

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**

**FACULTAD DE AGRONOMIA**



**“PRODUCCIÓN Y DESARROLLO DE CUATRO AISLAMIENTOS  
DE *Pleurotus ostreatus* (Jacq.), CULTIVADOS EN RESTOS DE  
COSECHA”**

**Presentado por:**

**JHONATAN RAFAEL ZÁRATE SALAZAR**

**Tesis para optar el título profesional de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**Lima - Perú**

**2015**

FDL  
239  
T

# Índice

<b>1. Resumen</b>	<b>10</b>
<b>2. Introducción</b>	<b>11</b>
<b>3. Revisión Bibliográfica</b>	<b>12</b>
3.1. Generalidades . . . . .	12
3.2. <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) . . . . .	13
3.2.1. Hábitat . . . . .	13
3.2.2. Taxonomía . . . . .	14
3.2.3. Morfología . . . . .	15
3.2.4. Sinónimos . . . . .	16
3.2.5. Nombres comunes . . . . .	16
3.2.6. Importancia . . . . .	16
3.3. Producción de <i>P. ostreatus</i> . . . . .	17
3.3.1. Esquema básico para la producción de <i>P. ostreatus</i> . . . . .	18
3.3.2. Preparación del inóculo . . . . .	19
3.3.3. Preparación del sustrato . . . . .	21
3.3.4. Inoculación o "siembra" . . . . .	23
3.3.5. Incubación . . . . .	24
3.3.6. Inducción . . . . .	25
3.3.7. Fructificación . . . . .	26
3.3.8. Cosecha . . . . .	27
3.4. Contaminantes, enfermedades y plagas . . . . .	28
3.4.1. Las contaminaciones . . . . .	28
3.4.2. Enfermedades . . . . .	28
3.4.3. Plagas . . . . .	29
3.5. Factores que afectan el crecimiento y la fructificación . . . . .	31
3.5.1. La temperatura . . . . .	31
3.5.2. El pH . . . . .	31
3.5.3. El sustrato . . . . .	32
3.5.4. La aireación, la humedad de aire y la luminosidad . . . . .	33

43489

<b>4. Materiales y Métodos</b>	<b>34</b>
4.1. Ubicación . . . . .	34
4.2. Material biológico: Aislamientos de <i>P. ostreatus</i> . . . . .	34
4.3. Evaluación del crecimiento y desarrollo de cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en Papa sacarosa Agar (PSA) en condiciones <i>in vitro</i> . . . . .	35
4.3.1. Siembra y cultivo de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> en Papa Sacarosa Agar (PSA). . . . .	35
4.3.2. Instalación del experimento . . . . .	35
4.3.3. Variables evaluadas en el experimento . . . . .	36
4.4. Evaluación de la producción, crecimiento y desarrollo de cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha . . . . .	38
4.4.1. Preparación del inóculo o “semilla” . . . . .	39
4.4.2. Preparación del sustrato . . . . .	40
4.4.3. Incubación . . . . .	43
4.4.4. Inducción . . . . .	44
4.4.5. Fructificación . . . . .	44
4.4.6. Cosecha . . . . .	45
4.4.7. Diseño experimental . . . . .	45
4.4.8. Variables evaluadas en el experimento . . . . .	46
<b>5. Resultados y Discusiones</b>	<b>53</b>
5.1. Evaluación del crecimiento y desarrollo de cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA) en condiciones <i>in vitro</i> . . . . .	53
5.1.1. Velocidad de crecimiento micelial en placa ( <i>VCP</i> ) . . . . .	53
5.1.2. Caracterización del micelio . . . . .	57
5.2. Evaluación de la producción, crecimiento y desarrollo de cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha . . . . .	59
5.2.1. Velocidad de crecimiento micelial en sustrato ( <i>VCS</i> ) . . . . .	59
5.2.2. Eficiencia biológica ( <i>EB</i> ) . . . . .	65
5.2.3. Tasa de producción ( <i>T<sub>p</sub></i> ) . . . . .	70
5.2.4. Precocidad ( <i>P<sub>cd</sub></i> ) . . . . .	74
5.2.5. Razón de producción ( <i>R<sub>p</sub></i> ) . . . . .	78
5.2.6. Biodegradación del sustrato ( <i>B<sub>s</sub></i> ) . . . . .	82

5.2.7. Tamaño de sombreros o píleos de los basidiocarpos .....	86
5.2.8. Temperatura interna de las unidades experimentales .....	90
5.2.9. Temperatura ambiente .....	91
5.2.10. Humedad inicial del sustrato ( $H_s$ ) .....	93
5.2.11. Humedad relativa .....	93
5.2.12. Contaminantes .....	95
<b>6. Conclusiones</b>	<b>96</b>
<b>7. Recomendaciones</b>	<b>97</b>
<b>8. Referencias bibliográficas</b>	<b>98</b>
<b>9. Anexos</b>	<b>102</b>
Anexo 1: Producción mundial de hongos comestibles (FAO).....	102
Anexo 2: Producción mundial de hongos comestibles por países (FAO).....	102
Anexo 3: Histograma de producción de hongos comestibles por países. ....	103
Anexo 4: Crecimiento micelial de <i>P. ostreatus</i> cultivados en diferentes medios de cultivo. ....	103
Anexo 5: Curva del crecimiento micelial de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en placa petri contenidos con Papa Sacarosa Agar (PSA), en la etapa <i>in vitro</i> . ....	104
Anexo 6: Histograma de los pesos promedios obtenidos en cada oleada productiva de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> , en la etapa productiva. ....	104
Anexo 7: Temperatura ambiente en la evaluación del crecimiento micelial en placa petri de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA), en la etapa <i>in vitro</i> . ....	105
Anexo 8: Clasificación del diámetro de sombreros o píleos de los basidiocarpos. ....	105
Anexo 9: Cálculo del radiò de una esfera en función de las dimensiones de un cilindro con base elíptica. ....	105
Anexo 10: Análisis de Variancia (ANVA) para la velocidad de crecimiento micelial en placa ( <i>VCP</i> ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA), en la etapa <i>in vitro</i> . ....	106

Anexo 11: Análisis de Variancia (ANVA) para la velocidad de crecimiento micelial en sustrato ( <i>VCS</i> ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva. ....	106
Anexo 12: Análisis de Variancia (ANVA) para la eficiencia biológica ( <i>EB</i> ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva. ....	107
Anexo 13: Análisis de Variancia (ANVA) para la tasa de producción ( <i>T<sub>p</sub></i> ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva. ....	107
Anexo 14: Análisis de Variancia (ANVA) para la precocidad ( <i>P<sub>cd</sub></i> ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva. ....	108
Anexo 15: Análisis de Variancia (ANVA) para la razón de producción ( <i>R<sub>p</sub></i> ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva. ....	108
Anexo 16: Análisis de Variancia (ANVA) para la biodegradación del sustrato ( <i>B<sub>s</sub></i> ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva. ....	109
Anexo 17: Prueba de Tukey para la velocidad de crecimiento micelial en placa ( <i>VCP</i> ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en placa petri contenidos con Papa Sacarosa Agar (PSA), en la etapa <i>in vitro</i> . ....	109
Anexo 18: Prueba de Tukey para la velocidad de crecimiento micelial en sustrato ( <i>VCS</i> ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva. ....	110
Anexo 19: Prueba de Tukey para la eficiencia biológica ( <i>EB</i> ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva. ....	110
Anexo 20: Prueba de Tukey para la tasa de producción ( <i>T<sub>p</sub></i> ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva. ....	111

Anexo 21: Prueba de Tukey para la precocidad ( $P_{cd}$ ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva. ....	111
Anexo 22: Prueba de Tukey para la razón de producción ( $R_p$ ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva. ....	112
Anexo 23: Prueba de Tukey para la biodegradación del sustrato ( $B_s$ ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva. ....	112
Anexo 24: Prueba de Tukey para la velocidad de crecimiento micelial en sustrato (VCS) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha, en la etapa productiva. ....	112
Anexo 25: Prueba de Tukey para la eficiencia biológica (EB) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha, en la etapa productiva. .	113
Anexo 26: Prueba de Tukey para la tasa de producción ( $T_p$ ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha, en la etapa productiva. ....	113
Anexo 27: Prueba de Tukey para la precocidad ( $P_{cd}$ ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha, en la etapa productiva. ....	113
Anexo 28: Prueba de Tukey para la razón de producción ( $R_p$ ) de los cuatro aislamiento de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha, en la etapa productiva .	113
Anexo 29: Prueba de Tukey para la biodegradación del sustrato ( $B_s$ ) de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha, en la etapa productiva. ....	114
Anexo 30: Prueba de Tukey para la velocidad de crecimiento micelial en sustrato (VCS) según los sustratos de panca de maíz (PC) y de paja de arroz (PJ) inoculados inoculados con los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> , en la etapa productiva. ....	114
Anexo 31: Prueba de Tukey para la eficiencia biológica (EB) según los sustratos de panca de maíz (PC) y de paja de arroz (PJ) con los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> , en la etapa productiva. ....	114
Anexo 32: Prueba de Tukey para la tasa de producción ( $T_p$ ) según los sustratos de panca de maíz (PC) y de paja de arroz (PJ) inoculados con los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> , en la etapa productiva. ....	114

Anexo 33: Prueba de Tukey para la precocidad ( $P_{cd}$ ) según los substratos de panca de maíz (PC) y de paja de arroz (PJ) inoculados con los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> , en la etapa productiva. ....	115
Anexo 34: Prueba de Tukey para la razón de producción ( $R_p$ ) según los substratos de de maíz de maíz (PC) y de paja de arroz (PJ) inoculados con los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> , en la etapa productiva. ....	115
Anexo 35: Prueba de Tukey para la biodegradación del substrato ( $B_s$ ) según los substratos de panca de maíz (PC) y de paja de arroz (PJ) inoculados con los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> , en la etapa productiva. ....	115

## Índice de figuras

1. Partes del hongo <i>P. ostreatus</i> . ....	15
2. Esquema productivo para el cultivo de <i>P. ostreatus</i> (Albertó, 2008). ....	18
3. Sistema productivo de <i>P. ostreatus</i> bajo un protocolo de desinfestación por inmersión en agua caliente adaptado de Batz (2010). Elaboración propia. ....	38
4. Flujo de la preparación del inóculo o semilla bajo un protocolo de esterilización casera de los granos de trigo. Elaboración propia. ....	39
5. Resultado promedio de la velocidad de crecimiento micelial en placa de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA). . .	55
6. Tasa de crecimiento porcentual diario de los micelios para la etapa <i>in vitro</i> de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA). . .	56
7. Placas petri contenidas con Papa Sacarosa Agar (PSA) totalmente colonizadas por micelios de <i>P. ostreatus</i> , donde a.T1:Aislamiento A4, b.T2:Aislamiento A2, c.T3:Aislamiento A3, d.T4:Aislamiento A1. ....	58
8. Resultado promedio de la velocidad de crecimiento micelial en substrato, en función a los tratamientos formados por la interacción de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz y paja de arroz. ....	61
9. Resultado promedio de la velocidad de crecimiento micelial en substrato, en función a los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha. . .	62
10. Resultado promedio de la velocidad de crecimiento micelial en substrato, en función a los substratos inoculados con los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> . . .	64

11.	Resultado promedio de la eficiencia biológica, en función a los tratamientos formados por la interacción de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz y paja de arroz. . . . .	66
12.	Resultado promedio de la eficiencia biológica, en función a los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha. . . . .	67
13.	Resultado promedio de la eficiencia biológica, en función a los substratos inoculados con los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> . . . . .	68
14.	Resultado promedio de la tasa de producción, en función a los tratamientos formados por la interacción de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz y paja de arroz. . . . .	71
15.	Resultado promedio de la tasa de producción, en función a los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha. . . . .	72
16.	Resultado promedio de la tasa de producción, en función a los substratos inoculados con los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> . . . . .	73
17.	Resultado promedio de la precocidad, en función a los tratamientos formados por la interacción de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz y paja de arroz. . . . .	75
18.	Resultado promedio de la precocidad, en función a los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha. . . . .	76
19.	Resultado promedio de la precocidad, en función a los substratos inoculados con los aislamientos de <i>P. ostreatus</i> . . . . .	77
20.	Resultado promedio de la razón de producción, en función a los tratamientos formados por la interacción de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz y paja de arroz. . . . .	79
21.	Resultado promedio de la razón de producción, en función a los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha. . . . .	80
22.	Resultado promedio de la razón de producción, en función a los substratos inoculados con los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> . . . . .	81
23.	Resultado promedio de la biodegradación del sustrato, en función a los tratamientos formados por la interacción de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz y paja de arroz. . . . .	83

24.	Resultado promedio de la biodegradación del sustrato, en función a los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha. . . . .	84
25.	Resultado promedio de la biodegradación del sustrato, en función a los sustratos inoculados con los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> . . . . .	85
26.	Tamaño de sombreros o púleos en la primera oleada productiva, obtenidos por los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz y paja de arroz. . . . .	87
27.	Tamaño de sombreros o púleos en la segunda oleada productiva, obtenidos por los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz y paja de arroz. . . . .	88
28.	Tamaño de sombreros o púleos en la tercera oleada productiva, obtenidos por los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz y paja de arroz. . . . .	89
29.	Temperaturas internas de las unidades experimentales en sus etapas de incubación e inducción-fructificación en todo el proceso productivo de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha. . . . .	91
30.	Temperatura ambiente en todo el período productivo de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha. . . . .	92
31.	Humedad relativa en todo el período productivo de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en restos de cosecha. . . . .	94

## Índice de cuadros

1.	Hongos comestibles según su capacidad de descomposición orgánica (García et al., 2004). . . . .	14
2.	Información nutricional de <i>P. ostreatus</i> (Monterroso, 2007). . . . .	16
3.	Composición bromatológica de <i>P. ostreatus</i> (Ardón, 2007). . . . .	17
4.	Formulación de medios de cultivo más usados (Albertó, 2008). . . . .	19
5.	Familia de insectos más frecuentes (Sánchez, 1994). . . . .	30
6.	Codificación y descripción de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> utilizados en la etapa <i>in vitro</i> y en la etapa productiva. . . . .	34

7.	Tratamientos descritos y codificados para la etapa <i>in vitro</i> de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA). . . . .	36
8.	Tratamientos descritos y codificados para la etapa productiva de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz y paja de arroz . . . . .	46
9.	Resultado promedio de cada variable analizada en función a los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA), en la etapa <i>in vitro</i> y cultivados en restos de cosecha, en la etapa productiva. . . . .	54
10.	Caracterización del micelio de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA) según micelios de trama tupida (T) o micelios de trama rala (R). . . . .	57
11.	Resultado promedio de cada variable analizada en función a los tratamientos formados por la interacción de los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en panca de maíz y paja de arroz, en la etapa productiva. . . . .	60
12.	Resultado promedio de cada variable analizada en función a los substratos inoculados con los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> , en la etapa productiva. . . . .	63
13.	Humedad inicial del substrato listas para realizar la siembra con los cuatro aislamientos de <i>P. ostreatus</i> . . . . .	93

# 1. Resumen

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar y comparar cuatro aislamientos de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.), tanto en su desarrollo micelial como en sus variables de rendimiento. El experimento se desarrolló en dos etapas: *in vitro* y productiva. En la primera etapa los cuatro aislamientos fueron cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA) donde se evaluó comportamiento micelial cada 12 horas en placa petri. Para la segunda etapa los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* fueron sembrados en sustratos constituidos al 100 % de panca de maíz y 100 % de paja de arroz, colocados en bolsas de polipropileno previamente desinfectadas instalándose los siguientes tratamientos T1:Aislamiento A1 en panca de maíz, T2:Aislamiento A2 en panca de maíz, T3:Aislamiento A3 en panca de maíz, T4:Aislamiento A4 en panca de maíz, T5:Aislamiento A4 en paja de arroz, T6:Aislamiento A3 en paja de arroz, T7:Aislamiento A2 en paja de arroz y T8:Aislamiento A1 en paja de arroz. Todos los tratamientos fueron incubados de 12 a 16 días en oscuridad hasta alcanzar la completa colonización. Una vez colonizadas se pasaron a la sala de fructificación donde se le realizaron cortes longitudinales parciales sobre la superficie de las bolsas para facilitar el intercambio gaseoso, se aumentó las condiciones de humedad ambiental con aspersiones diarias en todo el ambiente. Se introdujo luz artificial difusa y por último se realizó la renovación de aire con la ayuda de un extractor por seis horas al día. La cosecha se realizó cuando el margen del carpóforo estuvo levemente convexo. La mayor velocidad de crecimiento micelial en la etapa *in vitro* fueron obtenidos por los aislamientos A4 (4.07 mm/día), A3 (3.91 mm/día), y A1 (3.81 mm/día). La mayor velocidad de crecimiento micelial en sustrato fueron obtenidos por los aislamientos A2 (1.22 cm/día) y A1 (1.18 cm/día). Las mayores eficiencias biológicas se obtuvieron con los aislamientos A3 (88.18 %), A4 (85.40 %) y A1 (83.15 %). Los mayores valores de tasa de producción diaria se obtuvieron con los aislamientos A4 (1.82 %), A3 (1.74 %) y A2 (1.67 %). Los aislamientos más precoces fueron A2 (10.79 días), A3 (11.72 días) y A4 (11.93 días). Los mayores valores de razón de producción se obtuvieron con los aislamientos A3 (7.60 kg/día), A4 (7.27 kg/día) y A2 (7.19 kg/día). Y por último se obtuvo el mayor valor de biodegradación por el aislamiento A4 (47 %). En el ensayo se pudo comprobar que se obtuvieron mayores resultados promedios en todas las variables analizadas en los sustratos compuestos por panca de maíz.

## 2. Introducción

El cultivo de hongos comestibles es una actividad que ha adquirido importancia a través de los años en países asiáticos y en América Latina, de modo que cultivar hongos comestibles se ha convertido para muchos en un tipo de arte que requiere de experiencia en los manejos productivos como en su reproducción. Se considera también como un sistema de bioconversión ecológica, que trata de aprovechar al máximo los restos agrícolas poco útiles para luego transformarlos en alimento proteico que puede ser usada para la venta.

La producción de hongos comestibles es una alternativa que ha sido explotada con éxito desde hace mucho tiempo en otros países, principalmente en Asia, donde se ha desarrollado toda una tecnología para la producción y conservación de los hongos comestibles como el champiñón (*Agaricus bisporus*), el shiitake (*Lentinula edodes*) y el hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*), esta última especie es la más accesible por su bajo costo de producción. La experiencia internacional en ese aspecto puede proporcionar a nuestro país y a la comunidad en general, una alternativa productiva ayudándonos a afinar las técnicas de manejo integral del proceso de cultivo y los aspectos comerciales, usando tecnologías de bajo costo y adaptadas al clima fortaleciendo el potencial productivo de hongos comestibles en nuestro ámbito nacional.

El cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) ha tenido un desarrollo rápido y amplia aceptación en el mercado mundial por su bajo costo de producción, la variedad de residuos orgánicos donde crece y su adaptación a un amplio intervalo de temperaturas. Además de sus propiedades nutricionales que lo han ido ubicando dentro del rango de apetencia comercial, generando propuestas tecnológicas para su cultivo y reproducción. Con esta tendencia el Módulo de Investigación en Hongos Comestibles ha ido incorporando cepas de este género para realizar diversos trabajos de investigación, que gracias a la unión de esfuerzos, donaciones e intercambios, se han estado produciendo y conservando, pero que aún no han sido caracterizados productivamente.

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo general evaluar las características productivas y de desarrollo de cuatro aislamientos de *P. ostreatus* analizadas en una etapa *in vitro* y en una etapa productiva. Como objetivos específicos se pretende caracterizar cada aislamiento de *P. ostreatus* en su crecimiento micelial y su desarrollo productivo con las siguientes variables: velocidad de crecimiento micelial en placa, velocidad de crecimiento micelial en sustrato, eficiencia biológica, tasa de producción, precocidad, razón de producción y la capacidad de biodegradación del sustrato.

### 3. Revisión Bibliográfica

#### 3.1. Generalidades

Los hongos son organismos que poseen células eucarióticas, por lo general sus estructuras vegetativas están conformadas por hifas, algunas son unicelulares como las levaduras. Las hifas muestran crecimiento apical, tienen paredes celulares rígidas, las cuales contienen quitina, son heterótrofos, secretan enzimas extracelulares para degradar los polímeros y absorber los nutrientes a través de su pared celular; producen esporas por vías sexuales y asexuales (Deacon, 1993).

Los hongos pueden ser clasificados, por su comportamiento alimenticio, en tres grupos básicos: micorrízicos, parásitos y saprófitos. La gran mayoría de los hongos que producen cuerpos fructíferos denominados setas son saprófitos (Stamets & Chilton, 1983).

Se cree que la producción de hongos es anterior a la era cristiana. El primer registro escrito sobre el cultivo corresponde a la especie *Auricularia auricula* del año 600 DC por citar un ejemplo. La especie más cultivada en el mundo, es el champiñón (*Agaricus bisporus*), comenzó a cultivarse en 1600 en Europa, mientras que *Lentinula edodes* entre los años 1000 y 1100; por su parte *P. ostreatus* fue bastante posterior en el año 1900, aproximadamente. Estas últimas tres especies son en la actualidad las más difundidas en todo el mundo (Albertó, 2008).

Las setas comestibles, debido a su contenido proteico, son una fuente alimenticia que contribuyen a satisfacer los requerimientos humanos básicos para una buena nutrición; sus propiedades medicinales representan un recurso aun no explotado; los substratos usados para su cultivo son principalmente desechos orgánicos derivados de la agricultura e industria. Todos estos atributos han permitido que la investigación e industrialización de hongos comestibles tenga mayor importancia en los últimos años (Chang, 1999).

El cultivo de los hongos comestibles es un sistema de bioconversión ecológica, pues lo que al hombre le es poco útil y que desecha, como pajas, bagazos, cascarillas y pulpas, los hongos lo transforman en alimento proteínico y en mercancía para venta. Asimismo, del substrato residual se puede obtener abono orgánico mediante procesos de composteo y vermicomposteo para la producción de plantas y hortalizas; dado el efecto directo en la conservación y mejora de la calidad de los suelos (Ardón, 2007).

Según estadísticas de la FAO citado por Coleman (2010), la producción mundial de Hongos Comestibles aumentó de 1,954,799 TM (1993) a 3,426,667 TM (2007) es decir, que en 14 años

creció en 75 %.

El desarrollo expansivo y tecnológico de este tipo de cultivos se debe principalmente al considerable aumento del consumo en E.E.U.U. y Europa (Ardón, 2007).

Los principales países productores de hongos comestibles son China (con aproximadamente el 50 % de la producción mundial), Europa, Estados Unidos y los países de Asia, seguidos cerca de Japón (Albertó, 2008).

Muchos países en vías de desarrollo han comenzado a producir especies de hongos en sustratos no compostados, en especial *P. ostreatus*, como consecuencia de la posibilidad de producirlo empleando tecnologías más baratas. Esa tendencia comenzó a profundizarse en la década de los ochenta cuando se compara el incremento que tuvo esta especie, entre los años 1896 y 1990, cuando alcanzó en el mundo 438 % de aumento (Chang, 1999).

En el Perú, aún cuando son pocas las referencias históricas sobre el consumo de hongos comestibles en la antigüedad, ni existen evidencias arqueológicas que lo sustenten; puede afirmarse que hoy entre los habitantes campesinos del área andina, lo consumen con cierta frecuencia, generalmente en la estación de lluvias, inclusive se comercializan en ferias o mercados urbanos (Ravines, 1991).

## **3.2. *Pleurotus ostreatus* (Jacq.)**

### **3.2.1. Hábitat**

*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) es un hongo saprófito o parásito débil, descomponedor de madera; crece abundantemente sobre aliso y arce, principalmente en los valles de los ríos (Stamets & Chilton, 1983).

En su medio ambiente, crece en los restos vegetales del suelo, troncos o sobre desechos agrícolas o agroindustriales, que están constituidos principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina en porcentajes de 40 a 60, 15 a 50 y 10 a 30 respectivamente, alimentándose de estos nutrientes y degradándolos, y donde las condiciones ambientales son húmedas y frías (Monterroso, 2007).

Está clasificado dentro de los hongos que ocasionan pudrición blanca de la madera, indicado en el **cuadro 1**, que son capaces incluso de degradar compuestos lignocelulósicos.

**Cuadro 1: Hongos comestibles según su capacidad de descomposición orgánica (García et al., 2004).**

<b>Tipo de pudrición</b>	<b>Hongos</b>
<b>Blanda</b> (atacan carbohidratos de fácil degradación)	<i>Lepiota, Lepista, Morchella y Gyromitra</i>
<b>Oscura</b> (degradan a los polisacáridos, celulosa y hemicelulosa)	<i>Volvariella, Coprinus, Stropharia y Agaricus</i>
<b>Blanca</b> (pueden degradar inclusive a la lignina)	<i>Lentinus, Pleurotus, Flammulina, Auricularia, Pholiota, Tremella, Agrocybe, Ganoderma</i>

### **3.2.2. Taxonomía**

Según Venturella (2007) y CABI (2007), *P. ostreatus* se encuentra clasificado taxonómicamente de la siguiente manera:

**Reino** Fungi

**División** Basidiomycota

**Subdivisión** Basidiomycotina

**Clase** Basidiomycete

**Subclase** Agaricomycetidae

**Orden** Agaricales

**Familia** Pleurotaceae

**Genero** Pleurotus

**Especie** *Pleurotus ostreatus* (Jacq.)

### 3.2.3. Morfología

La palabra *Pleurotus* viene del griego “*pleuro*”, que significa formado lateralmente o en posición lateral, refiriéndose a la posición del estípite respecto al píleo; *ostreatus* en latín quiere decir “en forma de ostra” y se refiere a la apariencia y al color del cuerpo fructestípitero (Stamets & Chilton, 1983).

En la **figura 1** se puede observar las estructuras básicas de *P. ostreatus* que son descritas por Albertó (2008) donde indica que el sombrero o píleo es amplio y puede ser algo deprimido en el centro. Tiene un estípite o tallo que habitualmente no es central sino lateral o excéntrico, lo que junto con la forma de su sombrero le da el aspecto de ostra. Las esporas suelen ser blancas, pero las hay levemente amarillentas o rosadas. Las laminillas “acompañan” al estípite del hongo, prolongándose a lo largo del mismo, por lo que se dicen que son decurrentes. Las especies de este género carecen de anillo.



**Figura 1: Partes del hongo *P. ostreatus*.**

El píleo tiene de 5 a 25 centímetros de diámetro, ampliamente convexo y algunas veces casi plano en la madurez; de margen lobulado a ondulado, cuando joven; la superficie es lisa, presenta color variable según la intensidad de la luz, con tonos entre blanquecinos, grises o azulados; la carnosidad es blanca y con olor a anís. 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 centímetros de longitud, 0.5 a 2.0 centímetros de espesor, excéntrico o lateral con pubescencia densa de color blanco en la base (Ardón, 2007).

### 3.2.4. Sinónimos

Tiene variedades que frecuentemente se sinonimian como taxones:

- *P. ostreatus* subsp. *opuntiae* (Lév.)
- *P. ostreatus* var. *sativus* (Jacq. : Fr.) Quéll.
- *P. ostreatus* f. *euosmus* (Berk.)
- *P. ostreatus* var. *pulmonarius* (Fr.)

### 3.2.5. Nombres comunes

*P. ostreatus* tiene diversos nombres según la zona o el país en el que es consumido, aquí algunos nombres: Falsa seta de cardo (Español), Belarri landu (Vasco), Orellana (Catalán), Pleurote en huître (Frances), Oyster mushroom (Inglés), Oreja de palo (Esp. México), Gírgola (Esp. Argentina) y Shime-ji preto o cogumelo ostra (Port. Brasil).

### 3.2.6. Importancia

Según Calderón (2009) el valor nutritivo de *P. ostreatus* ha sido reconocido desde hace mucho tiempo por su alto contenido de proteínas, las cuales contienen todos los aminoácidos, teniendo valores nutritivos más altos que las proteínas de las plantas, con una calidad muy cercana a la proteína animal. Información nutricional que confirma Monterroso (2007) y Ardón (2007) en el cuadro 2 y en el cuadro 3, respectivamente.

**Cuadro 2: Información nutricional de *P. ostreatus* (Monterroso, 2007).**

Contenido	Cantidad
Proteína cruda	10-30 %
Vitamina C	30-144 mg/100 g
Niacina	109 mg/10 g
Ácido fólico	65 mg/100 g
Potasio	306 mg/100 g

**Cuadro 3: Composición bromatológica de *P. ostreatus* (Ardón, 2007).**

Componente	Cardona, 2001	Cistena, 2002	Rodriguez <i>et al.</i> , 2005	Promedio
Agua	87-93%	88-91%	90.00%	89.83%
Proteína	24.64-30.40	14.40-19.90	15.70-30.00	22.51
Grasas	3.1-9.25	0.8-2.0	1.5-5.0	3.61
Carbohidratos	26.33-30.46	51.6-62	50-57	46.23
Minerales	7.66-8.79	0.83-13.3	7.90-8.0	7.75
Fibra	32.14-36.81	13.70-15.60	8.5-14	20.13
Calorías	345	300	150-350	298.33

Referencia: A excepción de las calorías que están expresadas en kilocalorías por cien gramos de peso seco del hongo, los restantes componentes corresponden a gramos por cien gramos de hongo seco

La especie *P. ostreatus* tiene un índice nutricional (NI), de 25, el cual es comparable con los valores de NI del fríjol, maní y repollo; una razón proteica neta (NPR), de 2.87, comparable con maíz, hojuelas de maíz (Corn Flakes), y harina de trigo (Monterroso, 2007).

Son ricos en minerales como el potasio, el fósforo y el hierro. Contienen un amplio rango de vitaminas y son particularmente ricos en tiamina (B1), riboflavina (B2), así como ácido pantoténico (B3), ácido ascórbico (C), biotina (H) (Sánchez & Royse, 2002).

Por otro lado, *P. ostreatus* como recurso genético, presenta interés para la agricultura y la economía, ya que se pueden desarrollar sobre una gran cantidad de substratos lignocelulósicos útiles no sólo para la alimentación humana, sino también para otros aspectos como la alimentación animal, la medicina, la farmacia, la industria química, el control biológico, la descontaminación de suelos, etcétera (Ardón, 2007).

### **3.3. Producción de *P. ostreatus***

La producción de *P. ostreatus*, está considerada dentro de las especies de hongos que no requieren de substratos compostados conocidos también como hongos xilófagos o lignocelulósicos, por consiguiente, solo requiere de un substrato semejante a los encontrados en la naturaleza (Albertó, 2008).

La habilidad de *P. ostreatus* para crecer en una amplia variedad de substratos lignocelulósicos residuales y en un amplio rango de temperaturas, hacen que su cultivo sea el más sencillo de todos los hongos cultivados comercialmente (Ardón, 2007).

El cultivo de *P. ostreatus* puede llevarse a cabo ya sea a escala artesanal o industrial. La

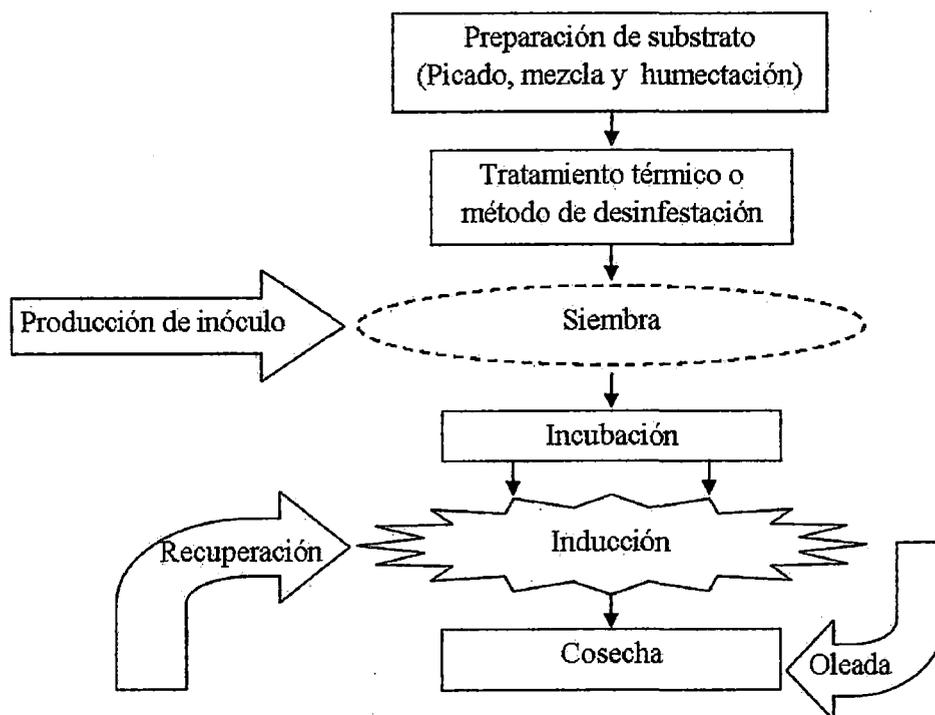
diferencia entre uno y otro estriba en el nivel de producción, el capital invertido, la complejidad de la organización de la empresa y sobre todo la productividad del sistema de producción (Ardón, 2007).

Para el caso del cultivo de *P. ostreatus* en condiciones artesanales, el ingenio del cultivador será necesario para emprender el proyecto, acondicionar instalaciones y resolver las situaciones del cultivo (López, 1995).

Según Albertó (2008) generalmente la producción de hongos comestibles de substratos no compostados consta de 7 etapas fundamentales que son: preparación del inóculo, preparación del substrato, inoculación o “siembra”, incubación, inducción, fructificación y cosecha. Es de aclarar que la etapa de inducción es un etapa importante incluida en la etapa de fructificación, por la que generalmente la etapa es denominada **inducción - fructificación**.

### 3.3.1. Esquema básico para la producción de *P. ostreatus*

En la **figura 2** podemos observar un esquema básico de producción para *P. ostreatus* con varias etapas las cuales podrían cambiar según el protocolo de desinfección o cepa en uso.



**Figura 2: Esquema productivo para el cultivo de *P. ostreatus* (Albertó, 2008).**

### 3.3.2. Preparación del inóculo

La ejecución de esta etapa debe realizarse en condiciones asépticas en el laboratorio. Consiste en la siembra y propagación del micelio a partir de una cepa original en óptimas condiciones fisiológicas.

Es la etapa más delicada del proceso. Es necesario tener un ejemplar del hongo objetivo de excelente calidad, sin defectos, tales como deformaciones visibles, picaduras de insectos u otros que pudieran influir en la calidad del micelio. Las cepas se puede comprar en laboratorios especializados o conseguirlos en los supermercados (aislarlos a partir de basidiocarpos comerciales), o aislarlos a partir de basidiocarpos encontrados en áreas donde crece en condiciones naturales (Ardón, 2007).

La siembra se hace en placa petri en un medio nutritivo determinado que puede tener diferente formulación como lo muestra el **cuadro 4**, esto es, sobre Agar Malta Dextrosa (MDA), Agar Papa Dextrosa (PDA), etc. se incuba de 25 a 28 °C durante 8 días aproximadamente en oscuridad. Luego, el hongo se resiembra en un sustrato intermedio, en cantidad suficiente para que una vez desarrollado su micelio, la mezcla “grano - hongo” sea usada como semilla en la siembra del sustrato definitivo. Se busca en este caso una colonización rápida y económica que optimice la fructificación del hongo (Rinyer, 2003).

**Cuadro 4: Formulación de medios de cultivo más usados (Albertó, 2008).**

Componentes	Agar extracto de malta	Agar Papa Glucosado	Agar Papa Glucosado (Casero)
Agar	20 g	-	20 g
Extracto de malta	12.7 g	-	-
Agar para glucosado	-	39 g	-
Glucosa	10 g	-	18 g
Agua de papas hervidas*	-	-	500 ml
Peptona	-	-	-
Extracto de levadura	-	-	-
Agua destilada	1000 ml	1000 ml	Completar a 1000 ml
(*) Se hierven 250 g de papas hasta el punto de pure, luego se filtran y el sobrenadante se lleva a 1 litro.			

#### a) Preparación del “inóculo primario”

Esta etapa debe llevarse a cabo en condiciones de asepsia. Es necesaria para simplificar la siembra del micelio al sustrato definitivo en donde crecerá y fructificará el hongo. El

inóculo o “semilla” lo constituye un substrato intermedio que contiene micelios del hongo, con características ideales para su multiplicación, provocar infección y colonización del substrato definitivo. Como substratos intermedios se pueden utilizar: sorgo, trigo o aserrín hidratado de árboles latifoliados, dependiendo del tipo de hongo. La semilla madre o **inóculo primario** se obtiene depositando fracciones del cultivo puro de la cepa obtenido en las placas petri, sobre el substrato intermedio. De este modo se tendrá suficiente cantidad de substrato intermedio impregnado con el micelio para infectar cantidades proporcionalmente mayores del mismo (Ardón, 2007).

El grano elegido como substrato intermedio se limpia, se rehidrata en agua limpia (durante 15 horas para en caso del sorgo o 24 para el maíz) se deja después escurrir para eliminar el exceso de agua, se preparan porciones de 200 gramos y se mete dentro de las bolsas de polipapel o bolsas de polipropileno. Posteriormente se esteriliza a 121 °C durante 30 minutos, se deja enfriar para después inocularlo en altas condiciones de asepsia con micelio proveniente de un centímetro cuadrado del hongo cultivado previamente en placa petri. Una vez inoculadas, las porciones de 200 gramos colocadas dentro de las bolsas de polipapel se incuban durante 10 a 15 días a 28 °C en oscuridad. A cada porción así preparada se le denomina “inóculo primario” (Sánchez, 1994).

#### b) **Preparación del “inóculo secundario”**

De un inóculo primario, se pueden tomar estérilmente ocho a diez porciones de grano para ser sembrados en el mismo número de bolsas según la cantidad de porciones escogidas. Estas bolsas se incubaran a las mismas condiciones que al inóculo primario, una vez crecido el hongo, a esta unión “grano - hongo” se les denomina **inóculo secundario**. Esos pasos previos son ampliamente recomendados porque disminuye el consumo agar y medios sintéticos. La colonización del inóculo secundario es más rápido por la razón de estar adaptados al grano, se puede inocular mayor cantidad de porciones y porque la transferencia de inóculo primario a secundario es más sencilla que la transferencia de placa petri a inóculo primario. No es recomendable preparar inóculo terciario (Sánchez, 1994).

Antiguamente se utilizaban frascos de vidrio para la preparación de inóculo primario y secundario; sin embargo estos frascos han sido substituidos exitosamente por bolsas de polipapel o polipropileno, las que con ciertos cuidados, soportan muy bien las condiciones de esterilización y evitan los riesgos y problemas de manipulación y volumen que

presentan los frascos de vidrio (Rinyer, 2003).

### 3.3.3. Preparación del sustrato

Del mismo modo que el agricultor antes de la siembra prepara el suelo por medio de barbecho, abonado y fertilización, con la finalidad de proporcionar las condiciones adecuadas para la semilla, es necesario que el sustrato que se empleará para el cultivo de los hongos esté acondicionado para el desarrollo del mismo, en este caso del micelio y la obtención de fructificaciones (Ramírez, 2004).

Las propiedades **físico - químicas** de un sustrato determinan que hongos y que microbios puedan crecer sobre él. Es importante mencionar que algunos hongos pueden usar un rango amplio de sustratos, mientras que otros son muy selectivos. La selectividad de un sustrato depende de los nutrientes disponibles en él, su acidez, la actividad microbiana que soporta, su capacidad de aireación, su contenido de agua, etc. (Ardón, 2007).

La preparación del sustrato consistirá en facilitarle al micelio los nutrientes en forma más accesible para que se realice un radio de crecimiento del hongo. La forma de preparación del sustrato dependerá principalmente de su estructura y composición química (Ramírez, 2004).

Esta parte comprende de la fermentación (en el caso de la pulpa del café), el picado (en el caso de la paja de gramíneas), secado y quiebra (en el caso de la cáscara de cacao), la hidratación y escurrimiento, la pasteurización y finalmente el enfriamiento y el mezclado (si se trata de una mezcla), que servirán como soporte para el crecimiento y fructificación del hongo (Sánchez, 1994).

Se recomienda únicamente fermentar aquellos materiales que poseen una gran cantidad de azúcares solubles, caso contrario promueven el crecimiento rápido de mohos, levaduras y bacterias, los cuales competirán con el micelio por el sustrato, desplazándolos fácilmente. Realizar la inoculación y no eliminar estos carbohidratos hará que estas moléculas se transformen en ácidos como el ácido acético, butírico o propiónico atrayendo insectos, principalmente de distintos tipos de moscas, las cuales depositan sus huevos sobre el sustrato cuyas larvas producidas se alimentaran del micelio, provocando fuertes problemas de contaminación (García, 2006).

Los sustratos usados para el cultivo de *Pleurotus* (las pajas, fibra de algodón, rastrojos, olote de maíz, etc.) tienen la ventaja de separarse fácilmente de la celulosa y la lignina, sin la necesidad de fermentarlos (Rojas, 2004).

La elección del sustrato va depender mucho de su disponibilidad. Como en el caso de la pulpa de café, que se ha empleado en realidad, más que por ser un sustrato apropiado, para dar una solución a la acumulación de este desecho en los países productores de café (Albertó, 2008).

El proceso de preparación del sustrato consiste en humectarlos, desinfectarlos y desinfectarlos; con el propósito de eliminar macro y microorganismos que puedan competir con el crecimiento del hongo, y brindar condiciones de humedad que favorezcan el desarrollo de las setas (Ardón, 2007).

La hidratación se lleva a cabo con sustratos secos (pajas, rastrojos, desechos de algodón, papel, aserrín, pulpa de café deshidratados, etc.) si presentan segmentos muy grandes o largos, como en las pajas, es necesario reducir su tamaño a segmentos de aproximadamente tres a cinco centímetros con lo cual permita una mejor retención de humedad y un fácil manejo. La fragmentación puede realizarse fácilmente con una picadora comercial usada en la agricultura (Rojas, 2004).

La desinfección del sustrato se puede realizar sumergiendo el sustrato en agua caliente para provocar un choque térmico o colocándolas en cámaras hermetizadas con vapor de agua (Ardón, 2007), los cuales son métodos comúnmente usados para este fin.

#### **Métodos o protocolos de desinfección:**

- a) **Desinfección con vapor de agua:** Consiste en colocar el sustrato en un área cerrada, puede ser un pequeño cuarto de concreto o un recipiente metálico, se le aplica vapor generado por una caldera eléctrica, de diésel o gas, por medio de tubos de cobre o mangueras resistentes al calor. Se recomienda que la temperatura alcance entre de 70 a 80 °C y que el sustrato se mantenga de dos a cuatro horas en esa condición (Gaitan-Hernandez, 2006).
- b) **Desinfección por inmersión en agua caliente:** El método consiste en sumergir el sustrato en agua a 85 °C durante un mínimo de 40 minutos. Este tratamiento puede variar según la localidad, ya que la altura sobre el nivel del mar y las condiciones del lugar influyen en los parámetros de operación (Landerecker, 1990).
- c) **La inmersión alcalina:** Es un método sencillo y de bajo costo, que consiste en sumergir el sustrato de 12 a 48 horas en agua con cal hidratada y que funciona bien a baja escala; pero

que tiene como inconveniente importante el otorgar una baja efectividad en la eliminación de ciertos contaminantes bacterianos y porque no impide la proliferación de los huevos y pupas de moscas que pudieran estar en el substrato (Contreras et al., 2003).

- d) **La esterilización:** Resulta muy apto para conocer de forma preliminar el comportamiento de substratos a base de materiales (o mezclas) de cierto carácter novedoso, o para comprobar respuestas de diferentes cepas o variedades comerciales. En ese sentido el substrato, convenientemente picado, hidratado y homogenizado, se coloca en pequeños contenedores de polipropileno, quedando así dispuesto para que se aplique el tratamiento térmico, que generalmente se lleva a cabo en un autoclave, con vapor a 121 °C durante una hora o dos según el tamaño del contenedor (Muez & Nuñez, 2001).

Según Muez & Nuñez (2001) es importante realizar la siembra del micelio en condiciones de asepsia después de completar cualquier método de desinfestación, ya que en ese momento el substrato es muy susceptible a la contaminación.

### 3.3.4. Inoculación o “siembra”

Inocular el substrato es lo que comúnmente se le conoce como “siembra”, y consiste en mezclar el inóculo producido o adquirido en el mercado; con el substrato definitivo (Ardón, 2007).

Hay varias maneras de llevar a cabo esta operación, una de ellas es la **siembra alternada**, la cual se realiza colocando el substrato dentro de una bolsa alternando una capa del mismo con una capa de semilla tratando de distribuir el inóculo lo más homogéneamente posible. Por otro lado algunos cultivadores prefieren la **siembra en masa** que consiste en mezclar la semilla sobre una mesa o estante, especialmente adaptado para este fin. De este modo asegurar que las semillas queden bien distribuidas (Albertó, 2008).

La siembra se puede realizar agregando 200 gramos de “inóculo secundario” en cuatro a siete kilogramos de substrato húmedo e hidratado. La mezcla “substrato - inóculo secundario” se acomoda dentro de una bolsa de polipropileno (se recomienda los tamaños 40 x 60, 50 x 60, 40 x 50 y 50 x 70 centímetros). Al terminar la siembra, la bolsa se cierra por medio de un nudo teniendo cuidado de eliminar el aire del interior (Sánchez & Royse, 2002).

Para la siembra es conveniente el empleo de semillas en una proporción de dos a cinco por ciento por cada 100 kg de substrato húmedo. Este valor es conocido también como **tasa de**

**inoculación** que es la cantidad de semilla que se usa en función de la cantidad de substrato que se pretende inocular. Mientras más baja sea la tasa de inoculación, menor será el costo de compra del inóculo, pero mayor el tiempo requerido para que el hongo colonice el substrato. Además, a mayor tiempo que demore la colonización del substrato mayor será el riesgo de contaminación (Ardón, 2007).

También es fundamental cumplir con todas las condiciones de limpieza para evitar problemas de contaminación (Albertó, 2008).

Finalizada la inoculación se cierra la bolsa haciendo un pequeño nudo en la parte superior. Luego se llevan las bolsas a la **sala de incubación**.

### **3.3.5. Incubación**

La incubación es la etapa que permite la colonización del substrato con los micelios del hongo, en condiciones de temperatura, luminosidad, ventilación y humedad óptimas, para obtener la mayor tasa de crecimiento posible que representaría una mayor velocidad de colonización (Albertó, 2008).

La incubación de las bolsas se realiza con cuidado y asepsia para evitar las contaminaciones. Se debe realizar en un local especial para tal fin: “la sala de incubación”, donde se colocan las bolsas a 28 °C durante 10 a 15 días, según el substrato (García, 2006).

Conviene realizar unas pequeñas perforaciones a la bolsa para permitir que el micelio respire, también es conveniente perforar la base para asegurarse el drenaje del agua que pudiera acumularse por el riego o por exceso de humedad (Albertó, 2008).

El tiempo requerido para la incubación depende de varios factores: el tipo de substrato, la cantidad de semilla y la temperatura (Albertó, 2008). Asimismo influyen en el desarrollo del micelio, el vigor de la cepa, adaptación de la cepa y cantidad de inóculo (Ardón, 2007).

Periódicamente debe hacerse inspecciones a las bolsas para controlar el crecimiento del micelio sobre el substrato. Cuando el substrato está totalmente invadido por el micelio las bolsas están listas para iniciar la etapa de inducción (Albertó, 2008).

### **Requerimientos para la incubación**

Estos datos fueron tomados y promediados a partir de los datos sugeridos por Stamets & Chilton (1983), Ardón (2007), Albertó (2008) y Silva et al. (2010).

**Humedad Relativa:** 78 a 86 %.

**temperatura ambiente:** 25 a 29 °C.

**Temperatura del substrato:** 23 a 25 °C.

**Duración de la incubación:** 10 a 14 días.

**Ventilación:** 1 Renovación/hora de  $CO_2$ .

**Iluminación:** Oscuridad Total.

Durante esta etapa es conveniente registrar la temperatura de las bolsas y del ambiente. La temperatura ambiente normalmente antecede a la temperatura de las bolsas. Por ello el control de ambas es muy importante.

### **3.3.6. Inducción**

Finalizada la incubación se deben cambiar las condiciones ambientales para iniciar la etapa de inducción de *P. ostreatus* que requiere de un descenso de la temperatura, fotoperiodo y ventilación. La inducción está incluida dentro de la etapa de fructificación.

En esta etapa es necesario efectuar perforaciones mayores para que los hongos salgan a través de ellas.

Según Albertó (2008) los diferentes patrones de perforación de las bolsas pueden ser:

- a) **Perforaciones de sección circular:** Se puede efectuar perforaciones disección circular de 1 a 2 centímetros de diámetro con un elemento estéril como un cuchillo o sacabocado calentado al fuego, puesto al rojo y luego enfriado. El patrón se repite efectuando los cortes en línea.
- b) **Cortes en cruz:** Se realizan dos cortes perpendiculares de 3 x 3 centímetros, el patrón se repite efectuando cortes en línea.
- c) **Cortes longitudinales parciales:** Se puede cortar la bolsa en secciones de 3 a 5 centímetros de largo.
- d) **Cortes longitudinales completos:** Se pueden efectuar rasgaduras a lo largo de la bolsa en sentido vertical.

- e) **Cortes en tapa:** Se puede cortar la parte superior de las bolsas, como si fuera una tapa, para obligar a los hongos a fructificar sólo por arriba.
- f) **Remoción total de bolsas:** Las bolsas pueden ser removidas en su totalidad dejando el substrato colonizado “desnudo”.

Para cualquier patrón de perforación elegido, debe haber una separación de 15 a 30 centímetros entre perforación y perforación para permitir el desarrollo normal de los hongos. Al cabo de unos siete a diez días se comenzaran a observarse los primordios, que es el primer estadio visible del desarrollo de los basidiocarpos.

La iluminación es un factor preponderante en la inducción de la formación de primordios. Como para orientar al cultivador, la luz recomendada es comparable a lo que necesitan ciertos helechos para crecer y es la que permite leer en un ambiente poco iluminado sin dificultad (Calderón, 2009).

### 3.3.7. Fructificación

Esta etapa es el inicio de la etapa netamente productiva. Aquí los riegos son menos complejos, y se puede lograr buenas cosechas manteniendo las condiciones de temperatura y humedad adecuadas (Albertó, 2008).

Después de la incubación, esto es, cuando ya ha crecido bien el micelio y ha formado una superficie **blanco - algodonosa** que cubre totalmente el substrato, es el momento de pasar a la sala de fructificación (Sánchez, 1994).

La sala de fructificación debe ser un área amplia, dedicada exclusivamente para la fructificación del hongo. Ahí se debe mantener condiciones controladas de humedad del substrato y del aire, asimismo ejercer un control en la ventilación, la temperatura, así como en la iluminación (Sánchez & Royse, 2002).

Días después de estar en la sala de fructificación (previamente inducida) empieza a aparecer los primordios, es decir, los primeros cuerpos fructíferos. Cuatro días después, los primordios se han desarrollado bien, cubren la totalidad de la superficie de cada bolsa y estarán en madurez comercial, listos para ser cosechados (García R., 2007).

La disminución de la temperatura desacelera el desarrollo de las fructificaciones; si fuese necesario retrasar la oleada, se puede lograr bajando la temperatura. Los hongos se forman mejor a menor temperatura con “carne” más firme (Albertó, 2008).

### **Requerimientos para la inducción - fructificación**

Estos datos fueron tomados y promediados a partir de los datos sugeridos por Stamets & Chilton (1983), Ardón (2007), Albertó (2008) y Silva et al. (2010).

**Humedad Relativa:** 83 a 92 %.

**temperatura ambiente:** 19 a 25 °C.

**Temperatura del substrato:** 15 a 20 °C.

**Duración de la fructificación:** 7 a 15 días.

**Ventilación:** 4 - 6 renovación/hora;  $CO_2 < 1000$  ppm.

**Iluminación:** 2000 lux/hora durante 12 horas al día, luz necesaria para leer.

#### **3.3.8. Cosecha**

Después de estar un período de tiempo de siete a diez días en el área de fructificación, el hongo (el píleo o sombrero) se ha desarrollado completamente formando racimos de hongos o en forma individual; en ambos casos el sombrero debe de estar lo más plano posible para proceder a cosechar, si el sombrero tiene un posición convexa; el tiempo de cosecha se está pasando (Escobedo, 2010).

Una vez iniciada la cosecha de setas, se tomaran en cuenta factores como: madurez, tamaño, calidad, para realizar un buen corte y no maltratarlos para que no pierdan calidad (Fernández, 2004).

La producción no es continua sino en **oleadas productivas**. Cada bolsa produce tres o cuatro oleadas cada diez días aproximadamente. Un concepto interesante es que tanto la cantidad como la calidad de los hongos no se mantienen sino que, por el contrario, ambas disminuyen en cada oleada. Cuando finaliza la oleada, hay un período de recuperación estimado de diez días, luego comienzan a formarse otra vez los primordios (Albertó, 2008) .

Para realizar la cosecha lo más conveniente es utilizar un cuchillo filoso y cortar el hongo lo más cerca posible a la base del estípite cerca del substrato tratando de dejar la menor cantidad de restos de hongo en la bolsa, puesto que éstos pueden entrar en descomposición (Escobedo, 2010).

Las setas no se lavan porque se trata de un cultivo limpio. En caso de que los hongos se cultiven en el exterior o tengan por algún motivo tierra se pueden lavar simplemente con agua. No es recomendable cosechar los hongos inmediatamente después de un riego ya que su alto contenido de humedad perjudica su calidad y vida postcosecha (Albertó, 2008).

Para evaluar el rendimiento de las oleadas, se calcula la **eficiencia biológica**, que es una de las medidas más exactas, pues con este parámetro determinamos el porcentaje de hongos frescos obtenidos en relación con la materia seca del sustrato utilizado.

### **3.4. Contaminantes, enfermedades y plagas**

#### **3.4.1. Las contaminaciones**

Son en el resultado de una mala desinfección o deficiencias del manejo en la siembra del material en proceso. Durante la incubación son muy frecuentes las contaminaciones, que pueden entrar debido a deficiencias en la limpieza de los locales de incubación o a orificios por donde pueden entrar aire y sus microbios, los insectos y otros animales (Sánchez, 1994).

Bajo condiciones de asepsia rigurosa las contaminaciones disminuyen notablemente. Es importante diseñar un programa de limpieza y asepsia que permita prevenir las contaminaciones (Sánchez & Royse, 2002).

Muchos problemas de contaminación pueden ser solucionados sobre la base de prevención (Albertó, 2008).

El personal que trabaja en contacto directo con el material en proceso, debe tener condiciones de limpieza y pulcritud inobjetable. El uso de uniformes limpios, al menos durante la siembra y el picado de bolsas, así como tapabocas y gorros para cubrir el cabello son aconsejables (García, 2006).

#### **3.4.2. Enfermedades**

Pueden considerarse dos tipos de enfermedades: las bióticas que son causadas por bacterias, micoplasmas o virus y las abióticas que son causadas por falta de nutrientes específicos para el desarrollo de los hongos o por las variaciones ambientales del entorno donde se cultiva el hongo (Sánchez & Royse, 2002).

Las enfermedades bióticas no son comunes en los hongos, o al menos no han sido reportados como importantes desde el punto de vista económico para el cultivo. Generalmente se presentan

por efecto de una deficiencia en ventilación, lo cual influye directamente en la concentración de  $CO_2$ , en variaciones en la humedad relativa o en los efectos del exceso o falta de luminosidad (García, 2000).

El exceso de  $CO_2$  en la atmósfera que rodea al hongo produce que estos desarrollen estípites más largos. La falta de humedad, además de reducir el rendimiento, afecta el desarrollo de los carpóforos, los cuales pueden presentar deformaciones. La iluminación produce variaciones en las pigmentaciones de los carpóforos. Cuando la humedad es excesiva, de tal manera que moja demasiado los cuerpos fructíferos, estos presentan un aspecto blando, aguado y amarillento (Sobal, 1989).

### **Enfermedades micológicas**

Son aquellas causadas por hongos como *Verticillium*, *Trichoderma*, *Dactylium*, *Chaetomium*, *Neurospora*, etc.

### **Enfermedades bacterianas**

Encontramos la mancha bacteriana o *Pseudomonas tolaasii* y mancha rojiza *P. gingeri*.

### **3.4.3. Plagas**

Existen varias familias de insectos asociados al cultivo de *P. ostreatus*, y la mejor manera de evitar daños de este tipo es aislando los cuartos de incubación y fructificación del exterior. Esto es fácil de realizar y aun benéfico para los hongos en los casos de las salas de incubación (del inóculo y del substrato). Ya que el hongo crece bien en la oscuridad, y a temperaturas relativamente altas; sin embargo, para el caso de la sala de fructificación, esto es más difícil porque el hongo requiere de ventilación abundante, lo que hace extremadamente difícil de mantener un lugar libre de insectos y otros animales como hormigas, cucarachas y aun roedores, sobre todo si el lugar de producción se encuentra en el área rural (Sánchez & Royse, 2002).

Cuando el cultivo de hongos es a la intemperie, el número de plagas que entren en contacto con los hongos es mayor. En este caso se puede observar, incluso, la presencia de pájaros. Entre mayor sea el número de bolsas en período de fructificación mayor será el número de insectos presentes (Sánchez, 1994).

En el **cuadro 5** se muestran las familias de insectos más frecuentes en el cultivo de *P. ostreatus*.

**Cuadro 5: Familia de insectos más frecuentes (Sánchez, 1994).**

Orden	Familia
Coleoptera	Staphylinidae
Coleoptera	Chrysomelidae
Coleoptera	Tenebrionidae
Coleoptera	Endomychidae
Diptera	Mycetophilidae
Diptera	Stratiomyidae
Diptera	Drosophilidae

También se han observado algunas especies de lepidópteros en su fase larval aun no identificados. Algunos de estos insectos pueden reducir el rendimiento o la calidad, ya que suelen alimentarse de las esporas, de las láminas o inclusive del contexto mismo del hongo, al cual perforan y hacen galerías, también pueden ser agentes contaminantes de otros hongos y bacterias (Sánchez, 1994).

Algunos insectos depositan sus huevecillos en la madera de los anaqueles. Al eclosionar, las larvas se introducen al substrato, sobre todo durante la incubación, perforando las bolsas, alimentándose del substrato así como de los micelios, por último contaminando con otros hongos (García, 2006).

Para el control de plagas, se recomienda el aislamiento de los locales y la colocación de trampas como también realizar desinfestaciones periódicas. Dos trampas que funcionan muy bien son: tiras de polietileno untada de aceite comestible y colocado a través de los estantes o recipientes plásticos con un líquido atrayente como cerveza o miel de cacao, a la cual se le pone un embudo con el orificio pequeño, de tal manera que el insecto quede atrapado. Otra forma adecuada resulta mezclar insecticidas con alimento atrayente. Es posible usar los insecticidas para uso ambiental y como último recurso las fumigaciones con piretroides (García R., 2007).

### 3.5. Factores que afectan el crecimiento y la fructificación

#### 3.5.1. La temperatura

La temperatura afecta el metabolismo de las células. Influye tanto en la capacidad enzimática del organismo, como la fluidez de los lípidos de la membrana celular. La susceptibilidad a la temperatura no solo varía entre cepas sino también para una misma cepa según la etapa de desarrollo, *P. ostreatus* crece en un rango de 0 a 32 °C con temperaturas óptimas de 26 a 28 °C (Ardón, 2007).

Así, es posible y aun frecuente que un hongo tenga una temperatura óptima de germinación y que ésta sea diferente de su temperatura óptima de crecimiento micelial o de su temperatura óptima de fructificación. *P. ostreatus* es un género de hongo cuyo micelio puede crecer en un rango amplio de temperaturas. Por regla general, las temperaturas óptimas para la fructificación de las especies de *Pleurotus* son ligeramente inferiores que las óptimas para crecimiento micelial (Sánchez & Royse, 2002).

#### 3.5.2. El pH

El potencial de hidrógeno del medio de cultivo donde crece un hongo tiene una influencia directa sobre este, porque incide sobre el carácter iónico del medio e influye directamente sobre las proteínas de la membrana y sobre la actividad de las enzimas ligadas a la pared celular; es decir afecta directamente su metabolismo (Sobal, 1989).

Sí el pH del sustrato donde crece un hongo no es el adecuado, aunque las condiciones sean óptimas, el crecimiento se verá afectado. Las fuentes de nitrógeno producen cambios importantes en el pH del medio, de tal manera que las sales de amonio ocasionan que el medio en el que crece una cepa de *Pleurotus* se acidifique y que las sales de nitrato lo vuelvan alcalino (Sánchez & Royse, 2002).

Para *P. ostreatus* se han citado rangos de crecimiento entre cuatro y siete, con un óptimo entre cinco y seis. Este valor sin embargo suele variar entre cepas y especies. Los sustratos ácidos con cuatro de pH, inhiben el desarrollo de *P. ostreatus* y *P. eryngii* y que estos hongos encuentran un pH óptimo en un rango entre 5.5 y 6.5 (García, 2006).

Dado que la mayoría de los contaminantes que se presentan durante el proceso de cultivo son más sensibles a los valores altos de pH que las especies de *Pleurotus*, al preparar el sustrato se prefieren valores más elevados que los señalados como óptimos. Esto deriva de los

resultados obtenidos por diversos investigadores que aseguran que *Trichoderma hamatum* reduce notablemente su crecimiento a pH 7 y es totalmente inhibida a pH 8.5 (Sánchez & Royse, 2002).

### **3.5.3. El substrato**

#### **a) La humedad del substrato**

El contenido de humedad influye directamente sobre el desarrollo de los hongos porque afecta la disponibilidad de nutrientes. Así, los contenidos de humedad inferiores al 50 por ciento no serán propicias y una humedad superior al 80 por ciento tendrá un efecto negativo en el crecimiento de *Pleurotus*. El contenido óptimo de humedad depende no solo de la especie de hongo que se cultiva, sino también del tipo de substrato utilizado (García, 2000).

Un substrato adecuado debe estar bien hidratado 70 a 80 % de humedad; el crecimiento del micelio se verá limitado por valores menores, mientras que el exceso de humedad puede asfixiar al hongo al carecer de los suficientes espacios con aire para crecer (Albertó, 2008).

El contenido de humedad no sólo afecta la disponibilidad de nutrientes en el substrato, sino también la disponibilidad de oxígeno. En efecto, el agua ocupa espacios que pueden ser ocupados por el aire. A niveles excesivos esto se vuelve una limitante para la respiración del hongo (Sobal, 1989).

#### **b) Tamaño de partículas del substrato**

Es un factor importante porque afecta el crecimiento y la fructificación ya que se relaciona con la accesibilidad a los nutrientes, el agua y el aire por parte de las hifas del hongo. Los tamaños de partículas muy pequeñas dificultan la aireación necesaria para la respiración y los tamaños muy grandes son inadecuados porque dificultan la compactación del substrato y el acceso del hongo a los nutrientes. Se recomiendan tamaños de dos a tres centímetros, cuando se usa rastrojo de arroz para el cultivo de especies de *Pleurotus* (García, 2000).

Las partículas de substrato al ser pequeñas son más sencillos de cargar en las bolsas e impiden que queden espacios vacíos durante el llenado. Esto favorece la posterior colonización del substrato por el micelio ya que este tamaño permite una mejor retención de humedad y manejo (Albertó, 2008).

#### 3.5.4. La aireación, la humedad de aire y la luminosidad

El oxígeno es un elemento de gran importancia para el crecimiento de los basidiomicetos porque son organismos aerobios. Estos organismos presentan requerimientos de oxígeno diferentes según el estado fisiológico en que se encuentren. Para el caso de *P. ostreatus*, se ha observado que la concentración alta de  $CO_2$  estimula la germinación de las esporas y el crecimiento micelial inhibe la fructificación. La estimulación varía según las especies; por ejemplo: *P. ostreatus* obtiene una máxima estimulación de su crecimiento micelial cuando el aire contiene 28 % de  $CO_2$ . La pérdida de materia orgánica del substrato es mayor cuando se da en una atmósfera con 100 %  $O_2$  y por otro lado la presencia de  $CO_2$  las influye negativamente. La ventilación continua favorece también la salida temprana de los primordios. La fructificación suele darse en condiciones normales cuando se tiene un 20 %  $O_2$  y una concentración de  $CO_2$  no mayor de 800 ppm en el ambiente que circunda al hongo (Sánchez & Royse, 2002).

La humedad del aire es de suma importancia para la fructificación de las especies de *Pleurotus* dado que los cuerpos fructíferos están formados por un alto contenido de agua y su estructura no le permite retener humedad en condiciones adversas, un balance adecuado entre la humedad permite un mejor desarrollo productivo (Calderón, 2009).

*P. ostreatus* requiere de oscuridad para el crecimiento micelial, pero no puede fructificar en oscuridad continua. Para poder hacerlo requiere ser expuesto a longitudes de onda inferiores a 600 nm, sin embargo la sensibilidad tanto de la cantidad como de la calidad de la luz depende de la cepa (Ardón, 2007). Se puede utilizar tubos fluorescentes o bien luz difusa natural, la suficiente para leer (Calderón, 2009). La sensibilidad a la luz es máxima desde momentos previos hasta horas después de que el micelio ha colonizado el substrato (Sánchez & Royse, 2002).

## 4. Materiales y Métodos

### 4.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se desarrolló en dos etapas, una etapa *in vitro* y una etapa productiva. La etapa *in vitro* se desarrolló en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía. La etapa productiva se desarrolló en las instalaciones del Módulo de Investigación en Hongos Comestibles ubicada en la Universidad Nacional Agraria La Molina, con la siguiente ubicación en coordenadas: 12°04'46.1"S (latitud Sur), 76°56'46.7"W (latitud oeste) y 244 msnm de altitud (Googlemaps).

### 4.2. Material biológico: Aislamientos de *P. ostreatus*

Se utilizaron cuatro aislamientos de *P. ostreatus* otorgados de los ceparios del Módulo de Investigación en Hongos Comestibles, los cuales están descritos en el **cuadro 6** y codificados aleatoriamente para fines del trabajo de investigación.

**Cuadro 6: Codificación y descripción de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* utilizados en la etapa *in vitro* y en la etapa productiva.**

Material Biológico	Código	Descripción
Aislamiento 1	A1	Se aisló a partir de un basidocarpo comercial.
Aislamiento 2	A2	Fue contribución del Bach. en Biología. Cesar Chimey con fines de investigación, el cual obtuvo en unos de sus viajes al Sur de la Sierra Peruana.
Aislamiento 3	A3	Fue contribución de la Clínica de Diagnóstico de la UNALM para fines académicos.
Aislamiento 4	A4	Se aisló a partir de un basidocarpo donado al Módulo de Hongos Comestibles, proveniente del Norte de la Región Lima.

Los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* fueron otorgados en su estado micelial en óptimas condiciones y adecuadamente conservados. Los aislamientos A1, A3 y A4 fueron otorgados en placa petri, mientras que el aislamiento A2 fue otorgado en tubo de ensayo.

Con el objetivo de multiplicar el material biológico y obtener el crecimiento activo y fresco de los mismos, los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* fueron cultivados inicialmente en placas petri contenidas con Papa Sacarosa Agar (PSA), los cuales fueron utilizados para la prueba de crecimiento *in vitro*.

El medio de cultivo Papa Sacarosa Agar (PSA) fue útil tanto para la multiplicación del material biológico como para la prueba de crecimiento *in vitro*. El PSA fue preparado según una formulación “casera”, con 20 gramos de agar, 18 gramos de sacarosa (azúcar) y 500 mililitros de una solución de 250 gramos de papa hervida, que inmediatamente fue completada a 1 litro con agua destilada. El medio de cultivo fue esterilizado en autoclave vertido en botellas de vidrio.

### **4.3. Evaluación del crecimiento y desarrollo de cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en Papa sacarosa Agar (PSA) en condiciones *in vitro***

#### **4.3.1. Siembra y cultivo de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* en Papa Sacarosa Agar (PSA).**

Obtenido el crecimiento activo y fresco de los aislamientos de *P. ostreatus* se procedió a la instalación de los tratamientos, sembrando cada aislamiento en seis placas petri.

La siembra se realizó el 02 de agosto de 2014, retirando con un sacabocado una rodaja de agar invadida con micelios la cual fue colocada al centro de cada placa contenida con Papa Sacarosa Agar (PSA). Inmediatamente cada placa sembrada se identificó con un código y fecha, asimismo se trazaron con plumón indeleble dos diámetros perpendiculares entre sí, para facilitar las medición del crecimiento radial de los micelios.

El procedimiento de siembra se llevó a cabo con todas la medidas de asepsia dentro de una cámara de flujo laminar con mechero prendido, mascarilla y constante limpieza de manos con alcohol de 96°.

#### **4.3.2. Instalación del experimento**

Las placas petri con Papa Sacarosa Agar (PSA) correctamente sembradas con los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* se instalaron y ordenaron estadísticamente bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) con cuatro tratamientos y seis repeticiones, las cuales son descritas y codificadas en el **cuadro 7**. La incubación de las placas se realizó dentro de la cámara de flujo laminar a temperatura ambiente en un rango de 18 a 19 °C, registrados por un termohidrómetro y mostrados en el **anexo 7**. La unidad experimental fue una placa petri cultivada con un aislamiento de *P. ostreatus* en Papa Sacarosa Agar (PSA). El único factor fueron los aislamientos de los hongos en estudio. Las unidades experimentales fueron seis por

tratamiento y fueron distribuidas al azar.

**Cuadro 7: Tratamientos descritos y codificados para la etapa *in vitro* de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA).**

Tratamientos	Código	Descripción
T1	HR	Aislamiento 4 en PSA
T2	CR	Aislamiento 2 en PSA
T3	UR	Aislamiento 3 en PSA
T4	WR	Aislamiento 1 en PSA

#### 4.3.3. Variables evaluadas en el experimento

##### a) Velocidad de crecimiento micelial en placa (*VCP*)

Esta variable nos permitió evaluar el crecimiento micelial y la rapidez de colonización de los aislamientos de *P. ostreatus* cuando son cultivados en condiciones *in vitro* sobre un medio de cultivo Papa Sacarosa Agar. La velocidad de crecimiento micelial en placa se calculó individualmente para cada unidad experimental registrando diariamente el crecimiento radial de los micelios hasta que el radio promedio alcanzó su máximo valor de 40 milímetros, quiere decir que se midió la distancia recorrida de los micelios hasta llegar al borde de cada placa en sus cuatro direcciones.

Los valores de velocidad de crecimiento micelial en placa fueron calculados con la siguiente fórmula:

$$VCP = \frac{RP_{act}}{DDSP}$$

Donde:

- *VCP*: Velocidad de crecimiento micelial en placa, expresada en milímetros por día (mm/día).
- *RP<sub>act</sub>*: Radio promedio actual, expresado en milímetros (mm)
- *DDSP*: Días después de la siembra en placa, expresado en días (día).

De forma complementaria para corroborar un crecimiento micelial homogéneo de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* se calculó adicionalmente la tasa de crecimiento porcentual diaria (TCPD) con la siguiente fórmula:

$$TCPD = \frac{(RP_{act} - RP_{ant})}{RP_{ant}} * 100$$

- *TCPD*: Tasa de crecimiento micelial diario, expresada en porcentaje (%).
- *RP<sub>act</sub>*: Radio promedio actual, expresado en milímetros (mm).
- *RP<sub>ant</sub>*: Radio promedio anterior, expresado en milímetros (mm).

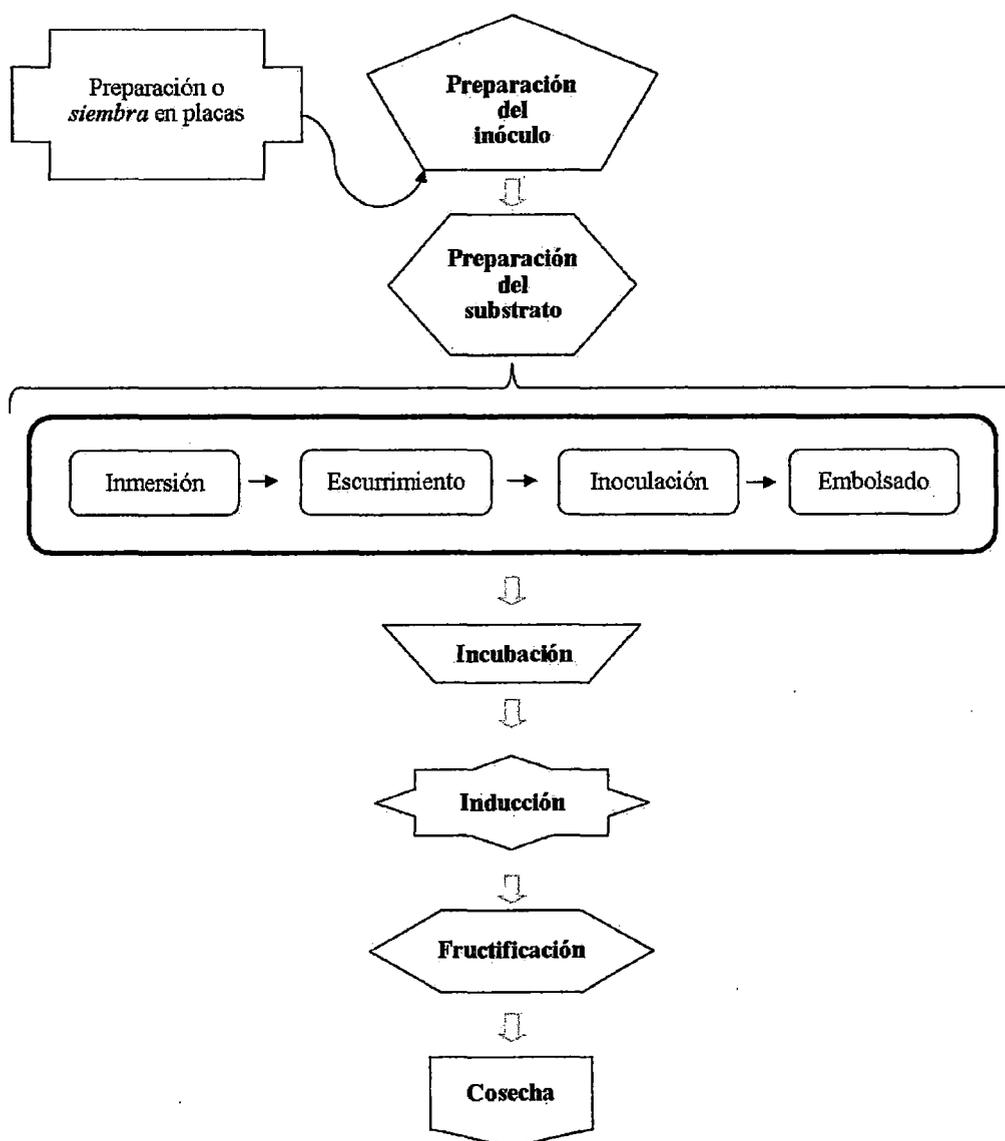
#### b) Caracterización del micelio

Se realizó la caracterización del micelio de cada aislamiento de *P. ostreatus* en todo su crecimiento y desarrollo hasta alcanzar el límite máximo de 40 milímetros de cada placa petri. Se usó la clasificación de Santa María (2006) que considera micelios de trama rala (R) o micelios de trama tupida (T). Este procedimiento se realizó de forma visual diariamente en todo el período de colonización.

Los datos de velocidad de crecimiento micelial en placa fueron procesados y analizados en el Software Estadístico R v.3.0.3 (The R Foundation for Statistical Computing, [www.r-project.org](http://www.r-project.org)) para el análisis de variancia (ANVA) con el paquete "Agricolae". Las figuras se realizaron con el Software Estadístico GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc.).

#### 4.4. Evaluación de la producción, crecimiento y desarrollo de cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha

La etapa productiva consistió de varios procedimientos que abarcaron la preparación del inóculo hasta la cosecha final. Estos procedimientos siguieron un sistema de producción para el cultivo de *P. ostreatus* bajo un protocolo de **desinfestación del sustrato por inmersión en agua caliente** esquematizado en la **figura 3**. Cada etapa del cultivo se realizó en diferentes salas o recintos para completar cada fase, denominada por Albertó (2008) como producción “polizona”.

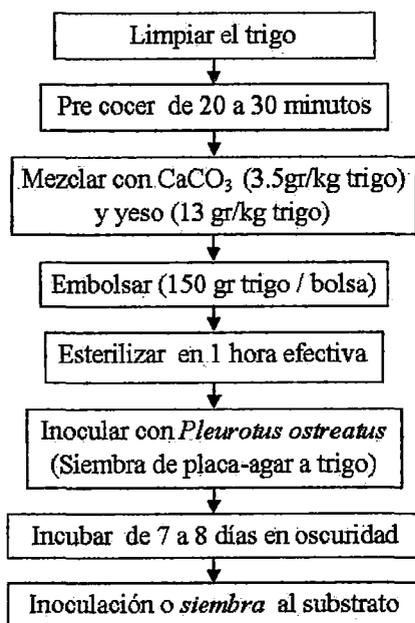


**Figura 3: Sistema productivo de *P. ostreatus* bajo un protocolo de desinfestación por inmersión en agua caliente adaptado de Batz (2010). Elaboración propia.**

#### 4.4.1. Preparación del inóculo o “semilla”

Con la finalidad de obtener la mayor cantidad de micelios con características ideales de multiplicación y que permitan una óptima colonización en los sustratos definitivos, se procedió a la preparación del inóculo o “semilla” empleando granos de trigo como sustrato intermedio.

La preparación del inóculo o semilla se realizó bajo un protocolo de esterilización “casera” de los granos de trigo, esquematizada en la **figura 4**. El procedimiento comenzó con la limpieza manual de los granos de trigo retirando las impurezas. En seguida los granos fueron pre cocidos durante 20 minutos aproximadamente cuidando que los granos no revienten. Después de escurrirlos, se redujo la humedad de las semillas esparciéndolas encima de una mesa en forma de una capa delgada. Una vez que el trigo estuvo ventilado se colocaron en un recipiente agregándoles 3.5 gramos de carbonato de calcio ( $CaCO_3$ ) y 13 gramos de yeso ( $CaSO_4, 2H_2O$ ), cantidades usadas para preparar un kilogramo de trigo. El trigo cocido se colocó en bolsas de polipropileno de 6 x 10 x 2 en cantidades de 150 gramos, colocando un algodón en la entrada asegurado con una liga para facilitar el intercambio gaseoso. Inmediatamente después fueron esterilizadas en una olla a presión casera con 1.6 litros de agua por un lapso de una hora.



**Figura 4: Flujo de la preparación del inóculo o semilla bajo un protocolo de esterilización casera de los granos de trigo. Elaboración propia.**

Con el trigo cocido, embolsado y esterilizado se preparó el inóculo que fue utilizado para la siembra en los substratos definitivos. Inicialmente se preparó el inóculo primario para luego preparar el inóculo secundario. La preparación de ambos inóculos se describen a continuación:

- a) **Preparación del inóculo primario:** Por cada aislamiento de *P. ostreatus* se seleccionó en óptimas condiciones una placa petri cultivada y evaluada en la etapa *in vitro*. En seguida con ayuda de un bisturí se retiraron de cada placa seis porciones de agar las cuales fueron colocadas al interior de una bolsa con los granos de trigo limpio y esterilizado. Por último las bolsas fueron cerradas y codificadas para dejarlas incubar aproximadamente por una semana hasta completar la colonización de los granos de trigo. En total por cada aislamiento en estudio se prepararon tres bolsas de inóculo primario.
- b) **Preparación del inóculo secundario:** Por cada aislamiento de *P. ostreatus* se seleccionó en óptimas condiciones una bolsa de inóculo primario. En seguida con ayuda de una tijera se realizó un orificio en una de sus esquinas de la bolsa de modo que permitiera la salida de los granos de trigo colonizados, los cuales fueron distribuidos en doce bolsas con granos de trigo limpio y esterilizado. Del mismo modo las bolsas fueron cerradas y codificadas, dejándolas incubar por alrededor de una semana hasta completar la colonización de los granos de trigo, quedando aptos para la siembra de los substratos definitivos. La cantidad de **inóculo secundario** se calculó en función a la **tasa de inoculación** empleada para la siembra que fue el tres por ciento del peso húmedo del substrato.

La inoculación de los granos de trigo para ambos inóculos se realizó con los mayores cuidados de higiene y limpieza dentro de la cámara de flujo laminar, sin pérdidas de bolsas por contaminación. Ambos inóculos preparados fueron incubados en las mismas condiciones dentro de la cámara de flujo laminar en oscuridad total. Las bolsas inoculadas en ambos casos fueron removidas por lo menos dos veces para garantizar una colonización completa y homogénea. En total por cada bolsa de **inóculo primario** empleada se prepararon doce bolsas de **inóculo secundario**.

#### 4.4.2. Preparación del substrato

Los substratos usados fueron panca de maíz y paja de arroz. La panca de maíz esta compuesta por restos de hojas y tallos de las cosechas de maíz, provenientes de las zonas rurales de Lima, generalmente estos restos son picados para alimentación ganadera siendo

comercialmente vendidos en sacos. La paja de arroz esta compuesta de tallos y hojas eliminadas después de la trilla, generalmente provenientes de las zonas productoras de arroz y comercializadas en “pacas”, por lo tanto no son vendidas de forma picada. Ambos substratos fueron adquiridos en centros de acopios cercanas al distrito de Huachipa.

La preparación del substrato se realizó bajo el protocolo de **desinfestación del substrato por inmersión en agua caliente** e involucró una serie de procedimientos como la inmersión, el escurrimiento, inoculación o “siembra” y finalmente el embolsado del substrato, secuencia observada anteriormente en la **figura 3**.

#### a) **Inmersión**

El substrato se distribuyó en costales de tela adaptadas con una cremallera para facilitar la manipulación al momento de la inmersión en agua hervida.

Se llenó a la mitad un cilindro metálico de 200 litros de capacidad el cual se calentó con una cocina a gas de dos hornillas adaptada artesanalmente con ladrillos que sirvieron de soporte al cilindro. El agua se calentó hasta alcanzar una temperatura de  $70^{\circ}\text{C}\pm 2$  monitoreado con un termómetro digital de vástago, momento en que los costales fueron sumergidos rápidamente provocando un “choque” térmico dejándolos en reposo en ese estado aproximadamente por dos horas.

Para la inmersión del substrato se utilizó siempre la misma agua, se completó con más cantidad cuando ésta disminuía por absorción de los costales con substrato. En cada adición de agua o para una nueva sumersión se esperó aprox. 30 minutos para que alcance nuevamente la temperatura deseada.

#### b) **Escurremientto**

Concluida la inmersión en agua caliente, los costales con substrato se retiraron del cilindro para ponerlos a enfriar y dejarlos escurrir durante 24 horas sobre una repisa metálica, de ese modo asegurar que tengan una adecuada humedad alrededor del 70 % como lo recomiendan (García, 2000) y Albertó (2008). En ese sentido los costales con substrato fueron pesados antes de la inmersión y después del escurrimiento, valores que sirvieron para calcular la humedad inicial del substrato antes de realizar la siembra. De forma complementaria y como método práctico también se corroboró la humedad presionando con las manos el substrato para asegurarnos que no haya más de dos gotas de agua excedente. Pasado el período de

escurrimiento y comprobando que la humedad sea la adecuada el sustrato estuvo listo para realizar la siembra.

#### c) **Inoculación o “siembra”**

El procedimiento se realizó el día 19 de septiembre del 2014, utilizando una tarima limpia como base de trabajo. Para la inoculación en panca de maíz se empleó la “siembra en masa” y para la inoculación en paja de arroz la “siembra alternada”, métodos que se utilizaron para lograr una mezcla más homogénea en ambos casos.

Para realizar la siembra en panca de maíz, el sustrato preparado se extendió en toda la superficie de la tarima, en seguida se esparcieron las semillas del inóculo secundario distribuyéndolas homogéneamente encima del sustrato y por último se hizo la mezcla con las manos hasta que quede completamente uniforme, quedando listo para el embolsado.

La siembra en paja de arroz se realizó al momento del embolsado, alternando una capa de sustrato con una capa de semilla de inóculo secundario sucesivamente hasta completar el llenado de la bolsa. Es muy importante aclarar que este método de siembra se ejecutó porque la paja de arroz genera mucho volumen y espacios vacíos, debido a que no es vendida de forma picada.

Como se indicó anteriormente la cantidad de inóculo secundario utilizado fue calculada al tres por ciento del peso húmedo del sustrato, un valor aceptable dentro del rango sugerido por Albertó (2008) que van del tres al cinco por ciento para los valores de **tasa de inoculación**.

Es muy importante acotar que todo el proceso de siembra se llevó a cabo con los mayores cuidados de asepsia, en ese aspecto se realizaron aspersiones de alcohol de 96° en la superficie de la tarima, como en brazos y manos asimismo se evitó hablar durante el proceso.

#### d) **Embolsado**

La panca de maíz adecuadamente sembrada se llenó en bolsas de polipropileno de 14 x 20 x 2, hasta alcanzar un peso equivalente a un kilogramo de peso seco, finalmente cada bolsa fue cerrada adecuadamente mediante un nudo. Para el caso de la paja de arroz como se indicó el embolsado se realizó al momento de la siembra en bolsas de polipropileno de 16 x 24 x 2 hasta alcanzar un kilogramo equivalente en peso seco, de igual manera las bolsas se cerraron

mediante un nudo.

Culminando el embolsado y antes de iniciar la incubación se distribuyeron cuatro cortes longitudinales parciales por lado en cada bolsa para permitir el intercambio gaseoso. En total se embolsaron 64 bolsas que conformaron las unidades experimentales, 32 bolsas de panca de maíz y 32 bolsas de paja de arroz que dieron cuatro tratamientos y ocho repeticiones por cada aislamiento de *P. ostreatus* respectivamente, los cuales fueron codificados y luego ordenados aleatoriamente para la instalación del experimento e iniciar las evaluaciones en las siguientes fases del cultivo.

#### 4.4.3. Incubación

En esta fase del experimento, se ordenaron aleatoriamente las unidades experimentales en la **sala de incubación** según un Experimento Factorial 4 X 2 conducido bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) donde permanecieron en oscuridad hasta completar la colonización del substrato. Cada unidad experimental estuvo compuesta por una bolsa contenida de substrato inoculado con micelios de *P. ostreatus*.

El registro de las temperaturas internas de cada unidad experimental se midió introduciendo el vástago de un termómetro digital previamente desinfectado con alcohol de 96° pasadas las 24 horas después de la siembra e instalación, día que fue considerado y registrado como el **primer día después de la siembra (1 DDS)**. La humedad relativa y la temperatura del ambiente se registraron diariamente con un termohigrómetro digital. Estas medidas sirvieron de mucho para dar un seguimiento al rango de temperaturas óptimas e ideales de esta fase.

Además se registró el número de días que demoró cada unidad experimental para completar la fase de incubación, dato que permitió evaluar la velocidad de crecimiento en substrato (*VCS*) de cada aislamiento de *P. ostreatus*. En ese sentido cada unidad experimental fue medida en todas sus dimensiones que son semejantes a un cilindro de base elíptica, midiendo el diámetro mayor y menor de la base como también la altura de la misma.

Cada unidad experimental completó la fase de incubación en diferentes días. Sin embargo para ambos casos fue muy importante esperar la colonización total de todas las unidades experimentales en cada substrato para que tengan el mismo día de inducción.

En este proceso se mantuvieron en todo momento prácticas de higiene al ingresar a la sala de incubación realizando aspersiones de Hipoclorito de Sodio al 0.5 % a la planta de los zapatos, limpieza de manos con alcohol de 96° y uso de mandil.

#### **4.4.4. Inducción**

Esta fase consistió en cambiar las condiciones ambientales de temperatura, humedad, fotoperiodo y ventilación para inducir la salida de los primordios de los hongos que posteriormente permitieron la fructificación.

Las unidades experimentales completamente colonizadas se trasladaron a la sala de **inducción-fructificación** en el mismo orden aleatorio realizado en la fase anterior. Una vez trasladadas fueron colgadas y distribuidas a lo largo de unos listones metálicos con unos ganchos acerados que iban amarrados con una cinta de tela en el nudo de cada bolsa. En seguida se realizaron seis cortes longitudinales parciales de tres centímetros de largo separados de 10 a 15 centímetros unos de otros, este procedimiento se realizó con una cuchilla o hoja de afeitar desinfectada con alcohol de 96° en cada corte.

Posteriormente se regó con el atomizador un rocío fino en cada bolsa, acto que se realizó diariamente hasta la aparición de los primeros primordios. Para esta etapa fue importante realizar riegos diarios al ambiente en paredes y piso para mantener la humedad entre 90 y 95 % recomendado por Stamets & Chilton (1983).

Los aislamientos de *P. ostreatus* sembrados en panca de maíz fueron inducidos a los 12 DDS y los que fueron sembrados en paja de arroz fueron inducidos a los 16 DDS, que serán considerados también como el día cero después de la inducción (0 DDI), respectivamente en ambos casos.

#### **4.4.5. Fructificación**

Los primordios se comenzaron a observar a partir de los tres a cinco días después de la inducción para los aislamientos de *P. ostreatus* sembrados en panca de maíz y de cinco a siete días después de la inducción para aquellos que fueron sembrados en paja de arroz.

Los primordios de los aislamientos de *P. ostreatus* en su primer estadio visible de desarrollo presentaron un aspecto de cabezuela oscura que a pocos días cambiaron a color castaña, para luego enlongarse y formar el estípite o tallo. Generalmente estos primordios salieron unidos compartiendo una base común, que en micología la denominan fasciculados o formando "clusters".

Una vez que aparecieron los primordios se suspendió el riego de rocío sobre las unidades experimentales hasta su momento de cosecha, sin embargo los riegos continuaron en el ambiente para mantener las condiciones de humedad. Las condiciones de aireación se

controlaron encendiendo un extractor de aire seis horas al día.

#### **4.4.6. Cosecha**

Cuando los primordios completaron su desarrollo y alcanzaron su óptimo de cosecha o estadio III según Albertó (2008), se procedió a cortar los basidiocarpos con uso de guantes y/o limpieza de las manos con alcohol de 96°. Para los aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz la cosecha inició a los 20 DDS (o 8 DDI) pero para lo que fueron sembrados en paja de arroz inició a los 27 DDS (o 11 DDI).

La cosecha se realizó abrazando la base de los basidiocarpos entre los dedos de la mano girando levemente hasta retirarlos de la bolsa, sin embargo algunos autores como Sánchez (1994) sugieren usar un cuchillo bien afilado cortando la base del racimo de los basidiocarpos, práctica que a criterio personal y por cuestiones de seguridad decidí no emplear porque si los cortes no son realizados con cuidado pueden realizarse perforaciones en las bolsas o realizar cortes involuntarios en las manos.

Los basidiocarpos cosechados fueron pesados en una balanza digital sobre una bandeja plástica previamente tarada, valor que fue registrado como peso fresco (PF). Las cosechas se evaluaron por “oleadas” en intervalos de 10 a 13 días según el **período de descanso** o de recuperación inherente de cada aislamientos de *P. ostreatus* en evaluación. En cada cosecha se registraron fotográficamente los basidiocarpos antes y después de cosechar tanto en su estado “Cluster” como separados individualmente. De cada basidiocarpo individual se midió y registró el diámetro del píleo o sombrero.

En todo el proceso de cosecha se realizaron prácticas con los mayores cuidados de higiene, usando guantes, mandil y limpieza de instrumentos con alcohol de 96°C.

#### **4.4.7. Diseño experimental**

Los substratos sembrados con cada aislamiento de *P. ostreatus* y correctamente embolsados fueron ordenados aleatoriamente según un Experimento Factorial 4X2 conducido bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) en toda su etapa productiva descritos anteriormente en la fase de incubación. La unidad experimental estuvo constituida por una bolsa de polipropileno llena con substrato inoculado de micelios de *P. ostreatus*. Los factores a analizar fueron dos: Los aislamientos y los tipos de substrato. El factor aislamiento constó de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* evaluados anteriormente en la etapa *in vitro*. El factor

substrato tuvo dos tipos: panca de maíz y paja de arroz. Las unidades experimentales fueron ocho por tratamiento las que fueron distribuidas al azar. Los tratamientos codificados aleatoriamente son descritos en el **cuadro 8**.

**Cuadro 8: Tratamientos descritos y codificados para la etapa productiva de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz y paja de arroz**

Tratamientos	Código	Descripción
T1	A1PJ	Aisl. 1 cultivado en panca de maíz
T2	A2PJ	Aisl. 2 cultivado en panca de maíz
T3	A3PJ	Aisl. 3 cultivado en panca de maíz
T4	A4PJ	Aisl. 4 cultivado en panca de maíz
T5	A4PC	Aisl. 4 cultivado en paja de arroz
T6	A3PC	Aisl. 3 cultivado en paja de arroz
T7	A2PC	Aisl. 2 cultivado en paja de arroz
T8	A1PC	Aisl. 1 cultivado en paja de arroz

#### 4.4.8. Variables evaluadas en el experimento

##### a) Velocidad de crecimiento micelial en sustrato (*VCS*)

Esta variable nos permitió evaluar el crecimiento micelial de los aislamientos de *P. ostreatus* en su fase de incubación, así como su rapidez de colonización cuando son cultivados en sustratos lignocelulósicos diferentes.

La velocidad de crecimiento micelial en sustrato se calculó individualmente para cada unidad experimental registrando el número de días después de la siembra (DDS) que necesitó para completar su máxima colonización del sustrato en la etapa de incubación y calculando un radio específico de crecimiento.

El radio específico de crecimiento se calculó hallando el radio de una esfera en función al volumen de un cilindro de base elíptica, justamente aprovechando la semejanza que tiene una unidad experimental a un volumen del mismo tipo. La ecuación se muestra en el **anexo 9**.

Los valores de velocidad de crecimiento micelial en sustrato se calcularon con la siguiente fórmula:

$$VCS = \frac{R_{es}}{DDS}$$

Donde:

- *VCS*: Velocidad de crecimiento micelial en sustrato, expresada en centímetros por día (cm/día).
- *R<sub>es</sub>*: Radio de la esfera, expresado en centímetros (cm).
- *DDS*: Días después de la siembra, expresado en días (día).

#### b) Eficiencia biológica (*EB*)

Esta variable es un indicador del rendimiento muy utilizado en sistemas productivos de hongos comestibles como es el caso de *P. ostreatus*. La eficiencia biológica expresa el porcentaje de hongos frescos obtenidos en relación con la materia seca del sustrato. Según Sánchez & Royse (2002) y Albertó (2008) generalmente para un sustrato a base de restos de gramíneas con un 70 % de humedad, la eficiencia biológica puede estar entre los intervalos de 50 a 170 % o 80 a 150 %, respectivamente.

La eficiencia biológica fue calculada individualmente para cada unidad experimental al final del período productivo registrando el peso fresco total de los basidiocarpos cosechados y el peso seco del sustrato.

Los valores de eficiencia biológica se calcularon con la siguiente fórmula:

$$EB = \frac{PF_{to}}{PSS} * 100$$

Donde:

- *EB*: Eficiencia biológica, expresada en porcentaje (%).
- *PF<sub>to</sub>*: Peso fresco total de basidiocarpos, expresado en kilogramos (kg).
- *PSS*: Peso seco del sustrato, expresado en kilogramos (kg).

c) **Tasa de producción ( $T_p$ )**

Esta variable según Sánchez & Royse (2002) relaciona la eficiencia biológica y el tiempo en días para completar un ciclo del cultivo o período productivo (PP) a partir de la siembra . Básicamente indica el potencial productivo diario de un determinado hongo después de ser sembrado.

La tasa de producción se calculó individualmente para cada unidad experimental registrando los valores obtenidos de la eficiencia biológica y el número de días que necesitó para completar su período productivo a partir de la siembra.

Los valores de tasa de producción se calcularon con la siguiente fórmula:

$$T_p = \frac{EB}{PP}$$

Donde:

- $T_p$ : Tasa de producción, expresada en porcentaje (%).
- $EB$ : Eficiencia biológica, expresada en porcentaje (%).
- $PP$ : Período productivo a partir de la siembra, expresado en días (día).

d) **Precocidad ( $P_{cd}$ )**

Esta variable es el intervalo de tiempo promedio que demora un hongo para producir una oleada productiva después de ser inducida o cosechada, de modo que si un hongo es más precoz puede significar más períodos productivos al año, lo cual representa una constante producción de basidiocarpos frescos y por lo tanto mayor cantidad de ventas. Muchos autores como Albertó (2008) denominan a esta característica como el tiempo de recuperación que requiere un hongo para realizar la cosecha de basidiocarpos frescos.

La precocidad se calculó individualmente para cada unidad experimental registrando las fechas en que se realizó cada cosecha, calculando el espacio de tiempo que hay entre cada oleada productiva y considerando el número de oleadas producidas. En pocas palabras se promediaron los intervalos de tiempo que hay entre una y otra oleada productiva.

Los valores de precocidad se calcularon con la siguiente fórmula:

$$P_{cd} = \frac{(t_1 + t_2 + t_3)}{NO}$$

Donde:

- $P_{cd}$ : Precocidad promedio, expresada en días.
- $t_1$ : Intervalo de tiempo para obtener la primera oleada.
- $t_2$ : Intervalo de tiempo para obtener la segunda oleada.
- $t_3$ : Intervalo de tiempo para obtener la tercera oleada.
- $NO$ : Número de oleadas.

e) **Razón de producción ( $R_p$ )**

Según Ardón (2007) esta variable nos permite evaluar la precocidad del material genético, la eficacia del número de oleadas aprovechadas y el sistema productivo en función del tiempo. Relaciona la cantidad de hongos frescos cosechados por cada unidad de tiempo empleado para producirla. Es un referente teórico de la razón de cambio de la producción de carpóforos respecto al tiempo y un indicador de la capacidad instalada, es un valor productivo que todo productor busca superar.

La razón de producción se calculó individualmente para cada unidad experimental registrando el peso fresco total de los basidiocarpos cosechados, el número de oleadas productivas y la precocidad promedio. Cabe resaltar que esta variable fue calculada como un referencial de producción porque en este caso se está asumiendo que el período productivo es el producto de la precocidad promedio por el número de oleadas. Por último esta variable fue calculada para 100 unidades productivas para facilitar los cálculos.

Los valores de razón de producción se calcularon con la siguiente fórmula:

$$R_p = \frac{PF_{to}}{(P_{cd} * NO)}$$

Donde:

- $R_p$ : Razón de producción, expresada en kilogramos por día (kg/día).
- $PF_{to}$ : Peso fresco de cosecha total, expresado en kilogramos (kg).
- $P_{cd}$ : Precocidad promedio, expresada en días (día).
- $NO$ : Número de oleadas.

#### f) **Biodegradación del sustrato ( $B_s$ )**

Según Monterroso (2007), la importancia del cálculo de la biodegradación del sustrato por una cepa es que provee, a grandes rasgos y sin requerir de un análisis profundo, una idea general de la facilidad que tendrán las plantas en absorber los nutrientes contenidos en los sustratos, después de que fueron usados por estos hongos lignocelulósicos para su desarrollo y fructificación, los cuales, eliminaron en gran medida, lignina y celulosa de la cual se alimentaron.

La biodegradación del sustrato se calculó individualmente para cada unidad experimental registrando el peso húmedo inicial y el peso húmedo final al terminar el período productivo. Esta variable se calculó para explicar de forma referencial la cantidad de sustrato húmedo que fue degradado y absorbido por los aislamientos de *P. ostreatus* los cuales utilizaron para su crecimiento hasta la producción de cuerpos fructíferos, situación que se traduciría como una rápida liberación de nutrientes que podrían ser aprovechadas por las plantas cuando los sustratos sean incorporados al suelo.

Los valores de biodegradación del sustrato se calcularon con la siguiente fórmula:

$$B_s = \frac{(PSH_{ini} - PSH_{fin})}{PSH_{ini}} * 100$$

Donde:

- $B_s$ : Biodegradación del sustrato, expresada en porcentaje (%).
- $PSH_{ini}$ : Peso del sustrato húmedo inicial, expresado en kilogramos (kg).
- $PSH_{fin}$ : Peso del sustrato húmedo final, expresado en kilogramos (kg).

#### g) **Tamaño de sombrero o pïleo de los basidiocarpos**

Según Albertó (2008) el tamaño y/o forma de los pïleos o sombreros están influenciados por las condiciones ambientales que afectan directamente a la calidad de las cosechas. El exceso  $CO_2$  produce elongación en los estïpites y disminución drástica de los rendimientos. En ese aspecto si no se suministra una adecuada cantidad de aire, los pïleos sufrirían deformaciones ocasionando mermas en la producción.

Según Ardón (2007) el diámetro de los pïleos de *P. ostreatus* en condiciones ambientales ideales van de 5 a 25 centímetros de diámetro ampliamente convexo y algunas veces casi plano

en la madurez con un margen lobulado a ondulado, sin embargo cuando es joven presenta una superficie lisa. Presenta una lamela formada por agallas decurrentes de color blanco, amarillentas en estado avanzado de desarrollo y sin presentar pubescencia. Por su parte el estípite es corto y grueso, de 0.5 a 3 centímetros de longitud, de 0.5 a 2 centímetros de espesor, y por último es excéntrico o lateral con pubescencia densa de color blanco en la base.

Con esa información, en cada cosecha se registró el diámetro de cada sombrero o píleo para luego ser clasificados según su tamaño. La clasificación del diámetro de los píleos según su tamaño se pueden observar en el **anexo 8**.

#### **h) Temperatura interna de las unidades experimentales**

Esta variable se registró a través del uso de un termómetro digital con vástago, que sirvió para dar un seguimiento a las temperaturas internas de cada unidad experimental asegurándonos que se mantenga dentro de los rangos de temperatura ideales en cada fase del cultivo, hasta finalizar su período productivo.

#### **i) Temperatura del ambiente**

Esta variable se registró a través del uso de un termohigrómetro digital, para mantener los rangos de temperatura ideales para la producción de hongos comestibles en toda su etapa productiva.

#### **j) Humedad del sustrato inicial ( $H_S$ )**

La humedad del sustrato se calculó después del escurrimiento y antes de la siembra, considerando como peso seco el peso del sustrato comprado y adquirido en los centros de acopio.

La humedad del sustrato se calculó con la siguiente fórmula:

$$H_S = \frac{(PSH_{ini} - PSS)}{PSH_{ini}} * 100$$

Donde:

- $H_S$ : Humedad del sustrato antes de la siembra, expresada en porcentaje (%).
- $PSH_{ini}$ : Peso del sustrato húmedo inicial, expresado en kilogramos (kg).
- $PSS$ : Peso seco del sustrato, expresado en kilogramos (kg).

### **k) Humedad Relativa**

Esta variable se registró a través del uso de un termohidrómetro digital, para mantener los rangos de humedad ideales para la producción de hongos comestibles en toda su etapa productiva.

Los datos de velocidad de crecimiento micelial en sustrato, eficiencia biológica, tasa de producción, precocidad, razón de producción y biodegradación del sustrato, fueron procesados y analizados en el Software Estadístico R v.3.0.3 (The R Foundation for Statistical Computing, [www.r-project.org](http://www.r-project.org)) para el análisis de variancia (ANVA) con el paquete "Agricolae". Las figuras se realizaron con el Software Estadístico GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc.).

## 5. Resultados y Discusiones

### 5.1. Evaluación del crecimiento y desarrollo de cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA) en condiciones *in vitro*

#### 5.1.1. Velocidad de crecimiento micelial en placa (*VCP*)

En el **cuadro 9** y la **figura 5** se puede observar la velocidad de crecimiento micelial en placa obtenidas por los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA). Los resultados del ANVA mostrados en el **anexo 10** indicaron que existen diferencias significativas entre los aislamientos.

El promedio general de las unidades experimentales fue de 3.79 para los valores de velocidad de crecimiento micelial en placa (*VCP*), expresados en milímetros por día (mm/día).

El aislamiento A4 obtuvo el valor más alto con 4.08 de *VCP*. Los aislamientos A3 y A1 obtuvieron valores promedio con 3.91 y 3.81 de *VCP*, respectivamente. El aislamiento A2 obtuvo el valor más bajo con 3.48 de *VCP*.

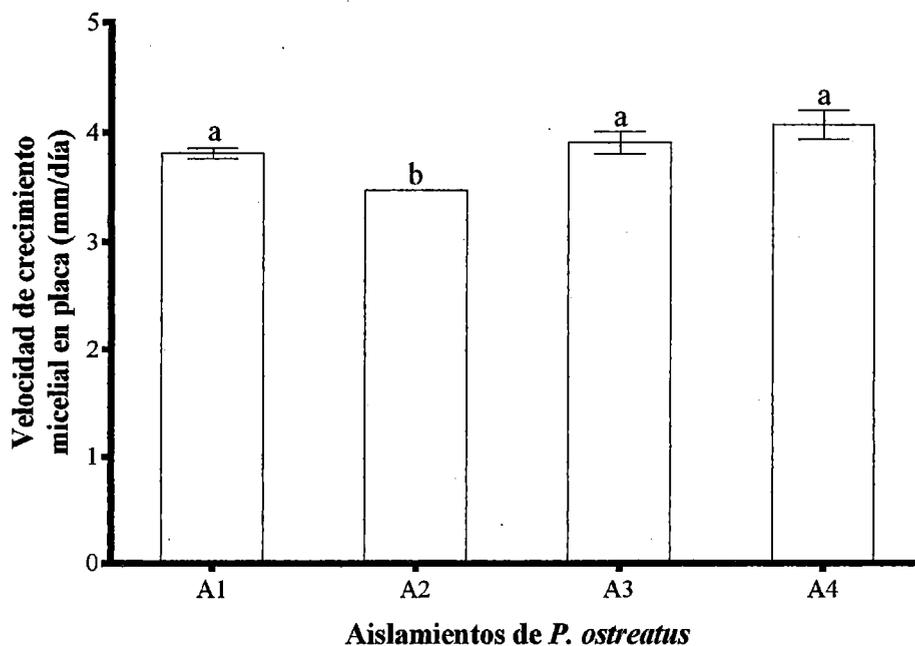
Los aislamientos A4, A3 y A1 no presentaron diferencias significativas entre sí. El aislamiento A2 presentó diferencias significativas con los aislamientos A4, A3 y A1.

**Cuadro 9: Resultado promedio de cada variable analizada en función a los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA), en la etapa *in vitro* y cultivados en restos de cosecha, en la etapa productiva.**

Variables evaluadas <sup>i</sup>

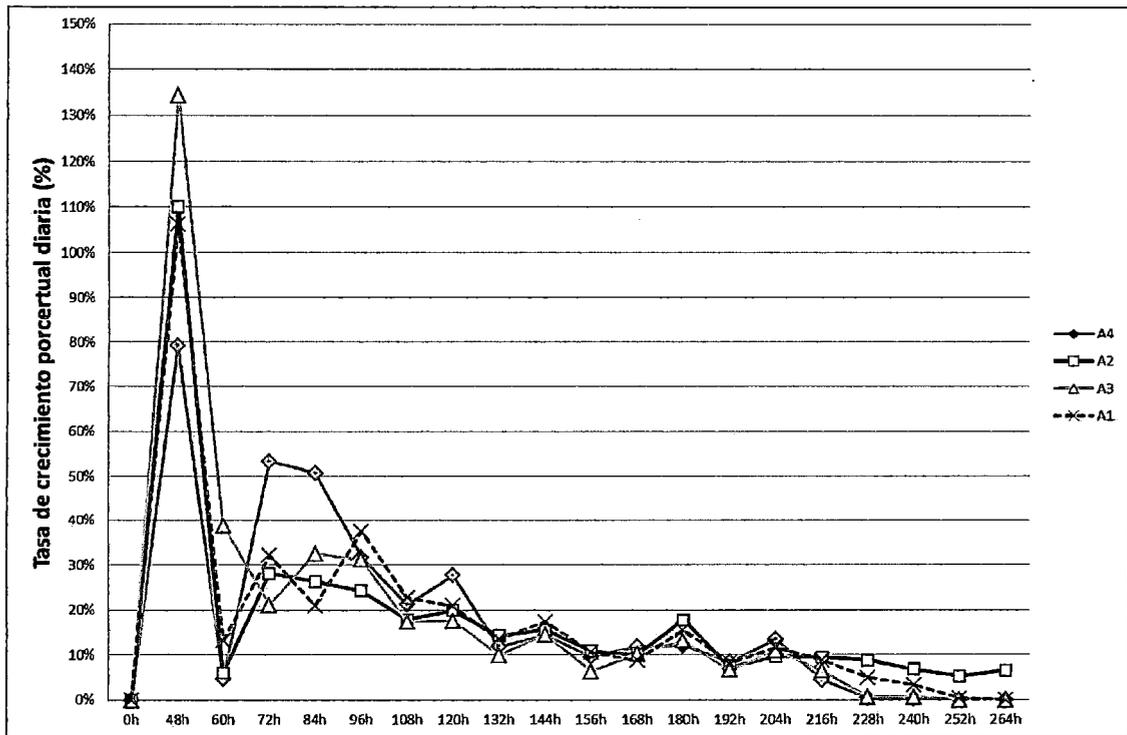
Aislamientos	Velocidad de crecimiento micelial en placa (mm/día)	Velocidad de crecimiento micelial en substrato (cm/día)	Eficiencia biológica (%)	Tasa de producción (%)	Precocidad (días)	Razón de producción (kg/día)	Biodegradación del substrato (%)
A1	3.81 a	1.18 a	83.15 a	1.58 c	13.21 a	2.13 b	39.39 bc
A2	3.48 b	1.22 a	75.66 b	1.68 bc	10.79 c	2.40 a	36.47 c
A3	3.91 a	0.99 b	88.19 a	1.83 a	11.73 bc	2.53 a	41.77 b
A4	4.08 a	0.92 b	85.41 a	1.75 ab	11.94 b	2.43 a	47.00 a
<b>Coefficiente de variabilidad</b>	3.81%	10.82%	6.77%	8.06%	8.54%	9.49%	8.69%

(<sup>i</sup>) Comparación de medias de tukey con  $\alpha = 0.05$



**Figura 5: Resultado promedio de la velocidad de crecimiento micelial en placa de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA).**

Analizando complementariamente la **figura 6**, que muestra la tasa de crecimiento porcentual diaria (*TCPD*), podemos observar que los aislamientos de *P. ostreatus* alcanzaron su máximo valor porcentual a las 48 horas o cuatro días después de la siembra en placa (4 DDSP). También se puede notar que los aislamientos de *P. ostreatus* tienen diferentes picos de crecimiento micelial, que podrían explicar el tipo de colonización micelial al momento de colonizar el PSA. Asimismo todos los hongos tienen un descenso de su *TCDP* hasta alcanzar su valor mínimo a cero, a excepción del aislamiento A2 que a partir de los 144 horas o 12 DDSP su valor porcentual prácticamente se mantuvo constante hasta el final de la evaluación.



**Figura 6: Tasa de crecimiento porcentual diario de los micelios para la etapa *in vitro* de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA).**

Los resultados obtenidos para la velocidad de crecimiento micelial en placa en la etapa *in vitro* nos proporcionó una idea general del comportamiento de cada hongo en estudio, que podría variar según las condiciones de temperatura a las que son incubadas. Según Chang & Miles Philip (2004), Del Pilar et al. (2010) y Salmones et al. (1997) generalmente las temperaturas óptimas de incubación son de 25 °C, un valor que no se cumplió porque la incubación fue realizada a temperatura ambiente en un rango de 18 a 19 °C mostradas en el **anexo 7**. Otros factores que podrían haber influenciado son el lugar de procedencia, el tipo de conservación y la edad del inóculo. Por ejemplo el aislamiento A2 que obtuvo el menor valor de *VCP*, provino de una localidad donde posiblemente las temperaturas sean más cálidas. Las placas iniciales con micelios activos y frescos usadas para la transferencia e instalación del experimento fueron preparadas y sembradas a partir de un tubo de ensayo para el aislamiento A2 y de tres placas petri para los aislamientos A1, A3 y A4 las cuales tuvieron diferentes edades de conservación.

Los aislamientos de *P. ostreatus* alcanzaron una colonización normal y homogénea, inclusive la tendencia del crecimiento micelial graficada en una curva de crecimiento micelial la cual puede ser observada en el **anexo 5**, coinciden similarmente con los resultados de Suárez

(2010) cuando graficó la curva de crecimiento micelial de *P. ostreatus* utilizando tres medios de cultivo, entre ellos, Papa Dextrosa Agar (PDA) que tiene características similares al medio de cultivo usado en este experimento.

Analizar la velocidad de crecimiento micelial en esta etapa, se intentó dar un alcance a las posibles diferencias que podrían tener los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* en su etapa productiva. En ese sentido con los resultados obtenidos a este nivel, podemos entender que el aislamiento A2 ya mostraba diferencias con los demás hongos en estudio, situación que se fue comprobando estadísticamente en el transcurso de la investigación.

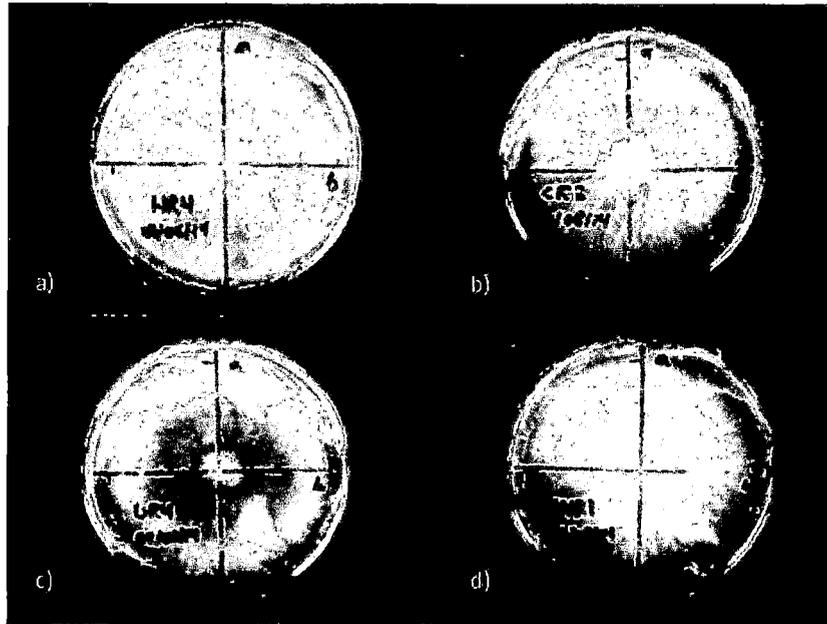
### 5.1.2. Caracterización del micelio

La evaluación se realizó diariamente de forma visual registrando el estado de cada placa por medio de fotografías. Las placas contenidas con el medio de cultivo completamente colonizados fueron caracterizados en el **cuadro 10** las cuales pueden ser visualizada en la **figura 7**. La caracterización se realizó en base a la distribución del micelio al momento de colonizar la superficie del medio de cultivo: en micelios de trama tupida (T) y micelios de trama rala (R).

**Cuadro 10: Caracterización del micelio de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA) según micelios de trama tupida (T) o micelios de trama rala (R).**

Caracterización del micelio	Trama
T1 (Aislamiento A4 en PSA)	Tupida
T2 (Aislamiento A2 en PSA)	Tupida
T3 (Aislamiento A3 en PSA)	Rala
T4 (Aislamiento A1 en PSA)	Tupida

43789



**Figura 7: Placas petri contenidas con Papa Sacarosa Agar (PSA) totalmente colonizadas por micelios de *P. ostreatus*, donde a.T1:Aislamiento A4, b.T2:Aislamiento A2, c.T3:Aislamiento A3, d.T4:Aislamiento A1.**

En esta evaluación jugó un papel importante la percepción del evaluador, según el grado de dificultad para realizar la medición radial de cada aislamiento de *P. ostreatus* en todo el tiempo de incubación y crecimiento sobre el medio de cultivo. Esta variable fue cualitativa y para este experimento no siguió una evaluación estadística por lo tanto solo debe ser considerada de carácter referencial. La clasificación fue tomada de Santa María (2006) pero aplicado para evaluar el crecimiento micelial al momento de colonizar el medio de cultivo en la etapa *in vitro*.

## **5.2. Evaluación de la producción, crecimiento y desarrollo de cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha**

### **5.2.1. Velocidad de crecimiento micelial en substrato (*VCS*)**

En el **cuadro 11** y la **figura 8** podemos observar la velocidad de crecimiento micelial en substrato obtenida en cada tratamiento formado por la interacción **aislamiento x substrato** en la fase de incubación. Los resultados del ANVA mostrados en el **anexo 11** indican que no existen diferencias significativas entre las interacciones **aislamiento x substrato**, pero sí diferencias significativas entre los aislamientos y diferencias significativas entre los substratos utilizados.

El promedio general de las unidades experimentales es de 1.08 para los valores de velocidad de crecimiento micelial en substrato (*VCS*), expresados en centímetros por día (cm/día).

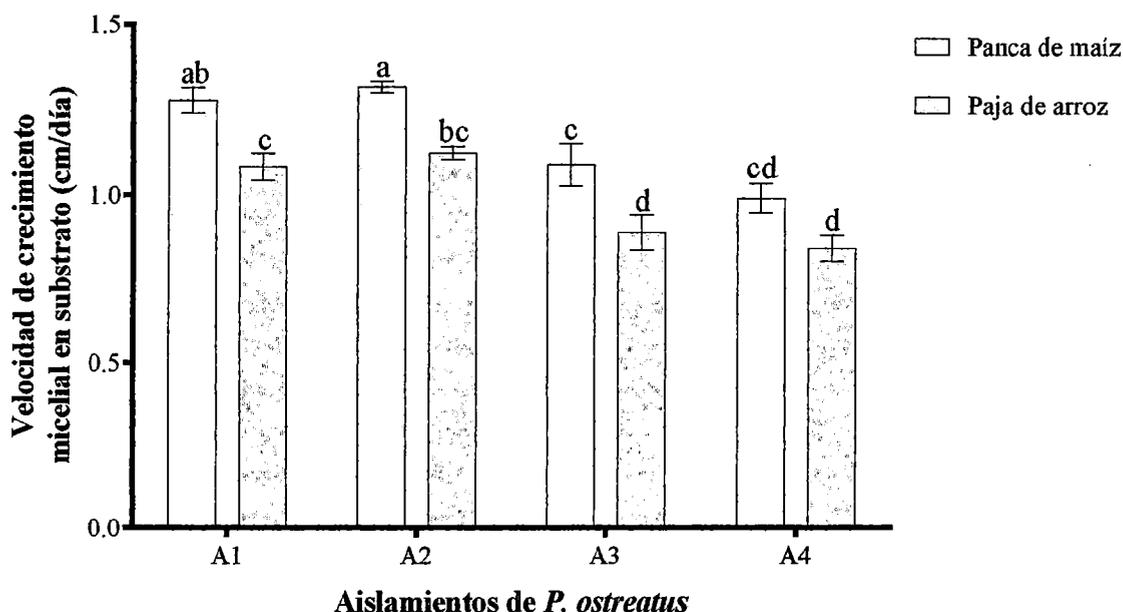
El tratamiento T2 (A2PC) obtuvo el promedio más alto con 1.32 de *VCS*. Los tratamientos T1 (A1PC), T7 (A2PJ), T3 (A3PC), T8 (A1PJ), T4 (A4PC) y T6 (A3PJ) obtuvieron valores promedios con 1.28, 1.12, 1.09, 1.08, 0.99 y 0.89 de *VCS*, respectivamente. El tratamiento T5 (A4PJ) obtuvo el promedio más bajo con 0.84 de *VCS*.

El tratamiento T2 (A2PC) no presentó diferencias significativas con el tratamiento T1 (A1PC). El tratamiento T1 (A1PC) no presentó diferencias significativas con los tratamientos T2 (A2PC) y T7 (A2PJ). El tratamiento T7 (A2PJ) no presentó diferencias significativas con los tratamientos T1 (A1PC), T3 (A3PC), T8 (A1PJ) y T4 (A4PC). Los tratamientos T3 (A3PC), T8 (A1PJ) y T4 (A4PC) no presentaron diferencias significativas entre sí. Los tratamientos T4 (A4PC), T6 (A3PJ) y T5 (A4PC) no presentaron diferencias significativas entre sí.

**Cuadro 11: Resultado promedio de cada variable analizada en función a los tratamientos formados por la interacción de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz y paja de arroz, en la etapa productiva.**

		Variables evaluadas <sup>i</sup>						
Tratamientos	Interacción	Velocidad de crecimiento micelial en sustrato (cm/día)	Eficiencia biológica (%)	Tasa de producción (%)	Precocidad (días)	Razón de producción (kg/día)	Biodegradación del sustrato (%)	
T1	Aislamiento A1 en panca de maíz	1.28 ab	90.88 bc	1.88 b	12.08 b	2.51 b	43.52 bc	
T2	Aislamiento A2 en panca de maíz	1.32 a	84.63 c	2.06 ab	9.71 c	2.91 a	39.00 cde	
T3	Aislamiento A3 en panca de maíz	1.09 c	102.94 a	2.26 a	11.17 bc	3.07 a	45.81 b	
T4	Aislamiento A4 en panca de maíz	0.99 cd	96.88 ab	2.08 ab	11.75 b	2.81 ab	51.77 a	
T5	Aislamiento A4 en paja de arroz	0.84 d	73.94 d	1.41 c	12.13 b	2.04 c	42.24 bcd	
T6	Aislamiento A3 en paja de arroz	0.89 d	73.44 d	1.39 c	12.29 b	1.99 c	37.74 de	
T7	Aislamiento A2 en paja de arroz	1.12 bc	66.69 d	1.30 c	11.88 b	1.89 c	33.94 e	
T8	Aislamiento A1 en paja de arroz	1.08 c	75.43 d	1.28 c	14.33 a	1.75 c	35.26 e	
<b>Coefficiente de variabilidad</b>		10.82%	6.77%	8.06%	8.54%	9.49%	8.69%	

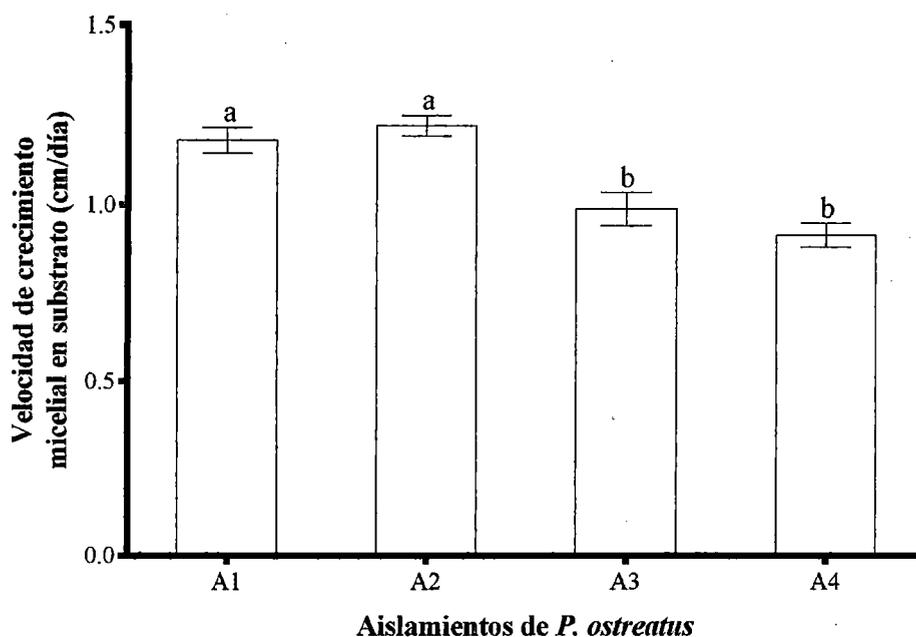
(i) Comparación de medias de tukey con  $\alpha=0.05$



**Figura 8: Resultado promedio de la velocidad de crecimiento micelial en sustrato, en función a los tratamientos formados por la interacción de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz y paja de arroz.**

En el cuadro 9 y la figura 9 se puede observar la velocidad de crecimiento micelial en sustrato, en función a los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha. Los aislamientos A2 y A1 obtuvieron los valores más altos con 1.22 y 1.18 de VCS. Los promedios obtenidos por los aislamientos A3 y A4 obtuvieron los valores más bajos con 0.99 y 0.92 de VCS.

Los aislamientos A2 y A1 no presentaron diferencias significativas entre sí, pero presentaron diferencias significativas al compararlos con los aislamientos A3 y A4. Los aislamientos A3 y A4 no presentaron diferencias significativas entre sí.



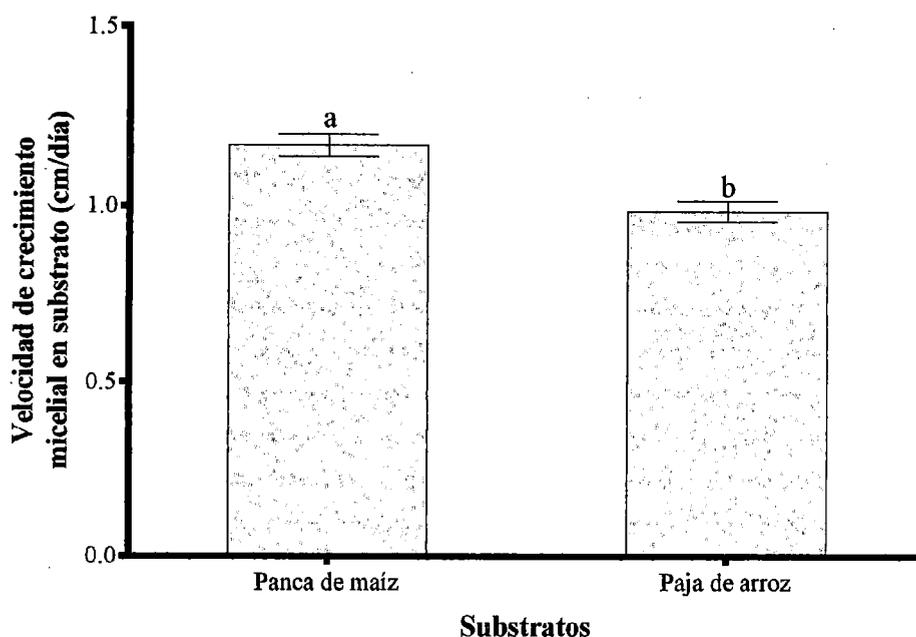
**Figura 9: Resultado promedio de la velocidad de crecimiento micelial en sustrato, en función a los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha.**

En el cuadro 12 y la figura 10 se puede observar la velocidad de crecimiento micelial en sustrato, en función a los sustratos inoculados por los aislamientos de *P. ostreatus*. Se obtuvieron mejores resultados en los sustratos cuya composición fue panca de maíz logrando el mayor promedio con 1.17 de *VCS*, por su parte se obtuvieron resultados menores en paja de arroz con 0.99 de *VCS*.

**Cuadro 12: Resultado promedio de cada variable analizada en función a los substratos inoculados con los cuatro aislamientos de *P. ostreatus*, en la etapa productiva.**

Substratos	Variables evaluadas <sup>i</sup>					
	Velocidad de crecimiento micelial en substrato (cm/día)	Eficiencia biológica (%)	Tasa de producción (%)	Precocidad (días)	Razón de producción (kg/día)	Biodegradación del substrato (%)
Panca de maíz	1.17 a	93.83 a	2.07 a	12.66 a	2.82 a	45.03 a
Paja de arroz	0.99 b	72.37 b	1.35 b	11.18 b	1.92 b	37.29 b
<b>Coefficiente de variabilidad</b>	10.82%	6.77%	8.06%	8.54%	9.49%	8.69%

(<sup>i</sup>) Comparación de medias de tukey con  $\alpha = 0.05$



**Figura 10: Resultado promedio de la velocidad de crecimiento micelial en sustrato, en función a los sustratos inoculados con los cuatro aislamientos de *P. ostreatus*.**

Esta evaluación corroboró el comportamiento de cada aislamiento obtenido anteriormente en la etapa *in vitro*, pero esta vez sometidos a sustratos de origen vegetal, sin embargo los resultados mostraron lo contrario, en esta ocasión los aislamientos A2 y A1 obtuvieron los mejores resultados. Este comportamiento pudo estar influenciado por la granulometría del sustrato, las temperaturas encontradas en los sustratos en la etapa de incubación (entre 21 a 25 °C) o por la cantidad de semilla o tasa de inoculación utilizada (en este caso 3 %), que pudieron permitir una rápida colonización.

Los resultados del ANVA mostraron que no existe interacción **aislamiento x sustrato**, caso que nos sugiere interpretar que los aislamientos tendrán el mismo comportamiento en términos de velocidad de crecimiento micelial y/o velocidad de colonización en panca de maíz y paja de arroz, prácticamente el crecimiento micelial y el número de días que demorarían en la etapa de incubación para completar la colonización del sustrato serían similares en ambos casos.

Una situación importante a considerar es que los sustratos en evaluación no tuvieron el mismo tamaño de partícula, factor que puede afectar directamente a la velocidad de colonización, debido a que se utilizó los sustratos disponibles en el mercado sin modificar sus características granulométricas, solo la panca de maíz se adquirió de forma picada.

Saber que un aislamiento presenta mayor velocidad de colonización, según Stamets & Chilton (1983) permitiría reducir las contaminaciones en la etapa de incubación que duran generalmente de 10 a 14 días, rango de días que ha coincidido con los resultados del experimento para esta variable.

La variable en estudio fue calculada a partir de la estimación de un radio de crecimiento entre los días que necesitó cada aislamiento de *P. ostreatus* para completar “visiblemente” su máxima colonización en el substrato. En esta etapa de incubación no se pudo corroborar si el micelio tuvo una colonización completa o superficial del substrato realizando una abertura interna de cada bolsa, evaluación hecha en otras especies como en *Agrocybe cylindracea* desarrollada por Santa María (2006), debido que el período productivo de *P. ostreatus* es mayor llegando hasta los 60 días después de la siembra.

### 5.2.2. Eficiencia biológica (*EB*)

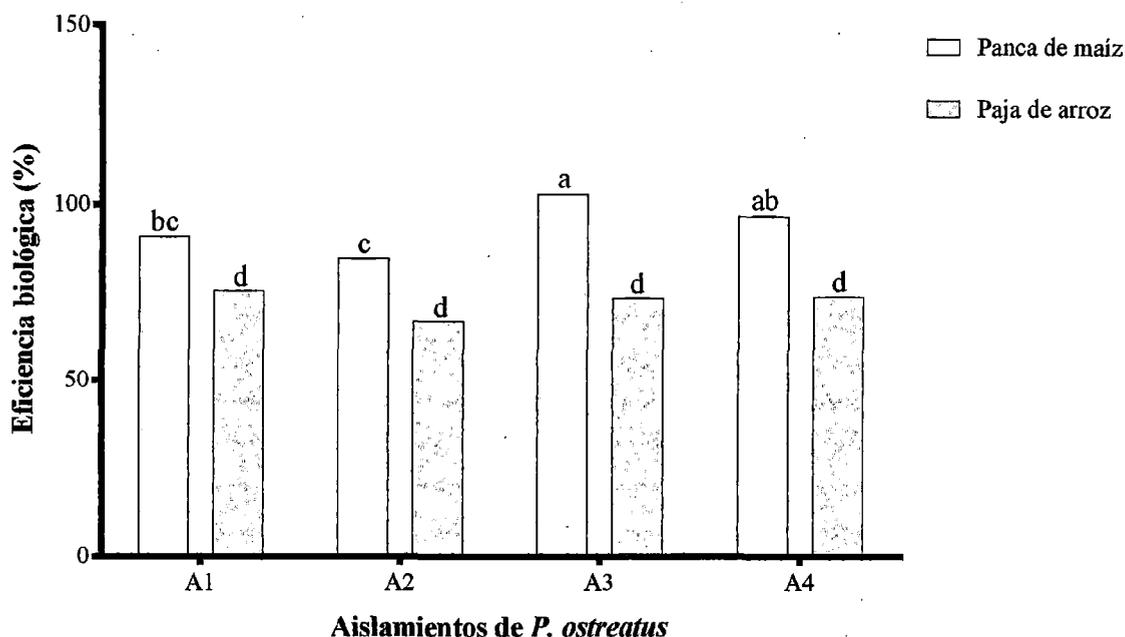
En el **cuadro 11** y la **figura 11** podemos observar la eficiencia biológica obtenida en cada tratamiento formado por la interacción **aislamiento x substrato** al finalizar el período productivo con una tercera oleada productiva. Los resultados del ANVA mostrados en el **anexo 12** indican que existen diferencias significativas entre la interacción **aislamiento x substrato**, diferencias significativas entre los aislamientos y diferencias significativas entre los substratos utilizados.

El promedio general de las unidades experimentales fue de 83.10 para los valores de eficiencia biológica (*EB*), expresados en porcentaje (%).

Los tratamientos T3 (A3PC), T4 (A4PC), T1 (A1PC) y T2 (A2PC), alcanzaron los valores más altos con 102.94, 96.88, 90.88 y 84.63 de *EB*, respectivamente. Los tratamientos T8 (A1PJ), T5 (A4PJ), T6 (A3PJ) y T7 (A2PJ), por su parte presentaron valores menores con 75.43, 73.94, 73.44 y 66.69 de *EB*, respectivamente.

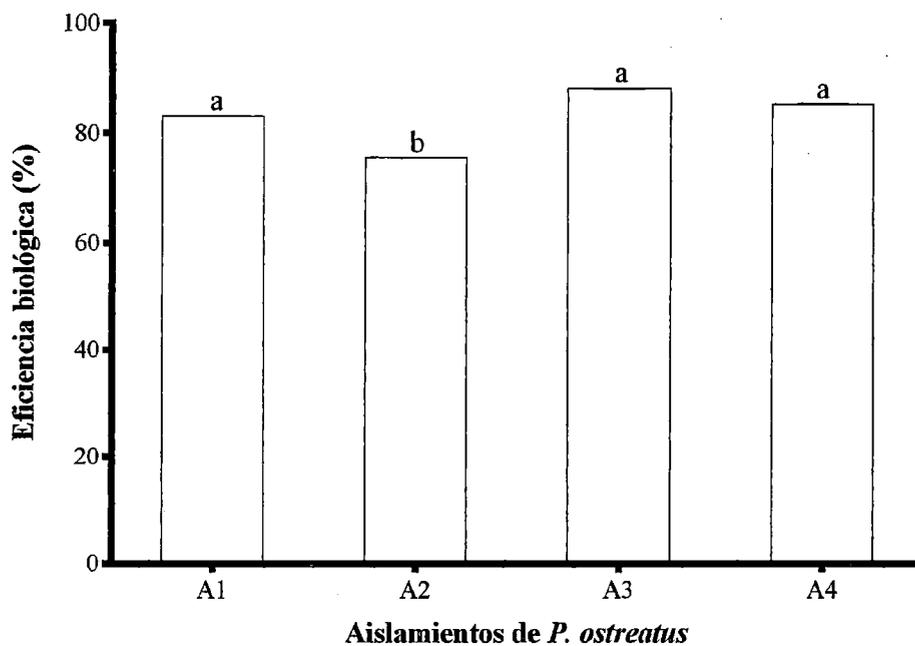
El tratamiento T3 (A3PC) no presentó diferencias significativas con el tratamiento T4 (A4PC). El tratamiento T4 (A4PC), no presentó diferencias significativas con el tratamiento T3 (A3PC) y T1 (A1PC). El tratamiento T1 (A1PC), no presentó diferencias significativas con el tratamiento T4 (A4PC) y el tratamiento T2 (A2PC). El tratamiento T2 (A2PC) no presentó diferencias significativas con el tratamiento T1 (A1PC), pero si presentó diferencias significativas con los tratamientos T3 (A3PC), T4 (A4PC), T8 (A1PJ), T5 (A4PJ), T6 (A3PJ) y T7 (A2PJ). Los tratamientos T8 (A1PJ), T5 (A4PJ), T6 (A3PJ) y T7 (A2PJ), no presentaron

diferencias significativas entre sí.



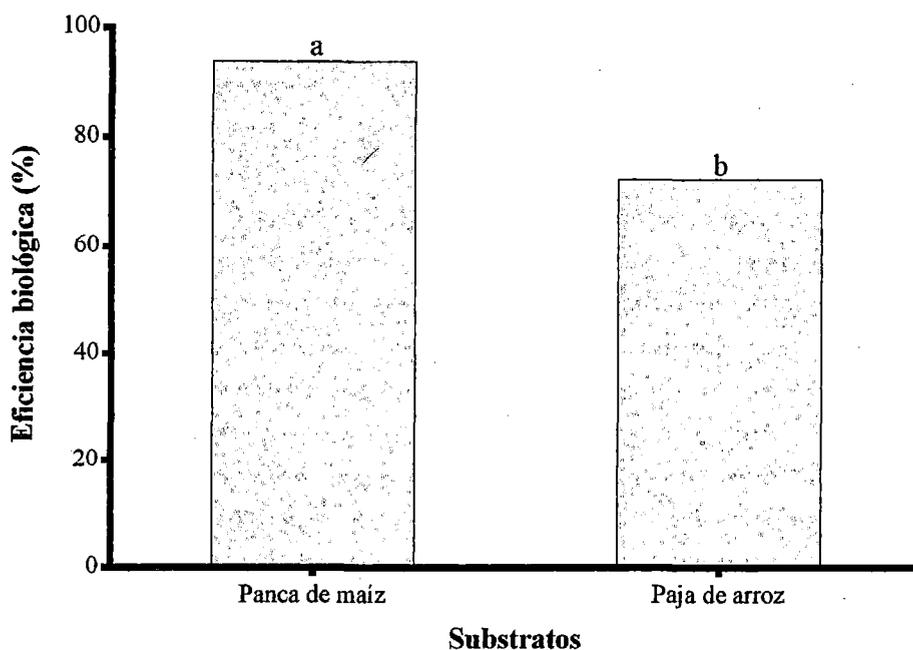
**Figura 11: Resultado promedio de la eficiencia biológica, en función a los tratamientos formados por la interacción de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz y paja de arroz.**

En el **cuadro 9** y la **figura 12** se puede observar la eficiencia biológica obtenida, en función a los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha. Analizando los promedios obtenidos, podemos observar que los aislamientos A3, A4 y A1 alcanzaron los valores más altos con 88.19, 85.41 y 83.15 de *EB*, respectivamente, no presentando diferencias significativas entre sí. Los aislamientos A3, A4 y A1 presentaron diferencias significativas con el aislamiento A2 que obtuvo el valor promedio más bajo con 75.66 de *EB*.



**Figura 12: Resultado promedio de la eficiencia biológica, en función a los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha.**

En el cuadro 12 y la figura 13 se puede observar la eficiencia biológica obtenida, en función a los substratos inoculados por los aislamientos de *P. ostreatus*. Se obtuvieron mejores resultados con los substratos cuya composición era panca de maíz logrando el mayor promedio con 93.83 de *EB*, por su parte se obtuvieron resultados menores en paja de arroz con 72.37 de *EB*.



**Figura 13: Resultado promedio de la eficiencia biológica, en función a los substratos inoculados con los cuatro aislamientos de *P. ostreatus*.**

La eficiencia biológica es uno de los indicadores más usados para representar el rendimiento de un cultivo de hongos, sin embargo puede verse afectado por contaminantes (generado por la competencia entre los patógenos con los hongos) o por efecto del exceso de  $CO_2$  por malas condiciones de aireación, que según Albertó (2008) genera una elongación de los estípites y una disminución drástica de los rendimientos.

Los resultados del ANVA mostraron que si hay interacción **aislamiento x sustrato** situación que sugiere que en cualquiera de los substratos usados, los hongos en evaluación tendrían un comportamiento y resultados diferentes, como se puede observar en la **figura 11** donde los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en paja de arroz no tuvieron diferencias significativas. Los hongos cultivados en panca de maíz presentaron superioridad y diferencias significativas con mejores rendimientos frente a los hongos cultivados en paja de arroz.

El aislamiento A2 obtuvo el menor valor promedio de eficiencia biológica, interpretado como un menor rendimiento a comparación de los aislamientos A3, A4 y A1, que si bien es cierto alcanzaron mayores rendimientos, éstos mismos no presentaron diferencias significativas entre sí. Diferencias que estadísticamente coincidieron con los resultados

encontrados en la etapa *in vitro*. Sin embargo la eficiencia biológica no debe considerarse como el único y más importante indicador del rendimiento, sino también considerar que dentro del sistema productivo de un hongo, tiene que considerarse la tasa de producción así como su razón de producción que relacionan la precocidad inherente de los mismos, los cuales podrían generar más ciclos productivos o en todo caso más oleadas productivas en el mismo período productivo, caso que sucede con el aislamiento A2. Por tal motivo es importante aclarar que esta evaluación está en función de tres oleadas productivas, quizás si se hubiesen evaluado más oleadas productivas podrían verse hasta qué punto límite los hongos tienen una producción, lo que provocaría otra idea de la capacidad productiva en la eficiencia biológica.

Según experiencias anteriores realizadas en el Módulo de Investigación en Hongos Comestibles aseguraban que el aislamiento A3 tenía baja eficiencia biológica, situación que contradice los resultados de esta investigación, sin embargo se debe aclarar que este aislamiento A3 fue conservado directamente de un basidiocarpo, luego aislado en tubo de ensayo y finalmente cultivado en una placa petri, la cual fue otorgada para esta investigación, caso contrario ocurrió en las otras experiencias que generalmente se realizaron directamente de una placa petri continuamente repicada de placa en placa, sin ser recuperada o aislada de un basidiocarpo, incluso en esas experiencias no se realizó un diseño estadístico para su evaluación, lo cual nos sugiere que posiblemente el hecho de recuperar un aislamiento a partir de un basidiocarpo podría mejorar la capacidad en términos de rendimiento. Otro aspecto en las diferencias productivas puede deberse a la estación en la cual se realizó el experimento, ya que no es lo mismo cultivar un tipo de cepa en verano o en invierno, tarea pendiente que deberá corroborarse en experimentos futuros. Quizás para este experimento la estación del año y las condiciones ambientales fueron favorables para obtener esos resultados, no obstante quiero indicar que en términos de aspecto y calidad de setas definitivamente el aislamiento A3 y en menor grado el aislamiento A4 presentaron problemas de deformación y píleos pequeños en todo su período productivo.

Todo el sistema productivo en el cual se desarrolló el experimento, no sufrió mermas por contaminación del substrato que afectaran a las unidades experimentales, asimismo tampoco hubo incidencia de plagas y/o patógenos. No obstante si hubo un efecto de la aireación que ocasionó la elongación de los estípites, provocando por esa razón una alta producción de sombreros o píleos pequeños clasificados así para este experimento.

El recinto o sala de **inducción-fructificación** fue un ambiente adaptado para este fin, donde

se trató de controlar la humedad relativa con aspersiones de agua en todo el recinto asimismo renovar el aire seis horas por día asemejándonos a lo recomendado por Stamets & Chilton (1983) y Albertó (2008), sin embargo no se pudo corregir la incidencia de píleos pequeños, aunque algunos aislamientos si presentaron un equilibrio en la producción de píleos pequeños y medianos, logrando en algunos casos producir píleos grandes.

La incidencia de píleos pequeños fue una situación general y no aislada, en ese sentido podemos interpretar que el potencial genético de los hongos no fue alterado, esto quiere decir que solo se vió afectada la morfología de los basidiocarpos pero no su potencial productivo. Las eficiencias biológicas estuvieron dentro de los rangos indicados por Albertó (2008) y Sánchez & Royse (2002), de 80 a 150 % y de 50 a 170 %, respectivamente, usando como substratos restos de cosecha a base de gramíneas.

La eficiencia biológica se calculó con el peso fresco total de basidiocarpos producidos en tres oleadas productivas a pesar que muchas bolsas o unidades experimentales después de retiraras del ambiente continuaron produciendo pero en menor medida, lo que muestra que el ambiente del recinto si tuvo condiciones ambientales constantes. El número de oleadas productivas fueron consideradas según Ardón (2007) que recomienda aprovechar la producción hasta la tercera oleada ya que indica que el 80 por ciento de la producción es obtenida durante las dos primeras oleadas, también coincidimos con una producción escalonada la cual se muestra en el **anexo 6**, la cual coincidió también con los resultados de Fan & Soccol (2002) aun cuando ellos realizaron el cultivo de *P. ostreatus* en restos de café.

### 5.2.3. Tasa de producción ( $T_p$ )

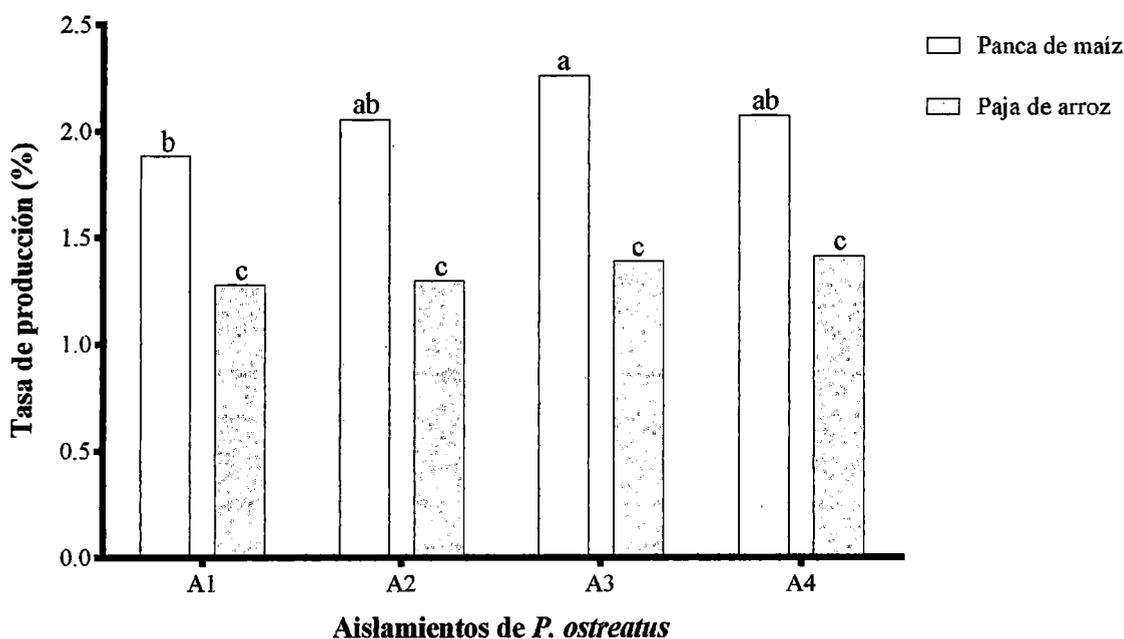
En el **cuadro 11** y la **figura 14**, podemos observar la tasa de producción obtenida en cada tratamiento formado por la interacción **aislamiento x substrato** a partir de la relación entre la eficiencia biológica y el número de días que necesitaron para terminar su período productivo desde la siembra hasta su tercera oleada productiva. Los resultados del ANVA mostrados en el **anexo 13** indican que existen diferencias significativas entre la interacción **aislamiento x substrato**, diferencias significativas entre los aislamientos y diferencias significativas entre los substratos utilizados.

El promedio general de las unidades experimentales es de 1.71 para los valores de tasa de producción ( $T_p$ ), expresados en porcentaje diario (%).

Los tratamientos T3 (A3PC), T4 (A4PC), T2 (A2PC) y T1 (A1PC), alcanzaron los valores

más altos con 2.26, 2.08, 2.06 y 1.88 de  $T_p$ , respectivamente. Los tratamientos T5 (A4PJ), T6 (A6PJ), T7 (A2PJ) y T8 (A1PJ), por su parte presentaron valores menores con 1.41, 1.39, 1.30 y 1.28 de  $T_p$ , respectivamente.

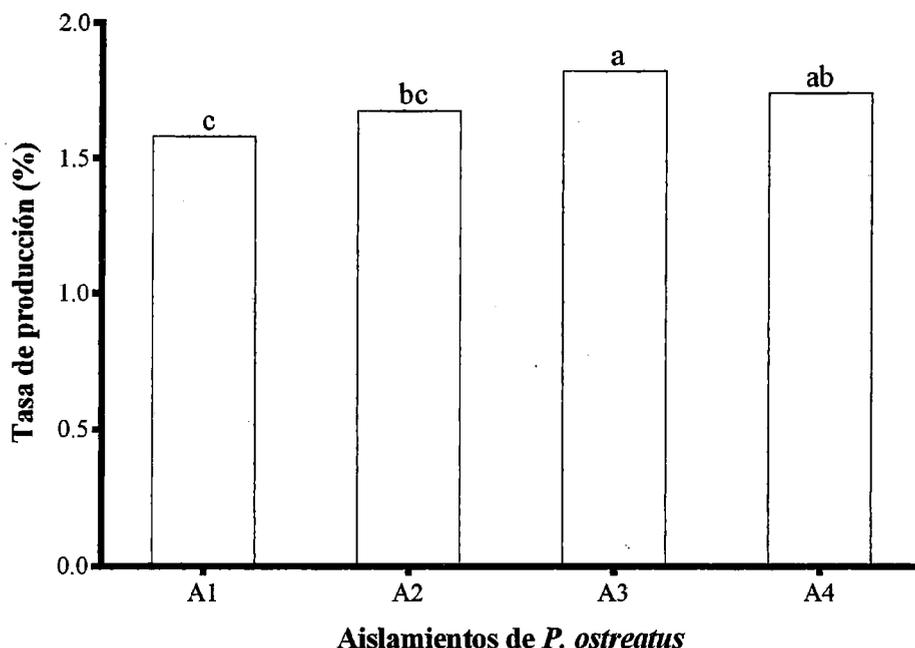
El tratamiento T3 (A3PC) no presentó diferencias significativas con los tratamientos T4 (A4PC) y T2 (A2PC). El tratamiento T4 (A4PC), no presentó diferencias significativas con los tratamientos T3 (A3PC), T2 (A1PC) y T1 (A1PC). El tratamiento T2 (A2PC), no presentó diferencias significativas con los tratamientos T4 (A4PC) y T1 (A1PC). El tratamiento T1 (A1PC) no presentó diferencias significativas con los tratamientos T4 (A4PC) y T2 (A2PC), pero sí presentó diferencias significativas con los tratamientos T5 (A4PJ), T6 (A3PJ), T7 (A2PJ) y T8 (A1PJ). Los tratamientos T5 (A4PJ), T6 (A3PJ), T7 (A2PJ) y T8 (A1PJ), no presentaron diferencias significativas entre sí.



**Figura 14: Resultado promedio de la tasa de producción, en función a los tratamientos formados por la interacción de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz y paja de arroz.**

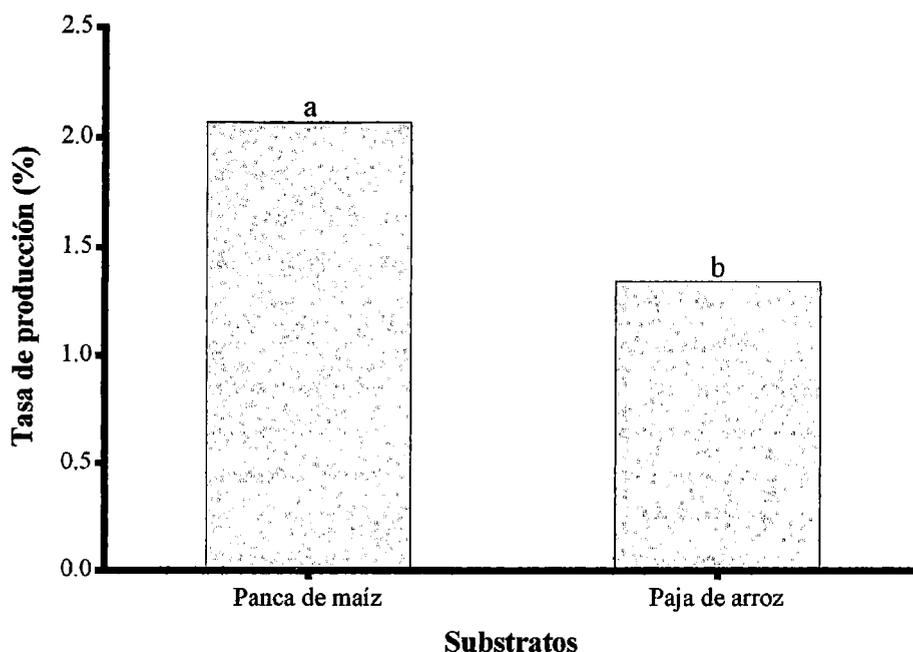
En el **cuadro 9** y la **figura 15** se puede observar la tasa de producción obtenida, en función a los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha. Analizando los promedios obtenidos podemos observar que el aislamiento A3 obtuvo el valor más alto con 1.83 de  $T_p$ , no presentando diferencias significativas con el aislamiento A4. El aislamiento A4

con un promedio de 1.75 en  $T_p$  no presentó diferencias significativas con los aislamientos A3 y A2. El aislamiento A2 con un promedio de 1.68 en  $T_p$  no presentó diferencias significativas con los aislamientos A4 y A1. El aislamiento A1 obtuvo el promedio más bajo con 1.58 en  $T_p$  y no presentó diferencias significativas con el aislamiento A2.



**Figura 15: Resultado promedio de la tasa de producción, en función a los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha.**

En el cuadro 12 y la figura 16 se puede observar la tasa de producción obtenida, en función a los substratos inoculados por los aislamientos de *P. ostreatus*. Se obtuvieron mejores resultados con los substratos cuya composición era panca de maíz logrando el mayor promedio con 2.07 de  $T_p$ , por su parte se obtuvieron resultados menores en paja de arroz con 1.35 de  $T_p$ .



**Figura 16: Resultado promedio de la tasa de producción, en función a los substratos inoculados con los cuatro aislamientos de *P. ostreatus*.**

Evaluar esta variable según Sánchez & Royse (2002) nos permite relacionar la eficiencia biológica y el tiempo en días para completar un ciclo del cultivo. Asimismo Salmones et al. (1997) considera que la tasa de producción es otro indicador del rendimiento, por lo mucho que es usado en trabajos de investigación para evaluar la productividad de *P. ostreatus*.

Esta variable puede ser influenciada por los mismos factores que afectan a la Eficiencia biológica como contaminantes en el sustrato y el exceso de  $CO_2$  por falta de aireación.

Los resultados del ANVA mostraron que existen diferencias significativas entre la interacción **aislamiento x sustrato**, de modo que se pueden obtener resultados diferentes al inocular un aislamiento en panca de maíz o paja de arroz, así tenemos que los mejores resultados y diferencias significativas de tasa de producción se encontraron en los aislamientos de *P. ostreatus* que fueron cultivados en panca de maíz. Los mismos aislamientos no presentaron diferencias significativas cuando cultivados en paja de arroz, que podría explicarse por el tipo de composición, volumen o granulometría del sustrato.

Si la tasa de producción es alta nos podría indicar que el período productivo es más corto, lo que representa mayor producción diaria y más períodos productivos al año. Conociendo la eficiencia biológica y la tasa de producción diaria de una cepa nos permitiría saber cuánto podría

durar un período productivo.

Si ordenamos los aislamientos decreciente en términos de tasa de producción tendríamos el siguiente orden: A3, A4, A2 y A1. Vale resaltar que el aislamiento A2 aun presentando el menor valor de eficiencia biológica en ambos substratos, su tasa de producción no fue inferior, lo que sería un indicador de su eficacia productiva al ser más corto su período productivo.

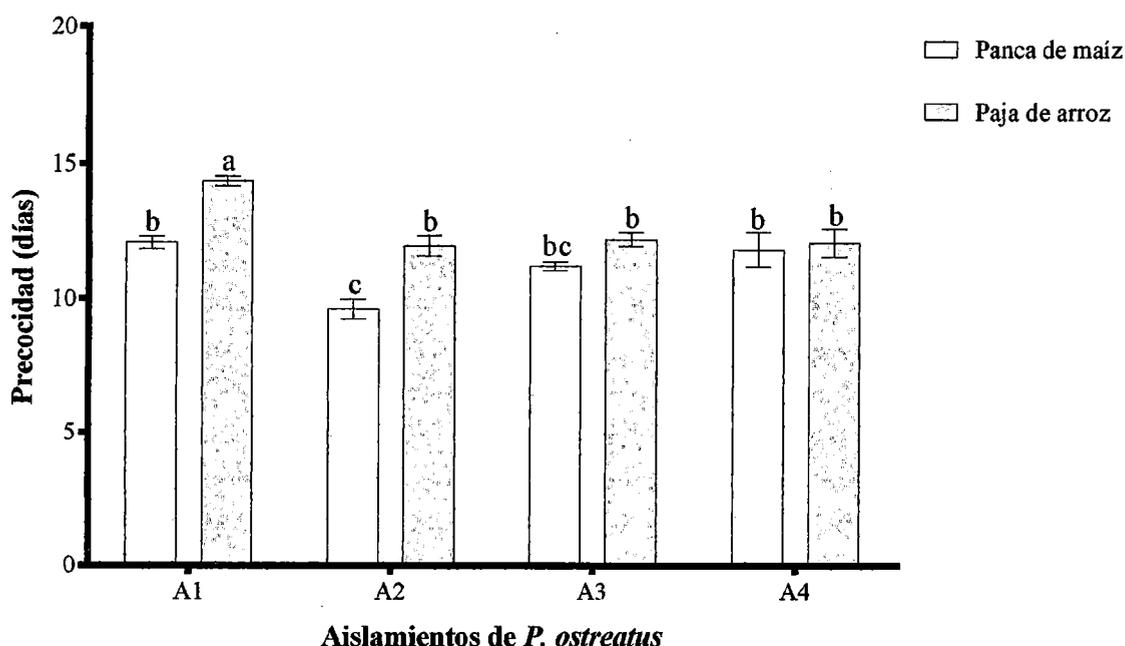
#### 5.2.4. Precocidad ( $P_{cd}$ )

En el **cuadro 11** y la **figura 17**, podemos observar el tiempo promedio que necesitó cada tratamiento formado por la interacción **aislamiento x substrato** para iniciar una oleada productiva. Los resultados del ANVA mostrados en el **anexo 14** indican que existen diferencias significativas entre la interacción **aislamiento x substrato**, diferencias significativas entre los aislamientos y diferencias significativas entre los substratos utilizados.

El promedio general de las unidades experimentales fue de 11.92 para los valores de precocidad ( $P_{cd}$ ), expresados en días.

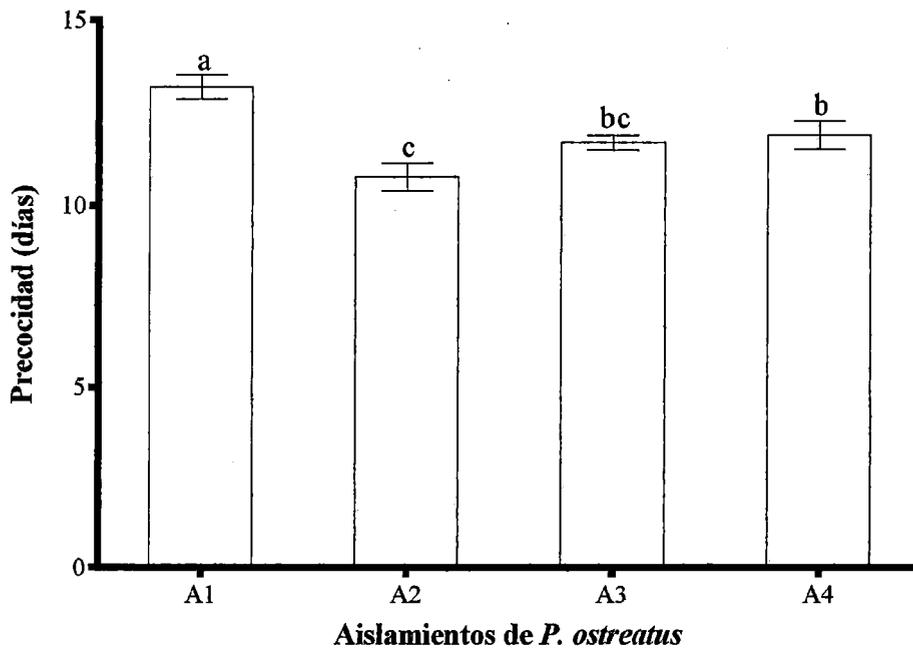
El tratamiento T8(A1PJ) alcanzó el valor más alto con 14.33 de  $P_{cd}$ . Los tratamientos T6 (A3PJ), T5 (A4PC), T1 (A1PC), T7 (A2PJ), T4 (A4PC) y T3 (A3PC) alcanzaron valores similares con 12.29, 12.13, 12.08, 11.88, 11.75 y 11.17 de  $P_{cd}$ , respectivamente. El tratamiento T2 (A2PC) presentó el valor más bajo con 9.71 de  $P_{cd}$ .

El tratamiento T8 (A1PJ) presentó diferencias significativas con todos los tratamientos. Los tratamientos T6 (A3PJ), T5 (A4PC), T1 (A1PC), T7 (A2PJ), T4 (A4PC) y T3 (A3PC) no presentaron diferencias significativas entre sí, pero presentaron diferencias significativas con los tratamientos T8 (A1PJ) y T2 (A2PC). El tratamiento T2 (A2PC) no presentó diferencias significativas con el tratamiento T3 (A3PC).



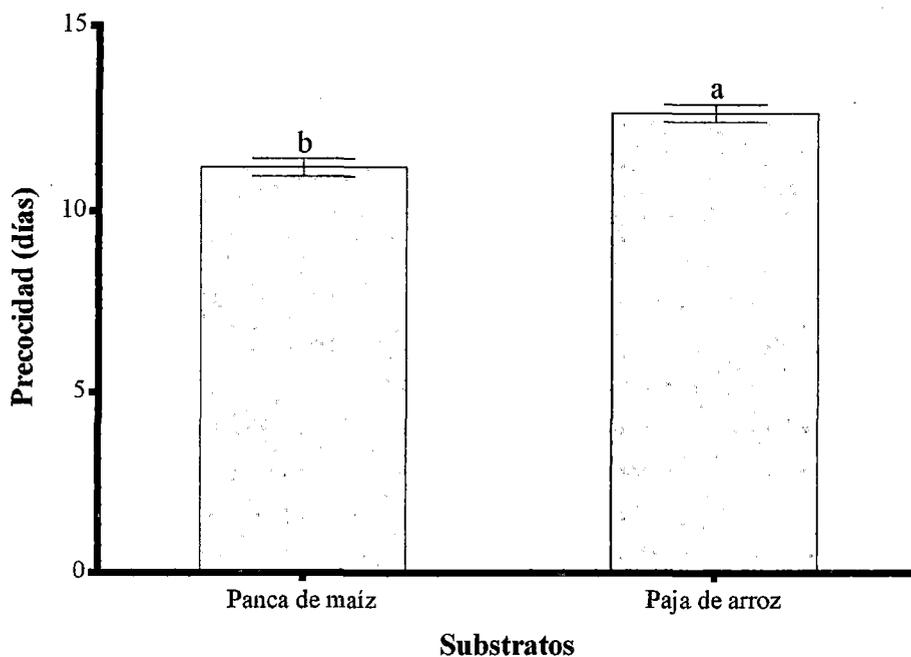
**Figura 17: Resultado promedio de la precocidad, en función a los tratamientos formados por la interacción de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz y paja de arroz.**

En el **cuadro 9** y la **figura 18** se puede observar la precocidad obtenida, en función a los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha. Analizando los promedios obtenidos podemos observar que el aislamiento A1 obtuvo el valor más alto con 13.21 de  $P_{cd}$ , presentando diferencias significativas con los demás aislamientos. El aislamiento A4 con un promedio de 11.94 de  $P_{cd}$  no presentó diferencias significativas con el aislamiento A3. El aislamiento A3 con un promedio de 11.73 de  $P_{cd}$  no presentó diferencias significativas con los aislamiento A4 y A2. El aislamiento A2 obtuvo el promedio más bajo con 10.79 de  $P_{cd}$  y no presentó diferencias significativas con el aislamiento A3.



**Figura 18: Resultado promedio de la precocidad, en función a los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha.**

En el **cuadro 12** y la **figura 19** se puede observar la precocidad obtenida, en función a los substratos inoculados por los aislamientos de *P. ostreatus*. Se obtuvo un promedio menor de días para producir una oleada con el substrato cuya composición era panca de maíz logrando 11.17 de  $P_{cd}$ , por su parte en paja de arroz alcanzó un promedio mayor con 12.65 de  $P_{cd}$ .



**Figura 19: Resultado promedio de la precocidad, en función a los substratos inoculados con los aislamientos de *P. ostreatus*.**

La precocidad es una característica inherente de un hongo, cepa o aislamiento utilizado. Mientras mayor sea este valor de precocidad significa que el hongo es menos precoz, esto es, que tiene un mayor período de recuperación o intervalo de tiempo para producir una oleada.

Este valor es resultado del promedio de cada intervalo de tiempo para producir una oleada y puede verse afectado principalmente por el vigor del hongo en uso (edad de conservación), la cantidad de inóculo secundario (**tasa de inoculación**) usado y el tamaño de la partícula (granulometría del sustrato), que podría hacer que los días se atrasen o adelanten, sin embargo este valor no afecta el rendimiento de la eficiencia biológica pero sí a la tasa de producción y a la razón de producción.

El tamaño de la partícula es un factor importante que se debe considerar, porque partículas muy pequeñas al ser más compactas debido al poco espacio entre ellas, provocaría que los gases no difundan provocando la falta de oxígeno necesario para llevar el proceso de respiración.

Según Albertó (2008) si las partículas son muy grandes resultaría un sustrato “flojo” que impediría la adecuada colonización del micelio afectando los rendimientos. Inclusive si se utiliza pajas de cereales con un tamaño de caña muy grande no permitiría una buena compactación y en ocasiones provocaría rupturas de las bolsas dificultando el embolsado.

Los resultados del ANVA mostraron que existen diferencias significativas entre la interacción **aislamiento x sustrato** de modo que usando panca de maíz y paja de arroz los aislamientos de *P. ostreatus* tendrían valores de precocidad diferente, los cuales se observaron en la **figura 17** siendo solamente el aislamiento A2 cultivado en panca de maíz el más precoz a diferencia de los demás tratamientos que fueron similares. Todos los aislamientos fueron más precoces al ser inoculados en panca de maíz. Sin embargo prácticamente el aislamiento A4 tendría los mismos valores de precocidad cultivado en ambos sustratos. El aislamiento A2 fue el más precoz, seguido del aislamiento A3 y A4. El aislamiento más tardío (menos precoz) pero no menos importante fue el A1, aunque su comportamiento cambia notoriamente al ser cultivado en panca de maíz, reduciendo ese intervalo de tiempo. Los resultados están dentro de lo indicado por Stamets & Chilton (1983) y Albertó (2008) con intervalos de tiempo de 10 días aproximadamente (de oleada a oleada).

#### **5.2.5. Razón de producción ( $R_p$ )**

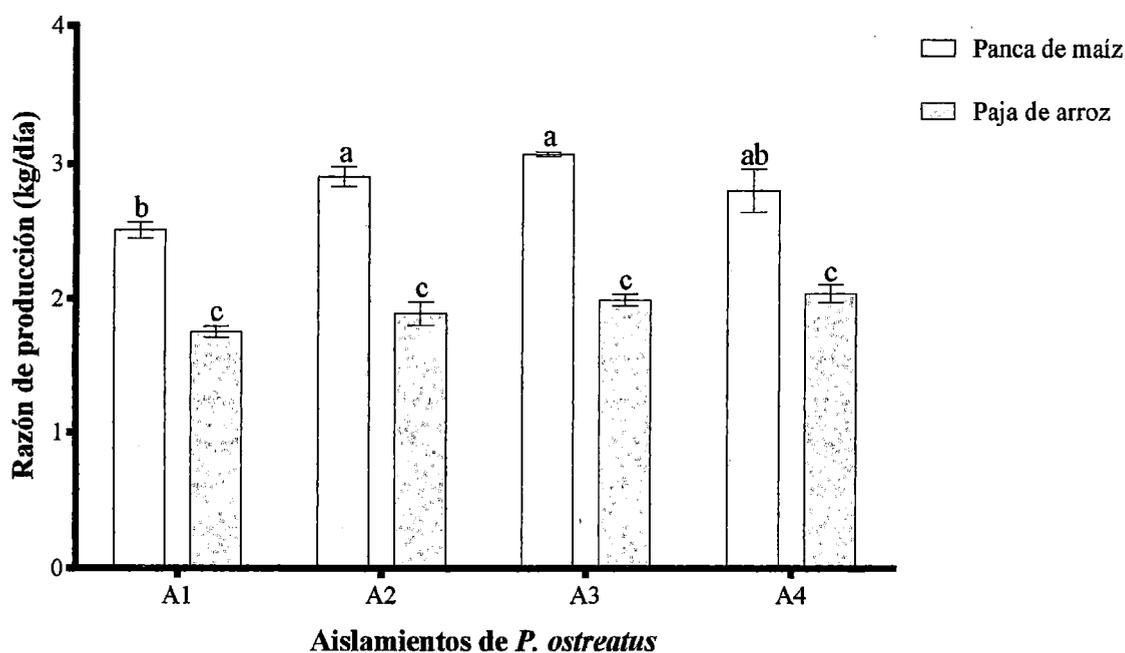
En el **cuadro 11** y la **figura 20**, podemos observar el peso fresco de biomasa fúngica cosechada por cada unidad de tiempo empleada para producirla en sus tres oleadas productivas, valores calculados para cada tratamiento formado por la interacción **aislamiento x sustrato**, considerando que cada oleada productiva está determinada por la precocidad promedio inherente de cada hongo. Los resultados del ANVA mostrados en el **anexo 15** indican que no existen diferencias significativas entre la interacción **aislamiento x sustrato**, pero sí diferencias significativas entre los aislamientos y diferencias significativas entre los sustratos usados.

El promedio general de las unidades experimentales fue de 2.37 para los valores de razón de producción ( $R_p$ ), expresado en kilogramos por días (kg/día).

Los tratamientos T3 (A3PC) y T2 (A2PC), alcanzaron los valores más altos con 3.07 y 2.91 de  $R_p$ , respectivamente. Los tratamientos T4 (A4PC) y T1 (A1PC) obtuvieron valores intermedios con 2.81 y 2.51 de  $R_p$ , respectivamente. Por su parte los tratamientos T5 (A4PJ), T6 (A3PJ), T7 (A2PJ) y T8 (A1PJ) presentaron valores menores con 2.04, 1.99, 1.89 y 1.75 de  $R_p$ , respectivamente.

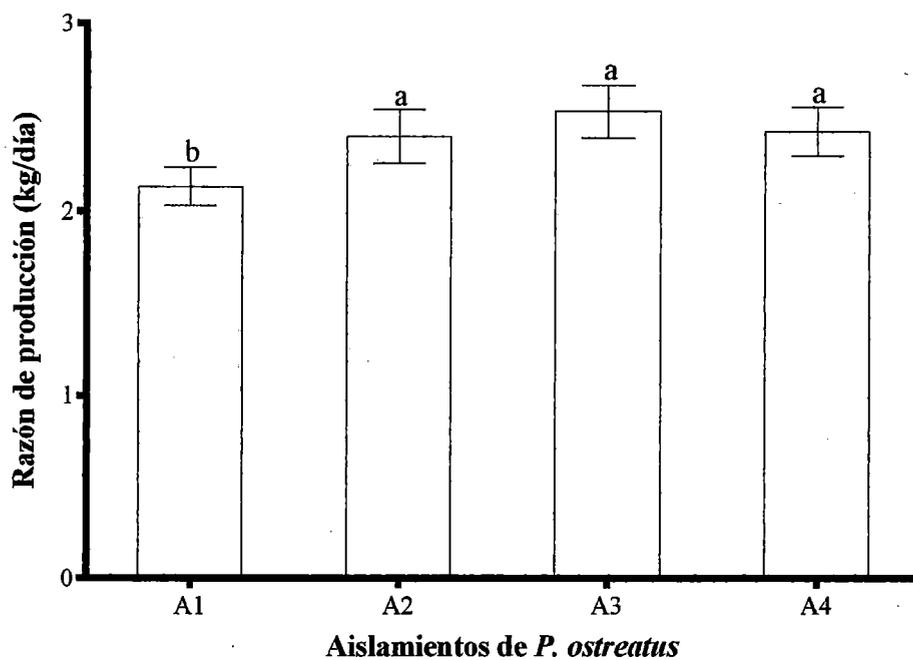
Los tratamientos T3 (A3PC), T2 (A2PC) y T4 (A4PC) no presentaron diferencias significativas entre sí. El tratamiento T1 (A1PC) no presentó diferencias significativas con el tratamiento T4 (A4PC). Los tratamientos T5 (A4PJ), T6 (A3PJ), T7 (A2PJ) y T8 (A1PJ) no

presentaron diferencias significativas entre sí.



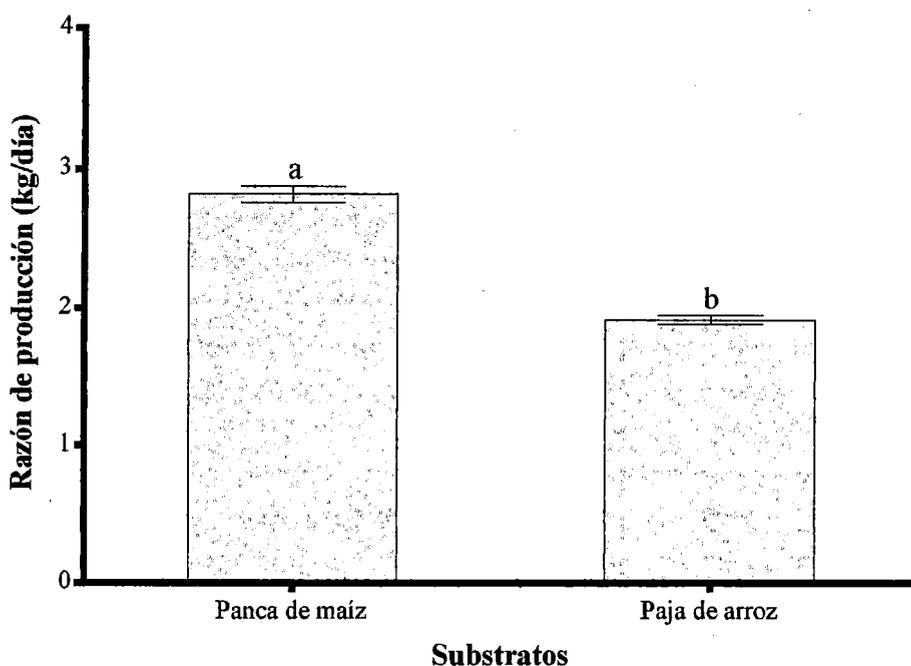
**Figura 20: Resultado promedio de la razón de producción, en función a los tratamientos formados por la interacción de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz y paja de arroz.**

En el cuadro 9 y la figura 21 se puede observar la razón de producción obtenida, en función a los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha. Analizando los promedios obtenidos podemos observar que A3 obtuvo el valor más alto con 2.53 de  $R_p$ , no presentando diferencias significativas con los aislamientos A4 y A2, con 2.43 y 2.40 de  $R_p$ , respectivamente. El aislamiento A1 obtuvo el promedio más bajo con 2.13 de  $R_p$  y presentó diferencias significativas con los aislamientos A3, A4 y A2.



**Figura 21:** Resultado promedio de la razón de producción, en función a los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha.

En el cuadro 12 y la figura 22 se puede observar la razón de producción obtenidas, en función a los sustratos inoculados por aislamientos de *P. ostreatus*. Se obtuvieron mejores resultados con los sustratos cuya composición era panca de maíz logrando el mayor promedio con 2.82 de  $R_p$ , por su parte se obtuvieron resultados menores en paja de arroz con 1.92 de  $R_p$ .



**Figura 22: Resultado promedio de la razón de producción, en función a los substratos inoculados con los cuatro aislamientos de *P. ostreatus*.**

La razón de producción según Ardón (2007) es un referente teórico que permite evaluar la precocidad del material genético, la eficacia del número de oleadas aprovechadas y del sistema en general en función del tiempo, cuyo valor tendrá que ser superado por cada productor seleccionando la mejor cepa y mejor substrato que de forma integral con el manejo del cultivo permita aumentar la eficiencia biológica o reducir el período productivo.

Esta variable puede estar afectada por la calidad genética del hongo, la eficiencia biológica, la cantidad y tipo de substrato, que de ser mejoradas permitiría aprovechar al máximo el espacio físico de la sala de fructificación.

Los resultados del ANVA indicaron que no se encontró la suficiente significancia entre la interacción **aislamiento x substrato** que permitieran que sean diferentes estadísticamente a un alfa de 0.05 de modo que los aislamientos inoculados en panca de maíz y paja de arroz tendrían resultados similares. En ese sentido en la **figura 20** se observa prácticamente en panca de maíz los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* no tienen diferencias significativas, situación similar se muestra cuando cultivados en paja de arroz.

Los aislamientos A3, A4 y A2 presentaron valores similares, pero mayores al aislamiento A1. En este punto podemos observar que el aislamiento A2 a pesar de presentar una baja

producción de basidiocarpos frescos presentó un alto valor de razón de producción muy similar con los aislamientos A3 y A4 que por su lado si produjeron mayor cantidad de basidiocarpos frescos.

En ese sentido considerando que la razón de producción es un valor que nos indica la efectividad de cada oleada, podemos observar que el aislamiento A2 fue uno de los aislamientos más eficientes, a pesar que obtuvo el menor valor de eficiencia biológica.

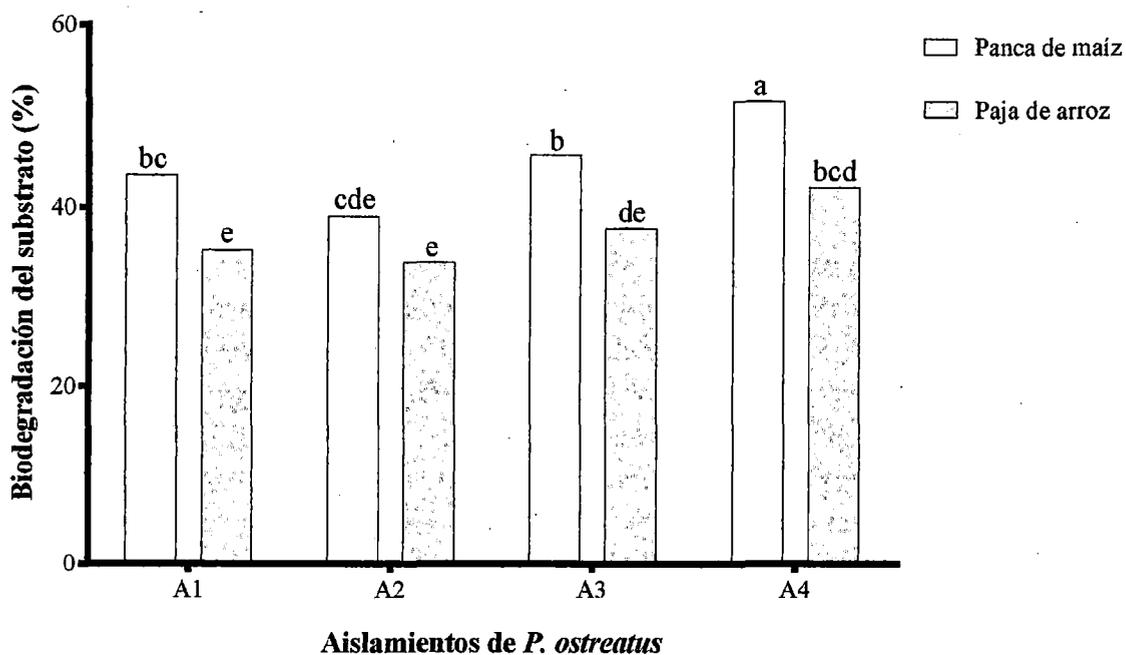
Como se indicó en los procedimientos esta variable fue estimada con fines prácticos para 100 unidades productivas, asimismo fue calculada para indicar el límite máximo teórico productivo de cada aislamiento de *P. ostreatus* al ser cultivado en un sustrato lignocelulósico, a una humedad aproximada de 70 % y compuesto por restos de gramíneas.

#### 5.2.6. Biodegradación del sustrato ( $B_s$ )

En el **cuadro 11** y la **figura 23**, podemos observar la biodegradación del sustrato ( $B_s$ ) en cada tratamiento formado por la interacción **aislamiento x sustrato**, evaluando la capacidad biodegradativa de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* al ser sembrados en panca de maíz y paja de arroz al final de su período productivo. Los resultados del ANVA mostrados en el **anexo 16**, indican que no existen diferencias significativas en la interacción **aislamiento x sustrato**, pero sí diferencias significativas entre cada aislamiento y diferencias significativas entre cada sustrato utilizado.

El promedio general de las unidades experimentales fue de 41.16 para los valores de biodegradación del sustrato ( $B_s$ ), expresados en porcentaje (%).

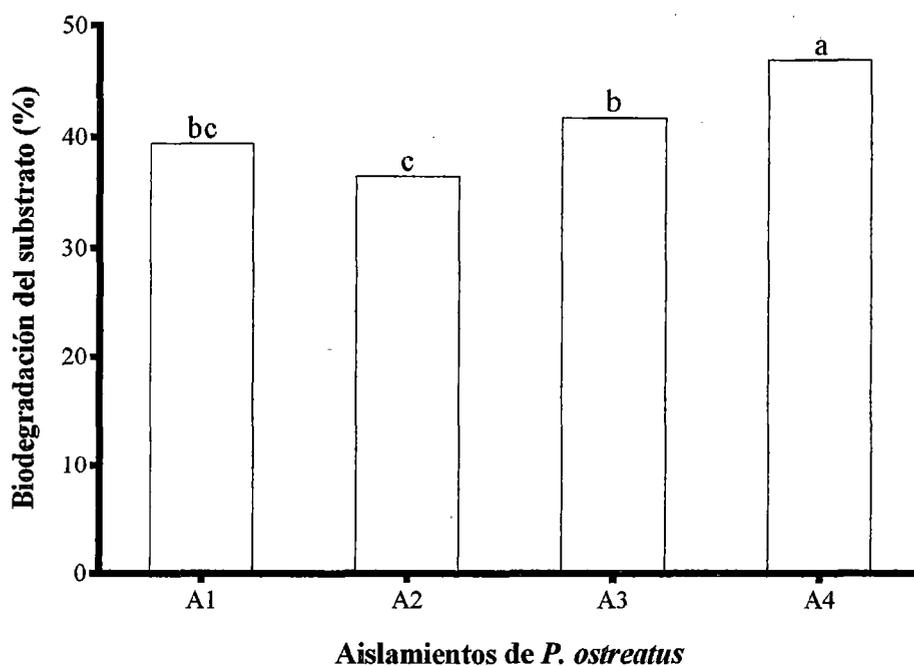
El tratamiento T4(A4PC) alcanzó el valor más alto con 51.77 de  $B_s$ . Los tratamientos T3(A3PC), T1(A1PC), T5(A4PJ), T2(A2PC), T6(A3PJ) y T8(A1PJ) obtuvieron valores intermedios con 45.81, 43.52, 42.23, 39.00, 37.74 y 35.26 de  $B_s$ , respectivamente. El tratamiento T7(A2PJ) alcanzó el valor más bajo con 33.94 de  $B_s$ . El tratamiento T4(A4PC), presentó diferencias significativas con todos los tratamientos. El tratamiento T3(A3PC) no presentó diferencias significativas con los tratamientos T1(A1PC) y T5(A4PJ). El tratamiento T1(A1PC) no presentó diferencias significativas con los tratamientos T3(A3PC), T5(A4PJ) y T2(A2PC). El tratamiento T5(A4PJ) no presentó diferencias significativas con los tratamientos T3(A3PC), T1(A1PC), T2(A2PC) y T6(A3PJ). Los tratamientos T2(A2PC), T6(A3PJ), T8(A1PJ) y T7(A2PJ) no presentaron diferencias significativas entre sí.



**Figura 23: Resultado promedio de la biodegradación del sustrato, en función a los tratamientos formados por la interacción de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz y paja de arroz.**

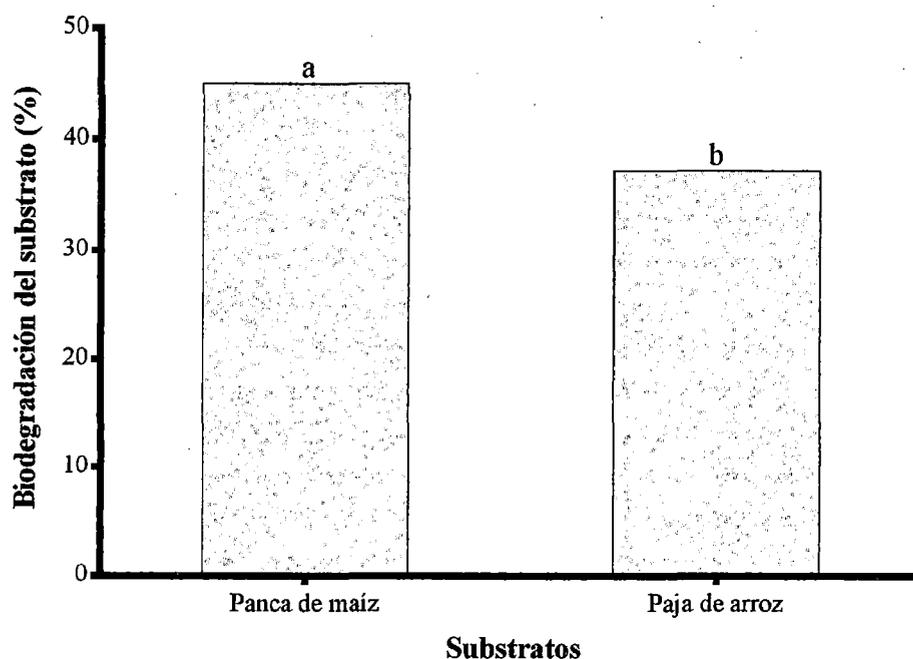
En el cuadro 9 y la figura 24 se puede observar la biodegradación del sustrato obtenidas en función a los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha. Analizando los promedios obtenidos podemos observar que el aislamiento A4 obtuvo el valor más alto con 47.00 de  $B_s$ , presentando diferencias significativas con los aislamientos A3, A1 y A2, con 41.77, 39.38 y 36.47 de  $B_s$ , respectivamente.

El aislamiento A3 no presentó diferencias significativas con el aislamiento A1. El aislamiento A1 no presentó diferencias significativas con los aislamientos A3 y A2. El aislamiento A2 presentó el valor más bajo con 36.47 de  $B_s$ , y presentó diferencias significativas con el aislamiento A4.



**Figura 24: Resultado promedio de la biodegradación del sustrato, en función a los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha.**

En el cuadro 12 y la figura 25 se puede observar la biodegradación del sustrato obtenidas, en función a los sustratos inoculados por aislamientos de *P. ostreatus*. Se obtuvieron mejores resultados con los sustratos cuya composición era panca de maíz logrando el mayor promedio con 45.02 de  $B_s$ , por su parte se obtuvieron resultados menores en paja de arroz con 37.29  $B_s$ .



**Figura 25: Resultado promedio de la biodegradación del sustrato, en función a los sustratos inoculados con los cuatro aislamientos de *P. ostreatus*.**

Según Monterroso (2007), el objetivo de esta variable es darnos una idea general de la facilidad que tendrán las plantas para absorber los nutrientes contenidos en los sustratos luego que eliminaron en gran medida, lignina y celulosa la cual fue utilizada por los hongos lignocelulósicos para su desarrollo y fructificación.

Con esta variable podríamos ver cuan útil serían los sustratos para las plantas y que tan rápidos serían descompuestos en el suelo después de ser usados en el proceso productivo de *P. ostreatus*.

Para los fines de este experimento esta variable es importante porque nos da una opción para observar la capacidad biodegradativa de los aislamientos en estudio, y tener una base importante para diferenciarlos y asimismo nos permitiría relacionar su capacidad de biodegradación con sus rendimientos o capacidad para producir fructificaciones.

Esta variable puede estar afectada por la calidad y vigor de la cepa como también de la composición del material a descomponer (relación C/N y pH), no todos los restos de cosecha presentan las mismas características. Algunos autores como Delfín-Alcalá & Durán-de Bazúa (2003) señalan que la biodegradación de los sustratos por los hongos del género *Pleurotus* está sujeta a la influencia de múltiples factores, entre ellos, actividad enzimática,

disponibilidad de oxígeno, composición del sustrato, interacción de micelio y sustrato, genotipos de la cepa, condiciones ambientales y estadio morfológico del cultivo, que en el experimento posiblemente pudieron influenciar en los resultados obtenidos.

Los resultados del ANVA mostraron que no existen diferencias significativas entre la interacción **aislamiento x sustrato**, de modo que el hongo se comportó de la misma manera en ambos sustratos, dando resultados similares entre los tratamientos, en ese sentido si evaluamos los sustratos usados, se puede observar que los mejores resultados se obtuvieron en panca de maíz que en paja de arroz, debido a la influencia que pudo generar la diferente granulometría y/o composición de cada sustrato en interacción con los diferentes aislamientos.

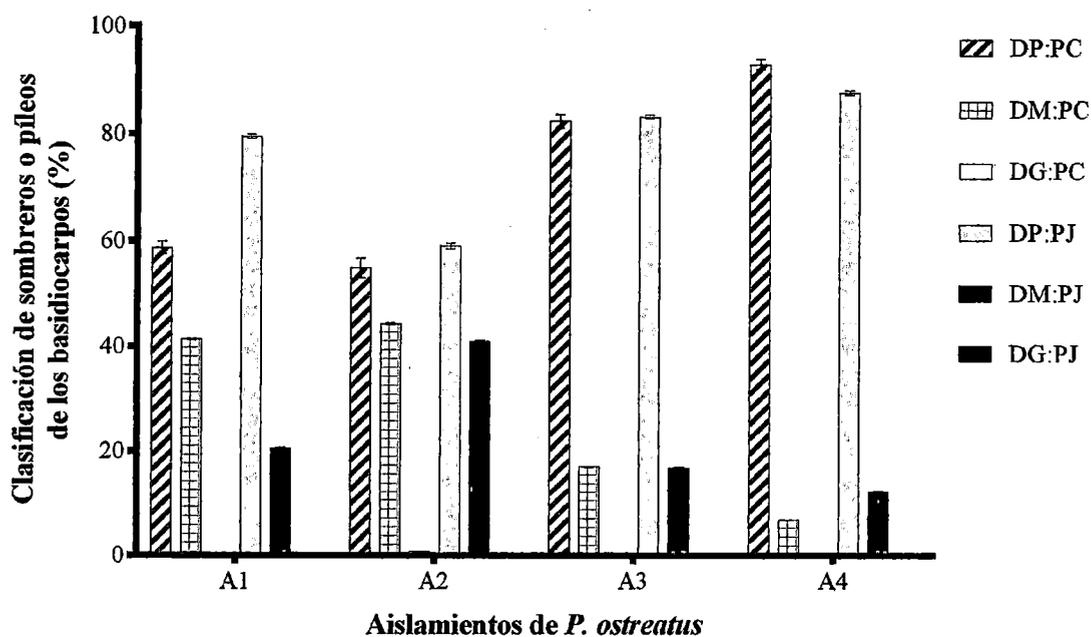
El hongo que presentó mayor valor de biodegradación fue el aislamiento A4, que también alcanzó unos de los valores más altos en eficiencia biológica, lo que demuestra su capacidad de bioconversión. Situación que coincide con los demás aislamientos, por ejemplo el aislamiento A2 fue el menor valor de biodegradación y también fue el menor valor de eficiencia biológica.

#### **5.2.7. Tamaño de sombreros o púleos de los basidiocarpos**

En las **figuras 26, 27 y 28** podemos observar los tamaños alcanzados por los sombreros o púleos de *P. ostreatus* en la primera, segunda y tercera oleada, respectivamente, todas expresadas en porcentajes (%), para diámetro pequeño en panca de maíz (DP:PC), diámetro pequeños en paja de arroz (DP:PJ), diámetro mediano en panca de maíz (DM:PC), diámetro mediano en paja de arroz (DM:PJ), diámetro grande en panca de maíz (DG:PC) y diámetro grande en paja de arroz (DG:PJ), según cada aislamiento. Clasificación mostrada en el **anexo 8**.

En la **figura 26** podemos observar que se produjo una mayor producción de sombreros o púleos de diámetro pequeño para todas las unidades experimentales en la **primera oleada**. En ese aspecto hubo muy poca incidencia de sombreros o púleos medianos y una nula presencia de sombreros o púleos grandes, a excepción del tratamiento T2 (A2PC) que tuvo un porcentaje minúsculo.

Analizando estos resultados podemos rescatar que el tratamientos T2 (A2PC), T7 (A2PJ) y T1 (A1PC) presentaron una equilibrada producción de sombreros o púleos pequeños y medianos.

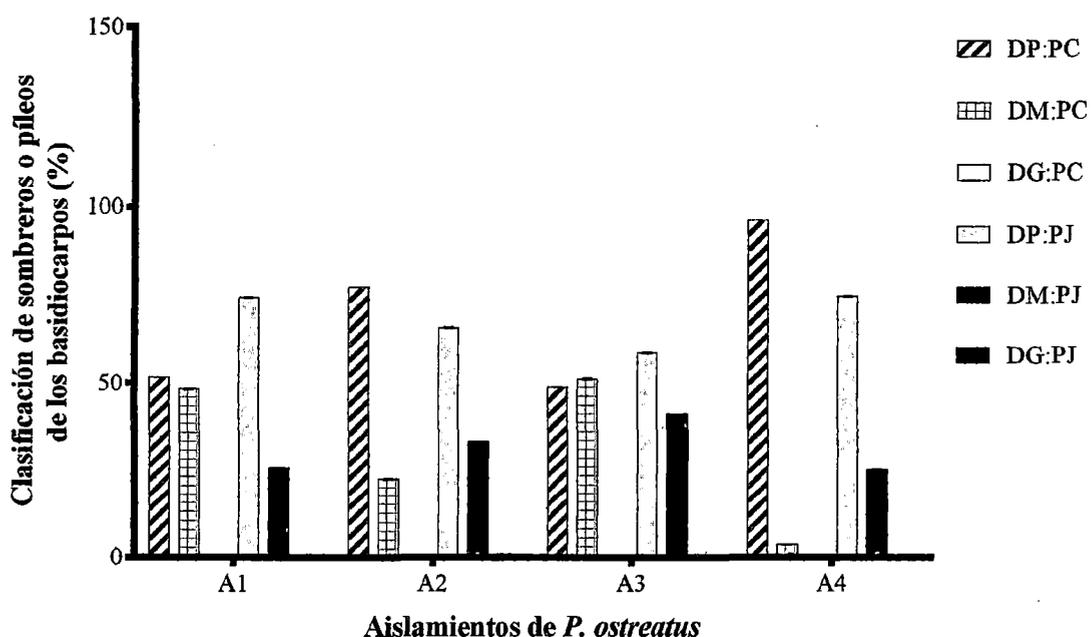


**Figura 26: Tamaño de sombreros o púleos en la primera oleada productiva, obtenidos por los cuatros aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz y paja de arroz.**

En figura 27 podemos observar que la producción de sombreros o púleos de diámetro pequeño permaneció para todos las unidades experimentales en la **segunda oleada**, sin embargo a una menor proporción que la anterior.

Permaneció la poca incidencia de sombreros o púleos medianos y la nula presencia de sombreros o púleos grandes, ésta vez con excepción del tratamiento T7(A2PJ) que tuvo un porcentaje minúsculo.

Analizando estos resultados podemos rescatar que el tratamientos T3 (A3PC), T6 (A3PJ), T1 (A1PC) y T7 (A2PJ) presentaron una equilibrada producción de sombreros o púleos pequeños y medianos, incluso el tratamiento T3 (A3PC) presentó una ligera superioridad de sombreros o púleos medianos.

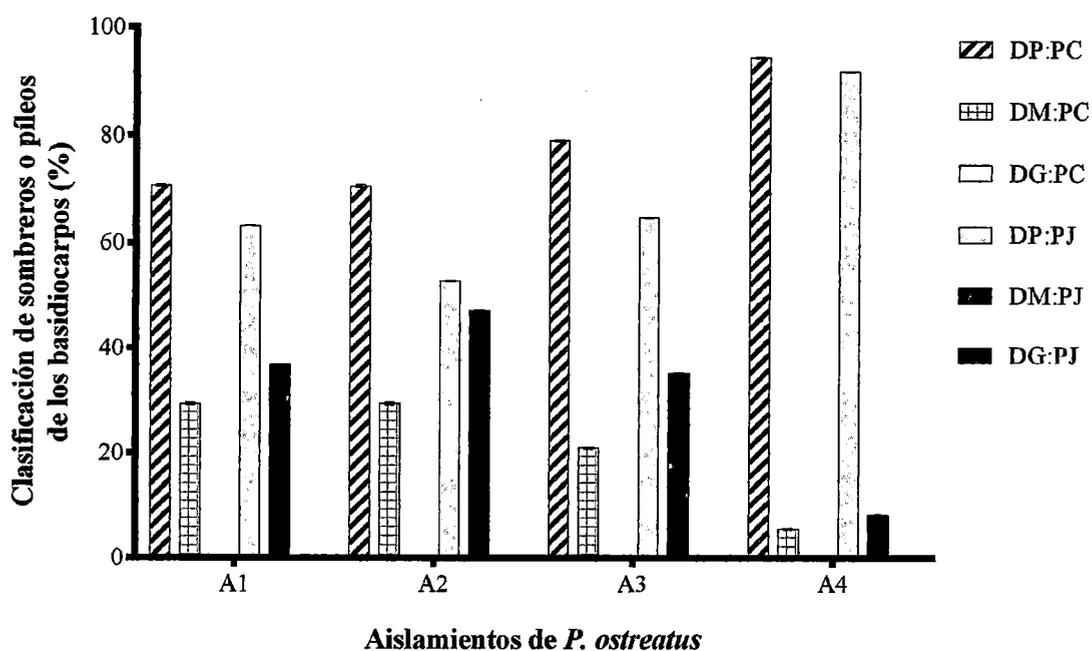


**Figura 27: Tamaño de sombreros o pñeos en la segunda oleada productiva, obtenidos por los cuatros aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz y paja de arroz .**

En la **figura 28** podemos observar que la producción de sombreros o pñeos de diámetro pequeño aun continuó, hasta aumentó para todas las unidades experimentales.

Continuó también la poca incidencia de sombreros o pñeos medianos y la nula presencia de sombreros o pñeos grandes para todos los tratamientos.

Analizando estos resultados podemos rescatar que el tratamientos T7 (A2PJ), T8 (A1PJ) y T6 (A3PJ) presentaron una equilibrada producción de sombreros o pñeos pequeños y medianos.



**Figura 28: Tamaño de sombreros o pñeos en la tercera oleada productiva, obtenidos por los cuatros aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz y paja de arroz .**

En las tres oleadas productivas podemos observar que hubo una tendencia continua de producción de sombreros o pñeos pequeños, una limitada proporción de pñeos medianos y una casi nula producción pñeos grandes. Esta situación representa que los basidiocarpos tuvieron una elongación del estípote que solo puede provocarse por un exceso de  $CO_2$  lo que significa una falta de aireación en la sala de fructificación.

Estos resultados no son desfavorables, si bien es cierto que lo ideal es producir sombreros grandes esto no está definido ya que va depender mucho del tipo de consumidor, situación que estaría pendiente por averiguar, sin embargo para esta situación nos podría indicar la sensibilidad del hongo a las condiciones adversas de oxigenación o falta de aireación.

Los gráficos muestran una producción altísima de sombreros pequeños para el aislamientos A4, situación que no se repite para los otros aislamientos, lo que podría interpretarse como una mayor sensibilidad de parte del aislamiento A4.

Por otro lado el aislamiento A2 fue el único que presentó proporciones minúsculas de sombreros grandes y una equilibrada producción de setas medianas y pequeñas en todas las oleadas en general. Los mismo ocurre con los aislamientos A3 y A1, solamente que en ninguna oleada produjeron setas grandes.

Con estos resultados podríamos esperar en próximos ensayos, mejorando las condiciones de aireación, cambiar las proporciones de setas pequeñas a setas medianas y a una mayor cantidad de setas grandes. Si bien es cierto que no se utilizó una metodología para evaluar la calidad de las setas, en todo el período productivo el aislamiento A2 presentó una mejor composición y textura lo que representa para criterio personal una mayor resistencia a situaciones adversas de oxigenación, lo que no ocurrió con el aislamiento A4, y en menor proporción con los aislamientos A1 y A3.

#### **5.2.8. Temperatura interna de las unidades experimentales**

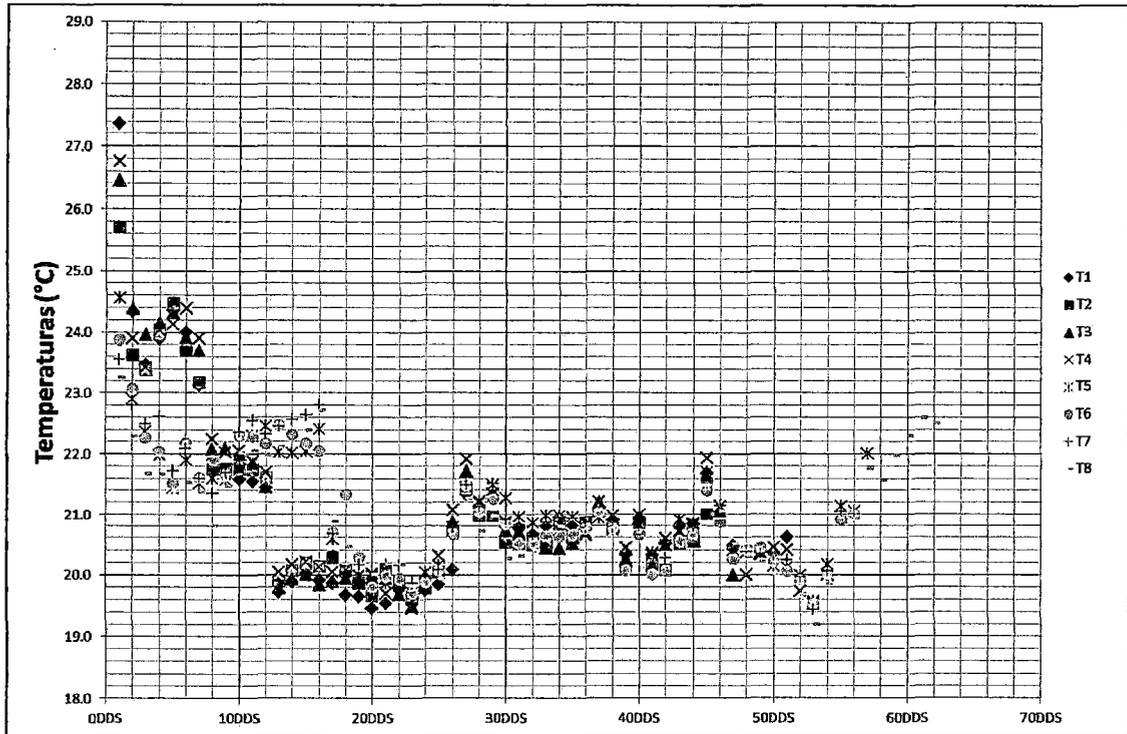
En la **figura 29** podemos observar la distribución de la temperatura promedio interna de las unidades experimentales en la etapa de **incubación e inducción-fructificación** en función a los días después de la siembra (*DDS*) transcurridos.

Las temperaturas de la etapa de incubación se mantuvieron entre los 21 y 25 °C, para todos los tratamientos.

Los tratamientos en panca de maíz, T1 (A1PC), T2 (A2PC), T3 (A3PC) y T4 (A4PC), comenzaron con temperaturas mayores y sufrieron un descenso de temperatura hasta terminar su período de incubación a los 12 DDS.

Los tratamientos en paja de arroz, T5 (A4PJ), T6 (A3PJ), T7 (A2PJ) y T8 (A1PJ), comenzaron con temperaturas intermedias, terminando su período de incubación a los 16 DDS con un ligero aumento de temperaturas.

Las temperaturas de inducción-fructificación se mantuvieron entre los 19 y 22 °C, para todos los tratamientos.



**Figura 29: Temperaturas internas de las unidades experimentales en sus etapas de incubación e inducción-fructificación en todo el proceso productivo de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha.**

Las temperaturas óptimas para el desarrollo de *P. ostreatus* en las etapas de incubación e inducción-fructificación según Stamets & Chilton (1983) y Albertó (2008), están entre los rangos de 23 a 25 °C y 15 a 20 °C, respectivamente. De ese modo se puede observar que las temperaturas internas de las unidades experimentales se mantuvieron próximas a los rangos teóricos.

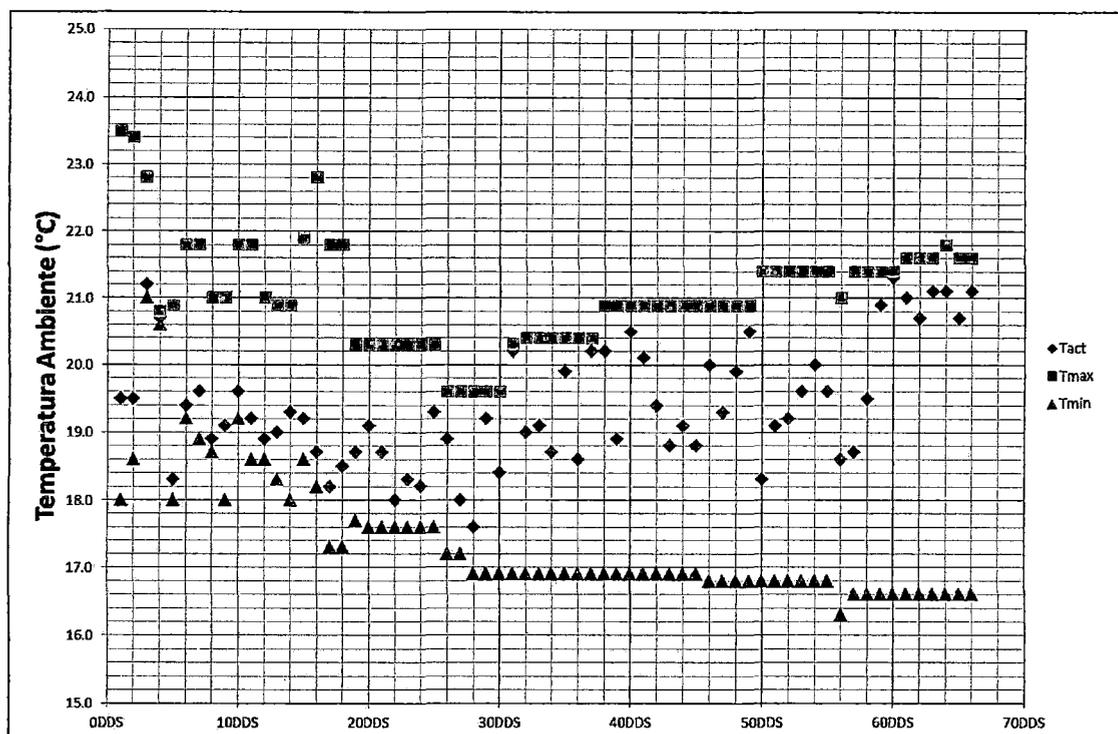
Asimismo rangos muy similares se han encontrado en otros trabajos de investigación, que para los fines de este experimento han servido de manera referencial para ajustarnos a un sistema productivo normal.

### 5.2.9. Temperatura ambiente

En la **figura 30** podemos observar la distribución de la temperatura ambiente en todo el período productivo a partir de la siembra.

En todo el período de incubación hasta los 16 DDS se puede observar que las temperaturas máximas estuvieron entre los 20 y 24 °C, las temperaturas mínimas entre los 17 y 19 °C, y la temperatura ambiental actual para esa etapa estuvo entre los 18 y 20 °C.

En todo el período de inducción-fructificación las temperaturas máximas estuvieron entre los 19 y 22°C, las temperaturas mínimas estuvieron entre los 16 y 18 °C, la temperatura actual para esa etapa estuvo entre los 18 y 21 °C.



**Figura 30: Temperatura ambiente en todo el período productivo de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha.**

De los resultados podemos observar que las temperaturas de incubación no estuvieron cerca de lo recomendado por Stamets & Chilton (1983), Ardón (2007) y Silva et al. (2010) con rangos de 27 a 30 °C, 24 a 28 °C y 24 a 28 °C, respectivamente.

Sin embargo se puede observar que las temperaturas actuales para la etapa de inducción-fructificación estuvieron cerca de lo recomendado por Stamets & Chilton (1983), Ardón (2007) y Silva et al. (2010) con rangos de 22 a 23 °C, 18 a 26 °C y 18 a 25 °C, respectivamente.

Los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* completaron tres oleadas productivas, sin embargo para efectos de este experimento no se podría afirmar si realmente existió una influencia positiva o negativa de la temperatura ambiente en todo el proceso productivo debido a las diferencias encontradas en los rangos de temperatura sugeridos por la literatura de forma referencial. En muchos casos esos rangos de temperatura se pueden mantener con mejores condiciones de infraestructura y tecnología, lo que significaría una mayor inversión inicial.

### 5.2.10. Humedad inicial del sustrato ( $H_s$ )

En el cuadro 13 podemos observar la humedad inicial de cada sustrato, que fue útil para dar inicio a la etapa de inoculación o siembra. La humedad inicial se calculó con el peso del sustrato húmedo y el peso seco. El peso húmedo se obtuvo después que el sustrato fue inmerso en agua caliente y dejado escurrir por 24 horas en un estante metálico.

**Cuadro 13: Humedad inicial del sustrato listas para realizar la siembra con los cuatro aislamientos de *P. ostreatus*.**

Substrato	Peso seco (kg)	Peso húmedo (kg)	Humedad (%)
Panca de maíz	32.00	99.87	67.96
Paja de Arroz	32.00	99.88	67.90
		Promedio	67.93

Es importante aclarar que los sustratos usados no fueron secados en estufa como se han reportado en otros trabajos, por tal motivo en esta etapa se consideró el peso de compra como el peso seco, asemejándose a lo que haría normalmente un productor comercial.

La humedad inicial del sustrato obtenidas están próximas de lo recomendado por Ardón (2007) y Albertó (2008) a un 70 % de humedad del sustrato. Según Batz (2010) los contenidos de humedad inferiores al 50 % no serán propicias y una humedad superior al 80 % tendrá un efecto negativo en el crecimiento de *Pleurotus*. Por lo tanto podemos observar que el sustrato usado al inicio consiguió la humedad requerida para un proceso productivo normal a bajo costo.

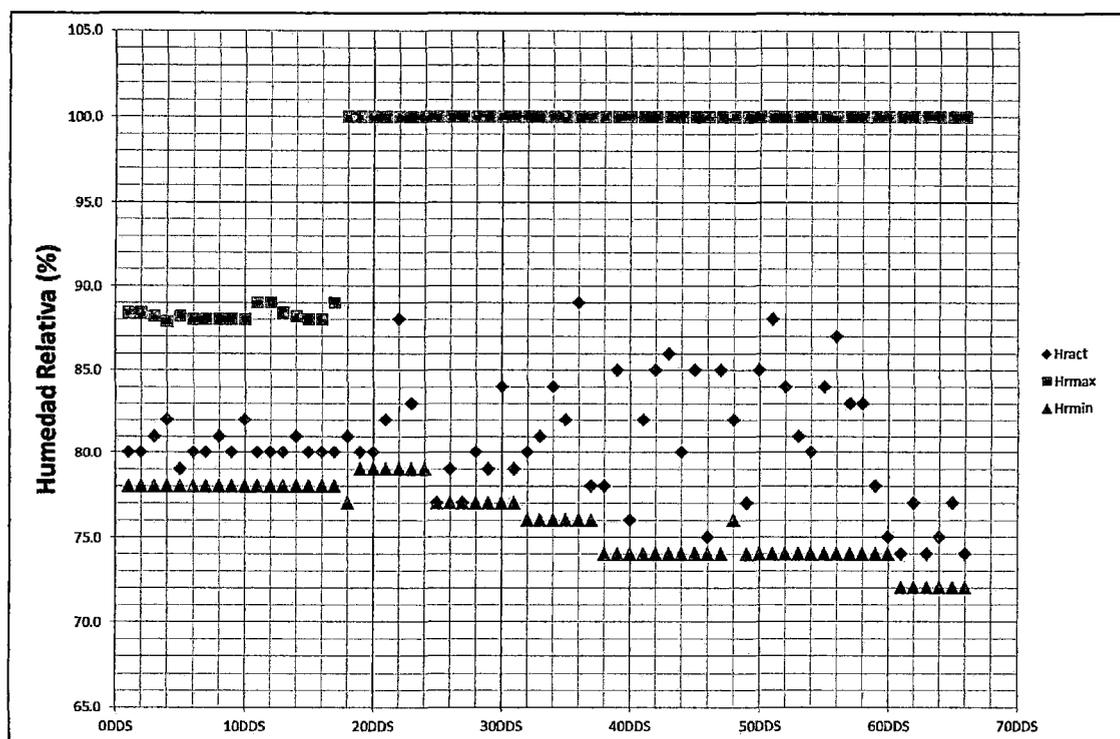
### 5.2.11. Humedad relativa

En la figura 31 podemos observar la distribución de la humedad relativa en función a los días después de la siembra (DDS) transcurridos.

En todo el período de incubación hasta los 16 DDS se puede observar que la humedad relativa máxima estuvo entre 87 y 90 %, la humedad relativa mínima entre 76 y 79 %, y la humedad relativa actual para esa etapa estuvo entre 79 y 83 %.

En todo el período de inducción-fructificación la humedad relativa máxima se mantuvo constante en 100 %. La humedad relativa mínima sufrió un descenso hasta finalizar el período productivo dentro del rango de 72 y 79 °C, la humedad relativa actual para esa etapa estuvo

entre los rangos de 75 a 90 %.



**Figura 31: Humedad relativa en todo el período productivo de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha.**

De los resultados podemos observar que la humedad relativa del aire para la etapa de incubación no estuvieron cerca de lo recomendado por Stamets & Chilton (1983) y Silva et al. (2010) con rangos de 90 a 100 % y 75 a 80 %, respectivamente. Sin embargo se puede observar que en la etapa de inducción-fructificación la humedad relativa estuvo cerca de lo recomendado por Stamets & Chilton (1983), Ardón (2007) y Silva et al. (2010) con rangos de 85 a 92 %, 85 a 95 % y 80 a 90 %, respectivamente.

Los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* completaron tres oleadas productivas, sin embargo para efectos de este experimento no se podría afirmar si realmente existió una influencia positiva o negativa de la humedad relativa en todo el proceso productivo, debido a las diferencias encontradas con los rangos de humedad relativa sugeridos por la literatura de forma referencial. En muchos casos esos rangos de humedad relativa se pueden controlar con mejores condiciones de infraestructura y tecnología, lo que significaría una mayor inversión inicial.

### **5.2.12. Contaminantes**

El experimento se desarrolló con todos los cuidados de higiene y asepsia que permitieron que no hayan contaminantes o infestaciones dentro de las unidades experimentales en estudio. Siempre se trabajó limpiando los materiales y las manos con alcohol de 96 °. El substrato como se indicó, paso por un proceso de desinfestación descrito en la metodología. No hubo incidencia de plagas, aunque si se colocaron en el recinto trampas amarillas con aceite casero y también trampas “atrapamoscas” conseguidas en un mercado local. El ingreso a las salas siempre fue con mandil y realizando aspersiones de Hipoclorito de sodio comercial al 0.5 % a las planta de los zapatos.

## 6. Conclusiones

1. Los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* completaron su desarrollo micelial y productivo en su etapa *in vitro* y en su etapa productiva.
2. Los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* presentaron diferencias estadísticamente significativas en su desarrollo micelial *in vitro*, siendo el aislamiento A2 el que presentó los menores valores, los cuales pueden ser explicados por el lugar de procedencia, que podría tener temperaturas óptimas que beneficien al hongo y que sin embargo no estuvieron presentes en el experimento a temperatura ambiente, también este resultado puede deberse a que el aislamiento A2 fue propagado a partir de su conservación en un tubo de ensayo que aporta una mejor conservación y durabilidad que en placa petri. El aislamiento A3 fue el único que presentó una distribución micelial rala al momento de colonizar el medio de cultivo Papa Sacarosa Agar.
3. Los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* demostraron que al ser cultivados en panca de maíz en su etapa productiva, tienen un mejor comportamiento e interacción en todas sus variables de desarrollo y crecimiento micelial, así como en sus variables de rendimiento y producción. Las diferencias estadísticamente significativas encontradas pueden deberse al lugar de procedencia y la estación del año en la que cada aislamiento de *P. ostreatus* obtiene sus temperaturas óptimas para producir buenos rendimientos, ya que pueden tener fases del año ideales o comportarse como cepas de estación, adaptadas para verano, invierno, etc. El aislamiento A2 y A1 presentaron una mayor velocidad de crecimiento micelial que permitiría reducir problemas de contaminación en la fase de incubación al colonizar en menos tiempo el sustrato. El aislamiento A2 fue el único que obtuvo el menor valor promedio de eficiencia biológica con diferencias significativas, sin embargo demostró que tiene un menor período productivo, representado por su tasa de producción, precocidad y razón de producción, así permitiría tener mayores ciclos productivos al año, asimismo fue el único que presentó mejores características en su calidad y estructura de basidiocarpos a pesar que se presentaron inconvenientes en la aireación de la sala de inducción-fructificación provocando en algunos casos elongación de estípites y por tanto píleos pequeños. El aislamiento A4 presentó una mayor capacidad biodegradativa del sustrato, lo que coincide con su gran capacidad de bioconversión al transformarlos en basidiocarpos.

## 7. Recomendaciones

1. Recomendaría realizar la producción de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* en diferentes estaciones del año y en otras condiciones o lugares para tener una caracterización más exacta de su comportamiento productivo, siempre considerando todas las medidas de aireación óptimas para evitar efectos negativos por elongación y deformación de los basidiocarpos.
2. Los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* evaluados y analizados estadísticamente en el presente experimento deben ser regularmente recuperados desde sus fructificaciones o basidiocarpos para ser conservados en tubos de ensayo, de ese modo evitar supuestos errores comparativos cuando se realicen experimentos similares.
3. Desarrollar un comparativo de las características bromatológicas de cada aislamiento o cepa en estudio, inclusive realizar una caracterización molecular.
4. Realizar estudios de producción y de biodegradación en restos o sustratos encontrados dentro del campus de la UNALM como papel, cartón, malezas, grass, hojas de palta, y entre otros materiales. Asimismo utilizarlos en la producción de basidiocarpos que puedan generar ganancias y conocimiento para la comunidad.
5. Realizar estudios de composteo y/o vermicomposteo con los sustratos al final del período productivo, analizando la asimilación de nutrientes por las plantas.
6. Realizar viajes exploratorios a diferentes zonas de nuestro país para realizar colectas de cepas de *P. ostreatus* u otras especies en su estado silvestre o domesticadas por comunidades nativas, de modo que se puedan realizar investigaciones que sean adaptadas a programas de extensión rural.

## 8. Referencias bibliográficas

Albertó, E. 2008. Cultivo Intensivo de los Hongos Comestibles: Cómo cultivar champiñones, gírgolas, shiitake y otras especies. Ed. Hemisferio Sur S.A. Primera edición. Buenos Aires, s.e., p.250.

Ardón, CE. 2007. La producción de los hongos comestibles. Págs. 207. s.l., Universidad de San Carlos de Guatemala.

Batz, EL. 2010. Producción de cuerpos fructíferos de cepas nativas de *Pleurotus* en sustratos desinfectados por inmersión en agua alcalina. Págs. 55. s.l., Universidad de San Carlos de Guatemala.

CABI. 2007. Species Fungorum (en línea). Centro Internacional para Agricultura y Biociencias. Disponible en:

[www.indexfungorum.org/Names/SynSpecies.asp?RecordID=174220](http://www.indexfungorum.org/Names/SynSpecies.asp?RecordID=174220)

Calderón, JA. 2009. Determinación de la mejor etapa de aplicación de la fertilización nitrogenada en el sustrato caña de maíz (*Zea mays* L.) para la producción del hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm (Cepa ECS-152). Págs. 62. s.l., Universidad de San Carlos de Guatemala.

Chang, S. 1999. Mushroom and Biology. Genetics and Breeding of edible Mushrooms. Holanda, Gordon and Breach Science Publishers, p.1 - 13.

Chang, S-T; Miles Philip, G. 2004. Mushrooms cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. Ed. C Press. Second Edition.

Coleman, J. 2010. Mushrooms Industry & Trade Summary 2010. Washington, DC 20436, 40 p.

Contreras, E; Sokolov, M; Mejía, G; Sánchez, J. 2003. Soaking of substrate in alkaline water as a pretreatment for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. s.l., s.e., p.79 (2): 234-240.

- Deacon, JW. 1993. Introducción a la Micología Moderna. Editorial Limusa. Segunda edición México.
- Delfin-Alcalá, I; Durán-de-Bazúa, C. 2003. Biodegradación de residuos urbanos lignocelulósicos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 19(1): 37-45.
- Escobedo, R. 2010. Producción de hongo seta ( *Pleurotus ostreatus* ). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación 8: 8.
- Fan, L.; Soccol, CR. 2002. Produção de cogumelo comestível do tipo *Pleurotus*, *Lentinus* e *Flammulina* em casca e borra de café . Curitiba-PR, 400-407 p.
- Fernández, FM. 2004. Guía Práctica de Producción de Setas. Fungitec Asesorías, Guadalajara, Jalisco, mar. Págs.:82.
- Gaitan-Hernandez. 2006. Manual práctico del cultivo de setas, aislamiento y producción. Veracruz, México, Instituto de ecología A.C.
- García, D. 2000. Utilización de rastrojos de maíz (*Zea mays* L.) y cascarilla de arroz (*Oriza sativa* L.) como sustrato para el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. Págs. 37. s.l., USAC.
- García, M; Quintero, R; López-Mungía, A. 2004. Biotecnología alimentaria. Grupo Noriega Editores. 5ta ed. México D.F., Editorial Limusa, p.636.
- García, O. 2006. Situación actual de los hongos comestibles en la Argentina y en el mundo. Manual para la producción y comercialización de hongos comestibles, s.l. Págs.:13-15.
- García R., M. 2007. Cultivo de setas y trufas. Madrid, España., Mundiprensa.
- Landerecker, E. . 1990. Fundamentals of the fungi. 3th.ed. ed. USA: Prentice-Hall, s.e., p.171-213, 275-303.
- López, A. 1995. Cultivo de setas: alternativa alimenticia de la economía familiar (en línea). Centro de Genética Forestal. Disponible en:  
<http://www.uv.mx/institutos/forest/hongos/setas.html>

- Monterroso, O. 2007. Efecto de la suplementación de la caña de maíz (*Zea mays* L.) con nitrato de amonio, nitrato de potasio y urea en el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* (Cepa ECS-152). Págs. 46. s.l., USAC.
- Muez, A; Nuñez, J. 2001. La preparación del sustrato. La Biología y el cultivo de *Pleurotus spp.* Eds. J Sánchez; D Royse. 1 ed. C. V., México, Editorial LIMUSA. S. A., p.159-179, 294.
- Del Pilar, M; Hoyos, J; Mosquera, S. 2010. Evaluación de los parámetros productivos de la semilla de *Pleurotus ostreatus* propagada en diferentes medios de cultivo. 8(2): 86-94.
- Ramirez, A. 2004. Selección y tratamiento de sustrato. Disponible en: [www.geocities.com/agrotlahuac/seleccionhongo.html](http://www.geocities.com/agrotlahuac/seleccionhongo.html)
- Ravines, R. 1991. Hongos Comestibles del Antiguo Perú. Boletín de Lima XIII (13): 23-24.
- Rinyer, D. 2003. El sustrato gastado de los hongos: Cómo se está manipulando y utilizando en el mundo. Disponible en: [setascultivadas.com/2004articulofebrero.html](http://setascultivadas.com/2004articulofebrero.html)
- Rojas, E. 2004. Evaluación de paja de trigo, *Triticum sativum*; broza de encino, *Quercus sp.* y rastrojo de maíz, *Zea mays*; para el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* bajo condiciones artesanales en San Rafael La Independencia, Huehuetenango. Págs. 82. s.l., USAC.
- Salmones, D; Gaitán-Hernández, R; Pérez, R; Guzmán, G. 1997. Estudios sobre el género *Pleurotus*. VIII. Interacción entre crecimiento micelial y productividad. Rev. Iberoamericana Micol. 14(Tabla 1): 173-176.
- Sánchez, J; Royse, D. 2002. La biología y el cultivo de *Pleurotus spp.* Editorial Limusa S.A. Chiapas, México D. F., Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), p.294-290.
- Sánchez, J. 1994. Producción de hongos comestibles. México, Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste, p.109.

Santa María, J. 2006. Comparativo de diferentes substratos para el crecimiento y producción de la seta de chopo *Agrocybe cylindracea* (DC:Fr) Maire. Págs. 1 - 100. s.l., Universidad Nacional Agraria La Molina.

Silva, R; Fritz, C; Cubillos, J; Díaz, M. 2010. Manual para la producción de hongos comestibles.

Sobal, M. 1989. Efecto del pH sobre el crecimiento de diversas cepas mexicanas y extranjeras de hongos comestibles en el laboratorio. Págs. 2.19-39.

Stamets, P; Chilton, JS. 1983. The Mushroom Cultivator: A Practical Guide to Growing Mushrooms at Home. s.l., Agarikon Press, p.415.

Suárez, C. 2010. Obtención *in vitro* de micelio de hongos comestibles, shiitake (*Lentinula edodes*) y orellanas (*Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus pulmonarius*) a partir de aislamientos de cuerpos fructíferos, para la producción de semilla. Págs. 86. s.l., Universidad Nacional de Colombia.

Venturella, G. 2007. Red List of threatened species *Pleurotus nebrodensis*. Disponible en: [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org). (IUCN - USA).

## 9. Anexos

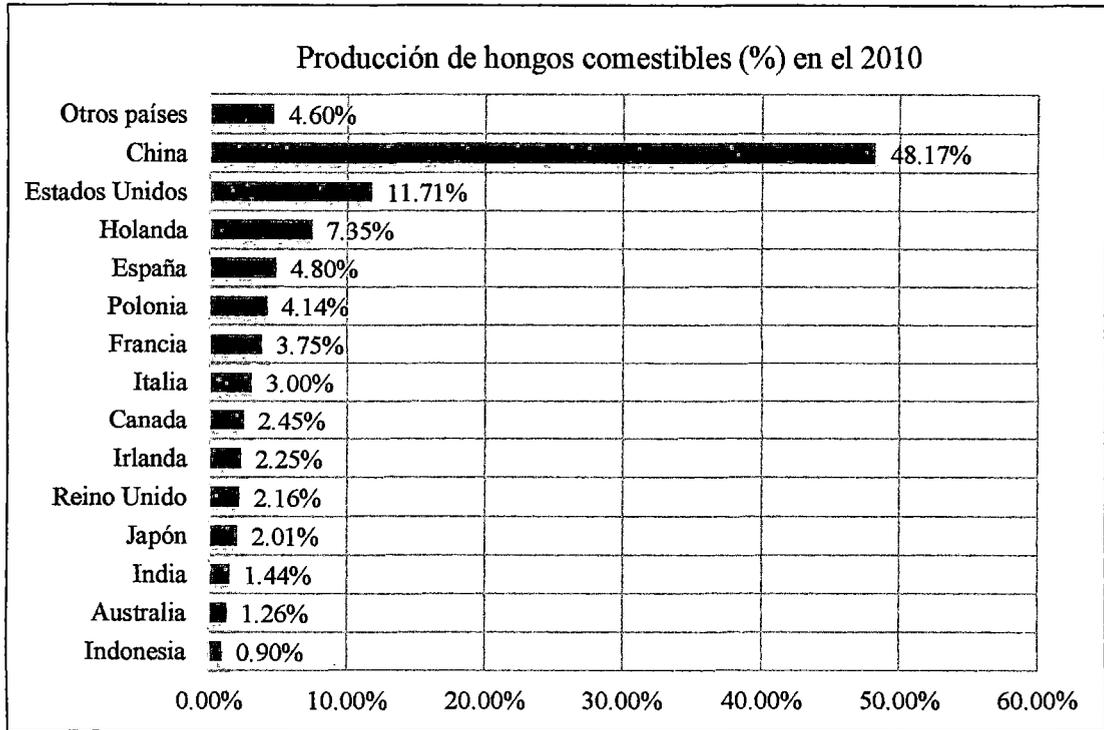
### Anexo 1: Producción mundial de hongos comestibles (FAO) (Coleman, 2010).

Años	Producción Mundial ( TM )
1990	1,763,661
1991	1,802,487
1992	1,935,382
1993	1,954,799
1994	2,064,679
1995	2,061,199
1996	2,127,684
1997	2,217,136
1998	2,284,310
1999	2,406,682
2000	2,631,521
2001	2,814,807
2002	3,032,016
2003	3,163,934
2004	3,267,627
2005	3,264,379
2006	3,322,100
2007	3,426,667

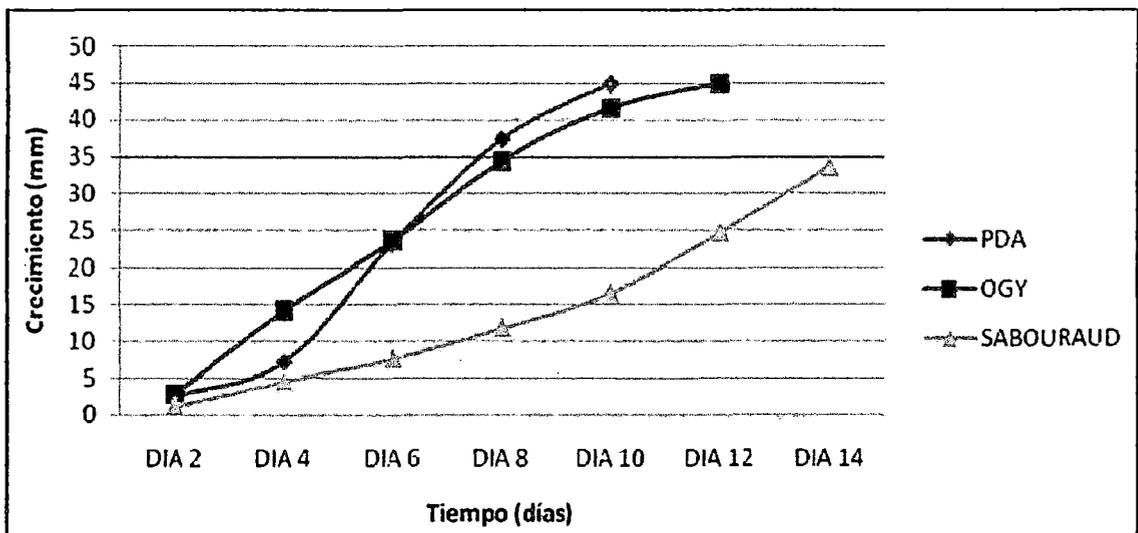
### Anexo 2: Producción mundial de hongos comestibles por países (FAO) (Coleman, 2010).

País	Producción total ( TM )
China	1,605,000
Unión europea	1,009,821
Holanda	245,000
España	160,000
Polonia	138,000
Francia	125,000
Italia	100,000
Irlanda	75,000
Reino Unido	72,000
Estados Unidos	390,000
Canadá	81,500
Japón	67,000
India	48,000
Australia	42,000
Indonesia	30,000
Otros	153,346
Total	3,426,667

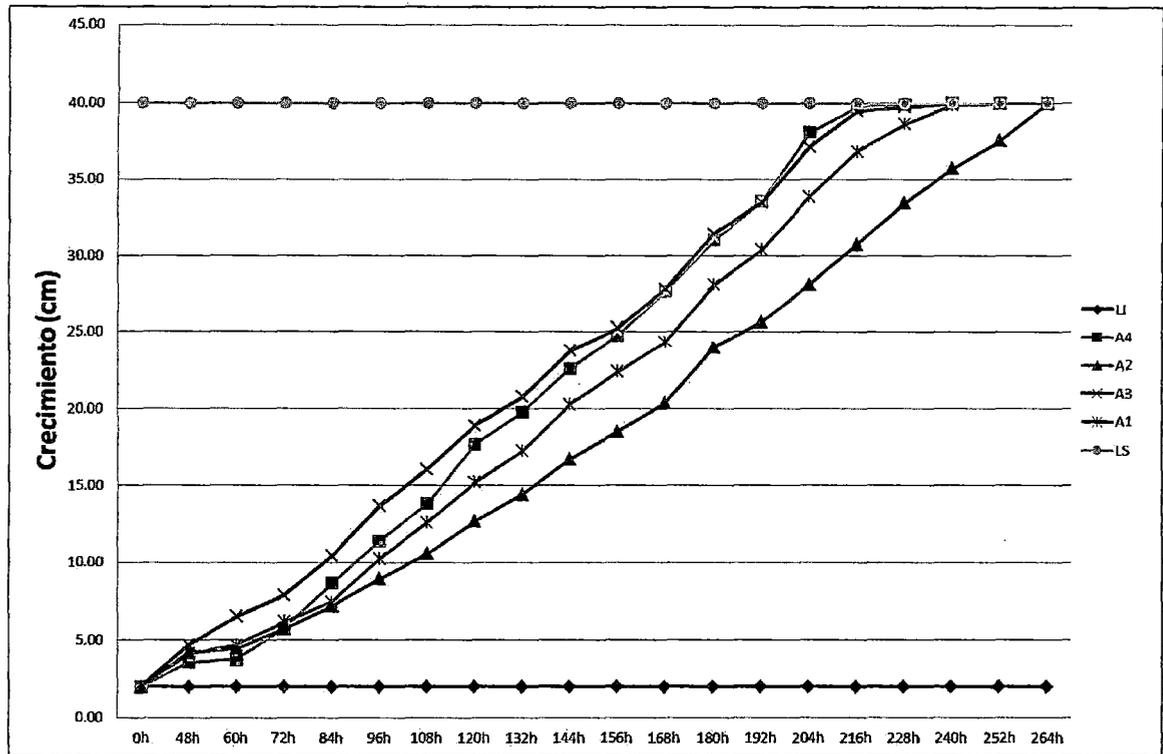
**Anexo 3: Histograma de producción de hongos comestibles por países (FAO).  
Elaboración propia.**



**Anexo 4: Crecimiento micelial de *P. ostreatus* cultivados en diferentes medios de cultivo (Suárez, 2010).**

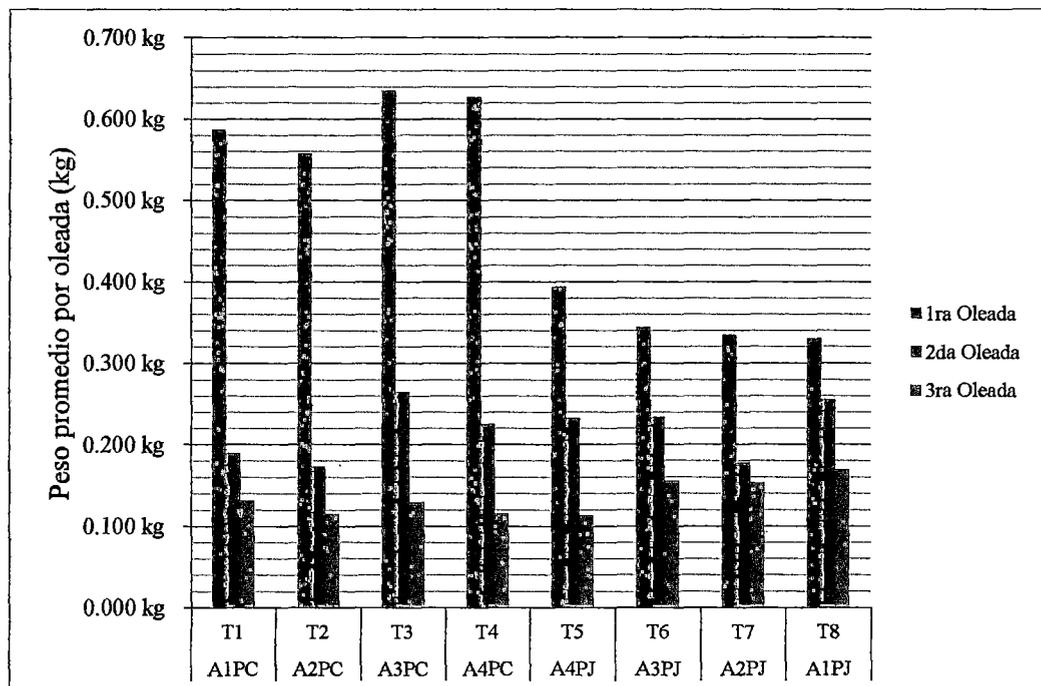


**Anexo 5: Curva del crecimiento micelial de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en placa petri contenidos con Papa Sacarosa Agar (PSA), en la etapa *in vitro*. Elaboración propia.**

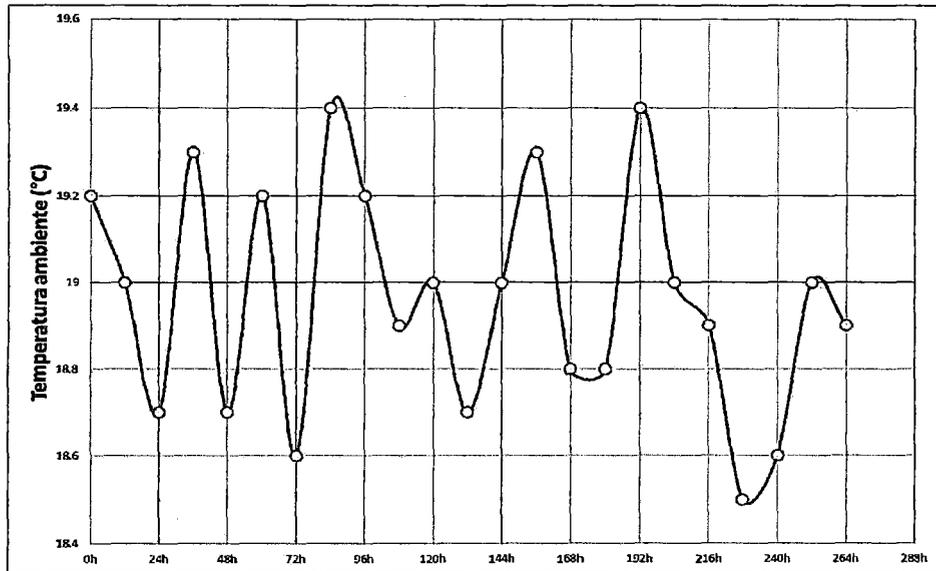


LI: Límite inferior LS: Límite superior

**Anexo 6: Histograma de los pesos promedios obtenidos en cada oleada productiva de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus*, en la etapa productiva. Elaboración propia.**



**Anexo 7: Temperatura ambiente en la evaluación del crecimiento micelial en placa petri de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA), en la etapa *in vitro*. Elaboración propia.**



**Anexo 8: Clasificación del diámetro de sombreros o piletos de los basidiocarpos. Elaboración propia.**

Tamaño del sombrero o <i>pileo</i>	Clasificación
[ 3 a 5 ]	Pequeño
[ 6 a 10 ]	Mediano
[ 11 a + ]	Grande

**Anexo 9: Cálculo del radio de una esfera en función de las dimensiones de un cilindro con base elíptica. Elaboración propia.**

Volumen de una esfera ( $V_{es}$ )

$$V_{es} = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot R_{es}^3$$

Volumen de un cilindro con base elíptica ( $V_{cbe}$ )

$$V_{cbe} = \pi \cdot a \cdot b \cdot h$$

Igualando ambos volúmenes:

$$\frac{4}{3} \cdot \pi \cdot R_{es}^3 = \pi \cdot a \cdot b \cdot h$$

Despejando el radio de la esfera, tenemos:

$$R_{es} = \sqrt[3]{\left(\frac{3}{4} \cdot a \cdot b \cdot h\right)}$$

Donde:

$R_{es}$  = Radio de una esfera.

$a$  = Radio mayor de la base elíptica de un cilindro.

$b$  = Radio menor de la base elíptica de un cilindro.

$h$  = Altura de un cilindro de base elíptica.

**Anexo 10: Análisis de Variancia (ANVA) para la velocidad de crecimiento micelial en placa (VCP) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en Papa Sacarosa Agar (PSA), en la etapa *in vitro*.**

Velocidad de crecimiento micelial en placa (VCP)

Análisis de Variancia (ANVA)					
Fuente de variación	Grados de Libertad	Sumas de Cuadrados	Cuadrados medios	Fcal.	Pr(>F)
Aislamientos	3	0.787630	0.262543	12.605	0.0002886 ***
Error	14	0.291600	0.020829		

Nivel de significación ( $\alpha$ )

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

C.V.: 3.812

Promedio: 3.786

M.error: 0.021

**Anexo 11: Análisis de Variancia (ANVA) para la velocidad de crecimiento micelial en substrato (VCS) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva.**

Velocidad de crecimiento micelial en substrato (VCS)

Análisis de Variancia (ANVA)					
Fuente de variación	Grados de Libertad	Sumas de Cuadrados	Cuadrados medios	Fcal.	Pr(>F)
Aislamientos	3	1.02609	0.34203	25.19150	1.90E-10 ***
Substratos	1	0.53894	0.53894	39.69450	4.91E-08 ***
A:S	3	0.0071	0.00237	0.17430	0.91330
Error	56	0.76032	0.00237		

Nivel de significación ( $\alpha$ )

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

C.V.: 10.816

Promedio: 1.077

M.error: 0.014

**Anexo 12: Análisis de Variancia (ANVA) para la eficiencia biológica (EB) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva.**

Eficiencia biológica (EB)

Análisis de Variancia (ANVA)						
Fuente de variación	Grados de Libertad	Sumas de Cuadrados	Cuadrados medios	Fcal.	Pr(>F)	
Aislamientos	3	0.13858	0.04619	14.60700	3.831E-07	***
Substratos	1	0.73659	0.73659	232.91940	< 2.2E-16	***
A:S	3	0.04614	0.01538	4.86340	0.004469	**
Error	56	0.17710	0.00316			

Nivel de significación ( $\alpha$ )

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

C.V.: 6.7672

Promedio: 0.8310

M.error: 0.0032

**Anexo 13: Análisis de Variancia (ANVA) para la tasa de producción ( $T_p$ ) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva.**

Tasa de producción ( $T_p$ )

Análisis de Variancia (ANVA)						
Fuente de variación	Grados de Libertad	Sumas de Cuadrados	Cuadrados medios	Fcal.	Pr(>F)	
Aislamientos	3	0.00005177	0.00001726	9.1145	5.239E-05	***
Substratos	1	0.00084013	0.00084013	443.7637	< 2.2E-16	***
A:S	3	0.00001643	0.00000548	2.8935		*
Error	56	0.00010602	0.00000189			

Nivel de significación ( $\alpha$ )

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

C.V.: 8.0590

Promedio: 0.0171

M.error: 0.0000

- 43789

**Anexo 14: Análisis de Variancia (ANVA) para la precocidad ( $P_{cd}$ ) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva.**

Precocidad ( $P_{cd}$ )

Análisis de Variancia (ANVA)					
Fuente de variación	Grados de Libertad	Sumas de Cuadrados	Cuadrados medios	Fcal.	Pr(>F)
Aislamientos	3	47.5150	15.8380	15.2771	2.218E-07 ***
Substratos	1	35.0060	35.0060	33.7662	3.081E-07 ***
A:S	3	9.6480	3.2160	3.1022	0.03379 *
Error	56	58.0570	1.0370		

Nivel de significación ( $\alpha$ )  
 0 \*\*\* 0.001 \*\* 0.01 \* 0.05 . 0.1 1

C.V.: 8.544  
 Promedio: 11.917  
 M.error: 1.037

**Anexo 15: Análisis de Variancia (ANVA) para la razón de producción ( $R_p$ ) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva.**

Razón de producción ( $R_p$ )

Análisis de Variancia (ANVA)					
Fuente de variación	Grados de Libertad	Sumas de Cuadrados	Cuadrados medios	Fcal.	Pr(>F)
Aislamientos	3	1.4042	0.4681	9.2313	4.676E-05 ***
Substratos	1	13.0779	13.0779	257.9173	< 2.2E-16 ***
A:S	3	0.3424	0.1141	2.2512	0.09237 .
Error	56	2.8395	0.0507		

Nivel de significación ( $\alpha$ )  
 0 \*\*\* 0.001 \*\* 0.01 \* 0.05 . 0.1 1

C.V.: 9.490  
 Promedio: 2.373  
 M.error: 0.051

**Anexo 16: Análisis de Variancia (ANVA) para la biodegradación del sustrato ( $B_s$ ) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva.**

Biodegradación del sustrato ( $B_s$ )					
Análisis de Variancia (ANVA)					
Fuente de variación	Grados de Libertad	Sumas de Cuadrados	Cuadrados medios	Fcal.	Pr(>F)
Aislamientos	3	0.095439	0.031813	24.839	2.377E-10 ***
Substratos	1	0.095666	0.095666	74.696	6.853E-12 ***
A:S	3	0.004304	0.001435	1.12	0.3488
Error	56	0.071722	0.001281		

Nivel de significación ( $\alpha$ )  
 0 \*\*\* 0.001 \*\* 0.01 \* 0.05 . 0.1 1

C.V.: 8.6948  
 Promedio: 0.4115  
 M.error: 0.0013

**Anexo 17: Prueba de Tukey para la velocidad de crecimiento micelial en placa ( $VCP$ ) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en placa petri contenidos con Papa Sacarosa Agar (PSA), en la etapa *in vitro*.**

Velocidad de crecimiento micelial en placa ( $VCP$ )		
Prueba de Tukey		
Aislamiento	Promedio	Comparación
A4	4.077	a
A3	3.910	a
A1	3.813	a
A2	3.480	b

C.V.: 3.81%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 18: Prueba de Tukey para la velocidad de crecimiento micelial en sustrato (VCS) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva.**

Velocidad de crecimiento micelial  
en sustrato (VCS)

Prueba de Tukey		
Tratamientos	Media	Comparación
A2PC	1.31750	a
A1PC	1.27737	ab
A2PJ	1.12413	bc
A3PC	1.08975	c
A1PJ	1.08313	c
A4PC	0.99175	cd
A3PJ	0.89050	d
A4PJ	0.84450	d

C.V.: 10.82%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 19: Prueba de Tukey para la eficiencia biológica (EB) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva.**

Eficiencia biológica (EB)

Prueba de Tukey		
Tratamientos	Promedio	Comparación
A3PC	1.0294	a
A4PC	0.9688	ab
A1PC	0.9088	bc
A2PC	0.8463	c
A1PJ	0.7543	d
A4PJ	0.7394	d
A3PJ	0.7344	d
A2PJ	0.6669	d

C.V.: 6.77%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 20: Prueba de Tukey para la tasa de producción ( $T_p$ ) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva.**

Tasa de producción ( $T_p$ )

Prueba de Tukey		
Tratamientos	Promedio	Comparación
A3PC	0.0226225	a
A4PC	0.0207625	ab
A2PC	0.0205613	ab
A1PC	0.0188384	b
A4PJ	0.0141413	c
A3PJ	0.0138950	c
A2PJ	0.0129825	c
A1PJ	0.0127813	c

C.V.: 8.06%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 21: Prueba de Tukey para la precocidad ( $P_{cd}$ ) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva.**

Precocidad ( $P_{cd}$ )

Prueba de Tukey		
Tratamientos	Promedio	Comparación
A1PJ	14.333	a
A3PJ	12.292	b
A4PJ	12.125	b
A1PC	12.083	b
A2PJ	11.875	b
A4PC	11.750	b
A3PC	11.167	bc
A2PC	9.708	c

C.V.: 8.54%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 22: Prueba de Tukey para la razón de producción ( $R_p$ ) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva.**

Razón de producción ( $R_p$ )

Prueba de Tukey		
Tratamientos	Media	Comparación
A3PC	3.0733	a
A2PC	2.9091	a
A4PC	2.8085	ab
A1PC	2.5088	b
A4PJ	2.0445	c
A3PJ	1.9944	c
A2PJ	1.8903	c
A1PJ	1.7542	c

C.V.: 9.49%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 23: Prueba de Tukey para la biodegradación del sustrato ( $B_s$ ) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en panca de maíz (PC) y paja de arroz (PJ), en la etapa productiva.**

Biodegradación del sustrato ( $B_s$ )

Prueba de Tukey		
Tratamientos	Promedio	Comparación
A4PC	0.517713	a
A3C	0.458125	b
A1PC	0.435163	bc
A4PJ	0.422375	bcd
A2PC	0.390038	cde
A3PJ	0.377350	de
A1PJ	0.352613	e
A2PJ	0.339400	e

C.V.: 8.69%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 24: Prueba de Tukey para la velocidad de crecimiento micelial en sustrato ( $VCS$ ) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha, en la etapa productiva.**

Velocidad de crecimiento micelial en sustrato ( $VCS$ )

Prueba de Tukey		
Aislamientos	Promedio	Comparación
A2	1.22081	a
A1	1.18025	a
A3	0.99013	b
A4	0.91813	b

C.V.: 10.82%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 25: Prueba de Tukey para la eficiencia biológica (*EB*) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha, en la etapa productiva.**

Eficiencia biológica (*EB*)

Prueba de Tukey		
Aislamientos	Promedio	Comparación
A3	0.88188	a
A4	0.85406	a
A1	0.83150	a
A2	0.75656	b

C.V.: 6.77%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 26: Prueba de Tukey para la tasa de producción (*T<sub>p</sub>*) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha, en la etapa productiva.**

Tasa de producción (*T<sub>p</sub>*)

Prueba de Tukey		
Aislamientos	Promedio	Comparación
A3	0.0182588	a
A4	0.0174519	ab
A2	0.0167719	bc
A1	0.0158100	c

C.V.: 8.06%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 27: Prueba de Tukey para la precocidad (*P<sub>cd</sub>*) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha, en la etapa productiva.**

Precocidad (*P<sub>cd</sub>*)

Prueba de Tukey		
Aislamientos	Promedio	Comparación
A1	13.2084	a
A4	11.9376	b
A3	11.7292	bc
A2	10.7917	c

C.V.: 8.54%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 28: Prueba de Tukey para la razón de producción (*R<sub>p</sub>*) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha, en la etapa productiva.**

Razón de producción (*R<sub>p</sub>*)

Prueba de Tukey		
Aislamientos	Promedio	Comparación
A3	2.5338	a
A4	2.4265	a
A2	2.3997	a
A1	2.1315	b

C.V.: 9.49%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 29: Prueba de Tukey para la biodegradación del substrato ( $B_s$ ) de los cuatro aislamientos de *P. ostreatus* cultivados en restos de cosecha, en la etapa productiva.**

Biodegradación del substrato ( $B_s$ )

Prueba de Tukey		
Aislamientos	Promedio	Comparación
A4	0.470044	a
A3	0.417738	b
A1	0.393888	bc
A2	0.364719	c

C.V.: 8.69%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 30: Prueba de Tukey para la velocidad de crecimiento micelial en substrato ( $VCS$ ) según los substratos de panca de maíz (PC) y de paja de arroz (PJ) inoculados con los cuatro aislamientos de *P. ostreatus*, en la etapa productiva.**

Velocidad de crecimiento micelial en substrato ( $VCS$ )

Prueba de Tukey		
Substratos	Promedio	Comparación
Panca de maíz	1.16909	a
Paja de arroz	0.98556	b

C.V.: 10.82%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 31: Prueba de Tukey para la eficiencia biológica ( $EB$ ) según los substratos de panca de maíz (PC) y de paja de arroz (PJ) con los cuatro aislamientos de *P. ostreatus*, en la etapa productiva.**

Eficiencia biológica ( $EB$ )

Prueba de Tukey		
Substratos	Promedio	Comparación
Panca de maíz	0.93828	a
Paja de arroz	0.72372	b

C.V.: 6.77%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 32: Prueba de Tukey para la tasa de producción ( $T_p$ ) según los substratos de panca de maíz (PC) y de paja de arroz (PJ) inoculados con los cuatro aislamientos de *P. ostreatus*, en la etapa productiva.**

Tasa de producción ( $T_p$ )

Prueba de Tukey		
Substratos	Media	Comparación
Panca de maíz	0.0206696	a
Paja de arroz	0.0134500	b

C.V.: 8.06%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 33: Prueba de Tukey para la precocidad ( $P_{cd}$ ) según los substratos de panca de maíz (PC) y de paja de arroz (PJ) inoculados con los cuatro aislamientos de *P. ostreatus*, en la etapa productiva.**

Precocidad ( $P_{cd}$ )		
Prueba de Tukey		
Aislamientos	Promedio	Comparación
Panca de maíz	12.6563	a
Paja de arroz	11.1771	b

C.V.: 8.54%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 34: Prueba de Tukey para la razón de producción ( $R_p$ ) según los substratos de panca de maíz (PC) y de paja de arroz (PJ) inoculados con los cuatro aislamientos de *P. ostreatus*, en la etapa productiva.**

Razón de producción ( $R_p$ )		
Prueba de Tukey		
Substratos	Promedio	Comparación
Panca de maíz	2.8249	a
Paja de arroz	1.9208	b

C.V.: 9.49%  
 $\alpha = 0.05$

**Anexo 35: Prueba de Tukey para la biodegradación del sustrato ( $B_s$ ) según los substratos de panca de maíz (PC) y de paja de arroz (PJ) inoculados con los cuatro aislamientos de *P. ostreatus*, en la etapa productiva.**

Biodegradación del sustrato ( $B_s$ )		
Prueba de Tukey		
Substratos	Promedio	Comparación
Panca de maíz	0.450259	a
Paja de arroz	0.372934	b

C.V.: 8.69%  
 $\alpha = 0.05$

Correo electrónico:

[rafaelzaratesalazar@live.com](mailto:rafaelzaratesalazar@live.com)

[rzaratesalazar@gmail.com](mailto:rzaratesalazar@gmail.com)