección del sustrato por medio de cal se debe a que al incrementarse el porcentaje de ésta, el pH de la suspensión aumenta. La efectividad de la técnica se debe a que la mayoría de los contaminantes que se encuentran en el sustrato son sensibles a valores altos de pH, en tanto que *P. ostreatus* tiene la capacidad de tolerarlos (Batz 2010).

La inmersión alcalina consiste en sumergir el sustrato en agua alcalinizada con cal comercial durante cierto tiempo dependiendo del sustrato y de las condiciones ambientales

del lugar de cultivo. Según estudios realizados, la concentración y el tiempo adecuado para la preparación es de 0.5 % y 24 horas respectivamente (Contreras et al. 2004).

Esta técnica tiene una gran ventaja sobre las otras por ser un método en frío, es una alternativa para evitar el uso de altas temperaturas y por lo consiguiente un gasto energético (Batz 2010).

3.6. Producción de *P. ostreatus*

3.6.1. Inoculación o siembra

Consiste en poner en contacto la semilla del hongo (micelio comercial), con el sustrato preparado. Esta operación se realiza añadiendo entre 2 a 5 % del peso húmedo del sustrato (Sierra et al. 2002).

Sánchez y Royse (2001) mencionan que; mientras más baja sea la cantidad de inóculo (semilla), menor será el costo por compra de inóculo, pero mayor el tiempo requerido para que el hongo colonice el sustrato. Además, a mayor tiempo de colonización mayor será el riesgo de contaminación.

La siembra se debe de llevar a cabo en una zona limpia. Las personas que llevarán a cabo la siembra deberán vestir ropa limpia, mascarilla y gorra. La puerta del local debe de estar cerrada para evitar las corrientes de aire mientras dure la siembra (Guzmán et al. 2002).

La siembra se puede realizar sobre una mesa de siembra o simplemente sobre el suelo si se tiene la precaución de colocar el sustrato sobre un plástico limpio o desinfectado. El sustrato puede ser colocado en diversos recipientes, cajones, mangas, bolsas de plásticos, etc. (García 2007).

Las bolsas de plástico utilizadas para el cultivo de hongos, deben ser transparentes; de 50 x 70 cm. No se deben de utilizar bolsas de color opaco o negras porque tienen el inconveniente de no dejar ver el crecimiento del micelio sobre el sustrato y en el peor de los casos, tampoco se puede observar si aparece algún moho contaminante u otro problema. (Guzmán et al. 2002).

Las bolsas deben tener 6 a 10 cortes de 3 cm por lado, para así dejar un buen intercambio gaseoso al sustrato sin que pierda demasiado CO₂, que recordemos es indispensable para el desarrollo vegetativo. Algunos fungicultores sólo realizan dos o tres cortes en la base de la bolsa para evitar que se acumule líquido al interior de ellas y después

de 4 a 6 días de incubación proceden a realizar el resto de cortes en la bolsa (Cisterna 2002).

Existe una creencia equivocada al pensar que entre más orificios se le hagan a la bolsa, más será la producción. Sin embargo, este depende de la cantidad de sustrato contenida en la bolsa (Fernández 2004)

Las bolsas que se han terminado de sembrar se deben marcar con los datos de la cepa sembrada, el sustrato utilizado y la fecha de siembra, para llevar un control del desarrollo del micelio (Guzmán et al. 2002).

3.6.2. Incubación

Es el período de tiempo que tarda la semilla en colonizar todo el sustrato. Dependiendo de la especie y de la temperatura del local este período de tiempo puede oscilar entre los 12 y 60 días para sustratos triturados y entre los 3 y 9 meses para los sustratos leñosos no triturados. (Sierra et al. 2002).

Durante todo este periodo se observará que el micelio invade desde los granos hacia el sustrato produciendo un recubrimiento gradual. Se debe cuidar especialmente la temperatura, ya que cualquier variación hacia abajo o arriba produce un “frenado” en el crecimiento del micelio retardando en varios días la incubación (Cisterna 2002).

En la zona de incubación no es necesario que tenga iluminación, al contrario, debe de estar en oscuridad. La mayoría de las cepas de *Pleurotus* crecen bien en temperaturas cercanas a los 28 °C, aunque algunas pueden resistir entre 20 y 30 °C sin cambios aparentes (Guzmán et al. 2002).

3.6.3. Inducción

La inducción se refiere al momento en que el micelio pasa de un estado vegetativo a un estado productivo es conocido también como “golpe térmico”, para que esto suceda es necesario llevar una serie de acciones como, disminuir la temperatura y porcentaje de CO₂ a mínimas concentraciones (Fernández 2004).

Se debe bajar la temperatura a 14-18 °C y se hacen pequeñas ventanillas en las bolsas, con el fin de permitir el desarrollo de los basidiocarpos (Gibbons et al. 1992). Esta etapa se puede realizar al interior de la sala de Incubación proporcionando abundante ventilación o simplemente sacando las bolsas y dejándolas al aire libre durante toda una

noche. Algunos fungicultores trasladan las bolsas a las salas de producción, las perforan y bajan la temperatura a 15 °C con abundante ventilación durante 24 horas (Cisterna 2002).

La función de perforar las bolsas no sólo tiene como fin permitir la formación de primordios y facilitar la aparición de basidiocarpos maduros, sino que también permite bajar rápidamente la cantidad de CO₂ que se encuentra adentro del sustrato, condición indispensable para el inicio de la fructificación (Cisterna 2002).

3.6.4. Fructificación

Al comienzo de la fructificación se forman en la superficie del micelio, cientos de estructuras diminutas. Son protuberancias que se asemejan a las cabezas de un alfiler. Esto tiene su inicio a partir de que el micelio se organiza para la producción de estructuras reproductoras, cuando se forma el “micelio terciario” (Lopez y García 2004).

Los basidiocarpos de *Pleurotus* sp. se desarrollan en grupos o en forma solitaria. Cuando el desarrollo es en grupos es muy común que los más pequeños sufran un fenómeno de regresión, que se caracteriza por un marchitamiento progresivo en las primeras etapas de desarrollo. Esto es inevitable y ocurre incluso en la naturaleza (Cisterna 2002).

Las variedades que fructifican durante época fría son de colores más grisáceos y oscuros, mientras que las que fructifican durante meses cálidos son de un tono más parduscos y claro (García 2007).

La producción de setas se da en intermedios o intervalos y a este momento de producción se le conoce como “oleadas”, comúnmente y por razones de costo y eficiencia se consideran en este cultivo solo tres cosechas u oleadas. En donde el 50 % de la producción se da en la primera oleada, el 30-35 % en la segunda oleada y el resto 20-15 % en la última oleada. Esperarse a una cuarta oleada, resultante incosteable, pérdida de tiempo y riesgo de contraer y difundir enfermedades en una planta de producción (Fernández, 2004).

Para inducir una nueva oleada se deben modificar las variables ambientales: durante 24 – 48 horas se detiene la ventilación, se disminuye la humedad y se sube la temperatura a 22- 24 °C. Terminado este periodo se procede a re-inducir la fructificación de la misma forma como se realizó con la primera oleada (Cisterna 2002).

3.6.5. Cosecha

La cosecha debe realizarse temprano después de renovar completamente el aire de la sala, esto es realmente importante ya que los basidiocarpos maduros producen cientos de

millones de esporas que forman una neblina al interior de la sala estas esporas son muy alérgenos y provocan serios problemas de asma a aquellas personas que tienen alergias a las gramíneas. De todas formas se recomienda que las personas que realicen esta labor ingresen a las salas de producción con mascarillas (cisterna 2002)

Las setas se deben cosechar enteras y de ser posible antes de su madurez. En caso del *Pleurotus sp.* se debe quitar el pie antes de su pesado y envasado. Es conveniente consumir recién cosechadas para que no pierdan su fragancia y sabor. Si se comercializan, como son un producto perecedero, se deben guardar en cámara frigorífica hasta su distribución en fruterías y supermercados (Sierra et al. 2002).

3.7. Plagas y enfermedades

Una amplia gama de enfermedades y plagas pueden causar serios problemas en el cultivo de hongos, y el manejo de las mismas es un factor importante para una producción exitosa de hongos, las principales razones para la existencia de muchas enfermedades y problemas de plagas se debe a las condiciones en las que se maneja el cultivo.

3.7.1. Plagas

Las camas del cultivo de hongos ostra proveen condiciones muy buenas para las plagas, con suficiente comida temperaturas cálidas, y alta humedad. Se reportan cinco tipos de moscas y dos tipos de ácaros como las mayores plagas de los hongos ostra (Sánchez y Royse 2001)

Los sciáridos (*Lycoriella mali*) son las plagas más importantes del hongo ostra. Los adultos tienen aproximadamente 2mm con antenas largas y finas. Las larvas 6-12mm de largo con una cabeza negra características. Las larvas se alimentan del micelio, primordios, y de los hongos grandes. Esto resulta en cortes en el micelio, menos formación de primordios, y cavidades en los tallos y sombreros de los hongos grandes. Los adultos transmiten enfermedades y ácaros. Las hembras adultas ponen 100-130 huevos de una vez en las camas de cultivo y los huevos eclosionan después de 4.5 días a 20 °C. El crecimiento y desarrollo de la mosca retrasa o es pobre cuando las temperaturas son inferiores a 15 °C o superiores a 30 °C (Sánchez y Royse 2001).

Los Scaptósidos (*Coboldia fuscipes*) también son una plaga de moscas, y aparecen principalmente durante el ciclo productivo de verano. Las larvas se alimentan del micelio causando pudrimiento del sustrato lo cual resulta en pérdidas en la producción. Tanto los

adultos como las larvas transmiten ácaros y otras enfermedades. El crecimiento y desarrollo larval es rápido a temperaturas arriba de los 25 °C, pero se retarda cuando las temperaturas están por debajo de los 20 °C. Esto indica que su crecimiento está favorecido por temperaturas altas durante el cultivo estival (Sánchez y Royse 2001).

Otro tipo de moscas son los Cécidos (*Mycophila sp.*), que en estado adulto son muy pequeños, menos de 1 mm, lo que los hace difíciles de ver dentro del cultivo. Las larvas tienen 1-3mm de largo y absorben nutrientes de la hifa y también atacan los tallos y sombreros de los hongos. La población de larvas puede crecer rápidamente en un corto periodo ya que pueden reproducirse por pedogénesis durante la cual cada larva libera 14-20 larvas hijas cada 6 días. Si se produce un gran número de larvas naranjas las bolsas se vuelven de color naranja, se sabe muy bien que las larvas transfieren varias bacterias que causan enfermedades de los hongos (Sánchez y Royse 2001).

Por último están los Fóridos (*Megaselia Tamiladuensis*), que en estado adulto tienen un tamaño de 2-4 mm y se mueven rápidamente saltando en el sustrato. Las larvas tienen 4-6mm de largo con un cuerpo blanco y transparente y no tienen una cabeza negra distintiva. Las larvas se alimentan del micelio y hacen cavidades en los frutos de los hongos. Los fóridos se producen usualmente durante el cultivo de verano, pero normalmente causan menos daño que otras moscas (Sánchez y Royse 2001).

Otro tipo de plaga son los ácaros que pertenecen a la clase Archnida, siendo *Tarsonemus sp.* y *Histiostoma sp.* los más dañinos para los hongos. Son pequeños e invisibles a simple vista. Los ácaros se alimentan del micelio y de los cuerpos fructíferos, causando pérdidas en la producción y una disminución en la calidad de los hongos. Los ácaros transportan patógenos y nematodos, algunas veces causando ronchas y picazón entre los cultivadores (Sánchez y Royse 2001).

3.7.2. Enfermedades

Una de las principales enfermedades que se presentan en el cultivo de *P. ostreatus* es el moho verde, se reporta más de 30 hongos como agentes causantes de esta enfermedad, siendo las especies de *trichoderma* el más frecuente. Estos se reproducen por esporas asexuales-conidiosporas verdes, sin embargo algunas especies de *trichoderma* no solo tienen un ciclo asexual sino también una fase sexual (*Hypocrea spp.*). *Hypocrea spp.* forma un estroma blanco o marrón en donde se producen las esporas sexuales (Mushworld 2005)

Las bacterias también ocasionan enfermedades al cultivo de *P. ostreatus*, en donde presentan varios síntomas. Siendo el más típico una mancha marrón bacteriana en los sombreros y tallos. Las manchas marrones se agrandan y se unen con otras manchas, y las áreas afectadas están hundidas y cubiertas con material pegajoso. En esta fase es evidente un olor a pescado podrido. El principal patógeno es *Pseudomonas tolaasii* (Mushworld 2005).

Un síntoma parecido a la mancha marrón bacteriana, es causada por un hongo, que se presume que puede ser *Verticilium fungicola*, los síntomas de esta enfermedad son, el sombrero del hongo está parcial o completamente desteñido o amarillo marrón, las manchas no son tan claras como las manchas causadas por la mancha marrón bacteriana. La forma de los cuerpos fructíferos se vuelven anormal y los hongos dejan de crecer (Mushworld 2005).

3.7.3. Manejo

Es necesario tener en cuenta que el uso de productos químicos durante el ciclo de cultivo está limitado por la elevada susceptibilidad de las especies de *Pleurotus* spp. a los plaguicidas y desinfectantes en general, y por el riesgo de acumulación de residuos de estos productos en los cuerpos fructíferos. Por lo tanto, las medidas que mejor pueden ayudar a reducir la contaminación son: la limpieza y la desinfección de los locales de cultivo vacíos, la eliminación cuidadosa de los sustratos agotados y de todas las posibles fuentes de contaminación (restos de cosecha, etc.), una adecuada pasteurización, y el buen manejo del cultivo (Sánchez y Royse 2001).

3.8. Factores que afectan el crecimiento y la fructificación de *P.*

ostreatus

3.8.1. La temperatura

La temperatura afecta el metabolismo de las células. Influye tanto en la capacidad enzimática del organismo, como en la fluidez de los lípidos de la membrana celular (Ardón 2007)

P. ostreatus crece en un rango entre 0 y 32 °C con temperaturas óptimas de 26-28 °C. También Puede soportar 35 °C durante 24 horas (pero no 72 h) y después reiniciar su crecimiento. Por regla general, las temperaturas óptimas para fructificación son

ligeramente inferiores que las temperaturas óptimas para crecimiento micelial (Zadrazil 1975).

3.8.2. El pH

El control del potencial hidrógeno es muy importante en el crecimiento de los microorganismos, es un indicador para seleccionar el sustrato en donde se va a desarrollar el hongo, un pH ligeramente ácido se considera un medio idóneo para el desarrollo de los hongos (Ramón y Ramón 2012).

Para el crecimiento de *Pleurotus* sp. se han citado rangos de crecimiento entre 4 y 7 de pH. Con un óptimo entre 5 y 6 (Zadrazil 1975).

Dado que la mayoría de los contaminantes que se encuentran durante el proceso de cultivo son más sensibles a los valores altos de pH que las especies de *Pleurotus*, actualmente al preparar el sustrato se prefieren valores más elevados que los señalados como óptimos. Stölzer y Grabbe (1991), demostraron que *Trichoderma hamatum* reduce notablemente su crecimiento a pH 7 y es totalmente inhibida a pH 8.5 (Ardón 2007).

3.8.3. El CO₂

Para el caso de *Pleurotus*, se ha notado que la concentración alta en CO₂ estimula la germinación de las esporas y el crecimiento micelial pero inhibe la fructificación (Ardón 2007).

El aumento del contenido de CO₂ del aire hasta valores de 0.08 % provoca una ralentización en el crecimiento de los cuerpos fructíferos, mientras que si el contenido de CO₂ asciende a 0.15-0.3 % se puede producir una rápida mortandad de toda la producción (Sánchez y Royse 2001).

3.8.4. La humedad relativa del ambiente

Este es un factor de suma importancia para la adecuada fructificación de *P. ostreatus*. Dado que los cuerpos fructíferos están formados por un alto contenido de agua y su estructura hifal no les permite retener la humedad en condiciones adversas, un balance adecuado entre la humedad ambiental y el contenido de humedad del hongo es necesario. Debido a esto, la humedad relativa del ambiente donde crece el hongo debe ser suficiente para evitar que tanto el sustrato como los cuerpos fructíferos se deshidraten (Ardón 2007).

La humedad ambiental en los recintos de producción, deben mantenerse por encima del 70 % en la etapa de incubación. Mientras en la etapa de inducción los valores deben oscilar entre 85 y 92 % (Albertó 2008).

3.8.5. La luz

La luz juega un papel preponderante en el desarrollo de los basidiocarpos, es conocido que las especies del genero *Pleurotus* presentan un fototropismo positivo, es decir que crecen en dirección a la luz. Cuando es escasa o falta por completo, los basidiocarpos desarrollan con pies muy largos y presentan un color blanquecino (García 2007)

La luz es importante considerarla en cantidad y calidad sobre todo en las etapas en las que maduran y fructifican, en el caso de *P. ostreatus* es necesario exponer al organismo a un fotoperiodo de 12 horas diarias de luz con una intensidad de 500 lux aproximadamente seguido de un periodo de descanso del hongo con 12 horas de oscuridad (Ramón y Ramón 2012).

3.8.6. El carbono

El carbono es necesario para los hongos porque es la fuente directa de energía para su metabolismo; así mismo, es necesario para la formación de las diferentes partes y estructuras celulares. Dada la importancia que tiene para la vida de la célula, este elemento es el que requiere en mayores cantidades. El carbono puede ser utilizado por el hongo a partir de diferentes fuentes como polímeros, carbohidratos, lípidos, etc. Zadrazil (1974), observó que después de cosechar los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*, las cantidades finales de hemicelulosa, celulosa y lignina se reducían en un 80 % y concluyó diciendo que todos los materiales que contengan celulosa y lignina (con excepción de los tóxicos y con metales pesados) pobres en nitrógeno, pueden ser usados como sustratos (Ardón 2007).

3.8.7. El nitrógeno

Los sustratos sobre los que suelen fructificar las especies de *Pleurotus* pueden contener valores bajos de nitrógeno, por lo que se ha llegado a pensar que este género es capaz de fijar nitrógeno atmosférico. Sin que esto haya sido demostrado, es notorio que la concentración en nitrógeno en el cuerpo fructífero en algunos casos es mayor que la del sustrato sobre el cual crece (Sánchez y Royse 2001).

3.8.8. La relación C/N

Los hongos del género *Pleurotus* pueden crecer con relaciones C/N entre 30 y 300 pero necesita una selectividad biológica (microbiota protectora y no competidora). La relación C/N óptima del sustrato depende de la fase en la que se encuentra el hongo, altas relaciones C/N favorecen el crecimiento del micelio y bajas relaciones favorecen el desarrollo de cuerpos fructíferos (Sánchez y Royse 2001).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Nematología y el módulo de hongos comestibles del departamento académico de fitopatología de la Universidad Nacional Agraria la Molina, ubicados en la provincia de Lima.

4.2. Proceso de producción de *P. ostreatus* utilizando dos sustratos y cuatro paquetes tecnológicos de producción:

El proceso de producción de *P. ostreatus* se dividió en 6 etapas tal como se muestra en el flujograma de la figura 1.

4.2.1. Preparación del inóculo o semilla

a) Inóculo de *P. ostreatus*:

El aislamiento de *P. ostreatus* utilizado fue proporcionado por el Modulo de hongos comestibles del Departamento de Fitopatología, codificada por Zarate (2015) como A1, que fuera obtenido a partir de una cepa comercial.

La cepa de *P. ostreatus* fue multiplicada en placas Petri conteniendo medio Papa Dextrosa Agar (PDA) para obtener crecimiento micelial fresco y puro para la obtención del inóculo primario.

b) Preparación de inoculo primario

Para la obtención del inóculo primario se utilizó como sustrato granos de trigo entero precocido y estéril, para lo cual primero se hirvió en agua potable por 15 minutos, luego se tamizó, se dejó enfriar y se mezcló con 3 g carbonato de calcio (CaCO_3) y 13 g de yeso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) por cada kilogramo seco de trigo. El trigo precocido fue distribuido en bolsas de polipropileno de 6 x 10 cm, las bolsas con el trigo se cerraron herméticamente con un tapón de algodón como filtro, sujetos por una liga y se esterilizaron en autoclave a 121 °C por un total de 90 minutos.

Una vez que enfriaron las bolsas con los granos de trigo, fueron inoculadas con pequeñas porciones de PDA conteniendo el micelio fresco de *P. ostreatus* y se incubaron a una temperatura de 25 °C hasta la total colonización del sustrato.

c) Preparación del inóculo secundario

A partir del inóculo primario de *P. ostreatus* se obtuvo el inóculo secundario, para lo cual se utilizaron granos de trigo precocido y esteril como sustrato, el cual fue producido, inoculado e incubado de la misma manera que para la obtención de inóculo primario que se explicó anteriormente.

El inóculo secundario obtenido es el que se utilizó para la inoculación de los sustratos de producción.

4.2.2. Preparación de sustratos e inoculación.

a. Sustratos utilizados:

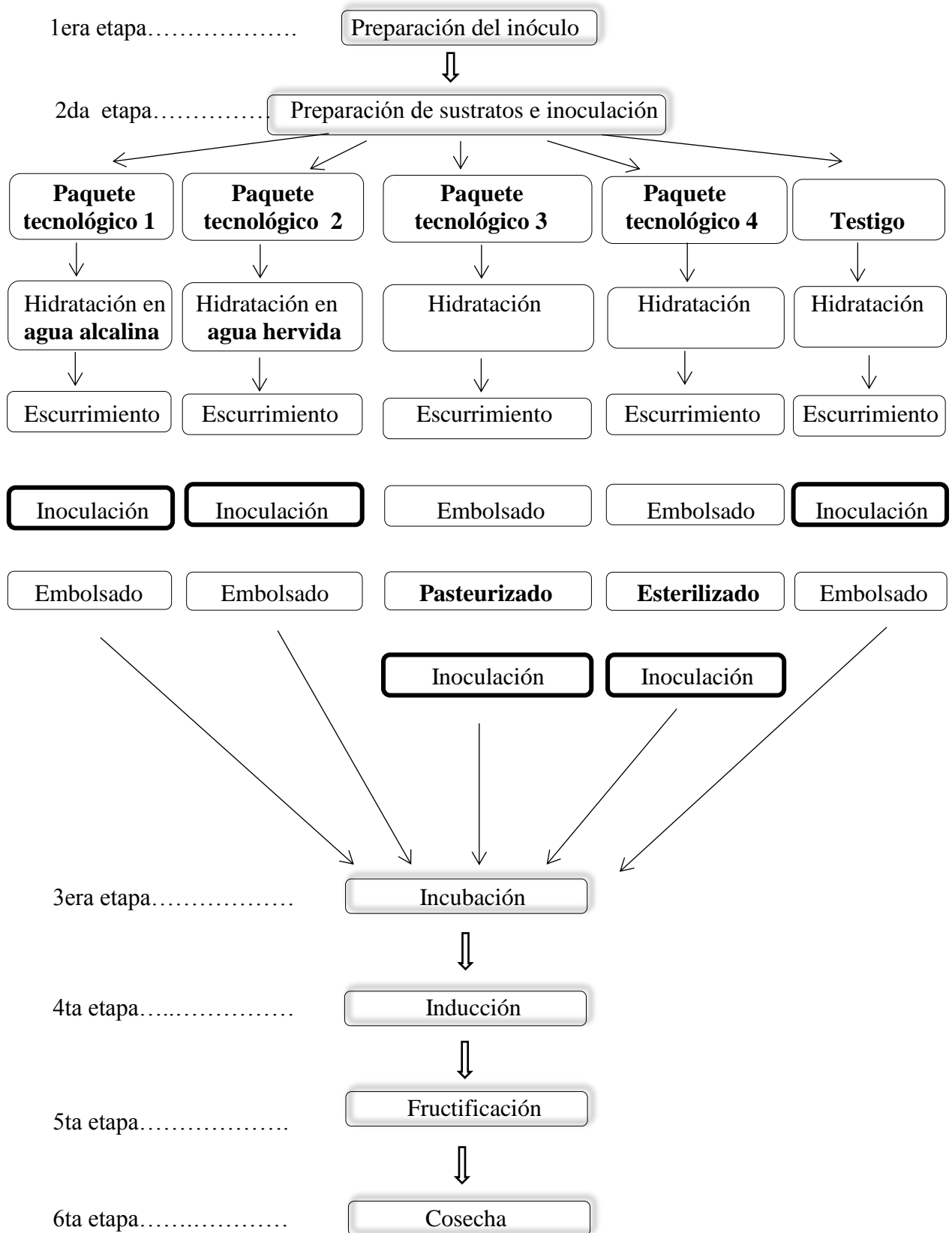
Para el siguiente trabajo de investigación se utilizaron dos sustratos comercialmente disponibles con características fisicoquímicas apropiadas para el desarrollo del hongo *P. ostreatus*; estos fueron: paja de arroz y panca de maíz.

La paja de arroz se quema después de la cosecha como parte del manejo agronómico del cultivo, con la finalidad de controlar las pupas de insectos y tallos enfermos con pudriciones (Heros 2013). Sin embargo, el reglamento del cultivo de arroz dispuesto por SENASA, excepcionalmente permite el uso de rastrojos y paja de arroz al término de cada campaña, con fines exclusivamente ganaderos, industriales o agrícolas (Minag 2010). Por estos motivos, y debido a su gran disponibilidad, es que se seleccionó este material como sustrato a evaluar para el cultivo de *P. ostreatus*.

Cuadro 2: Análisis químico del rastrojo de arroz y de maíz (Mushworld 2005)

Especie	Celulosa	Lignina	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	SiO ₂	pH	C/N
Paja de arroz (<i>Oryza sativa</i>)	37%	14%	0.8%	0.25%	0.3%	6%	6.9	70
Rastrojo de maíz (<i>Zea mays</i>)	28%	11%	0.49%	-	-	-	-	63

Figura 1: Esquema del proceso de producción de *P. ostreatus*, utilizando los cuatro paquetes tecnológicos de producción.



Fuente: Elaboración propia.

El cultivo del maíz produce una gran cantidad de biomasa, de la cual se cosecha apenas cerca del 50 % en forma de grano. El resto corresponde a diversas estructuras de la planta tales como caña, hoja, limbos y mazorca, entre otros. La producción de biomasa residual que genera un cultivo de maíz de grano (cañas, hojas, chalas y mazorcas), fluctúa entre 20 a 35 toneladas por hectárea y en el maíz de choclo (cañas y hojas) varía entre 16 a 25 toneladas por hectárea. La proporción de los componentes del residuo depende principalmente de la variedad, nivel de fertilización y tipo de cultivar. Cada una de las estructuras del maíz posee características físico-químicas, que depende si el residuo corresponde a maíz de grano o maíz para consumo fresco (Basaure 2006).

El rastrojo de maíz es conocido como panca de maíz (PM) en los establecimientos comerciales de alimentos balanceados. El uso de la panca de maíz está destinado principalmente para la alimentación del ganado vacuno, sin embargo, también representa una buena alternativa para el cultivo de *P. ostreatus*, dado su disponibilidad en la región de lima; y por este motivo es que fue el segundo sustrato que se seleccionó para el presente trabajo de investigación.

b. Preparación de sustratos e inoculación.

La panca de maíz (PM) y la paja de arroz (PA) se prepararon mediante cuatro diferentes paquetes tecnológicos de producción, más un proceso testigo en donde solo se hidrataron los sustratos. Los paquetes tecnológicos se diferenciaron en el método de desinfección, porcentaje de inóculo y forma de inoculación; como se observa en el cuadro 3.

Cuadro 3: Descripción de los paquetes tecnológicos.

Paquete Tecnológico	Tratamiento de desinfección	Porcentaje de inóculo	Distribución de la semilla
Paquete tecnológico 1	Tratamiento alcalino	4 %	Homogénea
Paquete tecnológico 2	Tratamiento de hervido	4 %	Homogénea
Paquete tecnológico 3	Tratamiento de pasteurizado	1 %	Localizado
Paquete tecnológico 4	Tratamiento de esterilizado	1 %	Localizado
Testigo	Testigo (sin desinfección)	4 %	Homogénea

Siendo el método de desinfección el factor más importante dentro del paquete tecnológico de producción. Los tratamientos se dividieron bajo ese criterio y sobre dos sustratos, de esta manera se formaron 10 tratamientos, los cuales se describen en el Cuadro 4.

Cada tratamiento estuvo compuesto por seis bolsas de polipropileno de 14x21cm, lleno con sustrato húmedo con un peso equivalente a 833g de sustrato seco e inoculado con el micelio de *P. ostreatus*.

Cuadro 4: Codificación y descripción de los tratamientos.

Tratamiento	Código	Descripción
T1	TA-PM	Tratamiento Alcalino en Panca de Maíz.
T2	TA-PA	Tratamiento Alcalino en Paja de Arroz.
T3	TH-PM	Tratamiento de Hervido en Panca de Maíz.
T4	TH-PA	Tratamiento de Hervido en Paja de Arroz.
T5	TP-PM	Tratamiento de Pasteurizado en Panca de Maíz.
T6	TP-PA	Tratamiento de Pasteurizado en Paja de Arroz.
T7	TE-PM	Tratamiento de Esterilizado en Panca de Maíz.
T8	TE-PA	Tratamiento de Esterilizado en Paja de Arroz.
T9	TT-PM	Tratamiento Testigo en Panca de Maíz.
T10	TT-PA	Tratamiento Testigo en Paja de Arroz.

- Tratamiento Alcalino (TA)

Los sustratos fueron sumergidos en agua alcalinizada con hidróxido de calcio (Ca(OH)_2), a una concentración del 0.5 % y por un lapso de tiempo de 24 horas. Concluida el tiempo de inmersión, el sustrato se escurrió hasta obtener una humedad aproximada del 70 %, la cual fue determinada de manera empírica, presionando con las manos el sustrato y esperando que no escurra más de 3 a 4 gotas (García 2007).

El sustrato con la humedad óptima se extendió sobre una mesa completamente limpia y desinfectada con alcohol de 70°. Inmediatamente después se esparció la semilla del hongo sobre el sustrato y se mezcló de manera uniforme. La cantidad de semilla que se utilizó fue el 4 % del peso húmedo del sustrato.

El sustrato inoculado fue distribuido en bolsas de polipropileno 14x21cm, con un peso equivalente a 833g de sustrato seco, luego fue cerrado herméticamente mediante un

nudo y antes de pasar al área de incubación se realizó cuatro cortes verticales de 3 cm por lado, para permitir el intercambio de gaseoso.

- Tratamiento de Hervido (TH)

Para este tratamiento se utilizó un cilindro de acero de 200 litros de capacidad en donde se colocaron costales de tela conteniendo los sustratos correspondientes, posteriormente se le agregó 100 litros de agua dentro del cilindro e inmediatamente se calentó sobre una cocina a gas hasta llegar a una temperatura de 75 ° C y se mantuvo por 90 minutos. Concluido ese tiempo, los costales conteniendo los sustratos se escurrieron colocándolos sobre una rejilla metálica, hasta que llegaron a una humedad aproximada del 70 %, la cual fue determinada de manera empírica presionando fuertemente con las manos el sustrato y que no escurra más de 3 a 4 gotas (García 2007).

Luego de escurrido de los costales y habiendo el sustrato reducido su temperatura ambiental de aproximadamente 25 °C (temperatura óptima), el sustrato se extendió sobre una mesa completamente limpia y previamente desinfectada con alcohol de 70°. Inmediatamente se esparció el inóculo secundario o semilla del hongo sobre el sustrato y se mezcló de manera uniforme. La cantidad de semilla que se utilizó fue el 4 % del peso húmedo del sustrato.

El sustrato inoculado fue distribuido en bolsas de polipropileno de 14 x 21cm, a razón de un equivalente de 833 g de sustrato seco por cada bolsa. Las bolsas fueron cerradas herméticamente mediante un nudo, se les realizó cuatro cortes verticales de 3 cm por lado para permitir el intercambio de gaseoso y finalmente fueron trasladadas al área de incubación.

- Tratamiento de Pasteurizado (TP)

Los sustratos fueron distribuidos en costales de tela y colocados dentro de un cilindro de 200 litros de capacidad, luego se le añadió agua potable hasta cubrirlos totalmente, utilizando aproximadamente 100 litros de agua. Los costales reposaron dentro de los cilindros con agua durante 24 horas, pasado ese tiempo se retiraron y se dejaron escurrir sobre una rejilla metálica hasta que alcanzaron una humedad aproximada del 70 %. Una vez alcanzado dicha humedad, los sustratos se distribuyeron en bolsas de polipropileno de 14 x 21 a razón de un peso equivalente a 833 g de peso seco de sustrato por bolsa. En la parte superior de la bolsa se colocó un pedazo de algodón como filtro, el cual se sujetó con una liga y se cubrió con una capucha de papel.

Las bolsas con los sustratos fueron colocadas en un cilindro de 200 litros de capacidad que contenía 8 litros de agua y una rejilla metálica por encima del nivel del agua que evitaba el contacto directo de las bolsas con el agua. El cilindro fue cerrado herméticamente y puesto a calentar sobre una cocina hasta llegar a una temperatura aproximada entre 60 y 70 °C al interior y por un lapso de cuatro horas.

Una vez transcurrido el tiempo y enfriado el sustrato, fueron retiradas las bolsas del cilindro y trasladadas a la zona de siembra, donde dentro de una cámara de flujo laminar se procedió a la inoculación. La inoculación se realizó siguiendo todos los procedimientos de asepsia, destapando cada bolsa, colocándole el inóculo secundario o semilla en contacto directo con el sustrato y volviendo a tapar cada bolsa. La cantidad de inóculo que se utilizó fue del 1 % del peso del sustrato húmedo.

- Tratamiento de Esterilizado (TP)

Para este tratamiento, cada sustrato fue distribuido en costales de tela, estos costales se colocaron dentro de un cilindro de 200 litros de capacidad hasta casi llegar al borde, luego se le añadió agua potable hasta cubrirlos totalmente, utilizando aproximadamente 100 litros de agua. Se dejaron reposar los costales dentro de los cilindros con agua durante 24 horas, pasado ese tiempo se retiraron y se dejaron escurrir sobre una rejilla metálica hasta que llegaran a una humedad aproximada del 70 %. Una vez alcanzado dicha humedad, los sustratos se distribuyeron en bolsas de polipropileno de 14 x 21 a razón de un peso equivalente a 833 g de peso seco de sustrato por bolsa. En la parte superior de la bolsa se colocó un pedazo de algodón como filtro, el cual se sujetó con una liga y se cubrió con una capucha de papel.

Posteriormente las bolsas con los sustratos fueron colocadas dentro de un autoclave, donde fueron esterilizados mediante presión de vapor de agua a 15 libras, a 121 °C durante una hora. Concluida la esterilización y con el sustrato frío se realizó la inoculación en la cámara de flujo laminar, siguiendo el procedimiento que el tratamiento anterior. La cantidad de inóculo que se utilizó fue del 1 % del peso del sustrato húmedo.

- Tratamiento Testigo (TT)

En un cilindro con 100 litros de agua se sumergieron costales conteniendo los sustratos por 24 horas, pasado ese tiempo fueron escurridos sobre la rejilla metálica hasta alcanzar una humedad aproximada del 70 %.

El sustrato con la humedad óptima se extendió sobre una mesa completamente limpia y desinfectada con alcohol de 70°. Inmediatamente después se esparció el inóculo

secundario o semilla del hongo sobre el sustrato y se mezcló de manera uniforme. La cantidad de semilla que se utilizó fue el 4 % del peso húmedo del sustrato.

El sustrato inoculado fue distribuido en bolsas de polipropileno 14 x 21cm, a razón de un peso equivalente de 833 g de sustrato seco por cada bolsa. Luego fueron cerradas herméticamente mediante un nudo y antes de pasar al área de incubación, se les realizó cuatro cortes verticales de 3 cm por lado para permitir el intercambio de gaseoso.

4.2.3. Incubación

Las bolsas inoculadas de todos los tratamientos fueron rotuladas y distribuidas de forma aleatoria sobre dos mesas al interior del sótano del laboratorio de Nematología. Se dejaron incubar durante dos semanas, tiempo en que en algunas bolsas se completó la colonización vegetativa de *P. ostreatus*. Este periodo de incubación se extendió hasta los 30 días. Durante esta etapa se efectuaron registros diarios de la temperatura y humedad ambientales mediante un termohigrómetro; y se registraron las temperaturas de los sustratos utilizando un termómetro tipo espiga.

El control de los insectos, en especial los voladores, se realizó mediante trampas amarillas pegantes. Las bolsas que presentaron problemas de contaminación fueron retiradas inmediatamente del área de incubación.

Las bolsas, conforme iban siendo colonizadas totalmente por *P. ostreatus*, fueron trasladadas secuencialmente al Módulo de Hongos Comestibles para iniciar etapa de inducción y fructificación.

4.2.4. Inducción

En esta etapa se modificaron las condiciones medioambientales como la luminosidad, la aireación, la humedad atmosférica y la temperatura, a la que fueron colocadas las bolsas con los sustratos con el fin de inducir la aparición de las estructuras de reproducción del hongo (basidiocarpos).

Para disminuir la concentración de CO₂ se realizaron cortes verticales a las bolsas.

Se realizaron riegos nebulizados para aumentar la humedad relativa hasta un 90 % y para disminuir la temperatura ambiental a valores por debajo de 20 °C.

Se suministró luz artificial, utilizando tubos fluorescentes de intensidad lumínica de 60 a 500 unidades lux durante un período de 12 horas diarias.

4.2.5. Fructificación

Con la aparición de los primordios en las bolsas, la cantidad de agua utilizada para el riego fue disminuida con el fin de evitar la aparición de bacterias en ellos por exceso de humedad en el ambiente.

Todas las entradas de aire de la sala de inducción fueron abiertas para permitir una mayor circulación de aire y así evitar malformaciones en los primordios. El control de plagas en esta etapa se realizó mediante trampas pegantes amarillas.

4.2.6. Cosecha

La cosecha se realizó en forma manual cortando los sombreros con cuchillos bien afilados para evitar remover el sustrato, y dejando lo más limpio posible los orificios por donde salieron los primordios.

Se tomaron datos del peso fresco, y de la cantidad y tamaño de los basidiocarpos que se cosecharon de todas las bolsas.

Después de la cosecha, los sustratos se volvieron a colocar bajo los mismos parámetros ambientales de la inducción para generar una nueva oleada de producción. En total se cosecharon tres oleadas en todos los tratamientos, cantidad recomendada por Fernández (2004).

4.2.7. Diseño estadístico

El diseño estadístico utilizado fue un diseño completamente al azar (DCA), con un arreglo factorial 2x5. Siendo el primer factor el tipo de sustrato y el segundo factor el tipo de desinfección utilizado para el sustrato

4.3. Variables evaluadas en el experimento

4.3.1. Variables evaluadas y analizadas estadísticamente

a) Velocidad de crecimiento del micelio (VC)

La velocidad de crecimiento o tasa de crecimiento es una característica muy importante de cada hongo que varía con las condiciones del medio y que sirve para hacer comparaciones o predicciones sobre el comportamiento entre cepas o sustratos diferentes. (Sánchez y Royse 2001).

Hay muchas formas de medir el crecimiento de un organismo (por el incremento en masa, por la variación en la concentración de algún componente celular, por la producción de CO₂, etc.). La elección del método depende en gran medida del objetivo de la medición (Sánchez y Royse 2001).

Para estudios relacionados con el cultivo de hongos, la velocidad de la colonización del micelio se calcula a través del incremento radial de la colonia en el sustrato (Sánchez y Royse 2001).

Para calcular el radio de crecimiento del micelio en el sustrato, el volumen del sustrato (cilindro con base elíptica), se igualó al volumen de una esfera, para después despejar el radio de la esfera (Radio de crecimiento).

$$\boxed{V_{ce} = \pi * a * b * h} \quad = \quad \boxed{V_e = \frac{3}{4} * \pi * (Rc)^3} \quad (1)$$

$$\boxed{\pi * a * b * h = \frac{3}{4} * \pi * (Rc)^3} \quad (2)$$

$$\boxed{Rc = \sqrt[3]{(4/3 * a * b * h)}} \quad (3)$$

V_{ce} = Volumen del cilindro con base elíptica

V_e = Volumen de la esfera

a = Radio mayor de la base elíptica de un cilindro

b = Radio menor de la base elíptica de un cilindro

h = Altura del cilindro de base elíptica

R_c = radio de la esfera o radio de crecimiento del micelio

Obtenido el radio de crecimiento, este se dividió entre los días que demoró el hongo en colonizar el sustrato (DDS). De esta manera se obtuvo la velocidad de crecimiento (VC).

$$\boxed{VC \text{ (mm/día)} = \frac{Rc}{DD}}$$

b) Precocidad (Pd)

La precocidad (Pd) se midió como el número de días transcurrido desde el inicio de la inducción hasta el inicio de la cosecha de los basidiocarpos. Parámetro propuesto por Larraya (2003) citado por Maldonado (2007).

Se utilizó el promedio de los intervalos de tiempo de las tres oleadas.

$$Pd = \frac{(FPOi - FI) + (FSOi - FPOt) + (FTOi - FSOT)}{3}$$

Pp : Precocidad promedio (días).

FI: Fecha de la inducción inicial.

FPOi: Fecha de inicio de la primera oleada.

FPOt: Fecha de término de la primera oleada.

FSOi: Fecha de inicio de la segunda oleada.

FSOT: Fecha de término de la segunda oleada.

FTOi: Fecha de inicio de la tercera oleada.

c) Eficiencia Biológica (EB)

Para calcular el porcentaje de eficiencia biológica se utilizó la siguiente ecuación utilizada por Salmenes *et al.* (1997) citado por Romero *et al.* (2010).

$$EB(\%) = \frac{\text{Peso total de hongos frescos cosechados (g)} \times 100}{\text{Peso del sustrato seco (g)}}$$

d) Tasa de producción (Tp)

La tasa de producción se calculó de acuerdo con lo propuesto por Royse (1989) citado por Bautista *et al.* (2000). En base a la siguiente fórmula.

$$\text{Tasa de producción (Tp)} = \frac{EB(\%)}{Cp}$$

EB = Eficiencia biológica.

Cp = Ciclo de producción (se refiere al número de días transcurridos desde la inoculación del sustrato, hasta la última cosecha de cuerpos fructíferos).

Para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos, los datos de velocidad de crecimiento, precocidad, eficiencia biológica y tasa de producción; fueron procesados y analizados con el ambiente de computo estadístico R versión 3.0.1 (R Core Team, 2013). Las variables que mostraron diferencias estadísticamente significativas se les hizo comparaciones múltiples con el procedimiento de Tukey a un nivel $p = 0,05$.

4.3.2. Variables complementarias

a) Tamaño del sombrero de los basidiocarpos

El tamaño del basidiocarpo fue estimado como el diámetro en centímetros del sombrero o píleo. Se utilizó la clasificación utilizada por Vogel y Salmones (2000), que agrupa a los basidiocarpos de *P. ostreatus* en cuatro niveles. (Cuadro 5).

Cuadro 5: Clasificación de basidiocarpos por tamaño.

Grupo	Código	Tamaño
Grupo 1	G1	< 5 cm
Grupo 2	G2	5-9.9 cm
Grupo 3	G3	10 – 14.9
Grupo 4	G4	>15 cm

b) Temperatura ambiental y del sustrato

La temperatura ambiental fue medida con un termómetro ambiental de pared, y la temperatura del interior del sustrato fue medida con un termómetro digita tipo espiga, el cual, se introducía al interior de las bolsas.

c) Humedad del sustrato (%Hs)

Para la medición de la humedad de los sustratos, se tomaron muestras de cada tratamiento antes de la siembra. Una vez pesado las muestras se pusieron a una estufa a 65 °C durante 24 horas. Una vez obtenidos los pesos de las muestras secas, se aplicó la siguiente ecuación (Quizhpilema 2013):

$$\%Hs = \frac{W2 - W3}{W2 - W1}$$

W1 = Peso de la bolsa de papel.

W2 = Peso de la bolsa de papel más la muestra húmeda.

W3 = Peso de la bolsa de papel más la muestra seca.

d) Humedad relativa

La humedad relativa del ambiente se midió con un termo-higrómetro digital. Esta medición se realizó diariamente durante la etapa de incubación, inducción y cosecha del cultivo.

En la fase de incubación se registró la temperatura al mediodía, mientras que en la etapa de inducción y cosecha, se registraron las temperaturas por las mañanas y después de cada riego.

e) pH del sustrato.

Siendo el sustrato una muestra sólida, la forma de medición del pH se realiza sobre el líquido retenido en el sustrato, el cual se puede obtener apretando fuertemente el sustrato y medir el pH correspondiente mediante la utilización de un papel tornasol o bien se puede utilizar un potenciómetro (Albertó 2008).

En el presente trabajo se obtuvo el líquido retenido y se midió su pH mediante un potenciómetro.

5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1. Velocidad de crecimiento (VC)

En la figura 2 se observa que existen seis rangos de significancia. Siendo el tratamiento de hervido en paja de arroz (T4), el que obtuvo una mayor velocidad de crecimiento con 11.7 mm/día, seguido del tratamiento alcalino en panca de maíz (T1), con una velocidad de 10.6 mm/día.

Con un menor valor de velocidad de crecimiento se encontraron los tratamientos: testigo y hervido en panca de maíz (T9 y T3), con 9.0 y 7.9 mm/día respectivamente, seguido de los tratamientos de pasteurizado en panca de maíz (T5) y paja de arroz (T6), con velocidades de crecimiento de 7.1 y 6.9 mm/día respectivamente, en los cuales no se presentaron diferencias significativas.

Los valores más bajos de velocidad de crecimiento y sin diferencias significativas, lo presentaron los tratamientos de esterilizado en panca de maíz (T7) y paja de arroz (T8), con de 5.8 y 6.0 mm/día respectivamente.

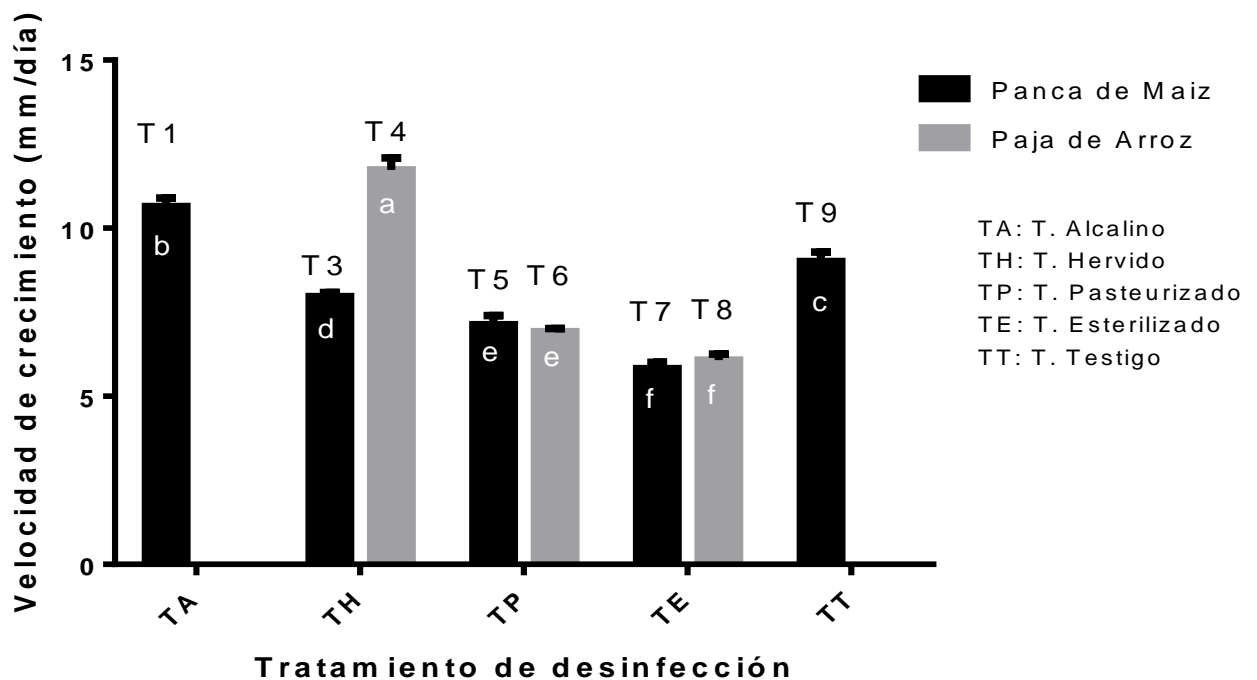


Figura 2: Velocidad de crecimiento micelial de *P. ostreatus* en dos sustratos, panca de maíz (PM) y paja de arroz (PA), sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.

El tratamiento alcalino en paja de arroz (T2) tuvo que ser retirado del experimento, debido a que los granos de arroz producto de la hidratación del sustrato germinaron y compitieron por espacio y agua con el hongo *P. ostreatus*. Posteriormente las semillas de arroz se contaminaron con bacterias.

El tratamiento testigo en paja de arroz (T10) al no sufrir ningún tipo de desinfección de los sustratos, los microorganismos nocivos presentes en estos compitieron con el hongo *P. ostreatus* por espacio, nutrientes y agua; llegando así a contaminar gran parte del sustrato, razón por la cual este tratamiento tuvo que ser retirado del experimento con la finalidad que no afectase a otros tratamientos.

El tratamiento testigo en panca de maíz (T9), a pesar de no sufrir ningún tipo de desinfección del sustrato, el micelio del hongo *P. ostreatus* pudo colonizar gran parte del sustrato y terminar la etapa de incubación, esto pudo deberse al alto porcentaje de inóculo (4%) utilizado en la siembra.

La figura 3 muestra los resultados de la velocidad de crecimiento de *P. ostreatus* en función al tipo de desinfección utilizado, siendo el tratamiento alcalino (TA) en donde se obtuvo la mayor velocidad de crecimiento, con 10.6 mm/día. Mientras que los sustratos que fueron esterilizados (TE), obtuvieron la menor velocidad de crecimiento, con 5.9 mm/día.

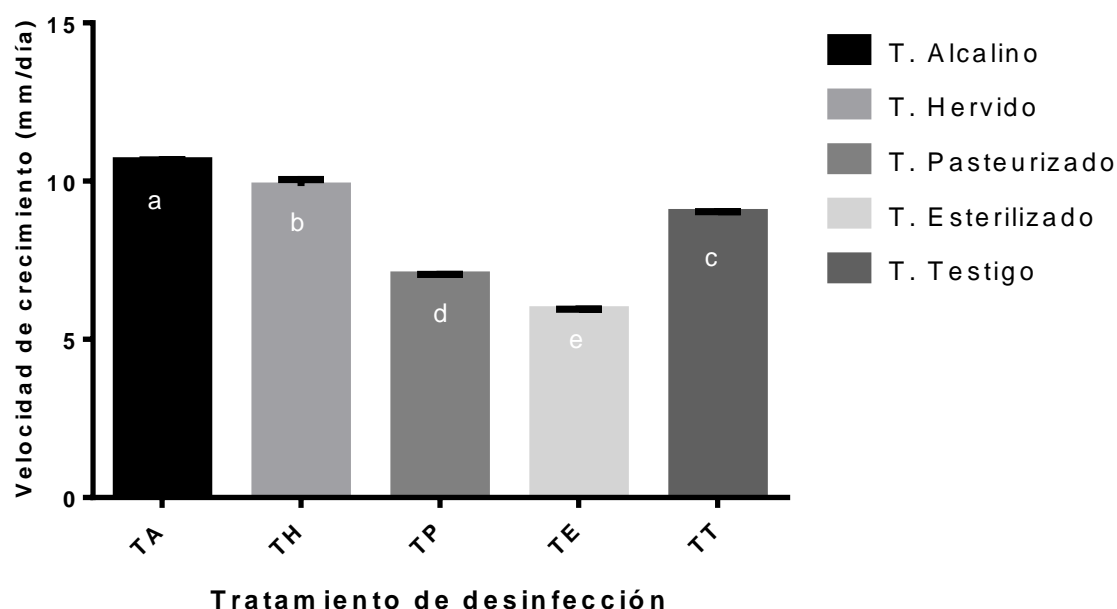


Figura 3: Velocidad de crecimiento micelial de *P. ostreatus*, en función al tratamiento de desinfección utilizado.

Mientras que los sustratos que fueron hervidos (TH), pasterizados (TP) y solo hidratados (TT), obtuvieron una velocidad de crecimiento de 9.8, 9.0 y 7.0 mm/día respectivamente.

Las diferencias encontradas en la velocidad de crecimiento del micelio no sólo debe al tipo de tratamiento de desinfección utilizado, sino también al porcentaje de inóculo utilizado en la siembra y su metodología. En los tratamientos donde los sustratos fueron esterilizados y pasteurizados a vapor, solo se utilizó el 1 % de inóculo con respecto al peso húmedo del sustrato, que fueron colocados en la parte superior de las bolsas, generando así, solo un punto de crecimiento en el sustrato, a diferencia de los demás tratamientos (alcalino, hervido y testigo), en donde se utilizó un 4 % de inóculo, el cual fue mezclado de manera uniforme con el sustrato, generando varios puntos de crecimientos, y por ende, una colonización más rápida del sustrato.

En la figura 4 se observa que al analizar la velocidad de crecimiento en función a los sustratos, éstos presentan diferencias significativas. Siendo en la paja de arroz (PA), en donde se obtuvo una mayor velocidad de crecimiento, con 8,24 mm/día, frente a la panca de maíz (PM), que obtuvo 8,08 mm/día. Este resultado se debe a que la paja de arroz (PA) presenta mayor relación de celulosa/lignina que la panca de maíz (PM), de esta manera se corrobora lo mencionado por Philippoussis *et al.* (2001) citado por Martínez *et al.* (2015), quienes afirmaron que la relación celulosa/lignina presenta un correlación positiva con la velocidad de crecimiento, dado que la celulosa es más eficiente que la lignina como fuente de carbono.

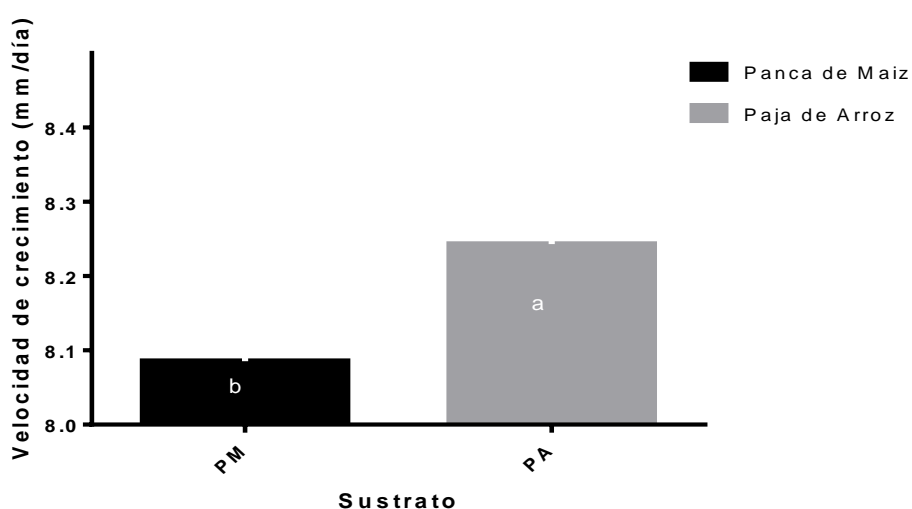


Figura 4: Velocidad de crecimiento micelial de *P. ostreatus*, en función al sustrato utilizado.

5.2. Precocidad (Pd)

En la figura 5 se observa que existen cuatro niveles de significancia, los valores más bajos indican una mayor precocidad de *P. ostreatus* para producir basidiocarpos, bajo esa premisa, los tratamientos que obtuvieron una mayor precocidad fueron: El tratamiento de hervido en panca de maíz (T3), el tratamiento alcalino en panca de maíz (T1) y el tratamiento de hervido en paja de arroz (T4), con 12.73, 13.05 y 13.20 días respectivamente. No encontrándose diferencias significativas en estos tratamientos.

Con una menor precocidad se encuentra; el tratamiento testigo en panca de maíz (T9), que obtuvo una precocidad de 15.06 días, seguido de los tratamientos de esterilizado en paja de arroz (T8), esterilizado en panca de maíz (T7) y pasteurizado en panca de maíz (T5), con valores de 17.13, 17.50 y 17.77 días respectivamente, no encontrándose diferencias significativas en estos tres últimos. El tratamiento con menor precocidad, es decir, el que se demoró más días en producir los basidiocarpos, fue el tratamiento de pasteurizado en paja de arroz (T6), que tardó 19 días.

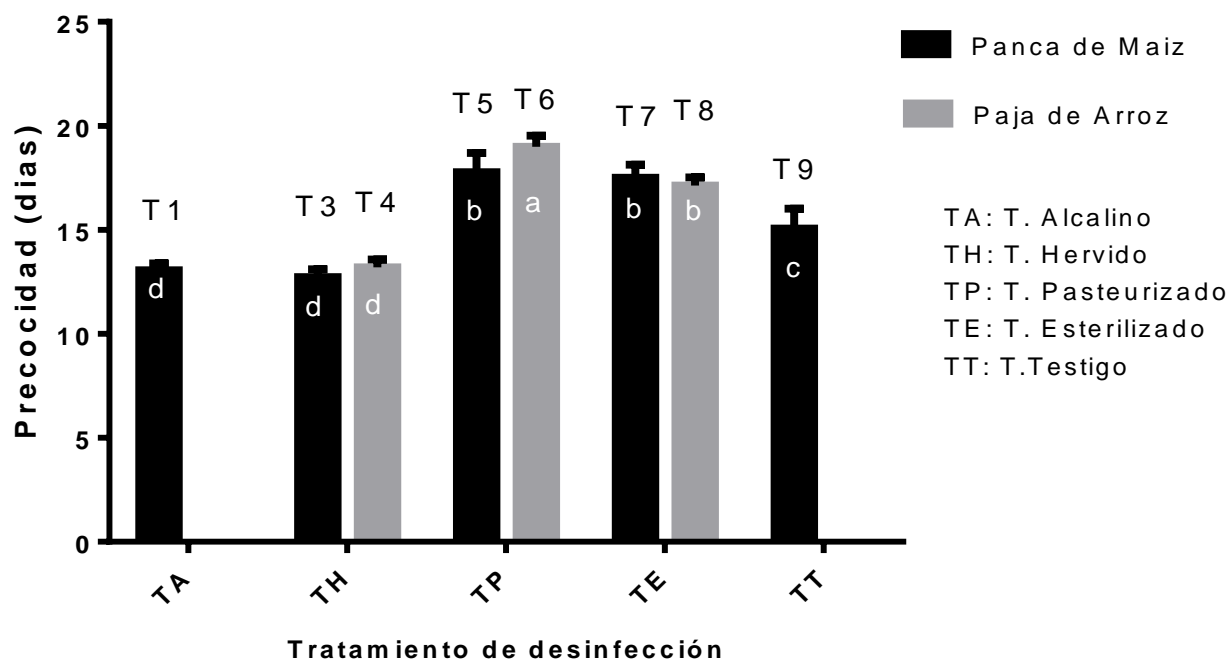


Figura 5: Precocidad del hongo *P. ostreatus*, en dos sustratos, panca (PM) y paja de arroz (PA), sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.

La figura 6 muestra las diferencias de precocidad que presenta *P. ostreatus* en función a los cinco tratamientos diferentes de desinfección aplicados a los sustratos e independiente del tipo de sustrato. Los sustratos que fueron sometidos al tratamiento de hervido (TH), presentaron una mayor precocidad que el resto de tratamientos, demorando solo 12.9 días en promedio en producir los basidiocarpos, seguido de los que fueron sometidos al tratamiento alcalino (TA), que demoraron 13 días.

Los sustratos que no fueron desinfectados (TT), presentaron una precocidad de 15 días, mientras que los sustratos que fueron desinfectados por esterilización (TE) y pasteurización (TP), presentaron la menor precocidad para producir basidiocarpos, demorando 17,3 y 18,3 días respectivamente. La baja precocidad presentada en los tratamientos de esterilizado (TE) y pasteurizado (TP), es debido el número de cortes realizados a las bolsas (4 por lado), que fue menor al número de cortes de los demás tratamientos (8 por lado), debido a eso el intercambio gaseoso era más lento y retrasaban la aparición de primordios.

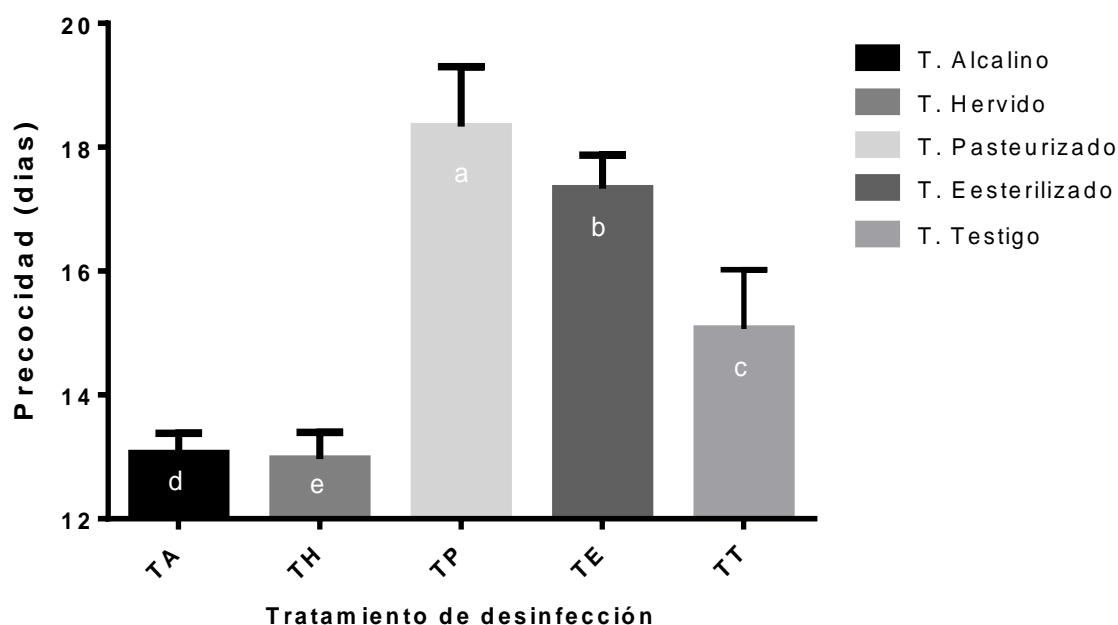


Figura 6: Precocidad del hongo *P. ostreatus*, en función al tratamiento de desinfección utilizado.

La figura 7 muestra los resultados del análisis de la precocidad del hongo *P. ostreatus* en función a los sustratos e independientemente del tipo de desinfección utilizado. Siendo en la panca de maíz (PM), en donde se obtuvo la mayor precocidad con 15,4 días, frente

a la paja de arroz (PA), quien demoró 16,4 días. Este resultado se debe a que la panca de maíz presenta una relación de C/N más bajo que la paja de arroz, lo cual favorece el desarrollo de cuerpos fructíferos como menciona Sánchez y Royse (2001).

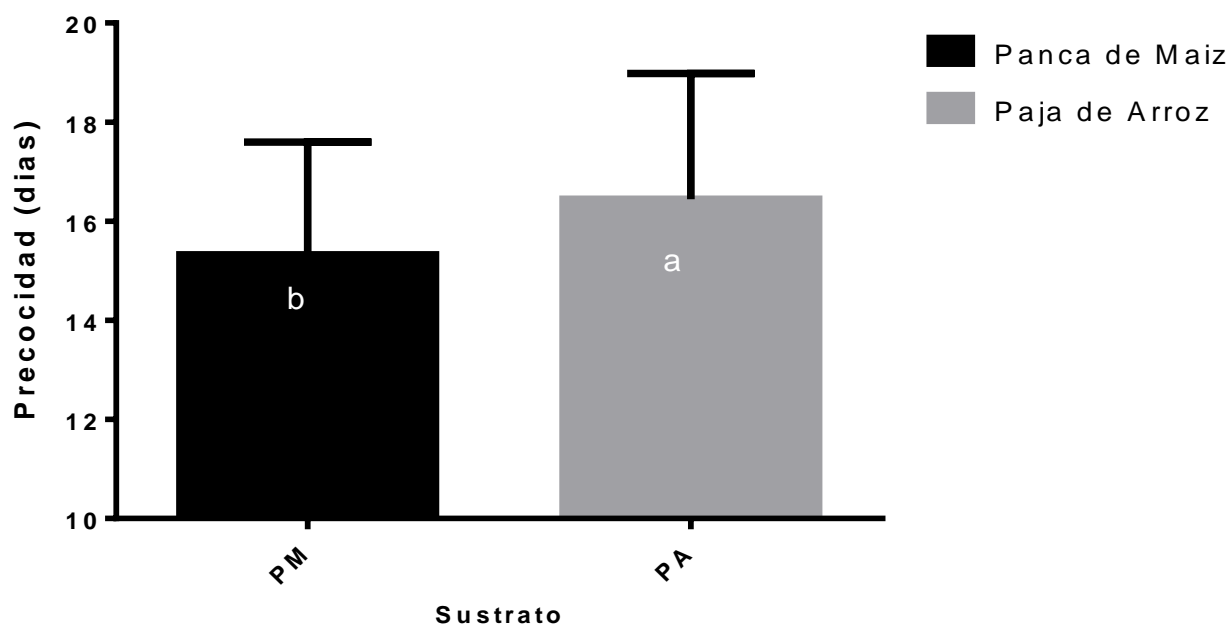


Figura 7: Precocidad del hongo *P. ostreatus*, en función al sustrato utilizado.

5.3. Eficiencia biológica (EB)

En la figura 8 se observa que existen cinco niveles de significancia. Siendo el tratamiento de esterilizado en panca de maíz (T7), quien obtuvo la mayor eficiencia biológica con 95.4 %; seguido de los tratamientos de hervido en paja de arroz (T4), alcalino en panca de maíz (T1) y hervido en panca de maíz (T3); con 91.1, 91.0 y 88.7 % respectivamente. Existiendo solamente diferencias significativas entre los tratamientos de esterilizado en panca de maíz (T7) y hervido en panca de maíz (T3).

Con un valor más bajo de eficiencia biológica se encuentran; el tratamiento de esterilizado en paja de arroz (T8), obtuvo una eficiencia biológica de 75.0 %. Seguido de los tratamientos; testigo en panca de maíz (T9), pasteurizado en panca de maíz (T5) y pasteurizado en paja de arroz (T6); quienes obtuvieron una eficiencia biológica de 64.9, 59.6 y 54.6 % respectivamente. No encontrándose diferencias significativas entre el tratamiento de pasteurizado en panca de maíz (T5), con el testigo en panca de maíz (T9) y el pasteurizado en paja de arroz (T6).

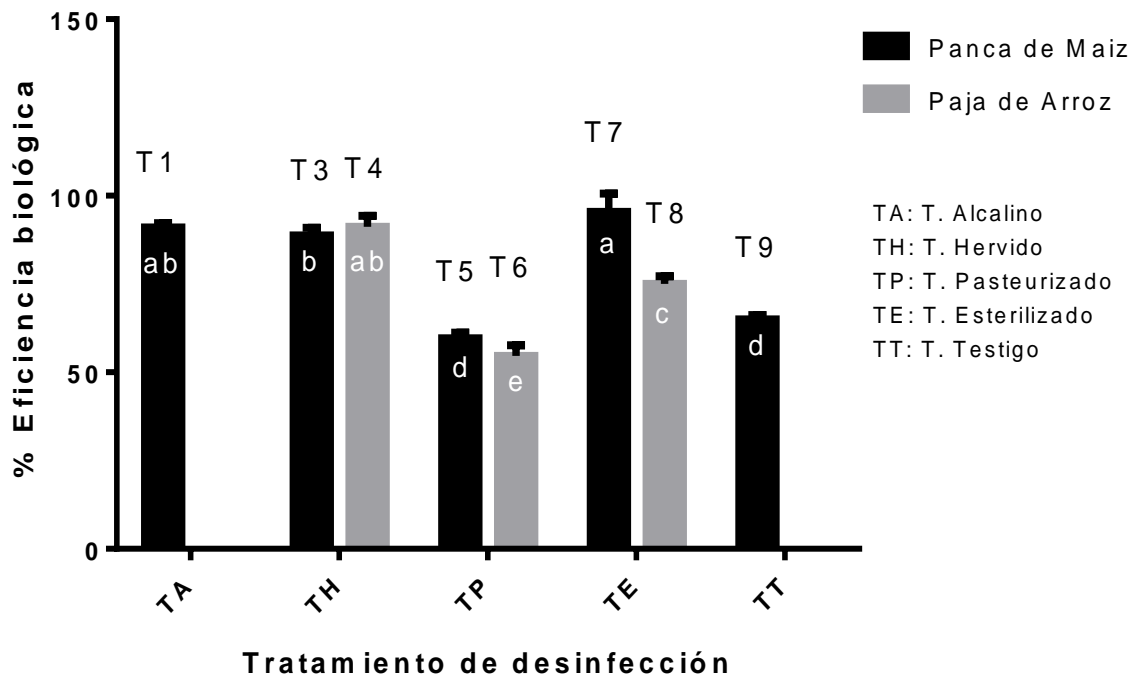


Figura 8: Eficiencia biológica del hongo *P. ostreatus*, en dos sustratos, panca (PM) y paja de arroz (PA), sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.

Todos los tratamientos que fueron inducidos superaron el 40% de eficiencia biológica, valor que es considerado por Ramón y Ramón (2012) como el mínimo que se debe obtener para ser considerado como una producción rentable.

La figura 9 muestra la eficiencia biológica (EB) que presenta *P. ostreatus*, en función a los cinco tratamientos diferentes de desinfección aplicados a los sustratos e independientemente del sustrato utilizado.

Los sustratos que fueron sometidos a un tratamiento alcalino (TA) y al tratamiento de hervido (TH), obtuvieron una mayor eficiencia biológica con 91.0 y 89.6 % respectivamente, no encontrándose diferencias significativas entre ambos tratamientos. Mientras que los sustratos que fueron sometidos a una esterilización (TE) e inmersión solo en agua (TT), obtuvieron una eficiencia biológica de 86.1 y 64.9 % respectivamente.

Los sustratos sometidos a una pasteurización a vapor (TP) presentaron la menor eficiencia biológica con 57.3 %, este valor obtenido se encuentra por debajo de los reportados por otros autores como Hashimoto y Takahasi (1974), citado por Sánchez y Royse (2001), quienes obtuvieron una eficiencia biológica de 79.2 %, cabe la posibilidad

que estos autores hayan utilizado un mayor tiempo de pasteurizado o de temperatura de pasteurización.

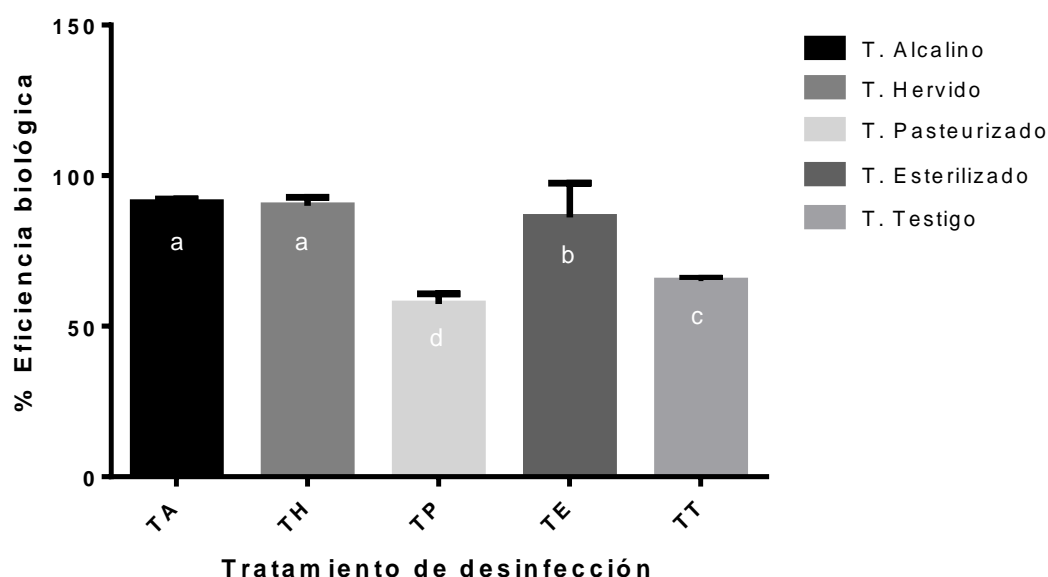


Figura 9: Eficiencia biológica del hongo *P. ostreatus*, en función al tratamiento de desinfección utilizado.

En la figura 10 se observa que al analizar la eficiencia biológica (EB) en función a los sustratos, estos presentan diferencias significativas, siendo en la panca de maíz (PM) en donde se obtuvo la mayor eficiencia biológica con 81.1 %, frente a la paja de arroz (PA), quien obtuvo 73.3 %. Este resultado se debe a que la panca de maíz posee una menor relación de C/N que la paja arroz, el cual favorece el rendimiento de *P. ostreatus*.

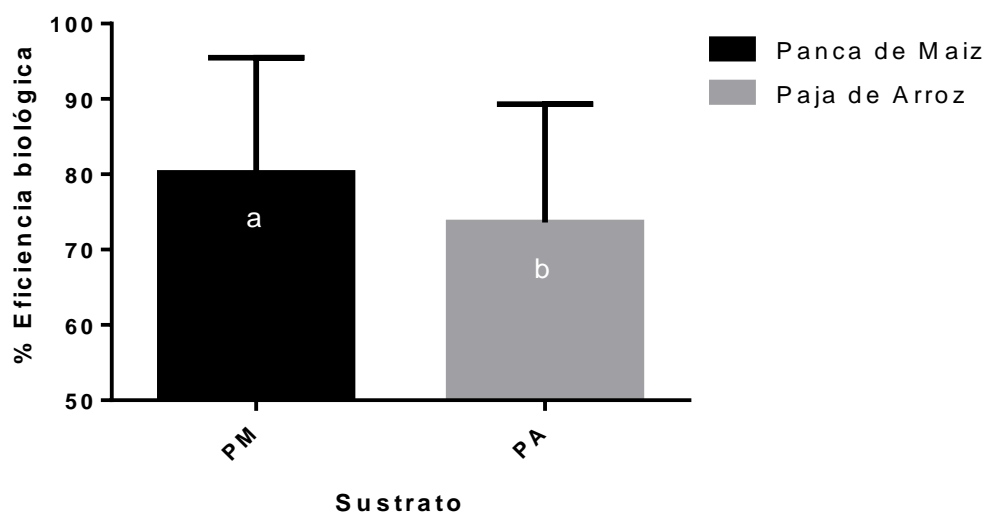


Figura 10: Eficiencia biológica del hongo *P. ostreatus*, en función al sustrato utilizado.

5.4. Tasa de producción (Tp)

En la figura 11 se observa que existen seis niveles de significancia, siendo los tratamientos; alcalino en panca de maíz (T1) y hervido en paja de arroz (T4), quienes obtuvieron una mayor tasa de producción con 1.74 y 1.73 % respectivamente. Estos tratamientos no presentaron diferencias significativas.

Con valores de tasa de producción más bajas se encuentran los tratamientos de hervido en panca de maíz (T3) y esterilizado en panca de maíz (T7), con 1.60 y 1.26 % respectivamente; seguido de los tratamientos, testigo en panca de maíz (T9) y esterilizado en paja de arroz (T8), que no presentaron diferencias significativas, con valores de 1.08 y 0.99 %/ respectivamente.

Los tratamientos que presentaron las menores tasas de producción (Tp) fueron: el tratamiento de pasteurizado en panca de maíz (T5) y el pasteurizado en paja de arroz (T6), con 0.82 y 0.70 % respectivamente.

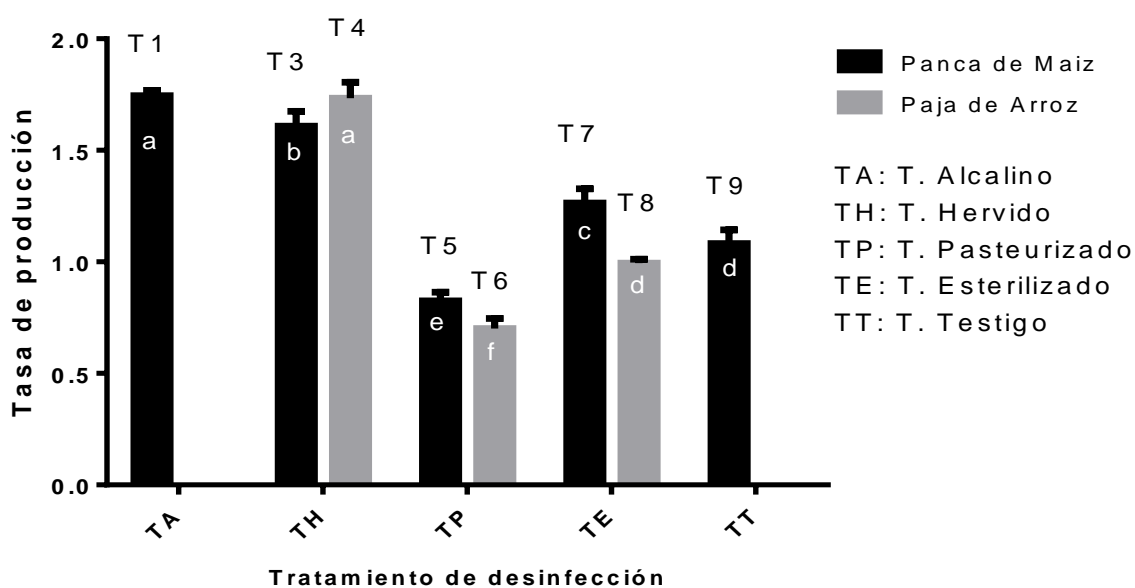


Figura 11: Tasa de producción del hongo *P. ostreatus*, en dos sustratos, panca (PM) y paja de arroz (PA), sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.

La figura 12 muestra los resultados de la tasa de producción de *P. ostreatus*, en función al método de desinfección utilizado e independientemente del tipo de sustrato, observándose que el tratamiento alcalino (TA) y de hervido (TH), obtuvieron las mayores

tasas de producción, con 1.74 y 1.67 % respectivamente, no encontrándose diferencias significativas entre ambos tratamientos.

Con menores tasas de producción se encuentran los tratamientos de esterilizado (TE) y testigo (TT), quienes obtuvieron 1.14 y 1.08 % respectivamente, no encontrándose diferencias significativas entre ambos. Mientras que los sustratos que fueron sometidos a una pasteurización (TP), obtuvieron la menor tasa de producción con 0.76 %, existe la posibilidad que este resultado no solo se haya debido a una desinfección poco eficiente, sino además, por la pérdida de humedad del sustrato durante los 6 a 7 días más que duro su fase de incubación, y debido a eso los basidiocarpos no hayan podido encontrar la humedad suficiente para su desarrollo.

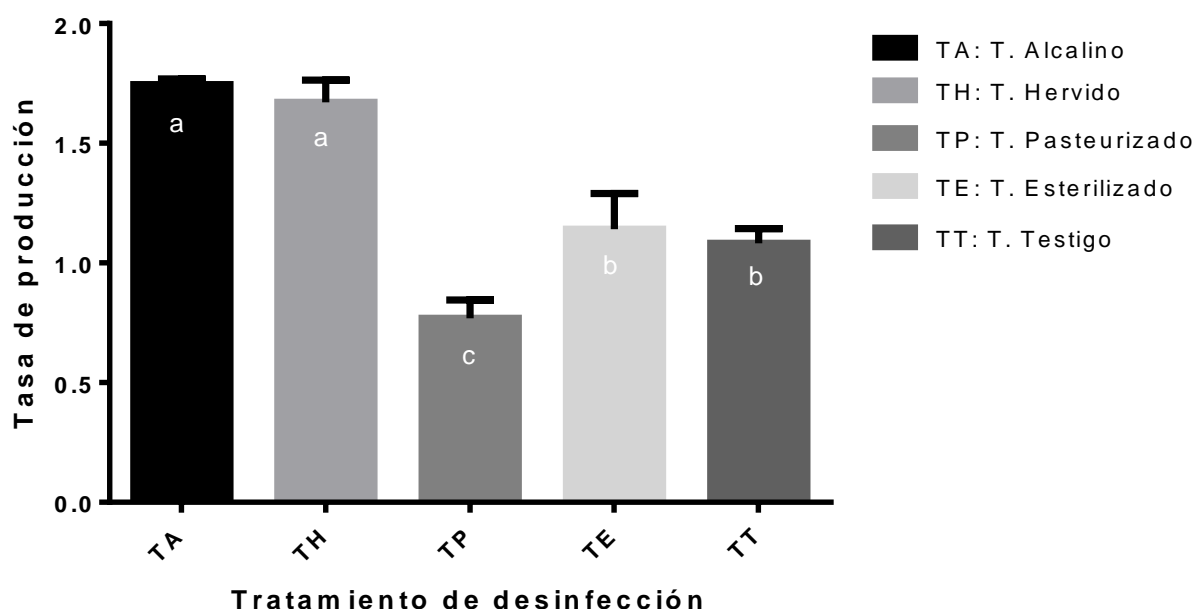


Figura 12: Tasa de producción del hongo *P. ostreatus*, en función al tratamiento de desinfección utilizado.

En la figura 13 se observa que al analizar la tasa de producción de *P. ostreatus* en función al sustrato utilizado e independiente del tipo de desinfección, estos presentan diferencias significativas, siendo en la panca de maíz (PM) en donde se obtuvo la mayor tasa de producción con 1.30 %, frente a la paja de arroz (PA), quien obtuvo 1.14 %. El resultado es debe al mayor porcentaje de eficiencia biológica y precocidad para producir basidiocarpos que presenta la panca de maíz frente a la paja de arroz.

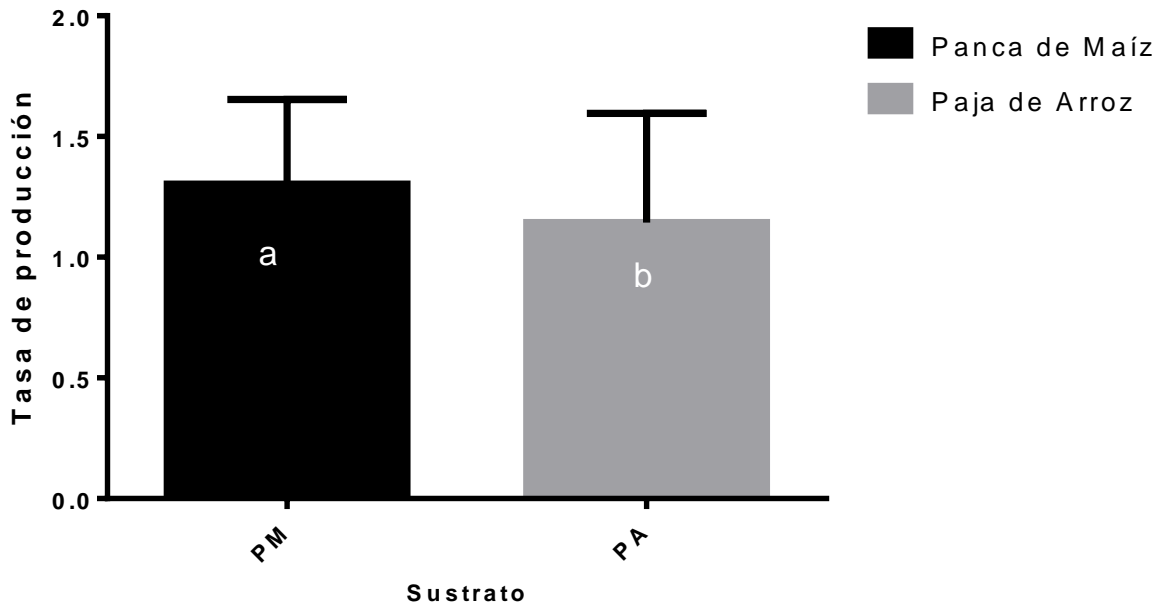


Figura 13: Tasa de producción del hongo *P. ostreatus*, en función al sustrato utilizado.

5.5. Tamaño del sombrero o pïelo de los basidiocarpos

Los basidiocarpos cosechados presentaron una estructura normal, sin deformaciones y libre de contaminantes, esto significa que los parámetros ambientales en donde se desarrolló los hongos estuvieron dentro de su rango de crecimiento. Para evitar una pérdida de peso por deshidratación y/o esporulación los basidiocarpos fueron cosechados antes de que llegasen a su madurez total.

La figura 14 muestra la distribución por tamaño de los basidiocarpos cosechados en las tres oleadas de todos los tratamientos, se observa que no existe una relación directa entre el tamaño de los basidiocarpos con las técnicas de desinfección o sustratos utilizados, de tal manera que se corrobora estudios anteriores de Vogel y Salmones (2000), que atribuyen este parámetro al tipo de cepa utilizada o las condiciones ambientales a las que fue cultivado el hongo.

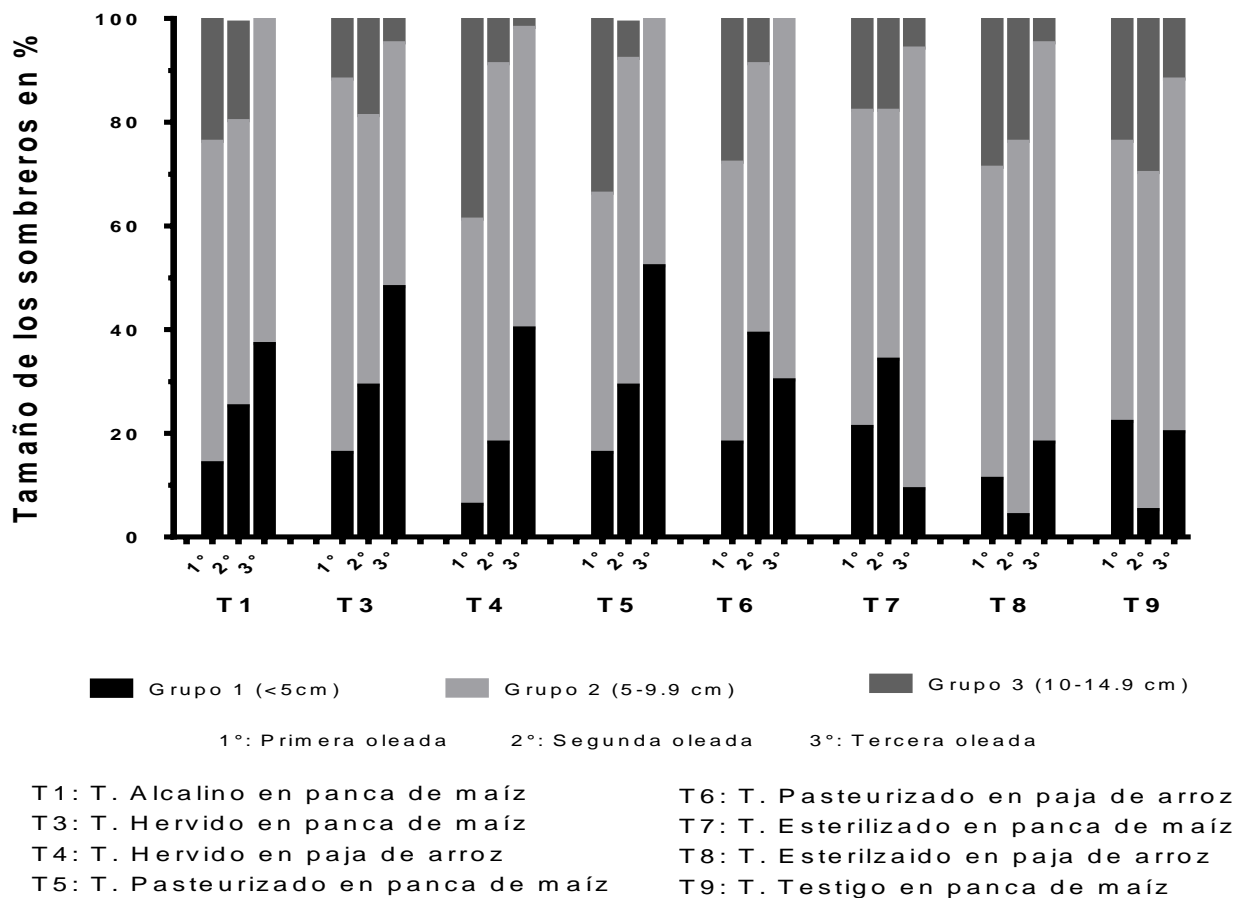


Figura 14: Distribución del tamaño de los sombreros de los basidiocarpos de *P. ostreatus*, obtenidos en todos los tratamientos.

En las tres oleadas de todos los tratamientos, se obtuvo un mayor porcentaje de basidiocarpos dentro del grupo 2 (5-9.9 cm). A medida que se desarrollaba una nueva oleada, iba disminuyendo basidiocarpos que pertenecen al grupo 3 (10-14.9 cm), esto debido a que la humedad y nutrientes del sustrato se van agotando con cada oleada.

Cabe mencionar que los basidiocarpos que sufrieron una regresión natural de crecimiento, no fueron incluidos en el registro de tamaño.

5.6. Temperatura ambiental y del sustrato

La figura 15 muestra la temperatura ambiental e interna de las bolsas de los tratamientos con panca de maíz, registrándose valores más altos en la etapa de incubación que en inducción.

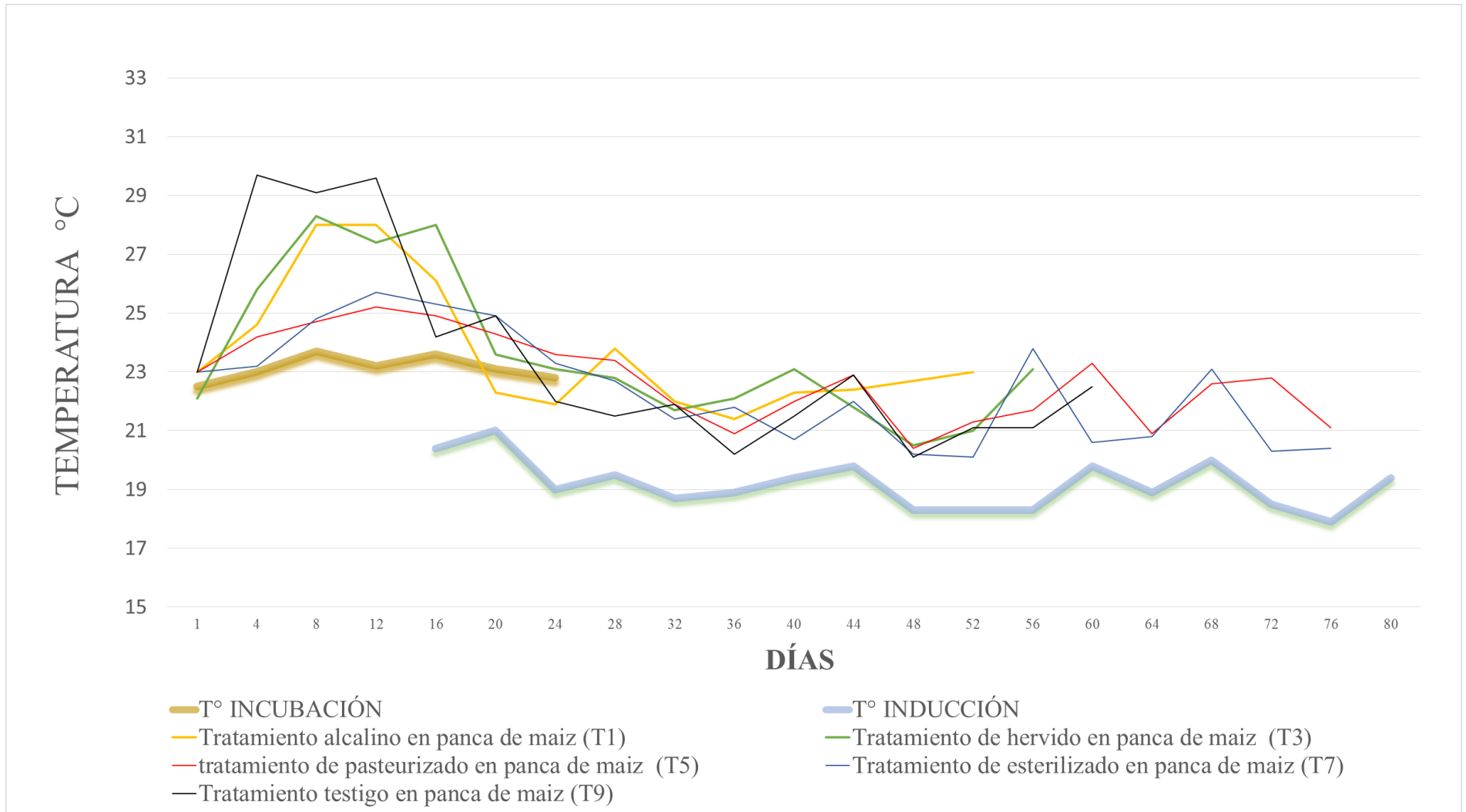
En el tratamiento alcalino en panca de maíz (T1) se observa que durante la etapa de incubación presentó una temperatura interna que osciló entre los 23 y 28 °C, este rango de temperatura demuestra la efectividad del tratamiento alcalino en la reducción de microorganismos presentes en el sustrato, en la etapa de inducción presentó valores más bajos, que oscilaron de 21 a 24 °C, favoreciendo la aparición de primordios y posterior cosecha.

El tratamiento de hervido en panca de maíz (T3), presentó valores de temperatura que llegaron a los 29 °C, el cual supera el óptimo de crecimiento del hongo *P. ostreatus*, sin embargo el tratamiento no mostró problemas de contaminación. Durante la etapa de inducción, los sustratos tuvieron un descenso rápido de la temperatura.

Los tratamientos de pasteurizado (T5) y esterilizado (T7) en panca de maíz, se registraron temperaturas por debajo del óptimo, esto debido al bajo porcentaje de inóculo en el sustrato. En la etapa de inducción y cosecha presentaron temperaturas inferiores a las de incubación.

El tratamiento testigo en panca de maíz (T9), al no sufrir algún tipo de desinfección, los microorganismos presentes en el sustrato elevaron la temperatura hasta 30 °C, sin embargo, el alto porcentaje de inóculo que se utilizó en la siembra permitió que *P. ostreatus* colonice gran parte del sustrato y siga con la etapa de inducción.

Figura 15: Representación gráfica de la temperatura ambiental e interna de las bolsas con panca de maíz e inoculada con *P. ostreatus*.



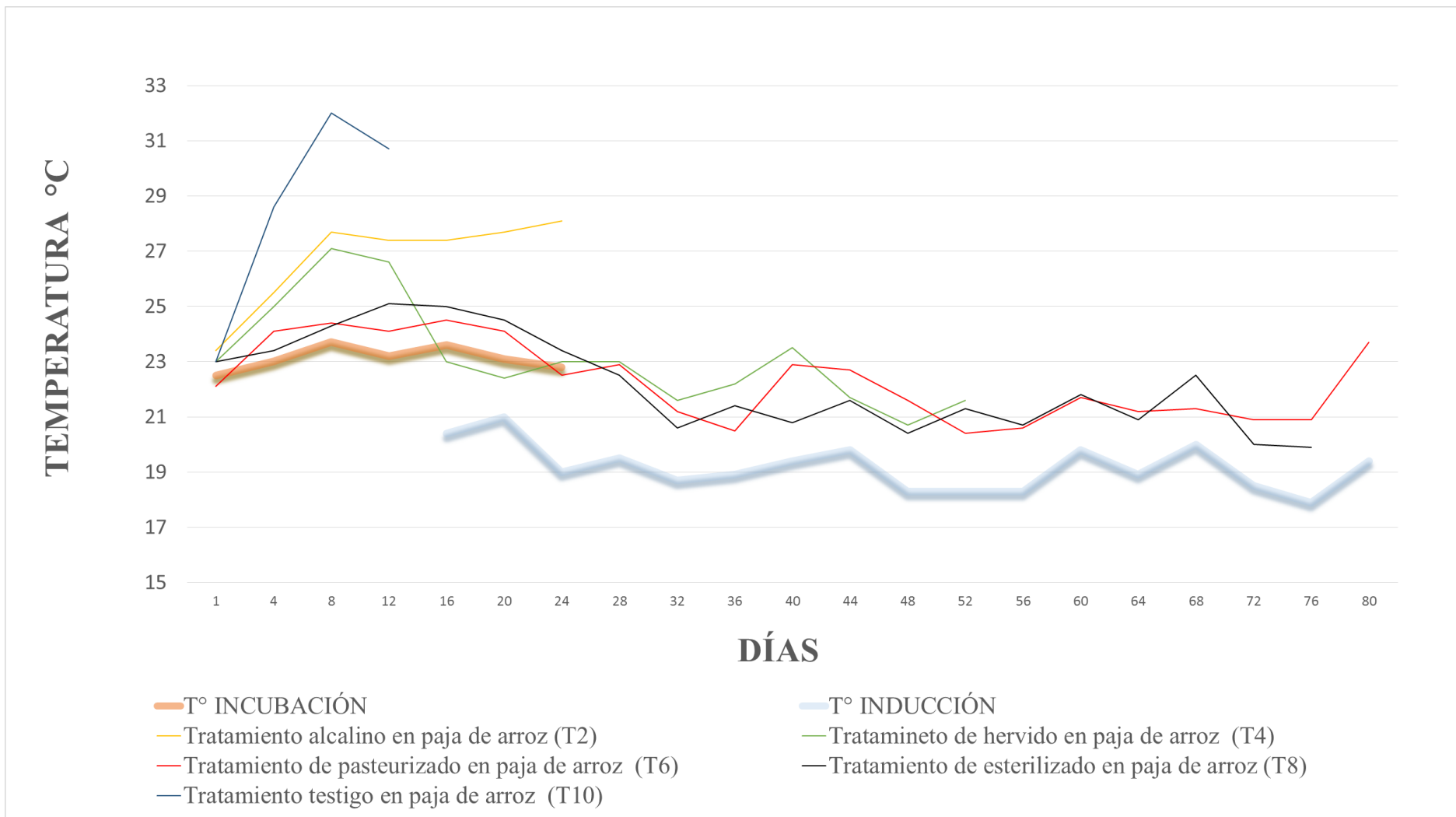
La figura 16 muestra la temperatura ambiental e interna de las bolsas de los tratamientos con paja de arroz. Registrándose valores más altos en la etapa de incubación que en inducción.

En el tratamiento alcalino en paja de arroz (T2), las temperaturas estuvieron dentro del rango óptimo de crecimiento de *P. ostreatus*, sin embargo la hidratación del sustrato trajo consigo la germinación de las semillas presentes en la paja de arroz, y en consecuencia una competencia con el hongo por espacio y agua. Posteriormente, la descomposición de la semilla de arroz produjo una contaminación por bacterias, motivo por el cual el tratamiento tuvo que ser separado del experimento.

El tratamiento de hervido en paja de arroz (T4), también se mantuvo dentro del rango de temperatura óptima de crecimiento, tanto en la etapa de incubación como en la inducción. En el caso de los tratamientos de pasteurizado y esterilizado en paja de arroz (T6 y T8), presentaron valores por debajo del óptimo de crecimiento, debido a su bajo porcentaje de inóculo que se utilizó en ambos tratamientos. Sin embargo, esto no presentó ningún riesgo de contaminación.

En el tratamiento testigo en paja de arroz (T10), se observa que la temperatura del sustrato superó los 30°, debido a la acción de los microorganismos presentes en el sustrato, el cual no fue desinfectado. A esas condiciones de temperatura, el hongo *P. ostreatus* detuvo su crecimiento, dando lugar a colonias de bacterias y hongos competidores, razón por la cual el tratamiento tuvo que ser separado del experimento.

Figura 16: Representación gráfica de la temperatura diaria ambiental e interna de las bolsas con paja de arroz e inoculadas con *P. ostreatus*.



5.7. Humedad del sustrato (%Hs)

La figura 17 muestra el porcentaje de humedad que obtuvieron los sustratos, en todos los tratamientos antes de la siembra.

La humedad óptima del sustrato, para Starik (2008), es de 60 a 70 %. Según este criterio, Todos los tratamientos estuvieron con la humedad óptima, a excepción del tratamiento alcalino en panca (T1), que superó ese rango. Producto de este exceso de humedad, los sustratos de este tratamiento presentaron zonas oscuras, donde el hongo no pudo colonizar.

Utilizando el criterio de humedad óptima de Guzmán et al. (2002), que va desde 70 a 80 %, los tratamientos que estuvieron dentro de este rango son: el tratamiento alcalino en panca de maíz y paja de arroz (T1 y T2), tratamiento de pasteurizado en paja de arroz (T6) y el tratamiento de esterilizado en paja de arroz (T8). Los tratamientos que estuvieron cerca de este rango son: el tratamiento de hervido en panca de maíz y paja de arroz (T3 y T4). Los tratamientos que estuvieron por debajo del óptimo fueron, el tratamiento de pasteurizado en panca de maíz (T5), el tratamiento de esterilizado en panca de maíz y el tratamiento testigo en panca de maíz (T9).

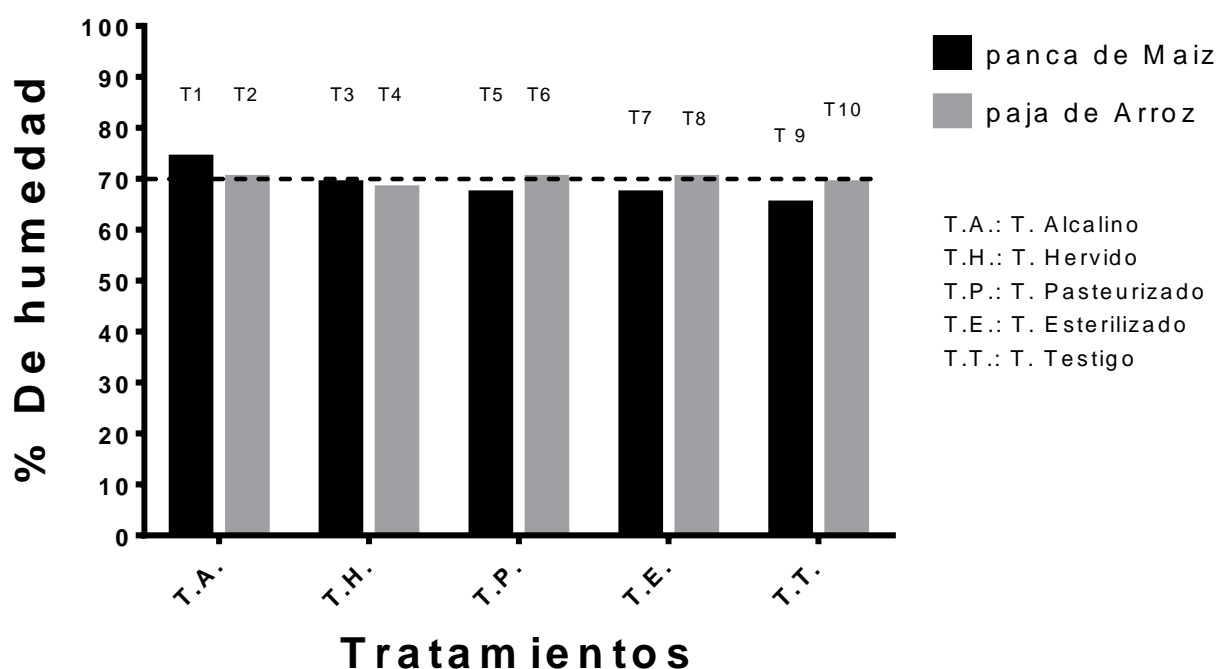


Figura 17: Porcentaje de humedad del sustrato al momento de la siembra de *P. ostreatus*.

5.8. Humedad relativa

Los valores de humedad relativa diaria, fueron favorables para el crecimiento vegetativo y reproductivo del hongo *P. ostreatus*. Manteniéndose en el rango óptimo recomendado por Albertó (2008).

En el figura 18 se observa que a humedad relativa del ambiente en la etapa de incubación, fluctuó entre los 67 y 74 %. Llegando alcanzar un promedio de 70 % durante todo el proceso de incubación.

En la etapa de inducción y cosecha la humedad relativa se mantuvo entre 86 y 93 %, con un promedio de 89 % de humedad. Cabe mencionar, que en los días donde se obtuvieron valores hasta de 93 % de humedad, era debido al riego que se suministraba al ambiente después de cada oleada. Al mantener alta la humedad relativa del ambiente durante la etapa de cosecha, no solo se evitó la deshidratación del sustrato, sino también la de los basidiocarpos.

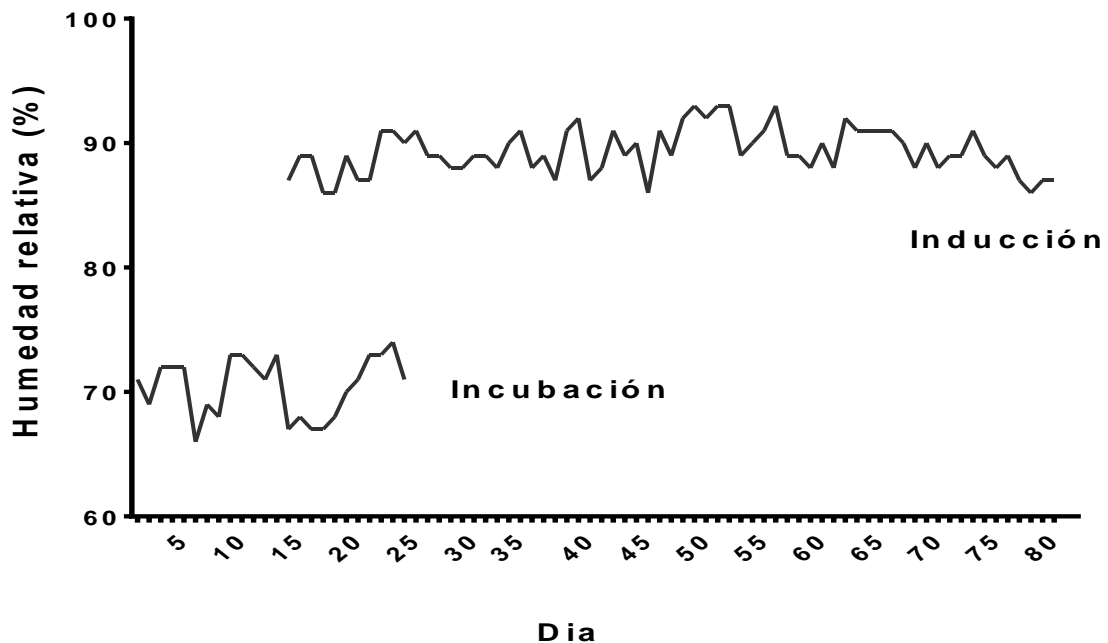


Figura 18: Humedad relativa diaria durante el proceso de incubación e inducción de *P. ostreatus*.

5.9. pH del sustrato

Los sustratos mostraron valores similares de pH en todos los tratamientos de desinfección, de 7.2 a 7.4, a excepción de los sustratos que fueron sometidos a una inmersión alcalina, que obtuvieron de un pH de 8.5 a 8.7 (Cuadro 9).

Todos los tratamientos tuvieron un valores de pH que superaron el óptimo recomendado por Zadrazil (1975), que es de 5 a 6. Sin embargo, Starik (2008) mencionó que *P. ostreatus* puede crecer y desarrollarse a pH más altos, gracias a su capacidad de modificación del medio en donde crece.

Los valores de pH, en todos los tratamientos, impidieron una contaminación por parte de hongos competidores como el caso de *Penicillium spp.* que prefieren un sustrato con un pH ligeramente ácido (5 a 6).

Cuadro 6: pH de los sustratos en todos los tratamientos.

Tratamiento	Descripción	pH
T1	Tratamiento alcalino en panca de maíz	8.7
T2	Tratamiento alcalino en paja de arroz	8.5
T3	Tratamiento de hervido en panca de maíz	7.2
T4	Tratamiento de hervido en paja de arroz	7.3
T5	Tratamiento de pasteurizado en panca de maíz	7.4
T6	Tratamiento de pasteurizado en paja de arroz	7.4
T7	Tratamiento de esterilizado en panca de maíz	7.3
T8	Tratamiento de esterilizado en paja de arroz	7.3
T9	Tratamiento testigo en panca de maíz	7.4
T10	Tratamiento testigo en paja de arroz	7.4

6. CONCLUSIONES

1. El sustrato más conveniente para el inicio de una producción comercial de *P. ostreatus*, es el rastrojo de maíz (panca de maíz).
2. El paquete tecnológico más conveniente para el inicio de una producción comercial de *P. ostreatus*, es la que utiliza el tratamiento de inmersión alcalina como método de desinfección de sustratos.

7. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda incentivar el cultivo de hongos comestibles como el *P. ostreatus*. Que además de utilizar una gran cantidad de residuos agroindustriales como sustrato, se pueden generar nuevos empleos y programas rurales al interior del país.
2. Se recomienda el cultivo de *P. ostreatus*, antes de aventurarse con otros hongos comestibles más complicados y costosos de cultivar, dado que es una especie de fácil manejo y de poca inversión.
3. Se recomienda utilizar necesariamente un tratamiento de desinfección a todos los sustratos que se utilice, con la finalidad de disminuir la flora microbiana del sustrato que puede ser nociva para *P. ostreatus*.
4. Se recomienda, en caso se utilice el tratamiento alcalino, un buen control de los insectos en los cuartos de producción, dado que este tratamiento presenta como desventaja, la no eliminación total de huevos y pupas de los insectos presentes en el sustrato.
5. Se recomienda para futuras investigaciones utilizar otros sustratos donde el tratamiento alcalino funcione, para así mantener bajo el costo de producción.
6. Se recomienda hacer comparativos de desinfección bajo diferentes tiempos de inmersión y pasteurización.
7. Se recomienda hacer estudios sobre la utilización del método de desinfección por inmersión en agua alcalina, en otras especies de *Pleurotus*.
8. Se sugiere realizar investigaciones en lugares y épocas donde las condiciones ambientales sean diferentes a las que se presentaron en este experimento.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Albertó, E. 2008. Cultivo intensivo de los hongos comestibles: como cultivar champiñones, gírgolas, shiitake y otras especies. 1ed. Buenos Aires. Hemisferio Sur. 265 p.
2. Ardón, C. 2007. La producción de los hongos comestibles. Tesis Mg Ed. Guatemala. USCG. 207p.
3. Basaure, P. 2006. Maíz: Composición del rastrojo. Consultado 2 ene. 2016. Disponible en <http://www.manualdelombricultura.com/foro/mensajes/15476>.
4. Batz, EL. 2010. Producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas de *Pleurotus* en sustratos desinfectados por inmersión en agua alcalina. Tesis B.Q. Guatemala. USCG. 55p.
5. Bautista, N; Bautista-García, N; Venegas, R; López, L; Portugal, D. 2000. Microbiología: evaluación de la producción de *Pleurotus ostreatus* sobre paja de trigo como sustrato en un módulo rústico en Galeana, Municipio de Zacatepec, Estado de Morelos, México. v 3, p. 1-10.
6. Bermabé-Gonzalez, T; Cayetano-catarino, M. 2009. Micología Aplicada Internacional: cultivation of *Pleurotus pulmonarius* on substrates treated by immersion in alkaline water in Guerrero. California. v 21(1), p. 19-23.
7. Calzado, E. 2010. Producción y determinación de la eficiencia biológica del hongo *Pleurotus ostreatus*, evaluando en cuatro sustratos diferentes. Tesis Ing. Agr. Mexico, UAAAN. 77 p.
8. Cisterna, C. 2002. Cultivo del champiñon ostra en Chile. Mycotec. Concepción. 118 p.
9. Contreras, E; Sokolov, M; Mejía, G; Sánchez, J. 2004. Journal of Horticultural Science and Biotechnology: Soaking of substrate in alkaline water as a pretreatment for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. Chiapas, MX. v 79, p. 234-240.
10. Doroteo, L. 2007. Producción de inóculo líquido para el cultivo de *Pleurotus* spp. Tesis. Mag. Sc. Mexico, DF. IPN. 78p.
11. ECOSUR. 2007. El cultivo de setas *Pleurotus spp.* en México. 1 ed. Chiapas, MX. 471 p.
12. ECOSUR. 2007. Cultivo, mercadotecnia e inocuidad alimenticia *Agaricus bisporus*. JE Sánchez; DJ Royse; H Leal. 1ed. Chiapas, MX, 163 p.

13. ECOSUR 2012. Hongos Comestibles y Medicinales en Iberoamérica. Mata, G; Sánchez, J. 1 ed. Chiapas, MX. 398 p.
14. FAO organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. 2014. FAOSTAT dirección de estadística. Consultado 18 ene. 2016. Disponible en <http://faostat3.fao.org/home/S>
15. Fernández, F. 2004. Guía práctica de producción de setas. Fungitec. Guadalajara, MX. 54p.
16. Flores, A; Contreras, M. 2012. Manual de cultivo de hongo seta (*Pleurotus ostreatus*) de forma artesanal. Mexico D.F. UNAM. 37 p.
17. France, A; Cañumir, J; Cortez, M. 2000. Boletín INIA: Producción de hongos ostras. Chillán, CH. INIA. p. 23-32.
18. García, M. 2007. Cultivo de Setas y trufas. 5 ed. Madrid. Mundi-Prensa. 217 p.
19. Gibbons, W; Pulscher, N; Ringquist, E. 1992. Applied Biochemistry and Biotechnology: Sodium meta bisulfite and ph tolerance of *Pleurotus sajor caju* under submerged cultivation. v 37(2), p. 177-189.
20. Guzmán, G; Mata, G; Mata, M; Velazco, B. 2002. El cultivo de los hongos comestibles. 2 ed. Veracruz. IPN. 245 p.
21. Hernández, R; López, C. 2012. Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca. Tesis MB. Bogota. PUJ. 106 p.
22. Heros, E. 2013. Guía técnica: Manejo integrado en el cultivo de arroz. Lima, s.e. 26 p.
23. Lopez, A. 2007. Producción de Micelio de Hongos Comestibles. Veracruz. IGF 31 p.
24. Lopez, A; García, J. 2004. Estructura del pleuroma. Veracruz. IGF. 17p.
25. Madigan, M; Martinko, J; Stahl, D; Clark, D. 2012. Brock biology of microorganisms. 13 ed. California. Prentice Hall International. 1041 p.
26. Maldonado, Y. 2007. Obtención de cepas híbridas de *pleurotus spp.* por apareamiento de neohaplontes compatibles. Tesis Mg. Sc. Mexico DF. IPN. 142 p.
27. Martínez, DA; Buglione, MB; Filippi, MV; Reynoso, C; Rodríguez, GE; Agüero, MS. 2015. Evaluación del crecimiento micelial de *Pleurotus ostreatus* y *Agrocybe aegerita* sobre orujos de pera. Anales de Biología v.37, p. 1-10

28. Miles, PG; Chang, S-T. 2004. Mushrooms: Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. 2 ed. Estados Unidos de America 480 p.
29. Minag. 2010. Plan Nacional de Agroenergía. Lima, s.e. 30 p.
30. Mushworld. 2005. Manual del cultivador de hongos 1. Curvetto, N. Republica de Corea. 20 p.
31. Quizhpilema, L. 2013. Validación de la tecnología para la producción e industrialización de hongos comestibles *Pleurotus ostreatus* utilizando sustratos orgánicos. Tesis Ing. Ind. Riobamba, EC. ESPC. 90 p.
32. R Development Core Team (2011), R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria : the R Foundation for Statistical Computing. ISBN: 3-900051-07-0. Available online at <http://www.R-project.org/>.
33. Ramón, P; Ramón, D. 2012. Análisis de la capacidad degradativa de residuos lignocelulósicos utilizando el hongo *Pleurotus ostreatus* var. Florida. Tesis Ing. Amb. Cuenca, EC. UPS. 122 p.
34. Romero, O; Huerta, M; Damián, M; Macías, A; Tapia, A; Parraguirre, J; Juárez, J. 2010. Agronomía Costarricense: Evaluación de la capacidad productiva de *Pleurotus ostreatus* con el uso de hoja de platano (*Musa paradisiaca* L., CV. ROATAN) deshidratada, en relación con otros sustratos agrícolas. Costa Rica. v 34, p.53-63.
35. Sánchez, JE; Royse, D. 2001. La biología y el cultivo de *Pleurotus spp.* 1 ed. Mexico. ECOSUR. 203 p.
36. Sierra Exportadora. 2016. Exportacion de Hongos comestibles. Consultado 12 may 2016. Disponible en <http://www.sierraexportadora.gob.pe/exportacion-de-hongos-supero-los-us-3-2-millones-en-el-2015>.
37. Sierra, JL; López, T; Eiroal, J. 2002. Setas cultivadas. España, s.e. p.80.
38. Species Fungorum. . 2016. Catalogue of Life : *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., 1871. Consultado 9 ene. 2016. Disponible en <http://www.catalogueoflife.org/col/details/species/id>
39. Stamets, P. 1983. The mushroom cultivator: A practical guide to growing mushroom at home. Washington. 374 p.
40. Starik, C. 2008. Protocolo de pasteurización química de sustratos enriquecidos para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Neuquén, s.e. 23 p.

41. Vogel, F; Salmones, D. 2000. Revista Iberoamericana de Micología: Análisis comparativo de la productividad de cepas de *Pleurotus spp.* cultivadas en una planta comercial. Veracruz, MX. v 17, p. 138-141.
42. Zadrazil, F. 1975. Influence of C O 2 Concentration on the Mycelium Growth of Three *Pleurotus* Species. Hamburgo. p. 327-335.
43. Zárate, R. 2015. Producción y desarrollo de cuatro aislamientos de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.); cultivados en restos de cosecha. Tesis Ing. Agr. Lima. UNALM. 119 p.

9. ANEXO

Anexo 1: Año de inicio del cultivo de hongos comestibles en Iberoamérica

País	Año de inicio del cultivo de hongos comestibles
Argentina	1941
Bolivia	1989
Brasil	1951
Chile	1959
Colombia	1950
Ecuador	1967
Perú	1960
Venezuela	1969
Costa rica	1969
Guatemala	1960
México	1933
España	1960
Portugal	?

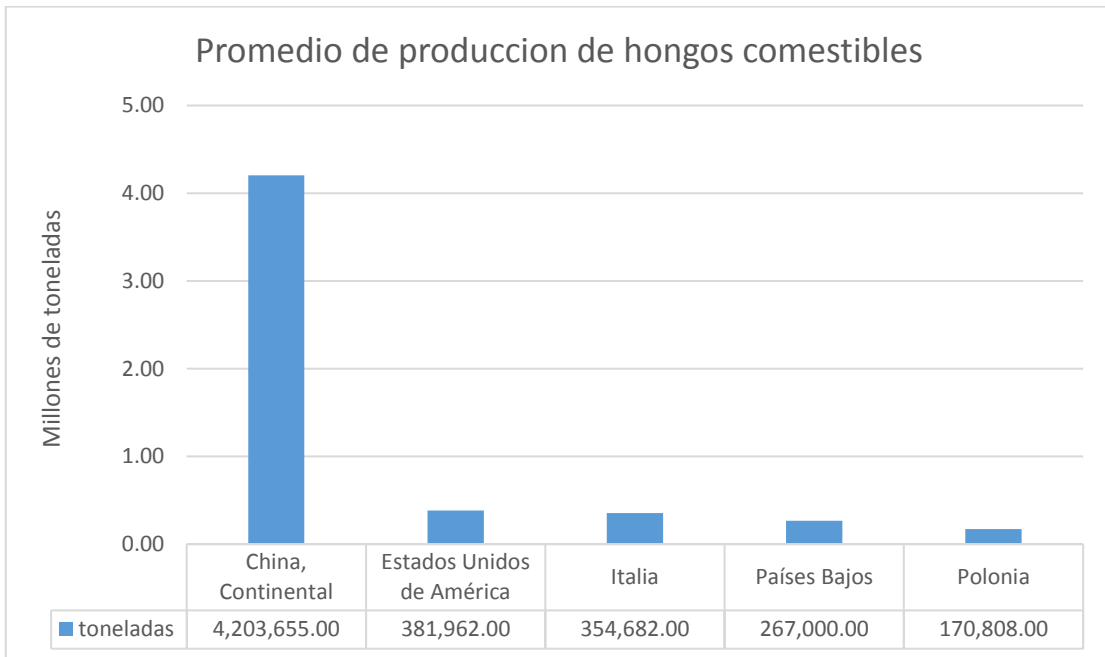
Fuente: Lahmann 2007, Lahmann y Rinker (2004), D. Martinez-Carrera et al. (2007), FJ. Gea (Com. Pers), FAO (2010), Ecosur (2012).

Anexo 2: Producción mundial de hongos comestibles desde el 2000 hasta el 2013

AÑO	TONELADAS
2000	4,210,714.00
2001	4,531,488.00
2002	4,732,119.00
2003	4,908,542.00
2004	5,280,453.00
2005	5,293,001.00
2006	5,545,269.00
2007	5,989,662.00
2008	6,824,048.00
2009	7,207,433.00
2010	7,391,978.00
2011	8,427,222.00
2012	9,593,209.00
2013	9,926,966.00

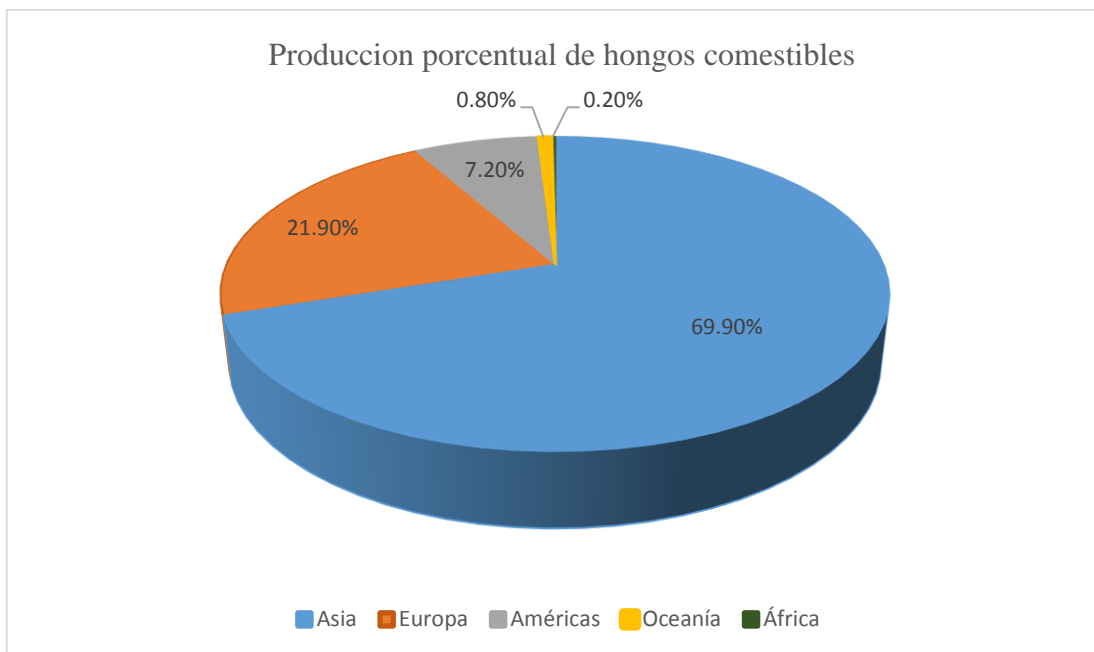
Fuente: FAO 2014

Anexo 3: Promedio de producción anual desde el 2000 al 2013 de los principales países productores de hongos comestibles.



Fuente: FAO, 2014

Anexo 4: Promedio porcentual de la producción anual de hongos comestibles por regiones, desde el año 2000 hasta el 2013.



Fuente: FAO, 2014

Anexo 5: Contenido nutricional del hongo comestible *P. ostreatus*.

Sustancia	Porcentaje (%)
Agua	92.2
Materia Seca	7.8
Ceniza	9.5
Grasa	1.0
Proteína bruta	39.0
Fibra	7.5
Nitrógeno Total	2.4
Calcio	33mg/100g
Fósforo	1.34mg/100g
Potasio	3793mg/100g
Hierro	15.20mg/100g
Á. ascórbico. Vit. C	90-144mg/100g
Tiamina Vit. B1	1.16-4.80mg/100g
Niacina. Vit. B5	46-108mg/100g
Ácido Fólico	65mg/100g

Fuente: Romero (2000), Hernández y López (2012).

Anexo 6: Análisis de variancia (ANVA) para la velocidad de crecimiento micelial de *P. ostreatus* en dos sustratos sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.

Velocidad de crecimiento (VC)

Análisis de Variancia (ANVA)					
Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fcal.	Pr(>F)
Tratamientos	4	1.3760	0.3440	618.0	< 2e-16
Sustratos	1	0.1149	0.1149	206.4	3.03e-16
T:S	2	0.2427	0.1213	218.0	< 2e-16
Error	35	0.0195	0.0006		

Nivel de significancia (α)

0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

C.V.: 2.89 %

Promedio: 0.81

M. error: 0.0005

Anexo 7: Análisis de variancia (ANVA) para la precocidad de *P. ostreatus* en dos sustratos sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.

Precocidad (Pd)

Análisis de Variancia (ANVA)						
Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fcal.	Pr(>F)	
Tratamientos	4	224.29	56.07	150.111	<2e-16	***
Sustratos	1	1.54	1.54	4.123	0.0500	*
T:S	2	3.45	1.72	4.611	0.0167	*
Error	35	13.07	0.37			

Nivel de significancia (α)

0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

C.V.: 3.88 %

Promedio: 15.71

M. error: 0.373

Anexo 8: Análisis de variancia (ANVA) de la eficiencia biológica de *P. ostreatus* en dos sustratos sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.

Eficiencia Biológica (EB)

Análisis de Variancia (ANVA)						
Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fcal.	Pr(>F)	
Tratamientos	4	8700	2175.0	276.09	< 2e-16	**
Sustratos	1	502	502.4	63.77	2.14e-09	**
T:S	2	716	358.0	45.45	1.87e-10	**
Error	35	276	7.9			*

Nivel de significancia (α)

0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

C.V.: 3.60 %

Promedio: 77.89

M. error: 7.877

Anexo 9: Análisis de variancia (ANVA) de la tasa de producción de *P. ostreatus* en dos sustratos sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.

Tasa de producción (TP)

Análisis de Variancia (ANVA)						
Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fcal.	Pr(>F)	
Tratamientos	4	6.062	1.5155	571.79	< 2e-16	** *
Sustratos	1	0.073	0.0727	27.43	7.82e-06	** *
T:S	2	0.206	0.1032	38.94	1.26e-09	** *
Error	35	0.093	0.0027			

Nivel de significancia (α)

0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

C.V.: 4.12 %

Promedio: 1.24

M. error: 0.002

Anexo 10: Prueba de Tukey para la velocidad de crecimiento micelial de *P. ostreatus* en dos sustratos sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.

Prueba de Tukey		
Tratamiento	Media	Comparación
Tratamiento de hervido en paja de arroz	11.7	a
Tratamiento alcalino en panca de maíz	10.6	b
Tratamiento testigo en panca de maíz	9.0	c
Tratamiento de hervido en panca de maíz	7.9	d
Tratamiento de pasteurizado en panca de maíz	7.1	e
Tratamiento de pasteurizado en paja de arroz	6.9	e
Tratamiento de esterilizado en paja de arroz	6.0	f
Tratamiento de esterilizado en panca de maíz	5.8	f

C.V. = 2.898 %

$\alpha = 0.05$

Anexo 11: Prueba de Tukey para la precocidad de *P. ostreatus* en dos sustratos sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.

Prueba de Tukey		
Tratamiento	Media	Comparación
Tratamiento de pasteurizado en paja de arroz	19.00	a
Tratamiento de pasteurizado en panca de maíz	17.77	b
Tratamiento de esterilizado en panca de maíz	17.50	b
Tratamiento de esterilizado en paja de arroz	17.13	b
Tratamiento testigo en panca de maíz	15.06	c
Tratamiento de hervido en paja de arroz	13.20	d
Tratamiento de alcalino en panca de maíz	13.05	d
Tratamiento de hervido en panca de maíz	12.73	d

C.V.= 3.88 %
 $\alpha = 0.05$

Anexo 12: Prueba de Tukey para la eficiencia biológica de *P. ostreatus* en dos sustratos sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.

Prueba de Tukey		
Tratamiento	Media	Comparación
Tratamiento de esterilizado en panca de maíz	95.412	a
Tratamiento de hervido en paja de arroz	91.176	ab
Tratamiento alcalino en panca de maíz	91.020	ab
Tratamiento de hervido en panca de maíz	88.752	b
Tratamiento de esterilizado en paja de arroz	75.005	c
Tratamiento testigo en panca de maíz	64.992	d
Tratamiento de pasteurizado en panca de maíz	59.648	de
Tratamiento de pasteurizado en paja de arroz	54.654	e

C.V. = 3.603 %
 $\alpha = 0.05$

Anexo 13: Prueba de Tukey para la tasa de producción de *P. ostreatus* en dos sustratos sometidos a cinco tratamientos diferentes de desinfección.

Prueba de Tukey		
Tratamiento	Media	Comparación
Tratamiento alcalino en panca de maíz	1.7450	a
Tratamiento de hervido en paja de arroz	1.7340	a
Tratamiento de hervido en panca de maíz	1.6087	b
Tratamiento de esterilizado en panca de maíz	1.2637	c
Tratamiento testigo en panca de maíz	1.0818	d
Tratamiento de esterilizado en paja de arroz	0.9946	d
Tratamiento de pasteurizado en panca de maíz	0.8256	e
Tratamiento de pasteurizado de paja de arroz	0.7010	f

C.V.= 4.129 %
 $\alpha = 0.05$

Anexo 14: Prueba de Tukey para la velocidad de crecimiento de *P. ostreatus* utilizando cinco tratamientos diferentes de desinfección sobre los sustratos.

Prueba de Tukey		
Tratamiento	Media	Comparación
Tratamiento alcalino	10.6	a
Tratamiento de hervido	9.8	b
Tratamiento testigo	9.0	c
Tratamiento pasteurizado	7.0	d
Tratamiento de esterilizado	5.9	e

C.V.= 2.898 %
 $\alpha = 0.05$

Anexo 15: Prueba de Tukey para la precocidad de *P. ostreatus* utilizando cinco tratamientos diferentes de desinfección sobre los sustratos.

Prueba de Tukey		
Tratamiento	Media	Comparación
Tratamiento de pasteurizado	18.333	a
Tratamiento de esterilizado	17.333	b
Tratamiento testigo	15.066	c
Tratamiento alcalino	13.055	d
Tratamiento de hervido	12.966	e

C.V.= 3.889 %
 $\alpha = 0.05$

Anexo 16: Prueba de Tukey para la eficiencia biológica de *P. ostreatus* utilizando cinco tratamientos diferentes de desinfección sobre los sustratos.

Prueba de Tukey		
Tratamiento	Media	Comparación
Tratamiento alcalino	91.02	a
Tratamiento de hervido	89.96	a
Tratamiento de esterilizado	86.13	b
Tratamiento testigo	64.99	c
Tratamiento de pasteurizado	57.378	d

C.V.= 3.603 %
 $\alpha = 0.05$

Anexo 17: Prueba de Tukey para la tasa de producción de *P. ostreatus* utilizando cinco tratamientos diferentes de desinfección sobre los sustratos.

Prueba de Tukey		
Tratamiento	Media	Comparación
Tratamiento alcalino	1.74	a
Tratamiento de hervido	1.67	a
Tratamiento de esterilizado	1.14	b
Tratamiento testigo	1.08	b
Tratamiento de pasteurizado	0.76	c

C.V.= 4.129 %
 $\alpha = 0.05$

Anexo 18: Prueba de Tukey para la velocidad de crecimiento micelial de *P. ostreatus* en dos sustratos diferentes, panca de maíz y paja de arroz.

Prueba de Tukey		
Tratamiento	Media	Comparación
Paja de arroz	8.2	a
Panca de maíz	8.0	b

C.V.= 2.898 %
 $\alpha = 0.05$

Anexo 19: Prueba de Tukey para la precocidad de *P. ostreatus* en dos sustratos diferentes, panca de maíz y paja de arroz.

Prueba de Tukey		
Tratamiento	Media	Comparación
Paja de arroz	16.44	a
Panca de maíz	15.32	b

C.V.= 3.889 %
 $\alpha = 0.05$

Anexo 20: Prueba de Tukey para la eficiencia biológica de *P. ostreatus* en dos sustratos diferentes, panca de maíz y paja de arroz.

Prueba de Tukey		
Tratamiento	Media	Comparación
Panca de maíz	80.18	a
Paja de arroz	73.61	b

C.V.= 3.603 %

$\alpha = 0.05$

Anexo 21: Prueba de Tukey para la tasa de producción de *P. ostreatus* en dos sustratos diferentes, panca de maíz y paja de arroz.

Prueba de Tukey		
Tratamiento	Media	Comparación
Panca de maíz	1.301	a
Paja de arroz	1.143	b

C.V.= 4.129 %

$\alpha = 0.05$

Anexo 22: Determinación del contenido de humedad de las muestras de todos los tratamientos.

Tratamientos	P. Húmedo	P. seco	Humedad (%)
T1	253	65.9	74
T2	281	83.3	70
T3	298	91.0	69
T4	246	79.2	68
T5	234	76.6	67
T6	225	67.2	70
T7	284	92.6	67
T8	219	65.6	70
T9	293	101.3	65
T10	276	85.8	69

Anexo 23: Clasificación de basidiocarpos por tamaño (en porcentaje).

a) Primera Oleada.

Tratamiento	G1	G2	G3
Tratamiento alcalino en panca de maíz	14	62	24
Tratamiento de esterilizado en panca de maíz	16	72	12
Tratamiento de esterilizado en paja de arroz	6	55	39
Tratamiento de hervido en panca de maíz	16	50	34
Tratamiento de hervido en paja de arroz	18	54	29
Tratamiento de pasteurizado en panca de maíz	21	61	19
Tratamiento de pasteurizado en paja de arroz	11	60	29
Tratamiento testigo en panca de maíz	22	54	24

b) Segunda Oleada.

Tratamiento	G1	G2	G3
Tratamiento alcalino en panca de maíz	25	55	19
Tratamiento de esterilizado en panca de maíz	29	52	19
Tratamiento de esterilizado en paja de arroz	18	73	9
Tratamiento de hervido en panca de maíz	29	63	7
Tratamiento de hervido en paja de arroz	39	52	10
Tratamiento de pasteurizado en panca de maíz	34	48	18
Tratamiento de pasteurizado en paja de arroz	4	72	24
Tratamiento testigo en panca de maíz	5	65	31

c) Tercera Oleada.

Tratamiento	G1	G2	G3
Tratamiento alcalino en panca de maíz	37	63	0
Tratamiento de esterilizado en panca de maíz	48	47	5
Tratamiento de esterilizado en paja de arroz	40	58	2
Tratamiento de hervido en panca de maíz	52	48	0
Tratamiento de hervido en paja de arroz	30	70	0
Tratamiento de pasteurizado en panca de maíz	9	85	6
Tratamiento de pasteurizado en paja de arroz	18	77	5
Tratamiento testigo en panca de maíz	20	68	12

Anexo 24: Registro fotográfico

a) Tratamiento de desinfección de los sustratos.



b) Semilla colonizada por *P. ostreatus* un día antes de la siembra.



- c) **Metodología de siembra para los sustratos desinfectados por inmersión en agua, en agua alcalina y agua caliente.**



- d) **Metodología de siembra para los sustratos desinfectados por pasteurización y esterilización.**



e) Proceso de incubación.



f) Proceso de inducción y fructificación.



- g) Cambio de color a blanco y la compactación del sustrato, evidencia la colonización del micelio al sustrato.



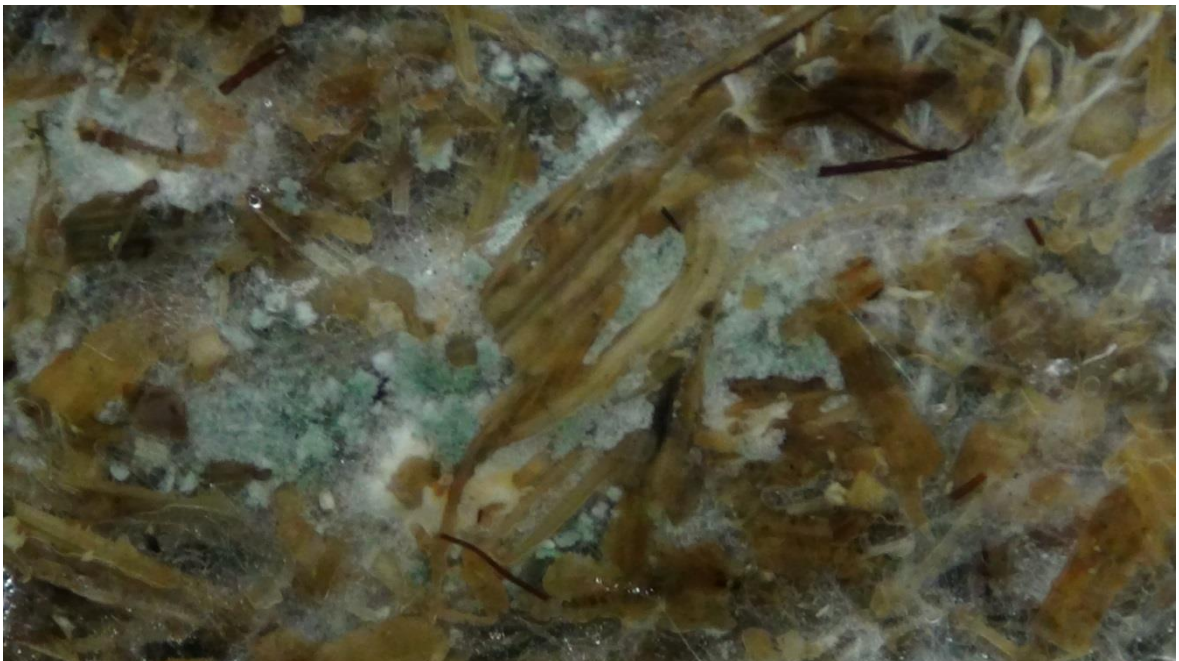
- h) Aparición de primordios de *P. ostreatus*.



i) Fructificación del hongo *P. ostreatus*.



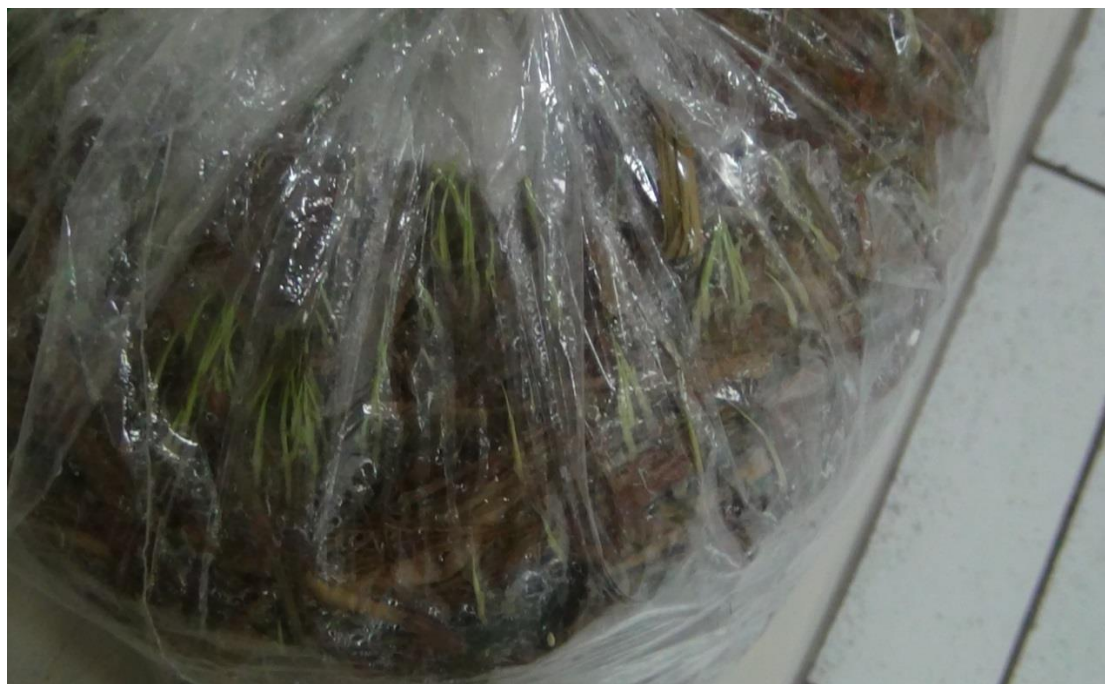
j) Problemas de contaminación por moho verde en la panca de maíz, sometido solo en inmersión en agua (TT-PM).



k) Problemas de contaminación en la paja arroz, sometido a una inmersión en agua (TT-PA).



l) Problemas de contaminación en paja de arroz sometidos a una inmersión en agua alcalina (TA-PA).



m) Panca de maíz sometida a una inmersión en agua alcalina (TA-PM).

