UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

Cultivo de una cepa mexicana de Pleurotus Ostreatus utilizando como substrato aserrín de caoba y cedro, fibra de coco y olote de maíz

Informe de Tesis

Presentado por:

Carmen Rosa Godoy Méndez

Para optar al Título de:

Químico Biólogo

Guatemala, febrero de 1997.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
...da Central

06
T(1752)
C.4

JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DECANO	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIO	LIC. FEDERICO NAVE HERRERA
VOCAL I	LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ
VOCAL II	LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL III	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
VOCAL IV	BR. ANA MARIA RODAS CARDONA
VOCAL V	BR. HAYRO OSWALDO GARCIA GARCIA

DEDICO ESTE ACTO

A DIOS

Por permitirme la aventura de vivir.

A MIS PADRES

Blanca Rosa Méndez de Godoy
José Manrique Godoy Navas
Gracias por todo y por ser mis mejores "amigos".

A MIS HERMANOS

Jenner, Erica, Nelson (+) y Sheny.
Por compartir el mejor regalo; "la vida".

A MIS ABUELITOS

Silvestre Godoy (+) Carmela Navas (+)
Samuel Méndez Veliz (+)
Con mucho amor y admiración.

A MI ABUELITA

Leonarda Rosales.
Agradecimiento eterno por todo el cariño brindado en todos los momentos de mi vida.

A MIS SOBRINOS

Jenner Manrique, José Manrique, Idolly, Carmen Eugenia, Carlos y Jason.
Compartiendo la alegría de vivir.

A MIS CUÑADOS

Enrique y Albi
Con cariño

A MI FAMILIA EN GENERAL

Con respeto.

A MIS AMIGOS

Especialmente a:
Josefina (+) y Pedro Divassi T.
Amandita López (+), Violeta Tobar
Norma y Francisco Castillo y
Victor Cardenas.
Gracias por la amistad "incondicional"

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS DE PROMOCION

Especialmente:
Silvia De León, Anjeannette Herring, Ana Esther Barrientos, Rosita Quán, María Elena Ramírez, Héctor Arriola, Ella Rosales, Edilia Santizo, Dalia Ménchú, Evelyn Podas y Martín Gil.
Gracias por compartir "grandes y bellos momentos"

[illegible] DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
[illegible] Central

DEDICO ESTA TESIS

A GUATEMALA

De carácter multiétnico, multilingüistico, pluricultural y de grandes desafíos en el inicio de un nuevo milenio.

A PETEN

Tierra esplendorosamente verde y legendaria que me vió nacer.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

AL DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA.

A MIS CATEDRATICOS

Especialmente:

Lic. Karin Herrera, Lic. María del Carmen Bran, Lic. Diana Freire de Nave, Lic. Federico Nave, Lic. Clemencia Galvez de Avila, Lic. Alba Marina de García, Lic. Raúl Paniagua, Dr. Ruben Velásquez y Dr. Héctor Aguilar.
Gracias por compartir esta gran "aventura académica"

AGRADECIMIENTOS

A la Lic. Karin Herrera por la asesoría brindada en la realización de este trabajo. Al Dr. José Ernesto Sánchez; Jefe del Depto. de Biotecnología Ambiental de EL COLEGIO DE LA FRONTERA SUR, Tapachula Chiapas México por proporcionar material bibliográfico. A la Sra. Gladys Aguilar por todo el apoyo y colaboración brindada en la realización de la parte experimental. A Laboratorio de Control de Calidad LABKIM. A los Licenciados: María del Carmen Bran, Armando Cáceres y Evelyn Rodas por la revisión de este trabajo. A las señoritas secretarias Sheny Garzaro, Lesbia Corzo y Lucy Santis por la ayuda brindada en la realización de los trámites administrativos. A mi familia, especialmente a mis padres; José Manrique Godoy Navas, Blanca Rosa Méndez de Godoy, mi abuelita Leonarda Rosales y mis hermanas Sheny y Erica por el apoyo económico, moral y por toda la paciencia. A Herberth Divassi por su colaboración en la preparación del material fotográfico para la presentación del trabajo. A Silvia De León y Rosita Quán por el apoyo moral y por estar presente en los momentos más difíciles de la realización de esta tesis.

INDICE

		Página
I	RESUMEN	1
II	INTRODUCCION	3
III	ANTECEDENTES	5
	A. ESTUDIOS REALIZADOS EN GUATEMALA SOBRE CULTIVO DE HONGOS COMESTIBLES	5
	B. GENERALIDADES	6
	1. Hongos comestibles	6
	2. Hongos comestibles cultivables	7
	C. CARACTERISTICAS DE *PLEUROTUS OSTREATUS*	9
	D. SUBSTRATOS OPTIMOS PARA EL CULTIVO DE *PLEUROTUS OSTREATUS*.	12
	E. TECNOLOGIA PARA EL CULTIVO DE *PLEUROTUS OSTREATUS*.	15
IV	JUSTIFICACIONES	34
V	OBJETIVOS	35
VI	HIPOTESIS	36
VII	MATERIALES Y METODOS	37
	A. UNIVERSO	37
	B. MEDIOS	37
	C. PROCEDIMIENTO	39
VIII	RESULTADOS	44
IX	DISCUSION DE RESULTADOS	48
X	CONCLUSIONES	52
XI	RECOMENDACIONES	53
XII	REFERENCIAS	54
XIII	ANEXOS	59

I. RESUMEN

Se realizó el cultivo de una cepa mexicana de *Pleurotus ostreatus* (Jaqc. ex Fr.) Kumer en los siguientes substratos; aserrín de caoba y cedro, olote de maíz y fibra de coco. Este trabajo tuvo como objetivo cultivar la cepa mexicana en distintos substratos, comparar los porcentajes de eficiencia biológica y determinar que substrato contiene componentes óptimos para su cultivo.

El cultivo se llevó a cabo en dos fases. En la primera etapa se hicieron 13 repeticiones y en la segunda 12 repeticiones y se evaluó cada fase independiente una de la otra. El rendimiento de los substratos se evaluó mediante el porcentaje de eficiencia biológica. Los resultados de los porcentajes de eficiencia biológica promedio fueron las siguientes: Aserrín de caoba y cedro 71.75 y 104.00 por ciento, fibra de coco 48.32 y 73.95 por ciento y olote de maíz 67.05 y 135.54 por ciento. La diferencia entre los tratamiento se evidenció mediante una análisis de varianza de una vía y comparaciones múltiples de Fisher; llevándose a cabo en ambas fases del proceso. El trabajo concluyó lo siguientes: Fue posible cultivar la cepa mexicana de *Pleurotus ostreatus* (Jaqc. ex Fr.)Kumer en olote de maíz, fibra de coco y aserrín de caoba y cedro, el porcentaje de eficiencia biológica de los tres substratos son diferentes, el olote de maíz y el aserrín de caoba y cedro fueron los mejores substratos para el cultivo de la cepa antes

mencionada. La fibra de coco fue el substrato que tuvo el menor porcentaje de eficiencia biológica.

II. INTRODUCCION

Los hongos han sido conocidos desde tiempos remotos como alimento, medicina y como entes sagrados. A través de la etnomicología maya, se puede llegar a conocer la importancia que estos tenían en esa cultura. Los hongos comestibles son importantes sobre todo en las regiones frías, altas y húmedas del altiplano (clima frío) y en algunas bajas (clima tropical) de Guatemala. La mayoría de los habitantes de esas regiones de Guatemala tienen un conocimiento amplio de los hongos, prueba de ello, es que pueden distinguir entre hongos comestibles, no comestibles y venenosos (1,2).

El cultivo de hongos comestibles, es una alternativa para la utilización de desechos agrícolas en distintos países del mundo, especialmente en los países de regiones tropicales y subtropicales. La utilización de desechos agroindustriales cobra gran importancia en el cultivo de los hongos, debido a que no sólo se obtiene alimentos de gran valor nutritivo, sino también se lleva a cabo la bioconversión de éstos desechos, que tradicionalmente, pasan a ser parte de la "basura", que se acumula en el ambiente. Guatemala, es considerado en un 75 a 80 % como un país "agrícola", (a pesar de poseer características forestales) necesita de programas para llevar a cabo la reutilización de éstos mismos.

En este estudio se probaron los desechos de aserrín de caoba y cedro, olote de maíz y fibra de coco, para el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*.

III. ANTECEDENTES

A. ESTUDIOS REALIZADOS EN GUATEMALA SOBRE CULTIVO DE HONGOS COMESTIBLES:

El cultivo de hongos comestibles se inició en Guatemala en el año 1955, con la introducción de champiñones (*Agaricus bisporus*), utilizando cepas de origen norteamericano (5). En el año 1983 el Laboratorio del Instituto Centroamericano de Investigación Tecnología Industrial (ICAITI) inició algunos estudios sobre cultivo de hongos. En el año 1986 se inician las actividades de la primera planta productora de hongos a nivel comercial en Guatemala (5).

Con las exposiciones nacionales de hongos que se han realizado en la ciudad de Guatemala y en diferentes Departamentos, se ha dado a conocer entre otras cosas algunos de los avances tecnológicos en el cultivo de hongos, particularmente *Pleurotus ostreatus* (4).

Desde 1986 De León, ha trabajado con el cultivo de *Pleurotus ostreatus*, y se ha dedicado a investigar el cultivo de otros hongos comestibles como: *Flammulina velutipes, Volvariella volvacea, Lentinula edodes* y *Ganoderma lucidum*, este último con fines medicinales. Así también, ha realizado investigaciones en México cultivando *Pleurotus* en lirio acuático y determinando la absorción de

metales pesados por los cuerpos fructíferos (7).

En Guatemala, existen otras dos plantas, una se dedica al cultivo de *A. bisporus* (champiñones) y la otra cultivo de *L. edodes* (shiitake) (8).

B. GENERALIDADES

1. Hongos Comestibles

El hombre se ha interesado desde épocas prehistóricas en la utilización de los hongos macroscópicos como alimento (1).

En Mesoamérica, hay más de 200 especies de hongos comestibles a los que las comunidades campesinas tradicionales (mestizas e indígenas) designan con nombre vernáculos o populares (3). Entre las especies comestibles que pueden llegar a cultivarse están: *Auricularia auricula, Agaricus campestris, Volvariella bakeri* y *V. volvacea entre otros.El Ustilago* maydis es consumido principalmente en México y *Schizophyllum* commune es consumido en algunas regiones de México y al Norte de Guatemala (3,4,9).

El valor nutritivo se basa en la presencia de proteína y aminoácidos. Los cuerpos fructíferos contienen en pequeñas cantidades: grasa, fibra cruda y cenizas. La grasa en los hongos se encuentra alrededor de 1 por ciento, lo cual es muy importante para aquellas personas que tienen problemas con el consumo de grasas. La fibra cruda presenta altas concentraciones alrededor de 30 - 32 por ciento de su peso en seco (10,11). Las cenizas que

incluyen Sodio, Potasio, Hierro, Cobre, se encuentra en un 0.4 al 25.7 por ciento de su peso en seco. La concentración de proteínas depende en gran parte de la composición del substrato. El substrato al ser suplementando con urea y sulfato de amonio, disminuye la concentración de aminoácidos como prolina y arginina, pero presenta altas concentraciones de aspartato y glutamato (11,12).

Comparado con la proteína del huevo y estándares de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO), tienen aminoácidos esenciales en orden decreciente: aminoácidos azurados, leucina, isoleucina, valina, lisina, aminoácidos aromáticos y triptófano (13,14).

2. Hongos comestibles cultivables:

Entre los más comunes están; Champiñón y Shiitake, los cuales han sido cultivados desde hace muchos años. El primero en casi todo el mundo y el segundo en los países asiáticos (3,4). El hongo más cultivado actualmente a nivel mundial es el "champiñón" *(A. bisporus)* y *A. bitorquis*. Se inició el cultivo de *L. edodes* alrededor de 100 años después de Cristo en China y posteriormente se introdujó a Japón donde se cultiva desde hace más o menos 1,800 años, pero los estudios científicos se desarrollaron hasta en este siglo (3,4). Actualmente ocupa el segundo lugar en la producción asiática (3,4).

En México se cultiva el Shiitake en forma comercial en la Sierra del Soconusco de Chiapas y en forma experimental en Instituciones como: Facultad de Química de la UNAM, en el Colegio de Posgraduados de Chapingo en Puebla, en el Instituto de Ecología de Xalapa y en el Instituto de Botánica de la Universidad de Guadalajara (3,4). Además, se están cultivando experimentalmente especies de: *Volvariella volvacea, Auricularia fuscosuccinea, Flammulina velutipes, Pholiota nameko.* El cultivo comercial de *P. ostreatus,* ha tomado relevancia sobre todo por la utilización de esquilmos y desechos agro-industriales (15, 16). La materia prima ha utilizar depende en gran medida del tipo de desecho que se acumule en las distintas regiones, que van desde pulpa de café, bagazo de caña, maguey, bagazo de citronela, paja y otros (17, 18).

El cultivo de *P. ostreatus* se inició en Europa en los años 70 y se ha ido extendido E.U.A. y posteriormente a América Latina. En 1974, México inició su cultivo comercial, con cepas y tecnología europea, bajo el nombre comercial de "seta", este cultivo se llevó a cabo teniendo como ventajas: la fácil adaptación que esta presenta, el manejo y bajo costo en el cultivo (3,4). *Además de P. ostreatus,* otros integrantes del género como: *Pleurotus djamour, Pleurotus sajor-caju y Pleurotus pulmonaris,* han sido cultivados en distintos desechos con Eficiencia Biológica adecuada. En 1986, se funda en Guatemala la

primera planta dedicada al cultivo de *Pleurotus* (3, 4, 9).

Otros hongos que han sido citados como nuevas alternativas para ser cultivados son: *Pleurotus levis, Auricularia polytricha y Schizophyllum commmune,* los cuales no son muy recomendables en América Latina, debido a su textura correosa; sin embargo, en algunas comunidades, estos hongos son aceptados por la población. Tanto el champiñón *(A. bisporus)* y *P.ostreatus* son los más cultivados en México y en Guatemala y a baja escala se produce el Shiitake *(L. edodes),* siendo los dos primeros los de mayor importancia comercial (3, 5, 20 - 22) [Anexo 1].

C. CARACTERISTICAS DE *PLEUROTUS OSTREATUS*

Hongo comestible, también conocido como; "mariscos de los árboles" (23). Posee un sombrero o pileo liso convexo, a veces redondo, en forma de ostra o de concha, pudiendo presentar escamas en el centro en la base. Puede llegar a medir de 5 a 15 cm de diámetro. Su color puede presentarse de forma muy variable; negro violáceo, pardo grisáceo, ahumado o gris, café grisáceo, azul con tonos o reflejos metálicos, pero puede palidecer al secarse. Sus laminillas son decurrentes, anastomosada en la base, anchas, blancas y algunas veces ligeramente amarillas. El estípite se presenta corto, excéntrico o lateral, engrosado hacia el lado del sombrero. Las esporas son de color lila en masa,

elipsoides con una talla más o menos de 9.5 X 3.5 um (20, 21, 24) [Anexo 2].

En su hábitat natural crece en maderas en descomposición, siendo un hongo parásito o saprofítico. Su micelio es de tipo rizomórfico (25, 26). Taxonómicamente se clasifica en el género *Pleurotus* y especie *ostreatus* [Anexo 3]

Al respecto de su contenido nutricional se han realizado reportes acerca de la cantidad de proteína total 38.7 y 36.00 por ciento, fibra cruda 7.5 y 6.5 por ciento, grasa cruda 9.4 y 12.2 por ciento, cenizas 5.3 y 10.1 por ciento de su peso en seco (10, 12).

Contienen aminoácidos con grupos aromáticos tales como aspartato y glutamato. Los aminoácidos azurados se encuentran en concentraciones bajas (10). Estas estimaciones parten de la comparación con la proteína del huevo y según el indice de aminoácidos esenciales y el contenido aminoacídico los hongos se encuentran en el tercer y cuarto lugar respectivamente, siendo superados unicamente por la proteína de origen animal. El Indice Nutricional indica que los hongos ocupan el quinto lugar, siendo superado por la proteína animal y de soya. Al ser comparado con frutas y vegetales, el contenido proteínico es similar (10, 12).

La Niacina se encuentra presente en la siguiente relación: 109 mg en 100 gramos de peso seco (21, 27).

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

Respecto a las vitaminas, se ha encontrado el precursor de Colecalciferol (Vitamina D), en 0.028 por ciento en base seca, en forma de Ergosterol (28).

Poseen enzimas como: fenol oxidasa extracelular (que se incrementa con la presencia de inductores como el tabaco), celulasa, alcohol oxidasa (no necesitan inductores para incrementarse). Son de gran importancia en la degradación de polímeros de lignina (29).

P. ostreatus tiene la capacidad de disminuir en los substratos la concentración de la celulosa y la lignina, presentando una concentración de 44.9 y 27.3 por ciento antes de la incubación respectivamente y después de la fructificación presenta 27.8 por ciento de celulosa y 20 por ciento de lignina (12). Pero a pesar de la degradación de lignina y celulosa su actividad es baja en relación a otros organismos como: *Phanerochaete chrysosporium. P. ostreatus* degrada los substratos antes mencionados en un 20 por ciento después de 30 días de incubación de la muestra y *P. chrysosporium* degrada 55 por ciento después de 15 días de incubación (30). Para degradar lignina *P. ostreatus* necesita Manganeso como cofactor en rango de concentraciones de 0 -4.5 mM, al incrementarse la concentración se inhibe la actividad enzimática (31, 32).

El crecimiento está supeditado a ciertos factores como: temperatura, la humedad del ambiente, la humedad del sustrato, el pH, las concentraciones de CO_2 y O_2 y la luz

(3, 21). Sin embargo, al agregar cafeína en concentraciones alrededor de 0.001 - 0.06 mg/ml se ve ligeramente estimulado el crecimiento, mientras que al agregarle cantidades mayores de 0.2509 - 2 mg/ml se ve inhibido el crecimiento (33, 34). Otros factores que influyen en el crecimiento del hongo es la aplicación de químicos como fungícidas, en este caso ocurre inhibición del mismo (35) Se han realizado trabajos sobre efectos tóxicos que las esporas de *P. ostreatus* pueden provocar en órganos de animales, no presentado daños (9,36).

D. SUBSTRATOS OPTIMOS PARA EL CULTIVO DE *P. OSTREATUS*

Las distintas especies de *P. ostreatus* son lignocelulolíticas, tienen la capacidad de degradar muchos substratos. El cultivo de *P. ostreatus* es muy reciente; a partir del año 1964, se desarrolló un método para el cultivo de *Pleurotus* utilizando aserrín (3, 21). Se ha demostrado, que *P. ostreatus* puede cultivarse con éxito en residuos agroindustriales como: Tamo y olote de maíz, paja de arroz y madera de cacahuate, bagazo de caña de azúcar y el de maguey tequilero, así como el lirio acuático, pulpa de café y el bagazo de la citronela (37, 38).

Clasificación de los substratos:

1. **Substratos secos:**

Los substratos para el cultivo de los hongos, se pueden clasificar en seis categorías:

- Pajas de ajonjolí, arroz, cártamo, sorgo, trigo, avena y zacates en general.
- Rastrojos de maíz, mijo garbanzo, frijol, etc.
- Pulpa de café, cardamomo.
- Bagazos de caña de azúcar, de citronela, maguey tequilero, henequén, uva, etc.
- Forestales, tales como aserrín, viruta, troncos y ramas.
- Otros: papel, olote de maíz, hojas (brácteas) de piña, fibra de coco, lirio acuático, hojas y tallos (cañones) de plátano, de caña de azúcar, desechos de industria textil (como algodón), (3,4).

La combinación de los substratos puede favorecer de mejor forma el desarrollo de los hongos, como en el caso de mezclas de pajas con pulpa de café o bagazo de caña de azúcar o éste último con pulpa de café (3,4).

2. **Substratos frescos:**

Entre estos se encuentran: rastrojo de maíz, desechos del nopal, hojas utilizadas en la extracción de aceites esenciales, pajas, fibra de coco, pulpa de cardamomo, olote y tamo de maíz, aserrín, residuo del orégano, fruto de la palma del cocotero y pañales desechables (23).

Estos substratos tienen la característica de separar facilmente la celulosa y la lignina sin necesidad de fermentarlos (3,4,22).

Se ha obsevado las siguientes eficiencias biológicas

- Olote y tamo de maíz: 50 y 187 por ciento respectivamente (14).
- Fibra de coco: 86 por ciento (39).
- Cáscara de cacahuate y hoja seca de maíz: 85.44 y 144.85 por ciento respectivamente (40) [Anexo 4].

3. Substratos Fermentados:

El proceso de fermentación es recomendado en aquellos materiales que poseen una gran cantidad de azúcares solubles, que al no ser eliminados predisponen a un crecimiento rápido de mohos, levaduras y bacterias, los cuales competirían con el crecimiento del micelio por el substrato. Al no eliminarse estos carbohidratos y ejecutarse la inoculación del micelio, estás moléculas se transforman en ácido orgánicos (acético, butírico o propiónico), actuando como atrayentes para insectos (3,4). Entre estos substratos podemos mencionar: Pulpa de café, bagazo de caña de azúcar, bagazo de maguey tequilero o pulquero, de henequén, y de uva, lirio acuático, zacates verdes, tallos de plátano y otros materiales provenientes de residuos agroindustriales (3,4). Además, el proceso de fermentación ablanda las fibras que componen los materiales, permitiendo así una mayor retención de la humedad, siendo ésta necesaria para el desarrollo del micelio, y reduce otros compuestos que son no deseados en los substratos, como: Taninos, fenoles, ácidos, resinas, etc. (3.4).

El porcentaje de eficiencia biológica de estos substratos varía de acuerdo a los días de fermentación [Anexo 5].

4. Substratos Mezclados:

Con el objeto de mejorar los resultado obtenidos en el cultivo de *P. ostreatus* sobre algunos substratos como: Paja de cebada, trigo y otros. Se han estado realizando distintos ensayos mezclando los antes mencionados con pulpa de café, que hasta ahora ha sido el mejor substrato en cuanto al rendimiento biológico (40).

Con la mezcla de pulpa de café con cebada se han obtenido eficiencias biológicas de 99.75 por ciento (41). Al mezclar bagazo de caña con pulpa de café la eficiencia biológica fue de 96.96 por ciento y bagazo de caña con paja de cebada se obtuvo una eficiencia biológica de 65.05 por ciento (42). La mezcla de bagazo de caña fermentado con rastrojo de maíz, rinde 60.18 por ciento de eficiencia biológica. (23). El bagazo de maguey tequilero después de ser mezclado y fermentado con paja de trigo presenta una eficiencia biológica de 96.4 por ciento (40).

E. TECNOLOGIA PARA EL CULTIVO DE *PLEUROTUS OSTREATUS*

Para llevar a cabo el cultivo de *P. ostreatus* se necesita de un proceso sencillo, con tecnología no sofisticada que involucra el mantenimiento de las condiciones climáticas favorables para el desarrollo del

hongo. Tanto la humedad, pH del sustrato son factores primordiales que se deben vigilar y mantener constantes para optimizar la producción (2,4).

1. Procesamiento

Para el cultivo de *P. ostreatus* son fundamentales cuatro etapas:

a) Preparación del inóculo

Esta etapa se lleva a cabo en condiciones de extremo cuidado en el laboratorio; se refiere a la siembra y propagación del micelio del hongo a partir de un tubo inclinado que contiene la cepa original en buenas condiciones fisiológicas (2,4,21). Otra opción es a partir del micelio en el contexto del cárpoforo fresco. La siembra se hace en caja de petri, ya sea en agar extracto malta, agar papa dextrosa, agar de Sabouraud, etc. Se incuba en oscuridad a 28 °C durante 8 días aproximadamente. Pasado este período, el hongo se resiembra en un sustrato intermedio (grano de maíz, arroz, sorgo, maíz, etc) en cantidad suficiente para que una vez desarrollado su micelio, la mezcla grano-hongo se utiliza como semilla en la siembra del substrato definitivo. Se busca en este caso una colonización rápida y económica que optimice la fructificación (2,4, 21, 23). La preparación del inóculo comprende los siguientes pasos:

i) Preparación del "Primario":

Central

Después de haber preparado el medio adecuado en donde se hará crecer el micelio en forma masiva, procede la inoculación del mismo en los granos (3,4,21).

El grano elegido como substrato intermedio se limpia, se rehidrata en agua (durante 15 horas el sorgo, 16 horas el arroz y 24 horas para el maíz), se deja después escurrir para eliminar el exceso de agua. Se pesa en porciones de 200 gramos y se introduce dentro de bolsas de polipapel o frascos de vidrio. Posteriormente se esteriliza a 121°C durante 30 minutos, dejándose enfriar (23).

El proceso de preparación del inóculo debe realizarse en un área aséptica, de preferencia cerrada y ajena a corrientes de aire y con equipo esterilizado. Es recomendable la utilización de una cámara de flujo laminar o en su defecto dos o tres mecheros Bunsen, colocados de tal forma que originen una zona aséptica en el área de la mesa donde se trabaja. El material empleado (agujas de disección, bisturí, navajas y asas de platino) se esterilizarán flameándolos en la llama del mechero y dejándolo enfriar antes de su uso. El hongo a utilizar, es el micelio que se obtuvo en el laboratorio en las cajas de Petri.

Teniendo el material y las instalaciones, el proceso a seguir es el siguiente:

- Con la ayuda de bisturí o navaja estériles, se cuadriculará el micelio contenido en el cultivo de la

caja de petri seleccionada, de tal manera se obtienen porciones de más o menos 1 cm^2.

- Las porciones del cultivo de la caja de *petri antes* señaladas, se depositarán sobre la superficie de cada uno de las bolsas de polipapel, auxiliándose con una aguja de disección o asa de platino.
- A continuación se incuban las bolsas. A una temperatura de 28-30 °C, y en la obscuridad, hasta que el micelio cubra totalmente los granos, lo cual ocurre a los 10 a 15 días. En este período se realizan inspecciones continuas para detectar cualquier irregularidad, como contaminacines, anaerobiosis, fructificación temprana. A cada porción preparada de esta forma se les llama "primario"

ii) Preparación del "Secundario":

A partir de un primario, se pueden tomar en forma aséptica 8 -10 porciones de grano para ser resembrados en el mismo número de bolsas que contengan el sustrato intermedio estéril (aproximadamente cada bolsa es de 400 a 450 gr). Esta nueva porción se incuba a las mismas condiciones que los primarios. Una vez crecido el hongo, a estos segundos paquetes de grano-hongo se les denomina "secundarios". La utilización de secundarios como semilla para la siembra en el sustrato definitivo es ampliamente recomendada porque se disminuye el consumo de agar y medios sintéticos, la propagación del hongo en el secundario es

más rápida, debido a que el hongo ya se encuentra adaptado y se puede inocular mayor cantidad de porciones, porque la transferencia de primario es más sencillo y menos delicada que la transferencia de caja de petri a primario. No se recomienda preparar terciarios (3,4,20,21,23).

b) Preparación del Substrato

El pretratamiento del substrato para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* comprende varias etapas, esto depende del substrato a utilizar (23). En el caso de los substratos como la pulpa de café, se ha recomendado usarlo fresco, fermentado o seco-hidratado. Siendo el segundo el más utilizado. El proceso de preparación del substrato se resumen en tres pasos:

- Fermentación (no todos los substratos necesitan de este paso)
- Hidratación
- Pasteurización.

i) Fermentación:

La fermentación en este caso implica un proceso aeróbico y el substrato deberá se tratado de la forma siguente: Se apila formando un montículo y se cubre con un material plástico negro para mantener el calor y la humedad que favorece la actividad enzimática de los microorganismos, alcanzando una temperatura de 50 -55 °C.

En esta etapa del proceso, se presentan cambios de pH,

permitiendo la adaptación de distintos microorganismos descomponedores de azúcares, originando carbohidratos menos complejos y a su vez generan proteínas. Al finalizar el proceso el substrato ha alcanzado una temperatura de ± 35 °C. que estas moléculas se transforman en ácidos, (ácido acético, ácido butírico o ácido propiónico) y pueden atraer moscas, estas depositan sus huevos sobre el substrato y sus larvas producidas (gusanos) se alimentarán del micelio, provocando así problemas de contaminación (33).

A esta temperatura (50 -55 °C.), todos los microorganismos (bacterias, levaduras y mohos) en sucesión, se han adaptado a las diferentes condiciones que se presentan en el proceso y a los cambios de pH. Durante las primeras etapas, se desarrollan microorganismos que descomponen los azúcares solubles. Posteriormente aparecen otros microorganismos que degradan carbohidratos más complejos, como el caso de la hemicelulosa. En este proceso de descomposición de forma parcial del substrato hay un enriquecimiento de microorganismos, que a su vez generan proteínas. Al finalizar la fermentación la temperatura es de ± 35 °C.

El uso de los substratos fermentables secados al sol, como una forma de almacenamiento y así poder utilizarla durante todo el año. Soto-Velasco recomienda que el substrato se extienda en un patio rústico para secarlo al

sol, así se puede almacenar de uno a dos años. Este procedimiento se indica en casos de cultivo en condiciones rústicas (3,4,22).

La fermentación anaeróbica es un gran problema en este proceso, para evitarse es necesario que se remueva cada dos o tres días el substrato (4,21,22).

Respecto al tiempo de fermentación puede ser de 3 a 5 días en el caso de la pulpa, los bagazos un mínimo de 10 días (3,4, 22).

Se han realizado estudios utilizando fermentación anaeróbica; el substrato (pulpa de café) es tratado por inmersión en una suspensión de peróxido de benzoilo a 80 partes por millón por un período 11 días, previo a la inmersión se utiliza fenoxil-4' al uno por ciento, para eliminar la presencia de adulto y larva de la mosca de la fruta *(Anastrepha* spp). Pasado este período, se drena el agua mediante una llave de paso que tiene el recipiente fermentador hacia su base. Luego pasa la pulpa a otro recipiente con hipoclorito de sodio (2 por ciento). Se elimina el agua con el fin de ajustar el porcentaje de humedad de los substratos, la prensa a utilizar está formada por dos parrillas; una superior y otra inferior, en esta última se encuentra la bolsa conteniendo el substrato, la prensa presiona las dos parrillas permitiendo la salida del agua de la bolsa (43,44) . Este proceso difiere del anterior y la eficiencia biológica que presenta el

substrato es de 43 por ciento, estando muy por debajo de los reportados cuando se utiliza pulpa de café fermentada aeróbicamente (8, 14, 17, 41, 43).

ii) Hidratación:

La hidratación se realiza basicamente en substratos secos como pajas, rastrojos, desechos de algodón, papel, aserrín, pulpa de café deshidratadas. En caso de que presenten segmentos muy grandes o largos, como el caso de las pajas, es necesario reducir su tamaño a segmentos de aproximadamente 3 a 5 cm, con lo cual se permite una mayor retención de la humedad y un fácil manejo del substrato. Para llevar a cabo la hidratación se pueden seguir varias técnicas, como lo que se señala a continuación:

- Remojo en agua: El substrato es colocado en un canasto de malla metálica de aproximadamente de 50 X 80 cm y se sumerge por espacios de 20 horas, al término de la cuales habrá absorbido suficiente agua para tener aproximadamente 70 por ciento de humedad; es recomendable realizar este proceso en caso de pajas y rasatrojos. Para esto se pueden emplear toneles metálicos de 200 litros de capacidad, en donde se sumergen los canastos.
- Adición de agua y formación de pilas: Esta técnica es similar al de fermentación, solamente que el substrato no se deja fermentar. Para ello el substrato se coloca en el piso del área de preparación, se extiende y se aplica agua hasta cerca del 80 por ciento. Se cubre con un

plástico y se deja por una noche. Al día siguiente estará listo para la siembra.

- Compactación: Esta técnica se emplea para substratos que tienen muy poca retención de humedad y son difíciles de hidratar, como: desecho de algodón, papel, cartón, estopa de coco, aserrín, etc. El substrato se coloca en un cajón aproximadamente 2 X 2 X 1 m. Se aplica agua uniformemente se presiona severamente con los pies, de tal forma de ir empapando y compactando el substrato. Posteriormente se coloca otra porción del substrato encima del anterior y se repite el proceso. Similar a la fermentación, es necesario realizar un volteo a la pila al segundo día. El substrato se hidrata en un promedio de 3 a 5 días y se obtiene un 70 a 75 por ciento de humedad (3, 4, 20, 23).

Si el substrato no se hidratara de una forma adecuada, difícilmente el hongo puede llegar a colonizar todo el substrato y los cuerpos fructíferos crecen irregularmente, provocando disminución en la producción de la cepa (3, 4, 22, 23).

iii) Pasteurización:

- Preparado el substrato en forma adecuada por cualquiera de las técnicas ya mencionadas, se debe realizar un proceso similar a la pasteurización. Su función es de eliminar o inhibir la mayor cantidad de organismos que puedan competir con el hongo en la utilización del substrato. Se considera que cada gramo de substrato posee

100,000 organismos, los cuales si no se eliminan, competirán con el micelio del hongo.

Zadrazil y Kurztman han utilizado la denominada técnica estéril. Esta técnica consiste en autoclavear los substratos y manejarlo en condiciones asépticas. Se utiliza basicamente en trabajos de investigación, no se recomienda su uso en proceso de producción debido al alto costo del equipo (19,20,22,23).

El tratamiento con agua caliente también ha sido utilizado. Morales recomienda su uso para pajas, pulpa de café y citronella. La técnica consiste en lavar varias veces el substrato con agua a 95 °C. Si se trata de pulpa de café y citronella debe lavarse durante cuatro veces, en caso de paja de trigo cinco veces. Este tratamiento ha sido utilizado con éxito, sin embargo no todos los microorganismos presentes en el substrato han sido eliminados (19,20, 23).

Guzmán y Martínez-Carrera recomiendan la técnica más generalizada que es la pasteurización y consiste en sumergir el substrato en agua a 80 a 90 °C durante 30 - 45 minutos, el tiempo va a depender del tipo de substrato que se use. Si se incrementa la temperatura, es probable que la composición química del substrato cambie, limitando así un aprovechamiento eficaz de las fuentes de carbono por el micelio del hongo. Por otra parte, los azúcares disueltos en el medio se hacen accesible a otros

microorganismos contaminantes, que los pueden consumir con mayor facilidad y rapidez. El substrato (ya empacado) se agrega a los recipientes que contienen agua previamente calentada. Luego se procede al enfriamiento, esta parte del proceso es crítica, debido a que si las bolsas que contengan el substrato, no son enfriadas en condiciones asépticas pueden contaminarse (19,20, 23).

Otra técnica a utilizar es la pasteurización por medio de vapor. El material es colocado en camas de madera con una base de malla metálica, en cuartos cerrados. La capa de substrato no debe exceder de 20 cm de grosor, de lo contrario se impide la libre circulación del vapor. El vapor se inyecta hasta que la temperatura alcance de 60 - 65 °C y se mantiene así por espacio de 10 a 12 horas. Posteriormente, se inyecta aire filtrado para el enfriamiento del substrato. Este método no es muy recomendable, ya que al elevar la temperatura puede originar el desarrollo de algunos microorganismos contaminantes en el substrato (8, 4, 20, 23).

iv) Siembra

Existen varias técnicas para realizar el cultivo de *P. ostreatus*. Entre éstos se encuentran: Proceso de tunel, cultivo en contenedores, cultivo en bloques prensados y cultivo en sacos.

El proceso del tunel ha sido utilizado en investigaciones por Zadrazil y Kurtzman. En está técnica el

crecimiento micelial es en masa, en construcciones especiales llamados tuneles de reciclamiento de aire, en los cuales las concentraciones de oxígeno y bióxido de carbono pueden controlarse. Para obtener un óptima condición durante el período de crecimiento del micelio una concentración del 20 por ciento por volumen de bióxido de carbono puede regularse por adición de este gas. Después de la colonización total del substrato, este puede ser transferido a contenedores pequeños para la producción de cuerpos fructíferos (19,20,21,23).

El cultivo en contenedores se basa en el diseño de contenedores de superficies verticales, con lo cual se facilita su manejo y espacio. Existen tres tipos de contenedores: Uno de ellos es un sistema cilíndrico, denominad método de chorizo (Método alemán). Consite en un cilindro de malla de alambre con un radio de 30 cm por 2.0 m de altura en cuyo centro contiene un tubo de PVC (polivinil cloruro benceno) oradado y soportado en una base de metal y con una perforación en la parte superior. En este sistema el cilindro es llenado con el substrato pasteurizado y cubierto con plástico. El tubo central realiza dos funciones, una de ellas es para facilitar su transporte en rieles por medio de la perforacón y la más importante que es la de dispersar el calor que se genera por el crecimiento del hongo. En el otros sistema, el contenedor posee un mayo volumen (30-40 cm de base, 1.2 m

de ancho y 2.2 m de altura, con dos o tres tubos internos de igual manera que el anterior) con capacidad para 400 kg de substrato; este posee paredes sólidas que son removidas para la fructificación. Estas dos técnicas han sido utilizadas por Zadrazil y Sánchez. (3, 4, 19,20,21,23). Por último se tiene un sistema a manera de caja o bandera vertical. Construido de malla con abertura de 5 cm^2 (las caras) y madera u otro material resistente (la estructura o esqueleto). Puede hacerse este sistema articulado o con bisagras para facilitar el llenado o empacado del substrato (20,21,23).

En el cultivo de bloques prensados, el substrato puede ser empacado en plástico y prensarse para obtener bloques rectangulares durante el crecimiento del micelio. Para obtener las cosechas se quita el plástico y los cuerpos fructíferos se desarrollan sobre la superficie (22, 23, 44).

El cultivo en sacos o bolsas se realiza en bolsas de plástico transparente, el tamaño de las bolsas depende de la experiencia o requisitos del cultivador. No se deben utilizar bolsas de color opaco o negras porque tienen el inconveniente de no dejar ver el crecimiento del micelio sobre el substrato y tampoco se puede observar si aparece algún moho contaminante u otro problema. Las bolsas a utilizar deben ser nuevas, para evitar contaminaciones, siendo recomendable revisarlas para que no presenten

perforaciones, algún desperfecto o que estén sucias.

La siembra de las bolsas, se deben llevar a cabo en una área destinada (aséptica). Se deben tomar las siguientes precauciones:

- El personal debe estar provisto de ropa limpia, con mascarillas, gorra para la cabeza y las manos se mantendrán bien limpias.
- La puerta del local debe estar cerrada y se evitarán las corrientes de aire, mientras se realiza la siembra.

El substrato se coloca dentro de las bolsas mezclándolas con el inóculo o alternando una capa de substrato con una mezcla de inóculo. Al distribuirse el inóculo debe ponerse atención especial a las orillas y colocarse en cada bolsa será equivalente entre 3 y 5 por ciento del peso húmedo del substrato.

Así, una bolsa de 7 Kg de substrato húmedo, será inoculada con 210 a 350 gr de inóculo. Las bolsas ya preparadas se cierran haciendo un nudo en la parte superior de las mismas, evitando el exceso de aire entre ellas. (3,4,45,46).

V) Incubación:

Es una de las etapas más importantes, porque es cuando el hongo se propaga en el substrato, previo a la fructificación o cosecha. Guzmán y Martínez-Carrera recomiendan que la zona de incubación debe estar en completa obscuridad, sin embargo ellos mencionan que el

factor más importante a controlar es la temperatura del local. La mayoría de las cepas de *P. ostreatus* crecen bien en temperaturas cercanas a los 28 °C, aunque algunas pueden resistir entre 20 y 30 °C sin presentar cambios aparentes. (48,49).

El uso de estantes para colocar las las bolsas ya sembradas, se recomienda para un mejor aprovechamiento del espacio (4,15,18,32).

El proceso de incubación lleva alrededor de 20 días, es recomendable a los dos o tres días después de la siembra revisar para corroborar el crecimiento y el buen estado del micelio. Este paso es importante ya que sirve para localizar posibles fuentes de contaminación (mohos de distintos colores, como verdes, anaranjados, amarillos o negros). Al observar un buen desarrollo del micelio, sin contaminantes se realizan pequeñas perforaciones con una navaja (esterilizada), permitiendo ventilación al interior de la bolsa y se evita la acumulación de bióxido de carbono (3,4). En caso se localiza alguna bolsa contaminada ya sea con mohos, bacterias o larvas de insectos, se retirarán (4, 20).

vi) Fructificación:

La fructificación o cosecha es el último paso en el cultivo de hongos comestibles, este proceso se lleva a cabo cuando el micelio se ha desarrollado adecuadamente sobre el substrato y puestos bajo la luz (3,4,19,21,23).

Martínez-Carrera recomienda que sólo dos cosechas deben ser tomadas en cuenta al determinar la eficiencia biológica de cada bolsa, debido a que en tercera o cuarta cosechas los cuerpos fructíferos obtenidos son de menor tamaño (3,4,22,24,25).

Los primeros primordios dan inicio al proceso de fructificación a 4 a 5 días, generalmente en los lugares cercanos a la abertura de la bolsas. Al momento de la aparición de los primordios Guzmán y colaboradores recomiendan retirar por completo la bolsa de plástico, sin embargo se señala que en zonas donde la temperatura sea baja, no es recomendable quitar totalmente la bolsa, debido a que puede provocar desecación del substrato y del micelio. Se recomienda que los bloques deben ser colocados en estantes, dejando suficiente espacios entre ellos (3,4,19,21,23).

La sala de fructificación presenta determinadas características entre ellas; un área amplia, dedicada exclusivamente a la fructificación del hongo;
y las las condiciones de humedad, tanto para el substrato, como el aire, de ventilacion, de temperatura así como la iluminación. Para la fructificación de *P. ostreatus,* se requieren las siguientes condiciones:

Humedad del substrato: 50 %

pH del substrato: 6.5-7.0

Humedad relativa: 85 - 90 %

Temperatura: 26 - 28 °C

Luz: Suficiente para leer

Ventilación: 4 - 6 veces el volumen de la sala/h

La ventilación tiene como objetivo eliminar el CO_2 generado por la respiración del hongo y renovarlo por aire puro. Si la ventilación es insuficiente, esta va propiciar la acumulación de CO_2 y el exceso de ventilación produce resecamiento del substrato. Si se presenta acumulación de CO_2 aún siendo baja puede inhibir el desarrollo de los cuerpos fructíferos o propiciar el crecimiento deforme de los mismos. El riego es otro factor importante, aunque sea algunas veces al día es necesario aplicar riegos en el cuarto de fructificación para aumentar la humedad y evitar el resecamiento del substrato. Los riegos deben hacerse por medio de pulverización hacia el ambiente. Los riegos directos también se pueden realizar o sea riegos a chorro, sin embargo éste debe ser suave para no dañar los cuerpos fructíferos. Se recomienda utilizar un Higrómetro o Higrotermógrafo para saber cuando es necesario regar. Si la humedad llega a establecerse por debajo al 80% será negativa para la formación de los carpóforos.

Para cosecharse los carpóforos deben alcanzar el mayor tamaño posible, sin permitir que el borde del pileo comience a enrizarse hacia arriba. La cosecha se hace cortando el estípite con un cuchillo, justo a la base del estípite, en la unión con el substrato (20, 40, 50,-52).

En esta etapa se ha observado producción de etileno, las concentraciones son directamente proporcionales al desarrollo de los cuerpos fructíferos (44) [Anexo 6].

2 Eficiencia Biológica (EB)

La Eficiencia Biológica consiste en la producción de cuerpos fructíferos, es decir, la Bioconversión de la energía y Biodegradación del substrato. Se expresa en porcentajes y la fórmula para obtenerla es la siguiente: **Es la relación entre la cosecha de hongos frescos y el peso seco del substrato.**

$$EB = \frac{\text{g de hongos frescos}}{\text{g de substrato seco}} \times 100$$

Existen otros términos, como:

- **Producción promedio de una cepa en un substrato. (P)**

  Es el peso promedio de los hongos cosechados por el peso inicial promedio del substrato empleado. Expresado de la siguiente forma:

$$P = \frac{\text{g de hongos frescos}}{\text{g de substrato seco inicial}}$$

- **Rendimiento de una cepa en un substrato (R)**

  Es la producción esperada de hongos frescos por cada

kilogramo de substrato seco inicial, estimada en base a la producción obtenida. Se expresa:

$$R = \frac{\text{g de hongos fresco}}{\text{Kg de substrato seco inicial}}$$

- **Eficiencia de Bioconversión Energética de una cepa en un substrato (% Bioconversión).**

Es el porcentaje de la energía total inicial del substrato que se transformó a energía neta ganada por los hongos. Se expresa en porcentaje de la siguente forma:

$$\% \text{ Bioconversión} = \frac{\text{g de hongos secos} - \text{g de cenizas}}{\text{g de substrato seco inicial} - \text{g de ceniza}} \times 100$$

- **Biodegradación de substrato por una cepa. (Biodegradación)**

Es el porcentaje de la pérdida de peso del substrato en base seca. Se expresa de la siguente forma:

$$\text{Biodegradación} = \frac{\text{g de substrato seco inicial} - \text{g de substrato seco final}}{\text{g de substrato seco inicial}} \times 100$$

De los términos anteriores, el más utilizado es el de Eficiencia Biológica, debido a la utilización universal. La EB, depende basicamente del tipo de substrato a utilizar, en caso de *Pleurotus ostreatus* alrededor del 100 % es considerada adecuada (20,22,44,53).

IV. JUSTIFICACIONES

Entre los problemas que enfrentan los países en vías de desarrollo, se encuentra la contaminación del ambiente, mediante la descarga de desechos de origen agroindustrial y doméstico. En nuestro país no se cuenta con un programa adecuado de tratamiento de dichos desechos; por lo que una alternativa para utilizar los desechos es por medio de su uso como substrato para el cultivo de hongos comestibles.

Pleurotus ostreatus, es un hongo comestible, que se adapta para crecer en sustratos que se originan de desechos agroindustriales. La fibra de coco, olote de maíz y aserrín de caoba y cedro son desechos que se producen en nuestras comunidades y que pueden ser utilizados como substratos para el cultivo del hongo antes mencionado.

De esta manera se pueden aprovechar los desechos agroindustriales generados, y producir alimentos nutritivos que pueden ser aprovechados por la población.

V. OBJETIVOS

A. GENERALES

Cultivar una cepa mexicana de *Pleurotus ostreatus* (Jaqc. ex Fr.) Kumer en los siguientes substratos: Fibra de coco, olote de maíz y aserrín de caoba y cedro.

B. ESPECIFICOS

1 Comparar la Eficiencia Biológica de *Pleurotus ostreatus* en los distintos substratos.

2 Determinar cual de los tres substratos es el más adecuado para el cultivo de la cepa de *P. ostreatus*.

VI. HIPOTESIS

El olote de maíz, fibra de coco y el aserrín de caoba y cedro son substratos adecuados para el cultivo de la cepa mexicana de *Pleurotus ostreatus* (Jaqc. ex Pr.) Kumer.

VII. MATERIALES Y METODOS

A. UNIVERSO

La presente investigación se realizó utilizando desechos agroindustriales como; aserrín de caoba y cedro, fibra de coco y olote de maíz.

Tanto la fibra de coco como el olote de maíz, se obtuvieron de parcelas particulares. El aserrín se obtuvo de aserraderos locales.

La cepa de *P. ostreatus* utilizada, es de procedencia mexicana, encontrándose preservada en medio agar extracto de malta con aceite mineral estéril (Técnica de limitación de oxígeno), a una temperatura de 5 °C en refrigeración, en la Sección de Macromicetos del Servicio de Micología de la Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

B. MEDIOS

1 Recursos Humanos:

- Tesista: Br. Carmen Rosa Godoy Méndez
- Asesora: Licda. Karin Herrera Aguilar

2. Recursos Materiales:

- Institucionales:

Este trabajo se ejecutó en:

- Sección de Macromicetos del Servicio de Micología, del Departamento de Microbiología de la Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Laboratorio de Control de Calidad "LABKIM"

- Materiales
  - Inóculo secundario de *P. ostreatus* en sorgo de maíz, preparado por el Lic. Héctor Arriola.
  - Olote de Maíz *(Zea mays)*, obtenidos de una parcela de cultivo de maíz del departamento de Jalapa y del Municipio de Fraijanes, Guatemala.
  - Fibra de coco *(Cocos nucifera)*, este desecho se originó de cocos cultivados en la costa Sur.
  - Aserrín de caoba y cedro, obtenidos de aserraderos locales.
  - Alcohol al 70 %.
  - Maskintape
  - Guantes
  - Bisturí
  - Bolsas de Polietileno de 45 cm de largo por 30 cm de ancho
  - Mascarilla

- Costales de rafia
- Nylon oscuro

- Equipo.
  - Cilindro de metal para realizar pasteurización
  - Pasteurizadora casera
  - Anaqueles para incubación en cuarto oscuro y fructificación
  - Mesa de trabajo para la siembra
  - Termómetro
  - Cámara fotográfica
  - Bomba para riego
  - Balanza

C. PROCEDIMIENTO

El cultivo se realizó en dos etapas, debiéndose a la disponibilidad de inóculo secundario.

1. Preparación del Substrato:

La preparación del substrato dependió del tipo de material a utilizar:

Fibra de Coco: Se fermentó la fibra de coco, utilizando la técnica recomendada por Soto-Velasco. Se colocó la fibra de coco en un patio y se dejó que se secará al sol durante 10 dias. Posterior a ello la fibra se cortó en pedazos pequeños y se hidrató. Para hidratar el substrato la técnica utilizada fue la de remojo en agua, que consiste en

colocar el substrato en un costal y sumergirlo durante 24 horas, antes de la pasteurización.

Olote de Maíz: El olote de maíz no fue fermentardo, ya que pertenece a los substratos que pueden ser utilizados frescos (2,22,21,22). Se cortó en pedazos de aproximadamente 1 cm^2, se remojó de igual forma que la fibra durante 24 horas, previo a la pasteurización.

Aserrín: Debido a su consistencia, el aserrín solo se hidrató durante 24 horas, siempre utilizando la técnica de remojo en agua (3,4,21,33).

a) Pasteurización:

Ya habiéndose preparado el substrato se realizó la pasteurización, el substrato se colocó en costales de rafia, se sumergió en agua hirviendo a 90°C durante 45 minutos. Los 45 minutos deben empezar a contar cuando el agua esta en la temperatura prevista. Esto significa que si el agua se encuentra a 90 °C y se agrega el costal que contiene el substrato, la temperatura disminuye, ya que el calor es compartido por el agua y el substrato. Es indispensable esperar que la temperatura siga elevándose hasta lograr la temperatura deseada para lograr un verdadero proceso de pasteurización. Pasado ese tiempo, el substrato se trasladó a una zona aséptica para el enfriamiento.

b) Siembra:

Para la siembra se utilizaron bolsas de polietileno

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

transparentes (se utilizaron bolsas de 45 cm de largo X 30 cm de ancho). El substrato se colocó mezclándolo con el inóculo o alternando una capa de substrato con una mezcla de inóculo. El inóculo fue distribuido homogéneamente poniendo especial atención a las orillas de la bolsa y dejando todas las zonas con granos. El inóculo que se colocó en cada bolsa fue el equivalente a 3 y 5 por ciento del peso húmedo del substrato.

Al terminar la siembra, la bolsa se cerró, mediante un nudo, teniendo cuidado de eliminar el aire del interior.

c) Incubación:

La incubación se realizó en un local especial donde la luz era mínina (oscuro), aquí se colocaron en anaqueles, durante 10 a 21 días, la temperatura ambiental registrada en la primera etapa fue de 17 °C y en la segunda etapa de 21 °C . Pasados dos días de la siembra, se observó cada bolsa, para poder evaluar el buen crecimiento del micelio y la presencia de contaminantes. Las bolsas que presentaron contaminantes (manchas amarillas, verdes o naranjas), se retiraron inmediatamente del medio. Esta revisión se llevó a cabo constantemente para evitar bolsas contaminantes.

Se realizaron incisiones utilizándose un bisturí estéril, para evitar el exceso de bióxido de carbono y permitir una mejor aireación. Las perforaciones se realizaron en hileras sobre toda la superficie de la bolsa y cada una fue del tamaño de 2 cm, con una separación de 10 cm entre sí.

d) Fructificación:

Después de que el micelio cubrió el substrato, se observó la superficie blanco algodonosa y el substrato estaba los suficientemente compactado. Se eliminaron las bolsas de polietileno para permitir la aparición de los primeros cuerpos fructíferos, estos aparecieron a los 4 días de haberse quitado las bolsas y 28 días después de la siembra. Se regó el substrato, utilizando una bomba para riego teniendo cuidado de no lastimar los primordios. Los cuerpos fueron cortados después de haber alcanzado el mayor tamaño. El corte se realizó con una navaja o bisturí estéril, justo a la base del tallo, de abajo hacia arriba, sin dañar el substrato, todos los cuerpos fructíferos frescos que se obtuvieron en un pastel o bolsa inoculada fueron pesados y se calculó la Eficiencia Biológica (EB.)

$$EB = \frac{\text{g de hongos frescos}}{\text{g de substrato seco}} \times 100$$

2. Diseño Experimental:

a) Para determinar el número de replicas, por tratamiento se utilizó la siguiente fórmula:

$$nj = \frac{2NC^2\delta^2}{A^2}$$

Donde

nj = Número de replicas

NC = Nivel de 95 % de confianza

δ^2 = Varianza

A^2 = Límite de error

El valor determinado nj = 7, sin embargo en el presente estudio se utilizaron 25 repeticiones por substrato.

Se realizaron en dos etapas, debiéndose a la disponibilidad de inóculo secundario. En la primera se trabajó con una temperatura de 17 °C y en la segunda a 21 °C

b) Análisis Estadístico: Se determinó si existe diferencia significativa entre los porcentajes de eficiencia biológica y los tres substratos mediante el análisis de varianza de una vía.

Se realizó un Análisis de varianza de una vía, una para cada una de las etapas (13 y 12 repeticiones) [Anexo 8 y 10].

Se determinó que si existe diferencia significativa (F calculado es mayor que F teórica) en ambas etapas. Se procedió a efectuar comparaciones múltiples, Prueba Mínima, Diferencia Significativa o Prueba de Fisher.

VIII. RESULTADOS

Se realizó el proceso de cultivo de *Pleurotus ostreatus* en los distintos substratos (fibra de coco, olote de maíz, aserrín de caoba y cedro), para así poder comparar las eficiencias biológicas resultantes. El cultivo se realizó en dos etapas, debido a que no había suficienciente cantidad de inóculo para realizar las 25 repeticiones en una sola fase.

A. PRIMERA ETAPA

Se realizaron 13 repeticiones por cada substrato. En esta etapa la temperatura ambiental registrada fue de 17 °C, reportada por el INSTITUTO DE SISMOLOGIA, VULCANOLOGIA, METEREOLOGIA E HIDROLOGIA (INSIVUMEH). Los porcentajes de eficiencia biológica se presentan en el siguiente cuadro:

PORCENTAJE DE EFICIENCIA BIOLOGICA DE *Pleurotus ostreatus* cultivado en aserrín de caoba y cedro, fibra de coco y olote de maíz. A una temperatura de 17 °C.

No. de repetición	EFICIENCIA BIOLOGICA (%) Grupo No.1	Grupo No.2	Grupo No. 3
1	42.72	37.61	43.69
2	51.32	40.56	46.93
3	64.84	41.27	54.27
4	68.00	41.67	59.49
5	68.00	41.97	60.69
6	70.43	43.36	67.92
7	73.15	45.31	69.38
8	73.99	47.16	70.00
9	75.39	52.01	75.04
10	82.53	52.39	75.95
11	86.68	56.45	79.59
12	87.87	64.06	81.27
13	87.87	64.28	87.47
Promedio	71.75	48.32	67.05

G1= Substrato utilizado aserrín de caoba y cedro
G2= Substrato utilizado fibra de coco
G3= Substrato utilizado olote de maiz

*1 Temperatura ambiental registrada por INSIVUMEH.

El análisis de varianza de una vía fue utilizado para comparar las eficiencias biológicas. El valor F teórico es 3.32 y el valor F calculado es 13.56, esto indica que los tratamientos son diferentes [Anexo 8].

Las comparaciones múltiples de de Fisher, demuestran que estadísticamente existe diferencia significativa entre los tres grupos. Esto se evidencia debido a que el valor LSD es menor que la diferencia de las tres medias entre sí [Anexo 10].

Lo anterior indica, que los tratamientos no pueden ser sustituídos, o sea que los tratamiento son diferentes y sus resultados son independientes uno de otro.

En esta etapa el mejor substrato es el aserrín de caoba y cedro, seguido del olote de maíz y por último la fibra de coco.

B. SEGUNDA ETAPA

El número de repeticiones fueron igual a 12. La temperatura ambiental registrada fue de 21 °C reportada por el (INSIVUMEH). Los porcentajes de eficiencia biológica se presentan en el cuadro siguiente:

PORCENTAJE DE EFICIENCIA BIOLOGICA DE *Pleurotus ostreatus* cultivado en aserrín de caoba y cedro, fibra de coco y olote de maíz. A una temperatura de 21 °C. *1

No. de repetición	EFICIENCIA BIOLOGICA (%) Grupo No.1	Grupo No.2	Grupo No. 3
1	88.15	67.62	123.69
2	88.15	68.54	125.26
3	94.77	69.84	128.25
4	99.17	70.90	129.36
5	100.02	71.21	133.11
6	100.37	72.22	134.72
7	104.35	74.82	136.65
8	108.38	76.04	137.56
9	113.21	76.38	138.23
10	113.61	76.64	142.27
11	113.61	79.54	147.99
12	124.22	83.59	149.35
Promedio	104.00	73.95	135.54

G1= Substrato utilizado aserrín de caoba y cedro
G2= Substrato utilizado fibra de coco
G3= Substrato utilizado olote de maiz

*1 Temperatura ambiental registrada por el INSIVUMEH.

Para comparar las eficiencias biológicas, se utilizó ánálisis de varianza de una vía, el valor F teórico es de 3.32 y el valor F calculado es 160.96, esto demuestra que ambos tratamiento son diferentes estadísticamente diferentes [Anexo 9].

Las comparaciones múltiples de Fisher, demuestran la diferencia estadísticamente significativa entre los tres grupos. Se evidencia debido a que el valor LSD es menor que la diferencia de las tres medias entre sí [Anexo 11].

Con estos resultados, demuestran la independencia de

los tres tratamientos, no pudiendo ser sustituídos.

En esta fase del proceso, el mejor substrato es el olote de maíz, seguido del aserrín de caoba y cedro y por último la fibra de coco.

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

Al realizar el cultivo de *P. ostreatus* se presentó una variante, que fue la disponibilidad de inóculo, (el inóculo que se utilice puede ser primario o secundario y no influye en la producción del hongo, se recomienda secundario porque su preparación más rápida). Es por ello que el cultivo se realizó en dos etapas, registrándose diferentes temperaturas ambientales (Datos proporcionados por el INSIVUMEH; estos datos no son considerados como temperatura de la planta), por esta razón los porcentajes de eficiencia biológica de los tres substratos, se compararon en cada etapa, de una forma independiente.

En la primera etapa, al compararse los porcentajes de eficiencia biológica; nos señala que el mejor substrato es el aserrín de caoba y cedro seguido del olote de maíz y por último la fibra de coco. De los tres el que mejor disponibilidad de substrato presentaba fue el aserrín debiéndose probablemente a las características propias del substrato (tamaño de partículas). Se ha reportado que el aserrín presenta una desventaja; que por la fácil compactación al momento de la siembra, es posible la acumulación excesiva de bióxido de carbono que no permite el crecimiento adecuado del micelio (3,4). Sin embargo el rendimiento fue bastante adecuado (71.75 por ciento). Además la presencia de celulosa, hemicelulosa y lignina hacen del aserrín un buen substrato y para solventar el

problema del exceso de bióxido de carbono, en el momento de sembrar se agregó el inóculo en la periferia de las bolsas (4).

El olote, tamo y la hoja seca de maíz son considerados substratos óptimos, por la disponibilidad de carbono y nitrógeno que son necesarios para el crecimiento del hongo (39, 40). En este trabajo presentó eficiencias biológicas adecuadas (67.05 y 135.54 por ciento). Sin embargo en la primera fase del proceso, el aserrín fue el mejor substrato, pudiéndose deberse a distintos factores, en este caso las características del substrato, la disponibilidad de sólidos del mismo así como la técnica del sembrado fueron los únicos tomados en cuenta. Con relación a la fibra de coco el porcentaje de eficiencia biológica fue pobre (eficiencia biológica promedio: 48.32 por ciento) probablemente se debió este resultado a las características del substrato y la disponibilidad de sólidos.

La segunda etapa del proceso, presentó eficiencias biológicas "óptimas" para los tres substratos; siendo el mejor el olote de maíz (135.45 por ciento), seguido del aserrín de caoba y cedro (104.00 por ciento) y por último la fibra de coco (73.95 por ciento). En esta fase el olote de maíz y la fibra de coco fueron fragmentados hasta alcanzar un tamaño de aproximadamente 1 cm^2, probablemente la fragmentación facilitó una mejor disponibilidad del substrato y un mayor rendimiento. Urdapilleta y

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

colaboradores han reportado eficiencias biológicas de 50 por ciento para el olote de maíz (39), sin embargo en esa investigación el tamaño del olote de maíz no fue el adecuado (10 cm de largo y diamétro de 4 cm), y se recomienda reducir el tamaño de las partículas. En este trabajo se tomó en cuenta ese aspecto y de esta forma se presenta un valor de porcentaje de eficiencia biológica cercano al de la pulpa de café reportado por Martínez (175.8 por ciento) (13), que es considerado como el mejor substrato para cultivar *P. ostreatus*.

El aserrín para ser utilizado puede originarse de diversas maderas industriales, exceptuando el aserrín del pino, por la presencia de fenoles, que no permiten el crecimiento del hongo (12). Tanto el carbono y el nitrógeno presente hacen del aserrín un substrato con componente óptimos para el cultivo (20,39). El único inconveniente que presente el aserrín es el exceso de bióxido de carbono que no permite el crecimiento del micelio del hongo.

Gonzáles ha reportado para la fibra de coco un porcentaje de eficiencia biológica de 80.6 por ciento (16). En el presente trabajo se reporta un porcentaje de 73.95 por ciento, situándose en el intervalo de valores cercanos al 100 por ciento (7). En esta investigación, la comparación de los porcentajes de eficiencia biológica se basó unicamente en las características macroscópicas del substrato.

Factores como pH y humedad del substrato, concentración de bióxido de carbono, humedad relativa, temperatura de la planta y ventilación, no fueron tomados en cuenta en este estudio. Estos factores si no se controlan interfieren en el rendimiento de producción de una cepa, no importando el tipo de substratos. Un incremento de pH no permite el crecimiento del micelio y al disminuirse predispone competencia por el substrato con otros microorganismos como mohos y levaduras. Las altas concentraciones de bióxido de carbono disminuye el crecimiento micelíar. La humedad juega un papel importante, ya que si se encuentra por debajo de 70 - 80 por ciento el micelio crece en forma irregular y si se encuentra arriba del intervalo antes mencionado, provee un ambiente anaerobio y hay que recordar que para el crecimiento del hongo se necesita altas cantidades de oxígeno de lo contrario el crecimiento del hongo disminuye. El control de la temperatura de la planta es indispensable, debido a que se encuentra establecido un intervalo para el crecimiento de *P. ostreatus* (22 - 28 °C) y la variación puede provocar inconvenientes. Entre los que se pueden mencionar; temperatura por debajo del rango no permite crecimiento adecuado del micelio y por arriba compite el hongo por el substrato con otros microorganismos (20, 21, 22).

X. CONCLUSIONES

1. Fue posible cultivar la cepa mexicana de *P. ostreatus* (Jaqc. ex Fr.) Kumer en olote de maíz, fibra de coco y aserrín de caoba y cedro.

2. El olote de maíz y el aserrín de caoba y cedro, fueron los mejores substratos para el cultivo de la cepa mexicana de *Pleurotus ostreatus*.

3. La fibra de coco, fue el substrato que tuvo el porcentaje de eficiencia biológica más bajo en el cultivo de la cepa mexicana de *Pleurotus ostreatus*.

XI. RECOMENDACIONES

1. Llevar a cabo investigaciones que tomen en cuenta condiciones como: pH y humedad del substrato, concentración de bióxido de carbono, humedad relativa, temperatura de la planta, ventilación en el proceso del cultivo de *P. ostreatus*.

2. Al preparar los substratos fragmentarlos en las mismas dimensiones, y de esta forma estandarizar el tamaño.

3. Evaluar los cambios bioquímicos que presenten los siguientes substratos; aserrín de caoba y cedro, fibra de coco y olote de maíz, al ser utilizados para cultivar *Pleurotus ostreatus*.

4. Cultivar *Pleurotus ostreatus* utilizando otros substratos para poder comparar su rendimiento con los resultados del presente trabajo.

5. Promover estudios de cultivo de otros hongos comestibles.

XII. REFERENCIAS

1.- Sommerkamp Y. Hongos de Guatemala. II Especies depositadas en el herbario de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Rev Mex Mic 1990; 6:179-197.

2. Logemann L. et al. Detección e Identificación de los Hongos Comestibles y Tóxicos en Guatemala. Rev Cient Fac CCQQ y Far 1989; 7.1:2-3

3.- Centro de Investigaciones del Sureste. Producción de Hongos Comestibles. Editor: José Ernesto Sánchez Vásquez. Tapachula Chiapas. México: Editorial CIES, 1994. 107 p (p25-55).

4.- Guzmán G. El cultivo de los hongos comestibles. México: Instituto Politécnico Nacional, 1993. 245 p (p26-105).

5.- De León R. et al. Planta productora de hongos comestibles en Guatemala. Rev Mex Mic 1988; 4:297-301.

6.- Sommerkamp Y. Exposición Nacional de Hongos. Rev Cient Fac CCQQ Far 1989; 7.1:41-43.

7.- De Léon R. Cultivo de los hongos comestibles del género *Pleurotus* sobre lirio acuático y determinación de metales pesados en las muestras obtenidas. México: Universidad Autónoma de México, (tesis de Maestría, Facultad de Ciencias) 1990; 40p.

8.- De León R. Cultivo de Hongos Comestibles en Guatemala. Pag. 19. (En: Memorias II Congreso Latinoamericano de Micología). La Habana Cuba. 1996.

9.- Guzmán G. Hongos. México: Limusa, 1989. 194 p (p90-137).

10.- Castillo F. Composición y valor nutritivo de la proteína de *Pleurotus* spp. cultivado sobre pulpa de café. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1989. 49 p.

11. Singler M. et al. Nutricional and toxicological evaluation of *Pleurotus* spp. J Food Sci Technol; 1991: 28:259-266.

12. Bis'ko N. A. et al. The Growth of *Pleurotus ostreatus* on lignocellulosic materials. Mycol Neotrop Appl 1992; 5:49-57.

13. Jandaik C. L. Biochemical changes in *Pleurotus* species with respect to diferente growth stages. Pag 419. (Proceedings of the Tenth International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi). France 1978.

14. Khanna. P. et al. *Pleurotus* mushroom- a source of food protein. Off Pub Inter Mush Soc Tropics 1984; 4:9-14.

15. Martínez Carrera D. Design of a mushroom farm *for growing Pleurotus* on coffe pulp. Musch J Tropics 1987; 7:13-23.

16. Gonzáles T. B. et al. Cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* var. florida sobre fibra de coco y pulpa de café. Rev Mex Mic 1993; 9:13-18.

17. De León R. et al. Cultivation of *Pleurotus* on water hyacinth and determination of the heavy metals in Mexico. Mushroom Res 1993; 2: 37 - 40.

18. Martínez D. et al. *Pleurotus* growing on cofee-pulp in a semi industrial plant a new promising mushroom cultivation technology in the subtropics of México. Off Pub Inter Mush Soc Tropics 1985; 2:7-10.

19. Zadrazil F. Lebsidella coltiazione*s del Pleurotus. Der* Champignon 1982; 251:26-33.

20. Zadrazil F. The Biology of Pleurotus Cultivation in the Tropics 277-279. (En: Chang ST. and Quimio TH. Tropical Mushrooms Biological Nature and cultivation methods. Chinesse: The Chinesse University Press, 1989) 493 p (p277-280).

21. Stamets P. & Chilton J. The mushroom cultivator. USA: Agarikon Press, 1983 397 p (p189-195).

22. Chang S. T. Mushroom biology: The impact on mushroom production and mushroom products. (Keynote Lecture First International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products) Hong Kong 1993 450p (p9-91).

23. Calvo L. Estudio técnico para la producción del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* (Jaqc. ex Fr.) Kumer bajo condiciones rústicas. México: Universidad Autónoma de Chiapas. (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas) 1994; 45p.

24. Khanna P. et al. Physiological studies on *Pleurotus* sp. Carbon utilization. Off Pub Inter Mush Soc Tropics 1985; 1:9-14.

25.Leal -Lara H. Is sporelessness in *Pleurotus ostreatus* an infectious agent?. pag 145. (En: Proceedings of tenth international congress on the science and cultivation of edible fungi). France 1978.

26. Li S. F. Characteristics of some *Pleurotus* strains from floor their practical and taxonomical importance. Pag 155. (En: Proceedings of tenth international congress on the science and cultivation of edible fungi). France 1978.

27. Perri P. I Funghi. Milano: Edagrode, 1992 250 p (p1-94).

28. Trigos A. et al. Identificación de Ergosterol en Pleurotus *ostreatus*. Mycol Neotrop Appl 1992; 5:11-15.

29. Ortega G. M. Bioconversion of sugar cane crop residues with white-rot fungi *Pleurotus* sp. Word Microbiol Biotech 1992; 8:402-406.

30. Keren Z. et al. Lignocellulose degradation durin solid-*stare* fermentation *Pleurotus ostreatus* versus Phanerochaete chrysusporium. Appl Envir Microbiol 1992; 58:1121-1126.

31. Hadar Y. et al. Effect o Manganese on Lignin degradation by *Pleurotus ostreatus* during solid-state fermentation. Appl Envir Microbiol 1993; 59:4115-4120.

32. Martínez A. et al. Progress in biopulping of non-woody materials: Chemical, enzymatic and ultrastructural aspects of wheat straw delignification with lignolytic fungi from the genus *Pleurotus*. Fems Microb Rev 1994; 13: 2645-274.

33. Sobal M. et al. Potencial entrecruzamiento de diferentes cepas Mexicanas de *Pleurotus ostreatus* aisladas a partir de diversos substratos. Mycol Neotrop Appl 1988; 1:21-27.

34. Martínez-Carrera D.et al. El efecto de la cafeina sobre el crecimiento e intracruzamiento de *Pleurotus ostreatus* en el laboratorio. Rev Mex Mic 1988; 4:131-135.

35. Salmones D. et al. Efecto de la aplicación del fungicida Belante sobre la productividad de dos cepas de *Pleurotus*. Instituto de Ecología. Xalapa, Veracruz México: 1994.

36.Zervakis G. Comparative study on the cultivarion characters of *Pleurotus* species under the influence of different substrates an fruiting temperatures. Mycol Neotrop Appl 1992; 5:39-47.

37. Guzmán-Dávalos L. et al. Substrates for cultivation of *Pleurotus* in México, I. Tequila maguey bagasse. Mush J Tropics 1991; 11:29-33.

38.Guzmán-Dávalos L. et al. Substrates for cultivation of *Pleurotus* in México, II sugarcane bagasse corn stover, Mush J Tropics 1991; 11:34-37.

39. Urdapilleta L. et al. Aislamiento y caracterización de cepas de *Pleurotus ostreatus* y su cultivo en residuos agroindustriales en el estado de Morelos. Rev Mex Mic 1988; 4:13-20.

40. González. T. et al. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre cáscara de cacahuate y hojas seca de maíz. Rev Mex Mic 1994; 10:15-20.

41. Martínez D. et al. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre bagazo de caña enriquecido con pulpa de café o paja de cebada. Mycol Neotrop Appl 1990; 3:49-52.

42. Martínez-Carrera et al. Cultivo de diversas cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus* sobre pulpa de cafe y paja de cebada. Rev Mex Mic 1988; 4:153-160.

43. Lozano J. Producción comercial de *Pleurotus ostreatus* en pulpa de café. Fitopatología colombiana 1991; 13:42-46.

44. Woolrich C. Optimización del manejo de pulpa de café como sustrato para el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* y su comparación con paja de cebada. México: Universidad Autónoma de Guadalajara, (tesis de gradúación, Escuela de Biología) 1993; 35p.

45. Klibansky M. et al. Production of *Pleurotus ostreatus* Mushroom on sugar cane agrowastes. Acta Biotechnol 1993; 13:71-78.

46. Rangel A. et al. Evaluación de la cinética de crecimiento de *Pleurotus ostreatus* en diferentes fracciones de la semilla de amaranto *(Amaranthus cruentus* tipo mexicano). México: Facultad de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana. 1993.

47. Guzmán G. et al. The effect of fermentation of coffee pulp in the cultivation of *Pleurotus ostreatus* in México. Off Pub Inter Mush Soc Tropics 1985; 6:21-28.

48. Villaseñor. L. et al. Cultivo de diversas cepas de *Pleurotus* spp. sobre bagazo de maguey tequilero. Instituto de Botánica, Universidad de Guadalajara. México 1993. 25 p.

49. Velasco C. et al. Cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* sobre bagazo de maguey tequilero fermentado y mezclado con paja de trigo. Rev Mex Mic 1989; 5:97-101.

50. Saikawa M. Adhesive knobs in *Pleurotus ostreatus* (the oyster mushroom), as trapping organs for nematodes. Trans mycol Soc Japan 1986; 27:113-118.

51. Capelari M. et al. Cultivo de *Pleurotus* spp E. agrocybe perfecta (RICK) SING EM BAGACO DE CANA DE ACUCAR Pag. 163. (En: Memorias II Congreso Latinoamericano de Micología). La Habana Cuba. 1996.

52. Sobal M et al. Ethylene production by *Pleurotus ostreatus* on axenic culture using coffee pulp as substrate. Mycol Neotrop Appl 1991; 4:111-117.

53. Muller J. Genetic potencial of *Pleurotus ostreatus*: Relevance to the disposal of agro-wastes. Mycol Neotrop Appl 1988; 1:29-44.

XIII. ANEXOS

ANEXO 1

HONGOS COMESTIBLES QUE SE CULTIVAN EN EL MUNDO
(LOS MAS IMPORTANTES)

Agaricus bisporus: Conocido como: champignon, button, mushroom, white mushroom, white button mushroom, champiñón. Es la especie más cultivada, es una de las más costosas en instalaciones y tecnología. No crece silvestre. Las variedades que más se cultivan son: la típica o *bisporus* la var. *albidus* que es blanca y la var. *avellaneus* que es un poco más pálida que la típica.

Auricularia fuscosuccinea; cloud ear, mou er, silver ear, tree ear, wood ear mushroom, mur-erch, jew's ear, oreja de judas, oreja gelatinosa, chole. Común en los trópicos y subtrópicos. Se cultiva en el Sureste de Asia, alcanzando una producción de 5,700 toneladas anuales. Es cultivable en México.

Flammulina velutipes: Enokitake, christmas mushroom, winter mushroom, velvet stem, enoke. A pesar de ser silvestre en los bosques de pinos de México, EUA, y Europa, su cultivo está restringido al este de Asia, ocupando el 4o. lugar mundial con 38,000 toneladas anuales.

Lentinus edodes: Shiitake, shian-gu, pyogo, shiitake mushroom, black forest, Japanese black mushroom, chinese black mushroom, oak mushroom. Es después del champiñón, el hongo más cultivado a escala mundial.

Pleurotus ostreatus: oyster mushroom, shimeji, tree oyster, seta, oreja blanca. Es la especie de *Pleurotus* más

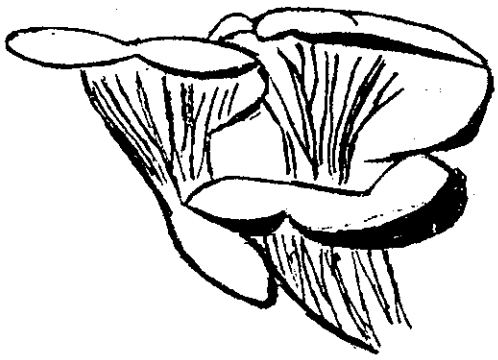
PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

cultivada en el mundo y la que poco a poco va teniendo más aceptación que el champiñón. Presenta dos variedades, la de color café pálido (color cuero) que es la típica y la de color azul-verde, que corresponde a Pleurotus ostreatus var. *columbinus*, que se cultiva menos (a ésta se le conoce como blue oyster mushroom o pearl oyster mushroom). La variedad típica se ha confundido en la bibliografía con varias especies de *Pleurotus*, como *P. djamour*, *P. sajor-caju* y *P. pulmonarius*, que son especies independientes.

Volvariella volvacea: straw mushroom, paddy straw mushroom, hongo rosado de la pulpa de café. Este hongo ocupa del tercer lugar (después del champiñón y del shiitake) en la producción mundial, con 42,000 toneladas anuales. Se cultiva en el Sureste de Asia y en Madagascar.

Fuente: Guzmán G. El cultivo de los hongos comestibles. México: Instituto Politécnico Nacional. 1993.

ANEXO 2
ESQUEMA DE *Pleurotus ostreatus*



Fuente: Guzmán G. El cultivo de los hongos comestibles. México: Instituto Politécnico Nacional. 1993.

ANEXO 3

CLASIFICACION TAXONOMICA DE *Pleurotus ostreatus*

Reino:	Fungi
División	Basidiomycotina
Clase:	Holobasidiomycetes
Subclase:	Hymenomycetes
Orden:	Agaricales
Familia:	Tricholomataceae
Género:	Pleurotus
Especie:	ostreatus

Fuente: Ulloa y Hanlin.

ANEXO 4

SUBSTRATOS FRESCOS Y EFICIENCIA BIOLOGICA (PORCENTAJE)

Substrato	Eficiencia Biológica	Fuente
Olote de maíz	50.0 %	Urdapilleta, 1988
Tamo de maíz	187.7 %	"
Bagazo de caña	15.7 %	"
Fibra de Coco	80.6 %	Bernabé-Gonzalez 1993
Fibra de Coco + Pulpa de café 1:2	152.2 %	"
Fibra de Coco + Pulpa de café 1:1	120.5 %	"
Cáscara de Cacahuate	85.44 %	Bernabé-Gonzales 1994
Hoja seca de Maíz	144.85 %	"
Mezcla de Cáscara de Cacahuate + hoja seca de Maíz.	95.70	"

ANEXO 5

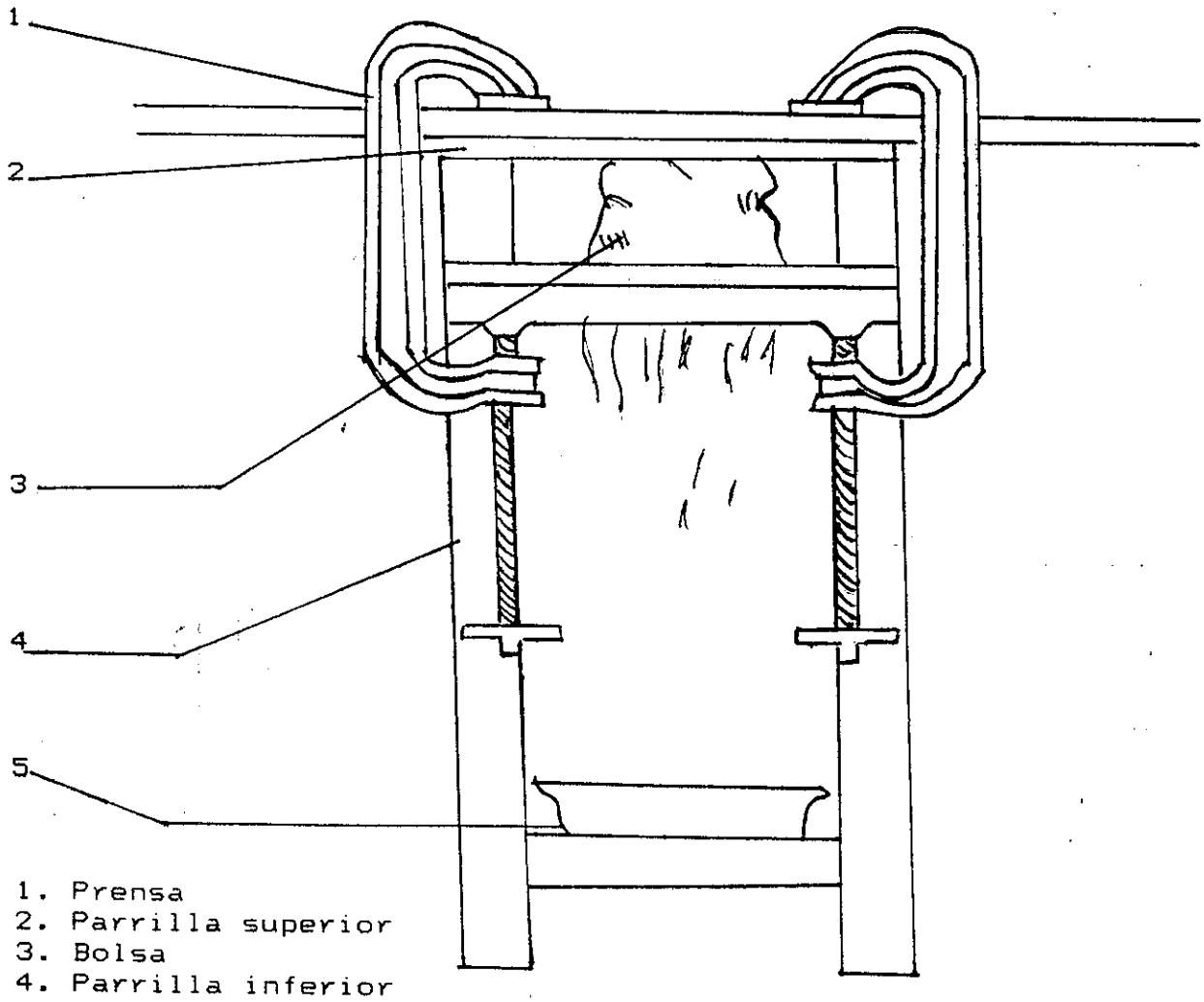
SUBSTRATOS FERMENTADOS Y EFICIENCIA BIOLOGICA

(PORCENTAJE)

Substrato	Eficiencia Biológica	Fuente
Bagazo de caña + pulpa de café	175.8 %	Martínez-Carrera 1986.
Pulpa de café	138.13 %	Martínez-Carrera 1988
Paja de cebada	96.04 %	
Bagazo de maguey	60.2 %	Soto-Velasco 1989
Bagazo de maguey+ paja de trigo	96.4 %	"
Bagazo de caña	14.15 %	Martínez-Carrera 1990
Bagazo de caña + pulpa de café	96.96 %	
Bagazo de maguey tequilero	84 %	Guzmán-Davalos 1991
Bagazo de caña + hoja de maíz	100 %	Soto-Velasco 1991
Lirio Acuático	120.4 %	De León, 1993
Bagazo de Caña	97 %	Klibansky 1993

ANEXO 6

PRENSA PARA AJUSTAR EL PORCENTAJE DE HUMEDAD EN LOS SUBSTRATOS

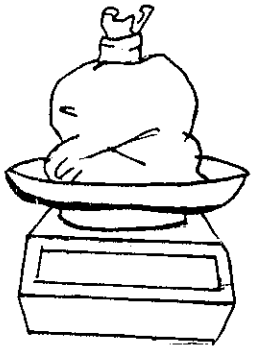


1. Prensa
2. Parrilla superior
3. Bolsa
4. Parrilla inferior
5. Charola recolectora.

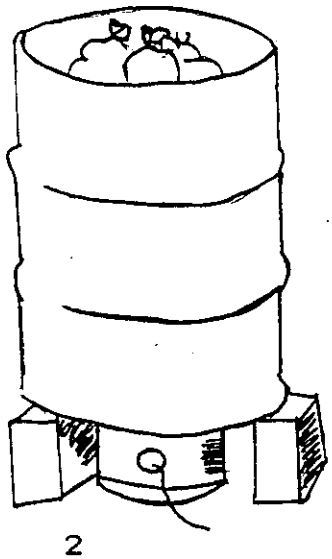
ANEXO 7

ESQUEMA PARA EL CULTIVO DE *PLEUROTUS OSTREATUS*

PROCESO DE PASTEURIZACION



1



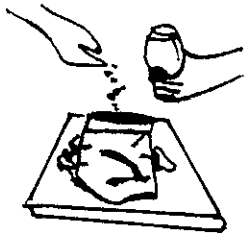
2

1. Pesado del substrato
2. Pasteurización

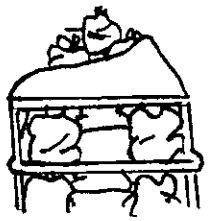
Fuente: Woolrich C. Optimización del manejo de pulpa de café como sustrato para el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* y su comparación con paja de cebada. Universidad Autónoma de Guadalajara México. 1993.

SIEMBRA, INCUBACION Y COSECHA DE *PLEUROTUS OSTREATUS*

1



2



3

4

5

6

7

8

SIEMBRA

1. Enfriamiento del Substrato
2. Siembra

INCUBACION Y COSECHA

3. Incubación de substratos inoculados
4. Ranuración de bolsas de plásticos para respiración micelial
5. Bolsa totalmente colonizada (quitar la bolsa)
6. Aparición de primordios
7. Hongos totalmente desarrollados
8. Cosecha de hongos.

ANEXO 8

ANALISIS DE VARIANZA PORCENTAJE DE EFICIENCIA BIOLOGICA DE *Pleurotus ostreatus* A UNA TEMPERATURA DE 17 °C

No.	Grupo No.1	No.1 ^ 2	Grupo No. 2	No. 2 ^ 2	Grupo No. 3	No.3 ^ 3
1	42.72	1825.00	37.61	1414.51	43.69	1908.82
2	51.32	2633.74	40.58	1845.11	46.93	2202.42
3	64.84	4204.23	41.27	1703.21	54.27	2945.23
4	68.00	4624.00	41.67	1738.39	59.49	3539.06
5	68.00	4624.00	41.97	1761.48	60.69	3883.26
6	70.43	4960.38	43.36	1880.09	67.92	4613.13
7	73.15	5350.92	45.31	2053.00	69.38	4813.58
8	73.99	5474.92	47.16	2224.07	70.00	4900.00
9	75.39	5683.65	52.01	2705.04	75.04	5631.00
10	82.53	6811.20	52.39	2744.71	75.95	5766.40
11	86.68	7513.42	56.45	3186.60	79.59	6334.57
12	87.87	7721.14	64.06	4103.68	81.27	6604.81
13	87.87	7721.14	64.28	4131.92	87.47	7651.0
TOTAL	932.79		628.10		871.69	
X	71.75	EX^2	48.32	EX^2	67.05	EX^2
$(EX)^2$	870097.18	69147.34	394509.61	31289.82	759843.46	60595.31

ANDEVA

SCT = SCtrat +SCerror

$SCT = EEX^2-(EEx)^{2/N}$

SCT = 9303.095723

$Sctrat = (ET)^{2/n} - (EEx)^{2/N}$

SCt = 3997.571648

SCerror = SCtotal -SCtrat

SCe = 5305.524077

F = CMtrat/CMerror

CMtrat = SCtrat/K-1

CMerror = Scerror/N-K

CMtrat = 1998.785823

CM error = 147.3758888

F crítica = 3.32

F calculada = 13.58

ANEXO 9

ANALISIS DE VARIANZA PORCENTAJE DE EFICIENCIA BIOLOGICA DE *Pleurotus ostreatus* A UNA TEMPERATURA DE 21 °C

No.	Grupo No.1	No.1 ^ 2	Grupo No. 2	No. 2 ^ 2	Grupo No. 3	No.3 ^ 3
1	88.15	7770.42	67.62	4572.46	123.69	15299.22
2	88.15	7770.42	68.54	4697.73	125.28	15690.07
3	94.77	8981.35	69.84	4877.63	128.25	16448.06
4	99.17	9834.69	70.90	5026.81	129.36	16734.08
5	100.02	10004.00	71.21	5215.73	133.11	17718.27
6	100.37	10074.14	72.22	5598.03	134.72	18149.46
7	104.35	10888.92	74.82	5782.08	136.65	18673.22
8	108.38	11748.22	76.04	5833.90	137.56	18922.75
9	113.21	12816.50	76.38	5873.69	138.23	19107.53
10	113.61	12907.23	76.64	6326.61	142.27	20240.75
11	113.61	12907.23	79.54	3186.60	147.99	21901.04
12	124.22	15430.61	83.59	6987.29	149.35	22305.42
TOTAL	1248.01		887.34		1626.44	
X	104.00	EX^2	73.95	EX^2	135.54	EX^2
(EX)2						
	1557528.96	131131.75	787372.26	65862.83	2645307.07	21169.83

ANDEVA

SCT = SCtrat +SCerror

$SCT = EEX^2-(EEx)^{2/N}$

SCT = 25099.29908

$Sctrat = (ET)^{2/n} - (EEx)^{2/N}$

SCt = 22765.58122

SCerror = SCtotal -SCtrat

SCe = 2333.717858

F = CMtrat/CMerror

CMtrat = SCtrat/K-1

CMerror = Scerror/N-K

CMtrat = 11382.79061

CM error = 70.71872298

F crítica = 3.32

F calculada = 160.96

ANEXO 10

PRUEBA DE FISHER DE PORCENTAJE
DE EFICIENCIA BIOLOGICA DE *Pleurotus ostreatus*
(MINIMA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA)
A UNA DE TEMPERATURA 17 °C

ORDEN	1	2	3
GRUPO	No.1	No.2	No.3
MEDIA	71.75	48.32	67.05

		71.75	48.32	67.05
		1	2	3
67.05	3	-4.7	18.73	0
48.32	2	-23.43	0	
71.75	1	0		

$$LSD = t\ \alpha/2\ (N-K)\ \left(\sqrt{CM\ errorX(1/n1+n2+n3)}\right)$$

t= 1.96 CMerror = 147.37

N= 39 n1=12 n2=12 n=13

LSD = 3.8100

ORDEN				
3-1	4.700	>	3.81	No.1 y No.3 son diferentes
3-2	18.730	>	3.81	No.3 y No.2 son diferentes
2-1	23.430	>	3.81	No.2 y No.1 son diferentes

ANEXO 11

PRUEBA DE FISHER DE PORCENTAJE
DE EFICIENCIA BIOLOGICA DE *Pleurotus ostreatus*
(MINIMA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA)
A UNA DE TEMPERATURA 21 °C

ORDEN	1	2	3
GRUPO	No.1	No.2	No.3
MEDIA	104.00	73.95	135.54

		104	73.95	135.54
		1	2	3
135.54	3	31.54	61.59	0
73.95	2	-30.05	0	
104	1	0		

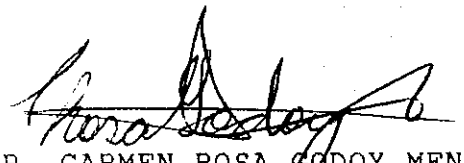
$$LSD = t\ \alpha/2\ (N-K)\ \sqrt{CM\ errorX(1/n1+n2+n3)}$$

t= 1.96 CMerror = 70.71

N= 36 n1=12 n2=12 n=13

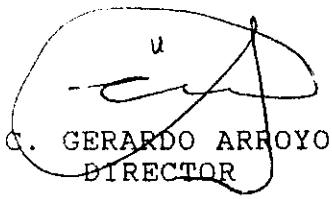
LSD = 2.7469

ORDEN				
3-1	31.540	>	2.747	No.1 y No.3 son diferentes
3-2	61.590	>	2.747	No.3 y No.2 son diferentes
2-1	30.050	>	2.747	No.2 y No.1 son diferentes

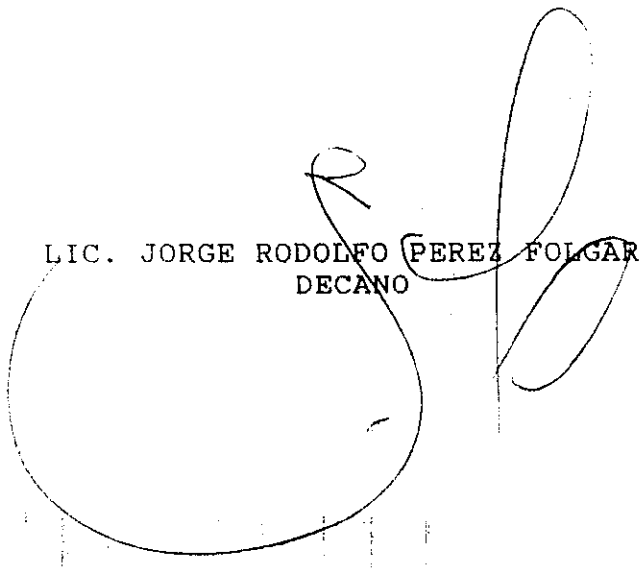


BR. CARMEN ROSA GODOY MENDEZ.
TESISTA

LICDA. KARIN HERRERA AGUILAR
ASESORA



LIC. GERARDO ARROYO
DIRECTOR



LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
DECANO