

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

**" CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus* UTILIZANDO
COMO SUSTRATOS RASTROJO, ZACATE TUSA "**.



Informe de tesis

Presentado por:

Claudia Karina Orozco Gamboa

Para optar al título de
BIOLOGA

Guatemala, octubre del 2000

Dh
06
T(2032)

JUNTA DIRECTIVA

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

DECANA: Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta

SECRETARIO: Lic. Oscar Federico Nave Herrera

VOCAL I: Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto

VOCAL II: Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

VOCAL III: Dr. Federico Adolfo Richter Martínez

VOCAL IV: Br. César Alfredo Flores López

VOCAL V: Br. Manuel Anibal Leal Gómez

DEDICATORIA

A Dios nuestro Señor

Gracias Padre por darme la vida, una familia hermosa, y por haberme permitido disfrutar de tu creación.

A mi madre

Ingrid Victoria Gamboa López, te agradezco todos los esfuerzos y sacrificios que has hecho por mí, por el amor incondicional y el ejemplo que me has dado, por ayudarme siempre y en cualquier momento. Te admiro y te amo mucho.

A mi esposo

Francisco José Ruiz Serovic, mi Panchitou, gracias por ser mi amigo, mi compañero, por escucharme cuando lo necesito y animarme cuando flaqueo, por tantas cosas que he aprendido junto a ti, y por el gran amor que siempre me has dado.

Gracias también por la bella familia unida que hemos formado y por ser un excelente esposo y padre.

A mis hijos

José Alejandro y Javier Estuardo, ustedes son mi alegría y han hecho de mí una mejor persona.

A mi abuelito

Arnulfo Gamboa Gil, gracias por cuidarme tanto, por ayudarme a cuidar a tus bisnietos, y porque siempre me has demostrado un gran amor.

A mis hermanos

David Humberto y Ana Isabel, los quiero mucho y les agradezco su ayuda al cuidar y querer a mis hijos.

A mi tía

Olga Haydée Gamboa de Aguilar, porque sé que desde el cielo, junto con mi Papá, mi mamá Amanda, mi papá Ramiro, mi mamá Chave y mi tío Estuardo se alegrarán conmigo al llegar a mi meta.

A mis amigos y compañeros de promoción

Gracias por tantos momentos felices que siempre estarán en mi memoria.

AGRADECIMIENTOS

A mi amiga y asesora M.Sc. Karin Larissa Herrera Aguilar, por todo el apoyo y comprensión brindados durante la realización de esta tesis.

Al Laboratorio Microbiológico de Referencia -LAMIR- de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por permitirme realizar la parte experimental de este trabajo en dichas instalaciones.

Agradezco también la ayuda prestada por el señor Julio César Maas y por el Lic. Héctor Arriola durante el desarrollo de la fase experimental.

Al M.Sc. Luis Francisco Franco Cabrera, por la ayuda incondicional que siempre me ha brindado y por sus muestras de aprecio.

A la M.Sc. Lucía Prado por sus observaciones y sugerencias para desarrollar este trabajo, así como también al Dr. Juan Fernando Hernández, al M.Sc. Sergio Melgar Valladares y al Lic. José Fernando Díaz Coppel.

Al Herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, por su ayuda en la determinación de las especies utilizadas en la presente tesis.

A mi familia, especialmente a mi madre Dra. Ingrid Victoria Gamboa López, gracias por ser mi guía y ejemplo para seguir siempre adelante y no darme por vencida. A mi esposo Francisco José Ruiz Serovic, por su ayuda y compañía en la realización de esta tesis, además de darme siempre ánimos y tanto amor. A mi abuelito Arnulfo Gamboa Gil por ayudarme en la difícil labor de ser mamá. A mis hermanitos David y Ana Isabel, por ayudarme a cuidar a mis hijos mientras yo escribía esta tesis.

A mi amigo Santiago Yee Melgar, por ayudarme siempre en todo. Al Dr. Jorge Ruiz, a la Licda. Carmen Estrada y a la señora María Teresa Porón, por haberme ayudado cuidando a mis niños para que me fuera posible la elaboración de este trabajo.

A mis hijos José Alejandro y Javier Estuardo Ruiz Orozco, ya que ustedes fueron mi mayor motivación para lograr alcanzar esta meta.

A nuestro Señor, por permitir que uno de mis sueños se haya hecho realidad.

ÍNDICE

| | No. de página |
|---|---------------|
| I. RESUMEN | 1 |
| II. INTRODUCCIÓN | 2 |
| III. ANTECEDENTES | |
| A. Generalidades | 4 |
| B. Metabolismo de los hongos | 5 |
| C. Importancia de los hongos comestibles | 5 |
| D. Estudios realizados en Guatemala acerca de hongos comestibles | 6 |
| E. <i>Pleurotus ostreatus</i> | 8 |
| F. Cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i> | 11 |
| 1. La preparación del inóculo | 13 |
| a) Preparación del "Primario" | 14 |
| b) Preparación de "Secundarios" | 15 |
| 2. Preparación del sustrato | 15 |
| 3. La siembra e incubación | 18 |
| 4. La fructificación | 21 |
| G. Sustratos utilizados en el cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i> | 25 |
| 1. Sustratos utilizados para la preparación del inóculo | 25 |
| a) El sorgo | 26 |
| b) El maíz | 26 |
| c) El arroz | 26 |
| d) El trigo | 26 |
| 2. Sustratos utilizados para la fructificación | 26 |
| a) Pulpa de café | 27 |
| b) Cáscara de cacao | 28 |
| c) Bagazo de caña | 28 |
| d) Otros sustratos | 28 |
| e) Maíz | 29 |
| f) Otras gramíneas | 29 |
| H. Importancia del uso de desechos agroindustriales | 30 |
| I. Eficiencia Biológica | 31 |
| IV. JUSTIFICACIÓN | 32 |
| V. OBJETIVOS | 34 |
| VI. HIPÓTESIS | 35 |

| | |
|---|----|
| VII. MATERIALES Y MÉTODOS | |
| A. Universo y muestra | 36 |
| B. Materiales | 36 |
| 1. Equipo de laboratorio | 36 |
| 2. Materiales para el cultivo | 37 |
| 3. Otros materiales | 37 |
| C. Métodos | 38 |
| 1. Preparación del inóculo | 38 |
| a) Sembrado de la cepa comercial en placa | 38 |
| b) Preparación del sustrato intermedio | 38 |
| c) Preparación del "primario" | 38 |
| d) Preparación de "secundarios" | 39 |
| 2. Preparación de los sustratos | 40 |
| a) Zacate | 40 |
| b) Rastrojo | 40 |
| c) Tusa | 40 |
| 3. Siembra e incubación | 41 |
| a) Siembra en los sustratos | 41 |
| b) Incubación | 41 |
| 4. Fructificación | 42 |
| 5. Cosecha | 42 |
| D. Diseño Experimental | 43 |
| VIII. RESULTADOS | 44 |
| IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 49 |
| X. CONCLUSIONES | 53 |
| XI. RECOMENDACIONES | 54 |
| XII. REFERENCIAS | 55 |
| XIII. GLOSARIO | 60 |
| XIV. ANEXOS | 62 |

II. INTRODUCCIÓN

Se ha demostrado que los hongos son el grupo de organismos más numerosos en la Tierra, después de los insectos (Guzmán 1995).

Su importancia cultural se ha observado desde tiempos muy antiguos en ceremonias de tipo religioso. La civilización maya dio muestras de la adoración a los hongos, con las piedras hongo que han sido encontradas (Evans 1989; Ohi 1994; Guzmán 1995).

Se han utilizado en la medicina tradicional. También se han extraído antibióticos y se han aislado elementos anticancerígenos de gran importancia de ciertas especies de hongos. En la industria se utilizan levaduras para la elaboración de bebidas alcohólicas (Guzmán 1995).

Estos organismos son capaces de desarrollarse en numerosos hábitats diferentes. La importancia ecológica de los mismos reside en que crecen sobre la materia orgánica, degradándola para su alimentación. Esto hace que los hongos vivan en cualquier medio y aunado a sus bajos requerimientos nutricionales, favorece su amplia distribución en el suelo y en el agua. Además, hay muchas especies parásitas de animales y plantas; los hongos viven dentro de dichos organismos. Su distribución se ve favorecida por el sistema de reproducción a través de grandes cantidades de esporas (Guzmán 1995).

Existen muchas especies de hongos aptas para el consumo humano. Las especies comestibles son más abundantes que las venenosas. Los hongos comestibles son de gran importancia económica y son objeto de comercialización. Es por esta razón, que el cultivo de los hongos sobre desechos agrícolas y agroindustriales ha sido considerado como una de las alternativas viables y económicas en la producción de alimentos y otros satisfactores del ser humano (Sánchez 1994).

Este conocimiento respecto a los hongos ha motivado la realización del presente trabajo de tesis, que busca encontrar una opción para el manejo de los desechos en una actividad productiva, que de desarrollarse podría ser una fuente de alimento e ingresos para grupos sociales de escasos recursos.

Para lograr los propósitos del siguiente trabajo de tesis, se cultivó la especie *Pleurotus ostreatus* sobre desechos agrícolas que no habían sido utilizados a la fecha, las características de dicha especie le permiten desarrollarse con éxito sobre sustratos orgánicos, logrando obtener buenos rendimientos en su producción y demostrar que siguiendo un proceso técnico adecuado, los hongos pueden convertirse en alternativas de proyectos productivos para la gente de escasos recursos del área rural.

III. ANTECEDENTES

A. Generalidades:

Los hongos son un grupo de organismos que pertenecen al Reino, Fungi. Poseen células eucariotas, son heterótrofos, se reproducen sexual y asexualmente, están formados de hifas constituidas por quitina; son portadores de esporas y carecen de clorofila (Atlas y Bartas 1981).

Estos organismos incluyen desde formas microscópicas (micromicetos), como los mohos y las levaduras, hasta formas bastante voluminosas (macromicetos), como los llamados hongos de repisa que crecen en los troncos de los árboles. Están ampliamente distribuidos por todo el planeta y prosperan en casi todos los climas: fríos, templados, subtropicales y tropicales. Pueden habitar lugares donde existan elementos indispensables para su existencia: materia orgánica y agua (Guzmán et al. 1993).

Debido a que los hongos no son capaces de sintetizar sus propios alimentos, los obtienen infectando a células vivas de plantas (**parásitos**) o por degradación de materia orgánica en descomposición (**saprófitos**). En ambos casos ellos secretan enzimas que ayudan a desdoblar las sustancias complejas en simples, las que son posteriormente absorbidas a través de la pared de las hifas. Algunos hongos pueden llegar a formar asociaciones simbióticas con las células de la raíz de las plantas; a estas asociaciones se les llama **micorrizas**. También pueden dar origen a nuevos organismos al asociarse con algas: los **líquenes** (Huerta 1994).

La mayoría de los hongos conocidos son capaces de vivir sobre materia muerta, lo que los capacita para crecer en un medio de cultivo artificial o sintético (Huerta 1994).

B. Metabolismos de los hongos

Los hongos utilizan como fuente de carbono, la glucosa, sacarosa o maltosa, de las que obtienen la energía necesaria para sintetizar sus proteínas. Necesitan nitrógeno orgánico e inorgánico y varios elementos esenciales para el crecimiento.

A nivel del laboratorio se ha determinado que necesitan Carbono, Oxígeno, Hidrógeno, Nitrógeno, Fósforo, Potasio, Magnesio, Azufre, Boro, Manganeso, Cobre, Molibdeno, Hierro y Zinc para su buen desarrollo. Algunos producen las vitaminas que necesitan, otros no producen biotina y/o tiamina, por lo que las obtienen del sustrato.

Pueden crecer entre 0 y 36°C, pero su crecimiento óptimo se da entre 20 y 30°C. Prefieren los medios ácidos con un pH entre 5 y 6. Requieren de luz para su crecimiento y en algunos casos es esencial para su fructificación, esporulación y/o dispersión de semillas (Huerta 1994).

C. Importancia de los hongos comestibles

Desde el punto de vista bioquímico y ecológico, la importancia de los hongos radica en el complejo sistema enzimático que poseen, el cual les permite, según la especie degradar moléculas de alto peso molecular como celulosa, lignina, quitina, taninos y otros (Huerta 1994).

Estas moléculas son normalmente difíciles de degradar por la vía química enzimática o microbiana, conocidas hasta ahora; sin embargo el sistema metabólico de los hongos, les permite degradar esos compuestos de los que obtienen energía para sus procesos vitales y metabólicos para su nutrición (Kurtzman y Zadarazil 1989; Sánchez 1994).

De ahí la importancia de los macromicetos, ya que pueden revalorizar un desecho orgánico, pues el fenómeno bioquímico de degradación se traduce en que las células de los macromicetos al crecer y desarrollarse sobre sustratos que contienen esas macromoléculas producen enzimas, proteínas, etc. para satisfacer su propia necesidad de crecimiento y supervivencia. Estos compuestos de manufactura biológica de alto valor pueden ser aprovechados posteriormente. El estudio de estos organismos conduce, por lo tanto al aprovechamiento eficaz del complejo sistema enzimático que poseen para fines alimenticios, médicos, industriales o ecológicos (Sánchez 1994).

D. Estudios realizados en Guatemala acerca de hongos comestibles:

El cultivo de hongos comestibles se inició en Guatemala en 1955, con la introducción de champiñón (*Agaricus bisporus*), utilizando cepas de origen norteamericano (De León 1988).

En 1983, Argueta citó 17 especies de hongos comestibles que se observaban en los mercados de la ciudad de Guatemala, Mixco y San Juan Sacatepéquez, entre los que figuraban: *Cantharellus cibarius* (anacates), *Lactarius indigo* (cabeza de shara) y *Agaricus campestris*. Estas especies también fueron reportadas por Sommerkamp en un estudio donde reportó 21 especies de hongos comestibles a la venta en los mercados municipales de las 22 cabeceras departamentales (Sommerkamp 1990)

Desde 1986, De León ha trabajado con el cultivo de *Pleurotus ostreatus*, y se ha dedicado a investigar otras especies comestibles como *Flammulina velutipes*, *Volvariella volvacea*, *Lentinula edodes*.

En 1986, se realizaron estudios acerca de cultivo de hongos sobre paja en el Laboratorio del Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial ICAITI (Franco 1986).

En 1989, Castillo determinó la composición y el valor nutritivo de *Pleurotus ostreatus*, y en 1990, Pérez caracterizó el valor nutritivo de los anacacates (*Cantharellus cibarius*).

De León realizó cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre lirio acuático y determinó los metales pesados que contenían (De León 1990).

Urreola en 1992, realizó un análisis multielemental por reflexión de rayos X en hongos comestibles pertenecientes a los géneros *Pleurotus* y *Agaricus*, en donde determinó la presencia de metales beneficiosos para el organismo y además un metal tóxico, el Plomo.

En 1996, Arriola utilizó bolsas de polipapel y de celofán para empacar inóculos primarios y secundarios utilizados para el cultivo de hongos. Las bolsas de polipapel fueron más adecuadas para empacar inóculos.

En 1997, Godoy realizó un estudio acerca del cultivo de *Pleurotus ostreatus* utilizando como sustratos, aserrín de caoba y cedro, fibra de coco y olote de maíz. Se obtuvieron mejores resultados con olote de maíz y con aserrín de caoba y cedro.

E. *Pleurotus ostreatus*:

Se le conoce también como "hongo ostra", pertenece al Reino Fungi, División Basidiomycotina, Clase Holobasidiomycetes, Sub-clase Hymenomycetes, Orden Agaricales, Familia Tricholomataceae, Género *Pleurotus*, Especie *Pleurotus ostreatus* (Godoy 1997).

El cuerpo fructífero de *Pleurotus* y de otros Basidiomycetes es una estructura especializada y diferenciada diseñada para la producción y dispersión de gran número de esporas, el basidioma. Esta estructura de construcción compleja, está formada por hifas provenientes del micelio vegetativo, que se transforma en micelio reproductor (López 1994).

Fases por las que atraviesa un basidioma para su formación:

- Iniciación
- Diferenciación
- Expansión
- Maduración final.

En el basidioma se llevan a cabo la cariogamia y la meiosis; aquí se desarrollan las meiosporas (basidiosporas), por lo que también se le conoce como meiosporangio y/o pleuroma (López 1994).

El primer estado del desarrollo del Pleuroma es el "primordio". Cuando este alcanza un tamaño de 1-2 mm de altura se observan como cuerpos redondos y blanquecinos. El cuerpo está separado en dos regiones aparentemente idénticas. Conforme el primordio se alarga, las dos zonas se diferencian en tres regiones: píleo, láminas y estípite (López y Alvarado 1999).

El pileo al principio es redondeado, se aplana al ir creciendo. La superficie es lisa y uniforme, de color gris claro a café claro, tiene un diámetro de 5-20 cm (López y Alvarado 1999).

El estípite es corto y plano, consiste de dos regiones: el tejido interno y el tejido de la superficie. El arreglo de las hifas varía en las diferentes regiones, pero ambas están verticalmente orientadas. Las células de la superficie se alargan para formar estructuras semejantes a pelos (López y Alvarado 1999).

Posee laminillas dispuestas radialmente desde el estípite, hasta el borde del pileo. Las láminas del himenio están compuestas de tres regiones:

- La trama
- El sub-himeno
- El himenio

Las células de la trama son elongadas y corren longitudinalmente todo el centro de la lámina desde el pileo hasta el borde de la lámina. Las células sub-himéniales son ramificadas, se originan de la trama a intervalos a lo largo de las láminas. La zona himenial está compuesta de basidios apretados junto con otras células llamadas basidiolos y cistidios (pleurocistidios y queilocistidios) en contacto unos con otros pared con pared. Conforme los basidios maduran y se desarrollan emergen de la superficie de la lámina y se vuelven conspicuos. La capa himenial se origina mediante un complejo de ramificaciones y crecimiento hifal de la capa de abajo llamado sub-himénial (López 1997). Las esporas son alargadas, casi cilíndricas de 7-11.5 X 3-5.6 μm . de color lila en masa (Kurtzman y Zadrazil 1989).

En su hábitat natural, *Pleurotus* crece sobre maderas en descomposición, siendo un hongo saprofítico (Godoy 1997).

Respecto a su contenido nutricional se han realizado reportes acerca de la cantidad de proteína total 38.7 y 36.0 %, fibra cruda 7.5 y 6.5 %, grasa cruda 9.4 y 12.2 %, cenizas 5.3 y 10.1 % de su peso seco (Castillo 1989; Calvo 1994).

Contiene aminoácidos con grupos aromáticos y azufrados. Los hongos, se encuentran en tercer lugar de contenido de aminoácidos esenciales, superados solamente por la proteína de huevo y la de soya (Castillo 1989).

Poseen niacina (109 mg en 100 gramos de peso seco) y ergosterol (un precursor de la vitamina D). Además tiamina (vitamina B1) riboflavina (vitamina B12), ácido pantoténico, biotina, y ácido ascórbico (vitamina C) (Sánchez 1994).

Entre las enzimas que posee se encuentran: fenol oxidasa, alcohol oxidasa y celulasa, las que son de gran importancia en la degradación de polímeros de lignina. Para degradar la lignina, *P. ostreatus* necesita de Manganeso como cofactor (Godoy 1997).

Se han encontrado en *P. ostreatus* los siguientes metales: potasio, calcio, hierro, zinc, cobre, manganeso. En mayor concentración está el potasio. También están presentes azufre, rubidio, estroncio, titanio y níquel. El único metal tóxico que presenta es el plomo, pero en bajas concentraciones (Urreola 1992).

Según García, los hongos pueden acumular metales en mayor cantidad que otros organismos. Algunos de éstos metales pueden ser esenciales para el organismo, pero otros pueden ser tóxicos (García 1987).

El crecimiento está supeditado a factores como: temperatura, humedad del ambiente, humedad del sustrato, el pH, las concentraciones de CO₂ y O₂ y la luz. La luz es un factor necesario y determinante para que se lleve a cabo la fase de iniciación del pleuroma; mientras que la formación de los basidiomas depende de la humedad y la ventilación (Sánchez 1994; López y Alvarado 1999).

Esta especie ha sido estudiada para cultivo en diferentes sustratos: paja de trigo, bagazo de maguey y de caña de azúcar y pulpa de café. El cultivo es fácil y juega un papel importante en la dieta de los habitantes de países en vías de desarrollo. El cultivo de esta especie de hongos se realiza sobre materia orgánica de desecho, mediante procedimientos estandarizados establecidos (De León 1988).

F. Cultivo de *Pleurotus ostreatus*:

Los hongos comestibles pueden producirse comercialmente (cultivados), o bien pueden recolectarse durante la época de lluvias.

Sólo se han podido cultivar comercialmente los hongos saprófitos. El cultivo de *P. ostreatus* se inició en Europa y se ha ido extendiendo al Asia y Estados Unidos; hasta hace apenas unos años en América latina. Gracias a su fácil adaptación, manejo y bajos costos de cultivo, ha ido desplazando en el mercado internacional a otras especies como el champiñón y el shiitake (Arriola 1996).

El cultivo requiere de un proceso sencillo con tecnología no sofisticada que involucra el mantenimiento de las condiciones favorables para el desarrollo del hongo: temperatura, humedad, ventilación, luz, oscuridad (García 1987).

Entre más factores se puedan controlar, se tendrán más costos de inversión. Sin embargo las condiciones de cultivo caseras son baratas y productivas a bajo nivel, suficientes para autoconsumo y comercialización del excedente. Puede regularse la temperatura y ventilación abriendo puertas y ventanas, y la humedad al aplicar agua, lo que también regula la temperatura (Sánchez 1994).

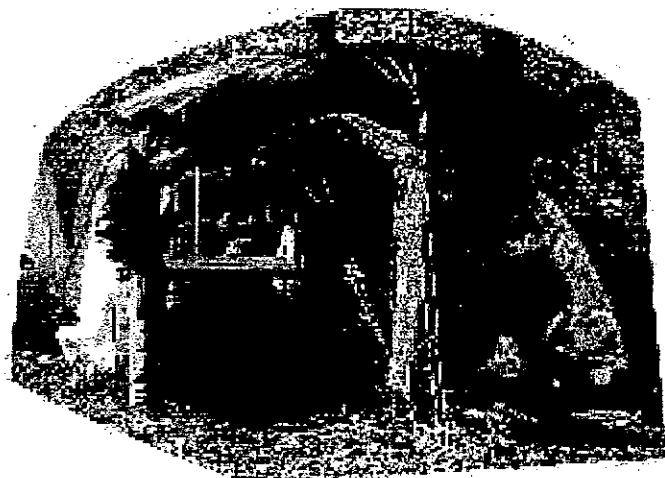


Fig. 1 Instalación poco sofisticada para el cultivo de hongos

El micelio de *Pleurotus* crece bien en un rango de temperaturas que va desde 10 a 40°C, la temperatura óptima para *Pleurotus ostreatus* es 30°C (Kurtzman y Zadrazil 1989). Las especies tropicales fructifican entre 20 a 30°C. Una temperatura adecuada para el desarrollo del hongo incide en el rendimiento obtenido (Sánchez 1994).

La humedad relativa es un factor sumamente importante en el desarrollo de un hongo, la falta de la misma, inhibe la fructificación. *P. ostreatus* requiere una humedad de 80 a 85% (Chang y Hayes 1978).

Kaufert en 1935 comprobó que el suministro de luz era necesario para promover la fructificación de *Pleurotus*. En general, requieren luz de longitud de onda corta, puede ser proporcionada por lámparas fluorescentes, ricas en luz azul. La luz que se aporta a los hongos debe ser la suficiente para leer (150 a 200 lux).

La concentración de CO₂ es importante para el desarrollo, una concentración alta de 20 a 25% es útil para propiciar el crecimiento del micelio. Sin embargo, concentraciones superiores al 0.6% inhiben la formación de primordios (Kurtzman y Zadrazil 1989). Debido a esto, cuando se desean producir hongos de manera comercial es necesario implementar un buen sistema de ventilación en la sala de fructificación, de tal manera que se retire constantemente el CO₂ formado por la respiración del hongo. Una ventilación deficiente se manifiesta en deformaciones del cuerpo fructífero (Sánchez 1994).

La producción de hongos comestibles consta de cuatro etapas fundamentales que son:

1. La preparación del inóculo:

Esta etapa se efectúa en condiciones de extremo cuidado en laboratorio. Se refiere a la siembra y propagación del micelio del hongo a partir de un tubo inclinado que contenga la cepa original en buenas condiciones fisiológicas.

Se puede también tomar micelio del contexto de un carpóforo fresco. La siembra se hace en caja de Petri, sobre agar malta ó agar papa dextrosa, o bien agar sabouraud. Se incuba a 28°C durante 8 días aproximadamente en oscuridad (Sánchez 1994).

a) Preparación del "Primario": Al cabo del periodo de incubación, el hongo se resiembra en un **sustrato intermedio** (puede ser: grano de trigo, arroz, sorgo, maíz y otros) en cantidad suficiente para que una vez desarrollado su micelio, la mezcla grano-hongo se use como semilla en la siembra de sustrato definitivo (Sánchez 1994).

El grano elegido como sustrato intermedio se limpia, se rehidrata en agua pura (durante 15 horas para el caso del sorgo, 24 horas para el maíz), se deja escurrir para eliminar el exceso de agua, se pesa en porciones de 200 gramos y se coloca dentro de bolsas de polipapel (Soto et al. 1991). Posteriormente se esteriliza en autoclave a 121°C durante 30 minutos. Se deja enfriar, para después inocularlo en condiciones de asepsia rigurosa con micelio proveniente de un centímetro cuadrado del hongo, que se ha cultivado previamente en caja de Petri. Una vez inoculada, cada porción de 200 gramos debidamente embolsada se incuba durante 10-15 días en oscuridad. A cada porción así preparada se denomina "primario".

b) Preparación de "Secundarios": A partir de un primario, en el cual el hongo debió haberse desarrollado satisfactoriamente, se pueden tomar estérilmente 8-10 porciones de grano para ser sembrados en el mismo número de bolsas que contengan el sustrato intermedio estéril. Esta nueva porción se incuba a las mismas condiciones que los primarios (Sánchez 1994).

Una vez crecido el hongo, a estos segundos paquetes de grano-hongo se les denomina "secundarios". La utilización de secundarios como semilla para siembra en el sustrato definitivo es ampliamente recomendada porque disminuye el consumo de agua y medios sintéticos. La propagación del hongo en el secundario es más rápida pues ya está adaptado al grano. Otra ventaja que presenta el uso de secundarios es que la transferencia de primario a secundario es más sencilla y menos delicada que la transferencia de cajas de Petri a primarios. No se recomienda preparar terciarios (Sánchez 1994).

2. Preparación del sustrato:

Esta parte comprende la fermentación (en el caso de la pulpa de café y del bagazo de caña de azúcar), el picado (en el caso de pajas), el secado y la fracturación o quiebra (en el caso de la cáscara de cacao o el olote de maíz), la hidratación y escurrimiento, la pasteurización y finalmente el enfriamiento y, si se trata de una mezcla: el mezclado de los materiales que servirán como soporte para el crecimiento y fructificación del hongo (Sánchez 1994).

El sustrato por utilizar deberá estar fraccionado. Un tamaño de 2-3 centímetros por lado resulta muy adecuado. Las pajas y el rastrojo pueden ser procesados con una picadora, la cáscara de cacao y el olote pueden ser triturados. Una vez que se logra el tamaño indicado, se aconseja meter el material en bolsas pequeñas de costal plástico y ponerlos en remojo durante 1-12 horas (según el sustrato) para rehidratar el sustrato (Sánchez 1994).

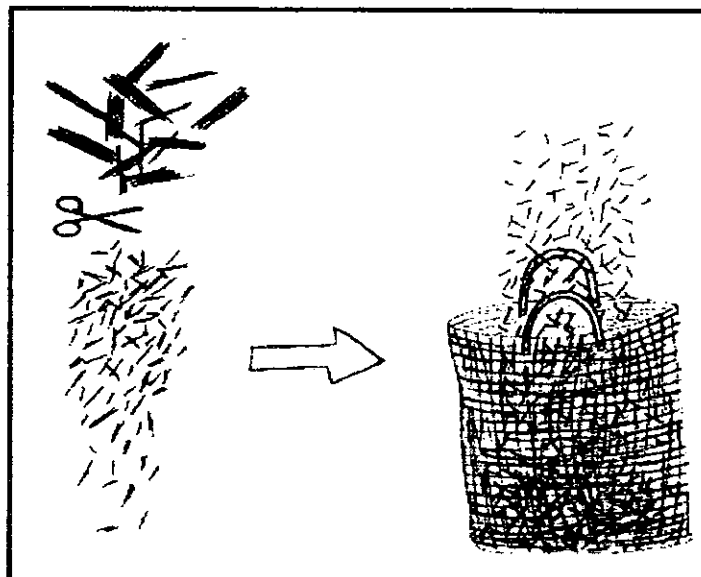


Fig. 2 Fraccionamiento del sustrato

Después de escurrir el exceso de agua, se pasteuriza dentro de las mismas bolsas, se deja escurrir y enfriar para proceder después a la siembra (Sánchez 1994).

La pasteurización es un proceso muy importante. Su función es eliminar o inhibir la mayor cantidad de organismos que puedan competir con el hongo en la utilización del sustrato. Para ello se pone a calentar agua suficiente para que cubra la totalidad del lote por pasteurizar.

Cuando el agua alcanza una temperatura de 90°C se agrega el sustrato (ya embolsado) y se mantiene a esa temperatura durante un mínimo de 40 minutos (Sánchez 1994).

Es de suma importancia agregar el sustrato únicamente cuando el agua ya alcanzó la temperatura de 90°C. Esto provoca un choque térmico muy brusco, difícil de soportar por los organismos que se encuentran sobre el sustrato (Sánchez 1994; López 1994).

Si el sustrato se agrega antes de que el agua alcance esta temperatura, los organismos termo-resistentes podrán adaptarse al incremento paulatino de la temperatura y la pasteurización no sería eficiente. La pasteurización a granel es posible, pero propicia la contaminación durante el enfriado (Sánchez 1994).

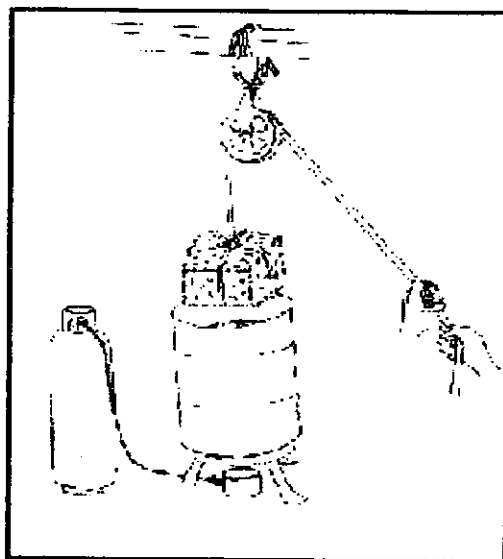


Fig. 3 Pasteurización del sustrato

3. La siembra e incubación:

En esta etapa se inocula el sustrato definitivo con el hongo, se necesita un período de espera o reposo que se debe dar al sustrato inoculado para permitir el adecuado desarrollo del micelio. La siembra se realiza agregando y distribuyendo en capas alternas de 200 gramos de un "secundario" en 8-10 libras de sustrato. El sustrato debe estar debidamente pasteurizado y enfriado a temperatura ambiente (Sánchez 1994).

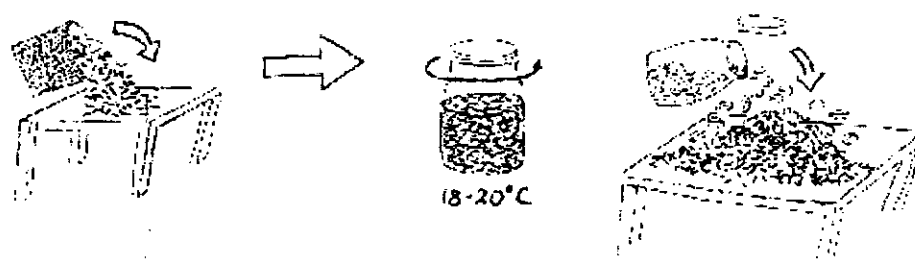


Fig. 4 Siembra del inóculo secundario en el sustrato

La mezcla sustrato-secundario se acomoda dentro de una bolsa de polietileno (tamaño 40 x 60, 50 x 60).

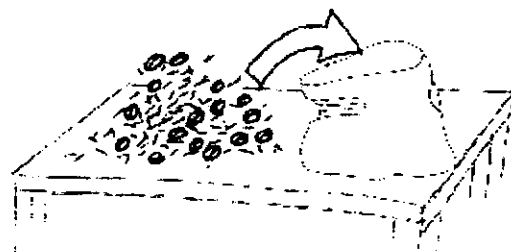


Fig. 5 Mezcla sustrato-secundario

Al terminar la siembra, la bolsa se cierra por medio de un nudo o con un lazo delgado, teniendo cuidado de eliminar todo el aire interior (Sánchez 1994; López 1994).

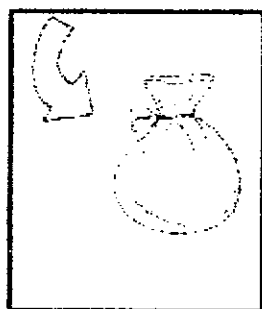


Fig. 6 Cierre de la bolsa con el sustrato inoculado

El enfriado del sustrato y la siembra se realizan con estricto cuidado y asepsia para evitar las contaminaciones (Sánchez 1994).

La incubación de las bolsas ya inoculadas se realiza en un local especial para tal fin: "la sala de incubación", donde se colocan los pasteles a 28°C y en oscuridad durante 10-15 días según el sustrato (Sánchez 1994).

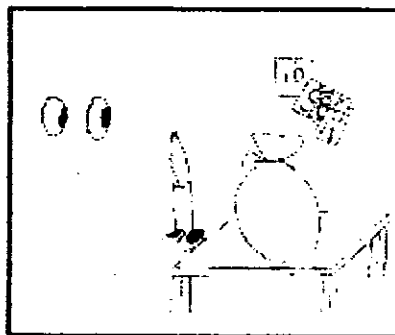


Fig. 7 Incubación en oscuridad

Durante la incubación, dos días después de haber efectuado la siembra, se hacen unas 80 perforaciones perfectamente distribuidas (con un bisturí o navaja estéril) sobre toda la superficie de cada bolsa que se ha sembrado, para permitir un intercambio gaseoso.

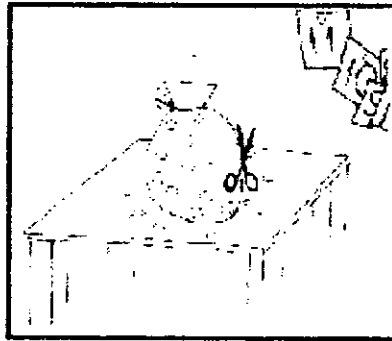


Fig. 8 Perforación de las bolsas

Existe otra forma de siembra, el método alemán o de "chorizos", varía en la forma de acomodar la mezcla sustrato-inóculo. Se requiere de un bastidor de hierro, un tubo de cloruro de polivinilo (pvc) con agujeros distribuidos sobre la superficie. Las ventajas de este método son: la siembra es rápida, se evitan contaminaciones y problemas de moscas y no es necesario usar anaqueles, aunque su desventaja es mantener una humedad uniforme en todo el chorizo, por lo que se pueden presentar problemas de pudrición o resecamiento en el rollo (Sánchez 1994).

4. La fructificación:

Después de la incubación, cuando ya ha crecido bien el micelio y ha formado una superficie blanco-algodonosa que cubre totalmente el sustrato, es el momento de eliminar la bolsa de polietileno y pasar la masa hongo-sustrato formada a la sala de fructificación.

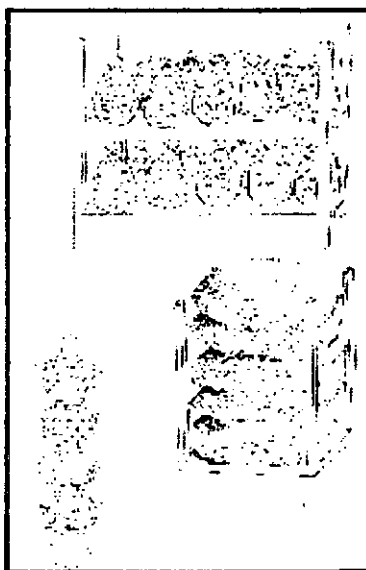


Fig. 9 Sala de Fructificación

Dicha sala debe ser un área amplia, dedicada exclusivamente a la fructificación del hongo. Allí se deben mantener condiciones controladas de humedad, tanto del sustrato como del aire, de ventilación, de temperatura, así como de iluminación.

Cuadro 1 Condiciones necesarias para el crecimiento de *Pleurotus ostreatus*.

| | |
|------------------------|-----------------------------------|
| • Humedad del sustrato | 50% |
| • pH del sustrato | 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 objeto eliminar el CO₂ generado por la respiración del hongo y renovarlo por aire puro (Chang y Miles 1989; Chang y Hayes 1978). **Una ventilación insuficiente propicia acumulación de CO₂ y el exceso produce resecamiento del sustrato.** Una baja acumulación de CO₂ puede inhibir el desarrollo de cuerpos fructíferos o propiciar el crecimiento deforme.

El riego es importante, aunque sea sólo en algunas horas del día, es necesario aplicar riegos en el cuarto de fructificación para aumentar la humedad y evitar el resecamiento del sustrato. Los riegos deben hacerse por medio de pulverización hacia el ambiente. Se pueden efectuar riegos directos hacia el sustrato. El chorro de agua debe ser suave para no dañar los cuerpos fructíferos (Sánchez 1994).

Dos días después de haber llevado los pasteles a la sala de fructificación y de haber eliminado la bola de polietileno, empiezan a aparecer los primordios, es decir los primeros cuerpos fructíferos.



Fig. 10 Primeros cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* (primordios)

Cuatro días después, los primordios se han desarrollado bien, cubren la totalidad de la superficie del pastel y estarán en madurez comercial, listos para ser cosechados (López 1994).



Fig.11 Cuerpos fructíferos maduros

Para cosechar se debe esperar a que los carpóforos alcancen el mayor tamaño posible, sin permitir que el borde del píleo comience a enrollarse hacia arriba. La cosecha se hace cortando el estípite con un cuchillo, justo a la base del tallo, en la unión con el sustrato.



Fig. 12 Carpóforos listos para ser cosechados

En algunas regiones, donde las condiciones climáticas son cercanas a las mencionadas anteriormente y donde los cambios climáticos no son drásticos ni frecuentes, es posible cultivar los hongos a la intemperie. Todos los pasos anteriores se realizan de igual manera, excepto que se prescinde de una sala de fructificación. Los pasteles se colocan a la intemperie, se aprovecha la temporada de lluvias, se escogen lugares sombreados, pero debe tenerse más cuidado con las plagas que pueden limitar la producción del hongo (Sánchez 1994).

G. Sustratos utilizados en el cultivo de *Pleurotus ostreatus*:

El material sobre el cual el micelio crece es denominado sustrato. Las propiedades (físico-químicas) de un sustrato determinan qué hongos y microbios pueden crecer en él (López 1994).

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, de su acidez, de la actividad microbiana que soporta, de su capacidad de aireación, de su contenido de agua, etc.

Si los nutrientes de un sustrato están fácilmente accesibles al hongo, la producción será mayor, pero se incrementa el riesgo de contaminación, por lo que se aconseja usar sustratos con menos nutrientes donde el peligro de contaminación es grande, aunque la producción sea menor (López 1994).

El sustrato selectivo es aquel que satisface las demandas nutricionales de un tipo de hongo y no satisface las de otros. La paja de gramíneas es un buen ejemplo de lo anterior (López 1994).

1. Sustratos utilizados para la preparación del inóculo:

Se utiliza generalmente un grano que permita el crecimiento rápido del hongo y que dé facilidad para distribuirlo en el sustrato definitivo. No se debe utilizar granos que se vendan para siembra, pues están protegidos con fungicidas (Sánchez 1994).

Para utilizar el grano se requiere únicamente lavarlo y limpiarlo, sumergirlo en agua por unas 6-16 horas y esterilizarlo a 121°C durante 30 minutos antes de la inoculación (Sánchez 1994).

Los granos más utilizados para preparar inóculos son:

- a) **El sorgo:** es fácil de conseguir y de bajo precio, *Pleurotus* crece bien en él, su tamaño es pequeño y facilita la diseminación del inóculo. Debe hidratarse durante 16 horas.
- b) **El maíz:** es menos barato que el sorgo, es fácil de conseguir, pero como es un grano más grande, el hongo crece menos bien que en el sorgo. Debe hidratarse por 24 horas.
- c) **El arroz:** es más caro que el maíz y que el sorgo, tiene buen tamaño y permite una fácil y eficiente diseminación sobre el sustrato. El hongo crece bien. Necesita 6 a 12 horas de hidratación.
- d) **El trigo:** el hongo crece muy bien sobre él. El precio del grano puede ser más elevado.

2. Sustratos utilizados para la fructificación:

Para la producción de *Pleurotus* se han utilizado una gran variedad de sustratos, que van desde troncos de árboles, aserrín, celulosa de pañales desechables, desechos orgánicos, etc. (Sánchez 1994). Estos últimos han sido utilizados en fresco o fermentados. También se han probado diversas mezclas con muy buenos resultados.

El sustrato debe ser un material cuyo precio sea mínimo o se reduzca al costo del transporte. De disponibilidad amplia y bien definida, aunque no necesariamente constante. La elección del sustrato es clave para tener una rentabilidad competitiva. Es común trabajar con diferentes sustratos, dependiendo la disponibilidad de los mismos en cada época del año (Sánchez 1994).

Los sustratos más recomendados son:

- a) **Pulpa de café:** la pulpa del café representa alrededor de 40% del fruto fresco. Si se considera un promedio de 12 Qq/ha como rendimiento promedio de las plantaciones de América, se tiene una producción anual de $(0.4 \times 690 \text{ kg})$ 276 kg/ha. La cosecha de café tarda alrededor de 3 meses y varía según las regiones (SARH,1989). Es posible conservarla seca, por eso se puede usar todo el año para la producción de hongos. También puede ser mezclada con otros materiales como pajas, etc. Ha sido reportada como uno de los sustratos más apropiados para la producción de *Pleurotus* (De León et al. 1988; Martínez-Carrera 1988; Guzmán et al. 1990).

Puede ser utilizada en fresco; sin embargo se recomienda fermentarla durante 5 días, apilándola en montones de aproximadamente 1 m de diámetro y 50-60 cm de altura. Se tapa este montón con plástico. Se debe voltear diariamente. Con la pulpa fermentada se han alcanzado rendimientos biológicos bastante elevados (Sánchez 1994).

La pulpa también puede ser deshidratada al sol (hasta un 8% de humedad). Así se puede conservar hasta 2 años. La pulpa seca, se sumerge en agua durante 1 hora y se pasteuriza durante 40 minutos. La pulpa fermentada se pasteuriza sin remojar (Sánchez 1994).

- b) **Cáscara de cacao:** La cáscara representa un 74% del peso total del fruto fresco. Puede ser utilizada en fresco, pero es necesario fracturarla para disminuir el tamaño de partícula, por lo que se recomienda secarla primero. El hongo crece más rápido que sobre la pulpa de café, pero el rendimiento es inferior. Después de secada y quebrada, las cáscaras se rehidratan y se pasteurizan a 85°C durante 40 minutos (Sánchez 1994).
- c) **Bagazo de caña:** El 35% del cultivo de caña es bagazo. Se puede usar el puro bagazo, aunque el rendimiento es bajo (15%). Si se fermenta durante 15 días el rendimiento aumenta (30%) y se incrementa aún más si se mezcla con pulpa de café (hasta 100%).
- d) **Otros sustratos:** *Pleurotus* se ha cultivado en una gran variedad de sustratos, tales como: desechos de algodón, pseudotallos de plátano, bagazo de citronela, bagazo de maguey, bagazo de palma, olote de maíz, paja de cebada, pulpa de cardamomo, madera de *Inga*, y otros residuos. Los resultados han sido buenos, la elección depende de la disponibilidad local que se tenga (Sánchez 1994).

- e) **Maíz (*Zea mays*):** el rastrojo de maíz equivale al 57.4% de una cosecha en base seca de maíz mientras que el grano equivale al 34.2%. La composición proximal y nutrientes totales oscilan entre 38.9, 49.8 40.7 y 48.3 para la tusa, hojas, caña y punta de la planta de maíz respectivamente. En este estudio se utilizó:
- **El rastrojo:** tiene aproximadamente 10-15% de humedad, 25-35% de fibra cruda, 3-5% de proteína cruda, 7-8% de cenizas. Contiene calcio y fósforo en pequeñas cantidades (Gómez, 1983). El rastrojo de maíz presenta de 4.61-9.03% de lignina; 41.82-36.19% de celulosa y 26.15-35.17% de hemicelulosa (Rodenas et al 1999).
 - **La tusa:** presenta valores de proteína cruda comprendidos entre 1.5-2.1% y fibra cruda 33-37.5% (Rodenas et al 1999).
- f) **Otras gramíneas:** en este estudio se usó zacate. Este consistió en una mezcla heterogénea de desechos de jardinería urbana, compuesta por varias especies de gramíneas. Las especies presentes poseen valores aproximados de 8-15% de proteína cruda; 29-35% de fibra cruda. La especie *Cynodon dactylon* que se encontraba presente en la mezcla, tiene 14.5% de proteína cruda; 7.12% de lignina; 23.91% de celulosa y 26.32% de hemicelulosa (Rodenas et al 1999). En el zacate también están presentes calcio, fósforo y carotenos (Domínguez 1970).

H. Importancia del uso de los desechos agroindustriales:

El uso de la biomasa puede ser clave en el desarrollo económico de una nación. Las regiones de la Tierra que son más productoras de biomasa se encuentran en los países en vías de desarrollo, pero en estos países se ha desperdiciado ó se ha pasado por alto dicho recurso (BUN 1991).

Los países en vías de desarrollo practican agricultura a corto plazo. Al establecer los cultivos, se han reducido las áreas de bosques lluviosos, ocasionando erosión del suelo. El mayor problema radica en que la productividad del suelo disminuye, y los productos agrícolas son menos valorados en el mercado internacional (BUN 1991).

La agricultura es fundamental para el desarrollo económico de los países en vías de desarrollo, ya que el modelo de industrialización propuesto por los países desarrollados, ha generado ciudades sobrepobladas con altas tasas de desempleo y pobreza. De acuerdo con lo anterior, la agricultura traerá consigo el desarrollo nacional, si y solo si:

- incrementa la productividad de la tierra
- ofrece nuevas fuentes de trabajo
- existe un desarrollo de nuevos productos
- se ejerce un manejo adecuado del suelo y los recursos hídricos
- no contribuye a la deforestación.

En otras palabras, la agricultura será la llave del desarrollo nacional, si está basada en un manejo integral de todos los recursos de biomasa (BUN 1991).

I. Eficiencia Biológica:

La Eficiencia Biológica consiste en la producción de cuerpos fructíferos, es decir, la Bioconversión de la energía y Biodegradación del sustrato. 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 sustrato.

$$EB = \frac{\text{g. de hongos frescos}}{\text{g. de sustrato seco}} * 100$$

La Eficiencia Biológica depende del tipo de sustrato a utilizar. En el caso de *Pleurotus ostreatus*, alrededor del 100% es considerada adecuada (Godoy 1997).

IV. JUSTIFICACIÓN

En Guatemala, la agricultura es una actividad económico-social, ambiental y cultural de suma importancia. Esta actividad genera una gran cantidad de desechos o subproductos, tal es el caso del rastrojo y la tusa en el cultivo de maíz, la pulpa en el cultivo de café, la cáscara de cacao y el bagazo en el cultivo de caña de azúcar. En la mayoría de los casos, estos desechos se eliminan al ambiente, ya que se desconocen otras formas de utilización y aprovechamiento de la biomasa que aún puede generar energía y capacidad productiva; por lo tanto, causan problemas de contaminación, afectando la salud y el ambiente.

Estos subproductos orgánicos o desechos de origen vegetal, tienen una gran cantidad de moléculas de celulosa, hemicelulosa y lignina, almacenadas en sus paredes celulares y constituyen la llamada fibra. Estos compuestos pueden ser utilizados por organismos tales como hongos y bacterias para su crecimiento y desarrollo. Los hongos poseen un complejo sistema enzimático que les permite degradar dichas moléculas de alto peso molecular, y así obtener energía para sus procesos vitales, metabólicos y para su nutrición.

En este trabajo de tesis se utilizaron el rastrojo de maíz, la tusa y el zacate como sustratos para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* por las siguientes razones:

- ◊ El rastrojo y la tusa son desechos del cultivo de maíz. El maíz (*Zea mays*) es un alimento de subsistencia y es considerado un cultivo autóctono tradicional; por lo que está ampliamente distribuido en el país. Se sabe que el rastrojo equivale al 57.4% de la planta; por lo que se tiene gran disponibilidad de este desecho.

- ◇ El zacate está ampliamente distribuido y crece en forma natural en muchos lugares, inclusive como maleza, al ser cortado se considera un desecho y se elimina al ambiente pues se desconoce que aún puede aprovecharse.
- ◇ En otros trabajos se menciona el uso de zacate como sustrato para el cultivo de hongos, pero no se detalla si se trata de una o varias especies ni cuales son, mientras que en este trabajo sí se identificaron las especies de gramíneas que componían en el zacate.
- ◇ Se quiere probar si con estos sustratos se producen resultados satisfactorios para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*, tal y como se han obtenido con otros sustratos, entre ellos: la pulpa de café.

Para el trabajo de experimentación, se eligió a la especie *Pleurotus ostreatus* por las siguientes razones:

- ◇ Debido a las características biológicas de esta especie, el cultivo puede crecer y desarrollarse sobre sustratos que contienen celulosa, hemicelulosa y lignina. Componentes que se encuentran en las paredes celulares de los desechos vegetales ya mencionados.
- ◇ Las condiciones ambientales necesarias para el desarrollo de *Pleurotus ostreatus* son fácilmente reproducibles, por lo que dicho cultivo tiene la posibilidad de realizarse en el área rural, actividad que ha tenido éxito principalmente en México, y otros países de Asia (China); brindando una alternativa de alimentación y aprovechamiento de los recursos disponibles a los sectores de población más desposeídos.

V. OBJETIVOS

A. General

Demostrar la utilidad y optimización de los desechos orgánicos en el cultivo de hongos comestibles, una alternativa alimentaria.

B. Específicos

- Aprovechar desechos orgánicos (rastrojo, zacate y tusa) como sustratos para el cultivo de hongos comestibles.
- Establecer el peso de la cosecha de *Pleurotus ostreatus* (cepa comercial) en tres diferentes sustratos.
- Identificar cual de los sustratos presenta la mejor Eficiencia Biológica en el cultivo de la cepa comercial de *Pleurotus ostreatus*.
- Generar información de base para otros estudios de cultivos de hongos.

VI. HIPÓTESIS:

A. Hipótesis nula:

El tipo de sustrato utilizado para el cultivo de hongos no afecta su eficiencia biológica.

$$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

B. Hipótesis de trabajo o hipótesis alterna:

Al utilizar el zacate como sustrato en el cultivo de hongos se obtiene una mayor eficiencia biológica.

$$H_a = \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3: \mu_1 > \mu_2 > \mu_3$$

Variables independiente: tipo de sustrato

Variable dependiente: Eficiencia biológica de los sustratos

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo y muestra

Para llevar a cabo el siguiente estudio se utilizó la cepa de hongo *Pleurotus ostreatus* (variedad comercial). Esta cepa se sembró en pasteles en los siguientes desechos vegetales: rastrajo, tusa y zacate

B. Materiales

Se utilizaron las instalaciones y equipo del Laboratorio Microbiológico de Referencia -LAMIR- en la Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia para efectuar la parte experimental.

1. Equipo de laboratorio

- 1 campana de flujo laminar, marca Dalton
- 1 incinerador eléctrico para asas
- 1 autoclave, marca SIBATA
- 2 mecheros Bunsen
- 1 refrigerador de 20 pies, marca Across
- 30 cajas de Petri (100 x 15 mm) con medio extracto de malta
- 1 asa en espátula
- 1 Balanza analítica marca Chyo MP-6000

2. Materiales para el cultivo

- Inóculo de una cepa comercial de *Pleurotus ostreatus*
- 30 libras de sorgo (*Sorghum bicolor*) para sustrato intermedio
- 100 bolsas de polipapel de una libra
- 100 bolsas de plástico de cinco libras
- 30 costales para guardar los sustratos
- 25 libras de zacate (mezcla de: *Rynchelytrum roseum*, *Digitaria sanguinalis*, *Cynodon dactylon*, *Paspalum notatum*, *Eleusine indica* y *Eragrostis lugens*)
- 25 libras de rastrojo (*Zea mays*)
- 25 libras de tusa (*Zea mays*)

3. Otros materiales

- 1 bata de laboratorio
- 1 frasco de alcohol al 70%
- 1 rollo de algodón
- 1 rollo de maskin tape
- 1 mascarilla
- 10 pares de guantes plásticos
- 10 bisturíes
- 90 platos desechables
- 1 rociador
- 300 hojas bond carta 80 g.
- 1 Computadora
- 1 Impresora de inyección de tinta
- 1 Cámara fotográfica
- 1 rollo fotográfico

C. Métodos:**1. La preparación del inóculo:****a) Sembrado de la cepa comercial en placa:**

Basándose en el método de Sánchez (1994), se sembró la cepa comercial en 12 cajas de Petri con extracto de malta y se incubó a 26°C durante dos semanas, tiempo en el cual el micelio se desarrolló.

b) Preparación del sustrato intermedio:

Se utilizaron granos de sorgo como sustrato intermedio, debido a la facilidad de adquisición. Se limpiaron e hidrataron 15 libras de dicho grano. El tiempo de hidratación fue de 16 horas. Luego, se secó el grano con papel periódico, para quitar el exceso de humedad, tratando que no quedara completamente seco.

Posteriormente, se llenaron 45 bolsas de polipapel, con 200 gramos de sorgo cada una. Se esterilizaron en el autoclave a 121°C durante 45 minutos y se dejaron enfriar para inocular el hongo (Sánchez 1994; Arriola 1996).

c) Preparación del "primario":

La preparación del inóculo "primario", se realizó en un área aséptica, utilizando la campana de flujo laminar y equipo estéril (guantes y bata de laboratorio).

Se dejó enfriar el grano y luego, se sembraron porciones de aproximadamente 1 cm² del micelio que había crecido en el agar en las bolsas con el sorgo esterilizado. Esto se realizó cortando el agar con un asa estéril.

Se obtuvieron 45 bolsas de polipapel inoculadas, las cuales se cerraron con cuidado y se incubaron a 26°C durante aproximadamente 15 días, hasta que el micelio cubrió todo el grano (Sánchez 1994).

Se observó el crecimiento del micelio para determinar cualquier tipo de contaminación. Las bolsas contaminadas (30 bolsas) se retiraron para evitar que las demás también se contaminaran.

d) Preparación de "secundarios":

Cuando el micelio se propagó en todo el grano, se procedió a preparar el inóculo "secundario". Se repitió el mismo procedimiento usado en la preparación del sustrato intermedio (limpiar, hidratar, esterilizar y enfriar el grano). La preparación de "secundarios" se realizó en la campana de flujo laminar, se limpió y desinfectó con alcohol al 80% y algodón, y con luz ultravioleta, previo a trabajar en ella.

Cuando el grano se enfrió, se tomaron porciones de inóculos primarios y se sembraron en el grano recién esterilizado contenido en bolsas de polipapel. Posteriormente, se incubaron a 26°C. El crecimiento en el inóculo "secundario" fue más rápido que en el inóculo "primario" (Sánchez 1994).

2. Preparación de los sustratos:

a) **Zacate:** consistió en una mezcla heterogénea de desechos de jardinería urbana, compuesta en su mayoría por las especies *Rynchelytrum roseum* (Nees) y *Digitaria sanguinalis* (L.). También se encontraron presentes las siguientes especies de gramíneas: *Cynodon dactylon* (L.), *Paspalum notatum*, *Eleusine indica* y *Eragrostis lugens*. Esta mezcla se puso a secar al sol. Una vez seca, se cortó con una picadora de pajas, hasta obtener fracciones de 3 a 5 cm. Luego se hidrató durante 24 horas; se eliminó el exceso de humedad y se almacenó en costales, los que posteriormente fueron esterilizados en el autoclave durante 45 minutos a 121°C y 15 lb de presión.

b) **Rastrojo:** es la caña (el tallo) y hojas de maíz *Zea mays*, se obtuvo en la finca "El Ujushte" ubicada en Jutiapa. Al igual que el zacate, se puso a secar al sol, y se cortó hasta obtener fracciones de 3 a 5 cm. Posteriormente se hidrató durante 24 horas, se almacenó en costales que se esterilizaron en autoclave durante 45 minutos a 121°C y 15 lb de presión.

c) **Tusa:** consiste en las hojas que envuelven al elote o mazorca (*Zea mays*) cuando están ya secas. Este sustrato se obtuvo en el mercado Municipal Cervantes, ubicado en la Avenida Elena y 18 calle zona 3 de la capital. No se puso a secar al sol, solamente se fraccionó y se hidrató durante 24 horas. Para luego esterilizarla con iguales condiciones que los sustratos anteriores.

3. Siembra e incubación:

a) Siembra en los sustratos:

El sustrato se enfrió después de la esterilización. En esta etapa se trató de evitar contaminaciones. Se trabajó en un área estéril (con mecheros bunsen y limpiada con alcohol al 80%), con guantes, mascarilla, bata y gorro.

Se llenaron 60 bolsas plásticas de polietileno transparentes, de la siguiente manera: una capa del sustrato y una porción del inóculo secundario, en especial, cerca de las paredes de la bolsa y un poco en el centro. Luego se colocó otra capa de sustrato, más el inóculo y así sucesivamente hasta completar 1 libra de mezcla sustrato-inóculo, compactándolo bien. Las bolsas se cerraron con un nudo, teniendo cuidado de liberar todo el aire posible. Se hicieron 20 pasteles con cada sustrato (Sánchez 1994).

b) Incubación:

Después de haber sembrado los 60 pasteles, se llevaron a un cuarto oscuro, con una temperatura de 23°C durante 10-15 días. A cada pastel se le asignó un número para llevar un registro de su producción.

Transcurridas las primeras 48 horas, se abrieron agujeros de 2 cm de largo, separados 5 cm entre uno y otro, en las 60 bolsas plásticas, para permitir el intercambio gaseoso y evitar una acumulación de CO₂. Esto se realizó con la ayuda de una bisturí estéril, con guantes, mascarilla y bata, para evitar contaminaciones. Cada vez que se cortaba una bolsa, se limpiaba el bisturí con alcohol al 80%.

Se llevó a cabo un control diario de los pasteles para detectar cualquier tipo de contaminación. Cualquier coloración sobre el sustrato, diferente a la coloración blanca, propia del micelio de *Pleurotus ostreatus*, se tomaba como posible contaminación (Sánchez 1994; Godoy 1997).

4. Fructificación:

Cuando empezaron a salir los primordios, los pasteles se sacaron a la luz y se les eliminó la bolsa plástica. En este momento, se inició el riego, varias veces al día, mediante un atomizador para no dañar los cuerpos fructíferos. Además, se controló la ventilación de la sala de fructificación (Sánchez 1994).

5. Cosecha:

Se esperó a que los cuerpos fructíferos alcanzaran su máximo tamaño, aproximadamente a los 28 días, se cortaron con la ayuda de un bisturí, justo en la unión del estípite con el sustrato.

Luego se pesó la cosecha obtenida. Se llevó un registro del número de pastel del que provenía cada cosecha, la fecha de cosecha y el peso.

A continuación, se calculó la eficiencia biológica, utilizando una fórmula matemática para este fin, la que consiste en una relación entre gramos de hongos frescos divididos gramos de sustrato seco multiplicado por cien. El procedimiento fue aplicado al peso obtenido de tres cosechas de cada pastel.

$$\text{Eficiencia Biológica} = \frac{\text{gramos hongos frescos}}{\text{Gramos sustrato seco}} * 100$$

D. Diseño experimental

Para determinar el número de réplicas por tratamiento se utilizó la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned} \text{No. de réplicas} &= t(r - 1) = \text{Grados de libertad del error} \\ &3(5 - 1) = 12 \end{aligned}$$

El número de réplicas es 12, sin embargo se utilizaron 20 en cada tratamiento.

Se aplicó un análisis de varianza a los datos obtenidos, para establecer si existe diferencia significativa o no entre los diferentes tratamientos, o sea, diferencia en los porcentajes de eficiencia biológica de los diferentes sustratos.

Además se realizó una prueba de comparaciones pareadas de Fisher, para determinar qué sustrato era más eficiente. Se utilizó el siguiente comparador.

$$\text{LSD} = t_{\alpha/2} \sqrt{2 \text{CMe} / n}$$

$t_{\alpha/2}$ (0.05/2 = 0.025)
gl = N - K = 12

Valor crítico de t de student

Cme = cuadrado medio del error

n = tamaño de la muestra

VIII. RESULTADOS

Los resultados se obtuvieron a partir de mediciones realizadas al peso de hongos *Pleurotus ostreatus*, cultivados en tres clases de sustratos orgánicos: zacate, rastrojo y tusa. Se realizaron tres cosechas de cada pastel cultivado, 20 pasteles de cada tipo de sustrato.

Se demostró, mediante un análisis de varianza, que existen diferencias entre las medias de los tratamientos; estas diferencias son demasiado grandes para ser atribuidas al error aleatorio de muestreo, se puede inferir que el tipo de sustrato sí influye en la eficiencia biológica.

Se plantearon las siguientes hipótesis:

- Hipótesis nula: Las medias de los tratamientos son iguales. Con los tres sustratos se obtienen iguales resultados.

$$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

- Hipótesis alterna: Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente. El tipo de sustrato sí influye en la eficiencia biológica.

$$H_a = \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$$

En el análisis de varianza ANDEVA, se estimó primero, la varianza de la población a partir de la varianza entre las medias. Después se hizo una segunda estimación de la varianza de la población desde la varianza dentro de los grupos, y por último se compararon estas dos estimaciones, para ver si su valor era aproximadamente igual. Como el valor de F calculada, es significativamente mayor al valor de F crítica, se rechazó la hipótesis nula que plantea que todas las medias son iguales. A continuación el cuadro No. 2 ilustra la forma en que se realizó el ANDEVA.

CUADRO 2 ANÁLISIS DE VARIANZA DE PORCENTAJES DE EFICIENCIA BIOLÓGICA DE TRES DIFERENTES SUSTRATOS EN EL CULTIVO DE PLEUROTUS OSTREATUS

| MUESTRA | ZACATE Tratamiento 1 | Tr.1 ² | RASTROJO Tratamiento 2 | Tr.2 ² | TUSA Tratamiento 3 | Tr.3 ² |
|---------|-------------------------|-------------------|---------------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|
| 1 | 30.0 | 900.0 | 29.0 | 841.0 | 18.3 | 334.9 |
| 2 | 34.5 | 1190.3 | 30.1 | 906.0 | 18.6 | 346.0 |
| 3 | 35.5 | 1260.3 | 30.6 | 936.4 | 20.0 | 400.0 |
| 4 | 36.2 | 1310.4 | 30.6 | 936.4 | 20.3 | 412.1 |
| 5 | 37.6 | 1413.8 | 30.6 | 936.4 | 20.6 | 424.4 |
| 6 | 37.7 | 1421.3 | 31.6 | 998.6 | 20.6 | 424.4 |
| 7 | 38.1 | 1451.6 | 32.7 | 1069.3 | 20.7 | 428.5 |
| 8 | 40.2 | 1616.0 | 33.2 | 1102.2 | 21.1 | 445.2 |
| 9 | 40.4 | 1632.2 | 33.7 | 1135.7 | 21.7 | 470.9 |
| 10 | 41.1 | 1689.2 | 33.7 | 1135.7 | 21.7 | 470.9 |
| 11 | 42.0 | 1764.0 | 33.8 | 1142.4 | 22.0 | 484.0 |
| 12 | 42.3 | 1789.3 | 33.9 | 1149.2 | 24.8 | 615.0 |
| 13 | 42.7 | 1823.3 | 34.5 | 1190.3 | 25.7 | 660.5 |
| 14 | 42.9 | 1840.4 | 34.7 | 1204.1 | 26.5 | 702.3 |
| 15 | 44.3 | 1962.5 | 35.5 | 1260.3 | 28.4 | 806.6 |
| 16 | 46.5 | 2162.3 | 38.2 | 1459.2 | 28.7 | 823.7 |
| 17 | 49.1 | 2410.8 | 39.5 | 1560.3 | 29.0 | 841.0 |
| 18 | 53.0 | 2809.0 | 39.6 | 1568.2 | 29.4 | 864.4 |
| 19 | 54.7 | 2992.1 | 43.5 | 1892.3 | 29.5 | 870.3 |
| 20 | 55.4 | 3069.2 | 45.5 | 2070.3 | 29.5 | 870.3 |

| | | | | | | |
|-------|--------------|---------|--------------|---------|--------------|---------|
| Ti | 844.2 | 36507.8 | 694.5 | 24494.0 | 477.1 | 11695.0 |
| media | 42.2 | | 34.7 | | 23.9 | |
| s | 6.8 | | 4.5 | | 4 | |

$$n_1=n_2=n_3= 20$$

$$k = 3$$

$$N = 60$$

$$T = 2015.8$$

$$\text{sum.} = 72696.8$$

$$T_1^2 = 712673.6$$

$$T_2^2 = 482330.3$$

$$T_3^2 = 227624.4$$

$$1422628.3$$

$$T^2 = 4063449.6$$

*donde:

s = desviación estándar

n = tamaño de la muestra

k = número de tratamientos

N = tamaño de la muestra total

Ti = suma de datos obtenidos en cada tratamiento

T = sumatoria de Ti de cada tratamiento

T² = T elevado al cuadrado

sum = suma del total de los datos elevados al cuadrado

Suma de cuadrados total

$$SCT = \text{sum.} - T^2/N$$

$$SCT = 72696.8 - (4063449.6/60)$$

$$SCT = 4972.62$$

Suma de cuadrados de tratamientos

$$SCt = (T_1^2 + T_2^2 + T_3^2)/n - T^2/N$$

$$SCt = (1422628.3)/20 - 4063449.6/60$$

$$SCt = 3407.25$$

Suma de cuadrados del error

$$SCe = SCT - SCt$$

$$SCe = 4962.72 - 3407.25$$

$$SCe = 1565.36$$

TABLA ANDEVA

| FUENTE | GL | SC | CM | F |
|-------------------------------|-------------|--------|--------|------|
| Tratamientos (entre trat.) | k-1 2 | 3407.3 | 1703.6 | 62.0 |
| Error (dentro de trat.) | N - k 57 | 1565.4 | 27.5 | |
| Total | N - 1 59 | 4972.6 | | |

En esta tabla, se reportan los grados de libertad (GL) para: tratamientos, error y total, así como la suma de cuadrados (SC) de cada uno de los anteriores. Luego se calcularon los cuadrados medios "de tratamientos" y "del error", los cuales son equivalentes a las varianzas entre grupos y dentro de grupos respectivamente

Los valores de los cuadrados medios se dividieron para calcular la **F**, este valor fue significativamente mayor que el de la **F** crítica.

$$F \text{ crítico} = F \text{ alfa (gl/gle)}$$

$$F \text{ crítico} = 3.15$$

62 > 3.15 F calculado mayor que F crítico. Ho se rechaza

Posterior al análisis de varianza, se realizó una prueba de diferencias pareadas ó de Fisher. Esta es una prueba Post-ANDEVA, consiste en hacer comparaciones entre las medias de los diferentes tratamientos realizados. Se hicieron tres comparaciones de la siguiente manera:

- 1) Tratamiento 1 (zacate) contra tratamiento 2 (rastrojo)
- 2) Tratamiento 1 (zacate) contra tratamiento 3 (tusa)
- 3) Tratamiento 2 (rastrojo) contra tratamiento 3 (tusa)

de acuerdo a las siguientes hipótesis planteadas:

$$\begin{array}{lll}
 \mathbf{H_{o1}} = \mu_1 = \mu_2 & \mathbf{H_{o2}} = \mu_1 = \mu_3 & \mathbf{H_{o3}} = \mu_2 = \mu_3 \\
 \mathbf{H_{a1}} = \mu_1 \neq \mu_2 & \mathbf{H_{a2}} = \mu_1 \neq \mu_3 & \mathbf{H_{a3}} = \mu_2 \neq \mu_3
 \end{array}$$

Se utilizó el comparador LSD, el cual se calculó utilizando el valor del cuadrado medio del error = 27.5 con la siguiente fórmula.

$$\begin{array}{ll}
 \text{LSD} = t_{\alpha/2} & \sqrt{2 \text{ CMe}/n} \\
 & \text{gl} = N - k \quad \sqrt{2.75} \\
 \text{LSD} = & 2.003 \quad (1.6583124) \\
 \mathbf{LSD} = & \mathbf{3.3}
 \end{array}$$

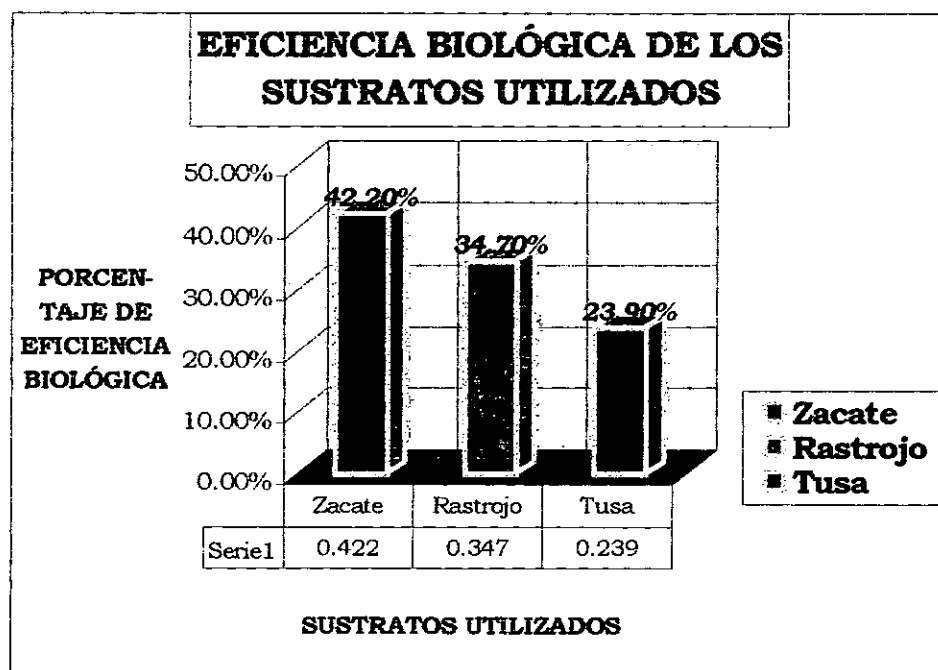
$$\begin{array}{ll}
 \text{Media 1 - Media 2} = 7.5 & \\
 7.5 > \mathbf{3.3} & \text{rechazo } H_0
 \end{array}$$

$$\begin{array}{ll}
 \text{Media 1 - Media 3} = 18.3 & \\
 18.3 > \mathbf{3.3} & \text{rechazo } H_0
 \end{array}$$

$$\begin{array}{ll}
 \text{Media 2 - Media 3} = 10.8 & \\
 10.8 > \mathbf{3.3} & \text{rechazo } H_0
 \end{array}$$

El análisis de varianza evidenció que al menos una de las medias es diferente, por lo que se descartó la hipótesis nula. Mediante el análisis de Fisher, se demostró que la eficiencia biológica es diferente según el sustrato y es mayor cuando en el cultivo de hongos se utiliza como sustrato el zacate; por lo tanto, la hipótesis de trabajo se comprobó.

A continuación la gráfica No. 1 muestra el porcentaje de eficiencia biológica promedio de los tres sustratos, el zacate presenta una eficiencia biológica de 42.20%, seguido por el rastrojo con 34.70% de eficiencia biológica y por último se encuentra la tusa con una eficiencia biológica de 28.90%.



GRÁFICA 1. PORCENTAJES DE EFICIENCIA BIOLÓGICA DE RASTROJO, ZACATE Y TUSA USADOS COMO SUSTRATOS EN CULTIVO DE *PLEUROTUS OSTREATUS*

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Todos los sustratos utilizados permitieron el crecimiento de una cepa comercial de *Pleurotus ostreatus*. Esto se debe a que dichos sustratos están constituidos por material vegetativo que contiene macromoléculas que los hongos necesitan para su crecimiento y desarrollo.

De acuerdo a los resultados obtenidos por medio del análisis de varianza, se pudo determinar que, de los sustratos utilizados, el más eficiente fue el zacate, ya que se obtuvo una eficiencia biológica de 42.20%, con el rastrojo se obtuvo una eficiencia biológica de 34.70% y 23.90% con la tusa.

La hipótesis de trabajo planteada en la presente investigación fue que el zacate presentaría la mejor eficiencia biológica de los tres sustratos seleccionados para este estudio. Los resultados evidenciaron que en la composición del zacate están presentes el carbono y el nitrógeno, y que además pueden ser utilizados por *Pleurotus ostreatus* para su crecimiento y desarrollo; ya que se sabe que la disponibilidad de carbono y nitrógeno son necesarias para el crecimiento del hongo (Urdapilleta 1988).

Los resultados de este estudio demostraron que el rastrojo y la tusa tienen una menor eficiencia biológica. Esto probablemente se debe a que tienen menor disponibilidad de carbono y nitrógeno para el hongo.

Las eficiencias biológicas obtenidas con estos sustratos son inferiores a las obtenidas con otros sustratos ya estudiados, y no se consideran eficiencias óptimas.

Por ejemplo, con la pulpa de café, se ha obtenido 138.13% de eficiencia (Martínez-Carrera 1986), con el bagazo de caña 97% (Klibansky 1993). También en otros estudios se han hecho pruebas con combinaciones de sustratos, las cuales han proporcionado eficiencias biológicas altas, como con bagazo de caña mezclado con pulpa de café: 175.8% (Martínez-Carrera 1986) y 96.96% (Martínez-Carrera 1990).

Es importante mencionar que, en los estudios anteriores, se ha trabajado con los sustratos fermentados, y se observa diferencia en el valor de eficiencia biológica obtenida con bagazo de caña fresco que fue de 15.7% (Urdapilleta 1988), valores cercanos a los de las eficiencias biológicas obtenidas en el presente estudio, ya que también se trabajaron los sustratos frescos, no fermentados.

En el desarrollo de la investigación, se comprobó que el micelio de *Pleurotus ostreatus* creció más rápidamente en el inóculo secundario que en el inóculo primario. Este rápido crecimiento se debió a que el micelio ya estaba adaptado al sorgo.

Se ha demostrado que algunos desechos orgánicos provenientes de la producción agrícola pueden ser utilizados en forma eficiente en la formulación y ejecución de proyectos productivos para generar fuentes de ingresos y alimentación a familias de bajos ingresos económicos. Los hongos cultivados tienen un agradable sabor, tienen un alto contenido proteínico, y pueden combinarse con otros alimentos. Además, en algunas comunidades del occidente del país, se han registrado prácticas de micofagia (comer hongos), en lo que se refiere a especies silvestres de hongos comestibles.

El haber utilizado un sustrato que consistió en una mezcla heterogénea de desechos de jardinería urbana proporcionó resultados únicos e irrepetibles. Ya que al replicar la experiencia, los resultados estarán condicionados a la composición y proveniencia del sustrato.

La mezcla utilizada estuvo compuesta en su mayoría por las especies *Rynchelytrum roseum* (Nees) y *Digitaria sanguinalis* (L.). También se encontraron presentes las siguientes especies de gramíneas: *Cynodon dactylon* (L.), *Paspalum notatum*, *Eleusine indica* y *Eragrostis lugens*.

La especie *Rynchelytrum roseum* (Nees) es considerada como maleza, su valor nutricional es bajo y no se usa como alimento animal, sin embargo, al estar combinada con otras especies de gramíneas, proporcionó los valores más altos de eficiencia biológica para este trabajo en particular.

Si se replica la experiencia en el área rural, es necesario tomar en cuenta que el proceso debe modificarse de la siguiente manera: Se debe empezar a partir de la siembra de inóculo secundario sobre el sustrato a utilizar, ya que como se mencionó anteriormente, está mejor adaptado y presenta menor contaminación.

Las fases iniciales del cultivo de hongos no son fáciles de realizar en el área rural, ya que se necesitan condiciones de esterilidad, las cuales solamente son reproducibles en un laboratorio. Mientras que las etapas de siembra sobre sustrato, fructificación y cosecha pueden ser llevadas a cabo en un área que posea condiciones ambientales similares a las que necesita el hongo para su desarrollo en la naturaleza.

Ciertos aspectos dificultaron la investigación: La disponibilidad del zacate fue menor de lo que se esperaba, especialmente en los meses de estación seca, en los que dicho sustrato no crece mucho. En el caso de la tusa también es un sustrato con baja disponibilidad, ya que en su mayoría es utilizada como alimento de animales, en la elaboración de artesanías y para la preparación de alimentos en el hogar, como son los tamalitos, alimento de la dieta indígena y del área rural. El rastrojo presentó la mejor disponibilidad por ser accesible para todas las personas que cultivan maíz.

X. CONCLUSIONES

- El cultivo de hongos es una alternativa para el manejo de los desechos vegetales, provenientes de agricultura formal ó de jardinería urbana, pues proporciona un producto que puede utilizarse como alimento y fuente de ingresos para familias de escasos recursos.
- La eficiencia biológica del zacate fue de 42.20% y fue la más alta, lo que demuestra que es el mejor de los tres sustratos que se utilizaron (zacate y tusa).
- Las eficiencias biológicas del rastrojo y de la tusa fueron de 34.70% y 23.90% respectivamente, esto demuestra que la disponibilidad de nutrientes necesarios para el crecimiento de los hongos en estos sustratos es menor que en el zacate.

XI. RECOMENDACIONES

- Es conveniente llevar control de factores como la intensidad de luz, humedad y pH del sustrato al momento de realizar otros experimentos como este, para realizar un análisis formal en la productividad del desarrollo del hongo.
- Es necesario especificar la composición de especies presentes en una mezcla cuando se utilice como sustrato para el cultivo de hongos.
- Es conveniente investigar cual de los sustratos que se han estudiado se encuentra con mayor disponibilidad, en las comunidades donde podrían iniciarse proyectos productivos en cultivo de hongos.
- Realizar otras pruebas con combinaciones de sustratos orgánicos para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*.
- Realizar pruebas con otros desechos de materia orgánica propios de la presencia humana.

XII. REFERENCIAS

- ARGUETA, H. 1983. Estudio de los macromicetos de la ciudad de Guatemala, Mixco y San Juan Sacatepéquez. Tesis Lic. Quím. Biól. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. p. 17.
- ARRIOLA, H. 1996. Utilización de bolsas de polipapel y celofán para el empaque de inóculos primarios y secundarios de una cepa mexicana de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) inoculada sobre sorgo (*Sorghum bicolor*). Tesis Lic. Quím. Biól. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 35 p.
- ATLAS, R.; BARTA, R. 1981. Microbial ecology: Fundamentals and applications. USA. Addison-Wesley Pub. Co. p. 33.
- BIOMASS MANAGEMENT AND AGRICULTURE. 1991. Thailand, Biomass Users Network. s.p.
- CALVO, L. 1994. Valor nutritivo y toxicología de los hongos. En Producción de hongos comestibles. Ed por Sánchez, J. México. p. 32.
- CASTILLO, F. 1989. Composición y valor nutritivo de la proteína de *Pleurotus spp.* cultivado sobre pulpa de café. Tesis Lic. Quím. Biól. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 49 p.
- CHANG, S.; HAYES, W. 1978. The biology and cultivation of edible mushrooms. New York: Academic. p. 17.
- ; MILES, P. 1989. Edible mushrooms and their cultivation. Boca Ratón: CRC. p. 5.
- DE LEÓN, R. et al. 1988. Planta productora de hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus*) en Guatemala. Revista mexicana de micología; México 4: 297-301.
- , 1990. Cultivo de los hongos comestibles del género *Pleurotus* sobre lirio acuático y determinación de metales pesados en las muestras obtenidas. Tesis de Maestría, México, Universidad Autónoma de México, Facultad de Ciencias. 40 p.

- DOMÍNGUEZ, C. 1970. Composición química y contenido de calcio, fósforo y carotenos de pastos cultivados en Centro América. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. p. 25.
- ECO, U. 1993. Cómo se hace una tesis. España, Gedisa. 267 p.
- EVANS, R.; HOFMANN, A. 1989. Plantas de los dioses: Orígenes del uso de los alucinógenos. México, Fondo de Cultura Económica. p.144.
- FRANCO, L. 1986. Valor nutritivo de la paja de trigo tratada con el hongo basidiomiceto *Pleurotus sajor-caju* como fuente de alimento para bovinos. Tesis Lic. Zoot. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 50 p.
- GARCÍA, M. 1987. Cultivo de setas y trufas. España, Mundiprensa. 140 p.
- GODOY, C. 1997. Cultivo de una cepa mexicana de *Pleurotus ostreatus* utilizando como sustrato aserrín de caoba y cedro, fibra de coco y olote de maíz. Tesis Lic. Quím. Biól. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 72 p.
- GÓMEZ, H. 1983. Efecto de la suplementación con harina de algodón y urea sobre la digestibilidad de rastrojo de maíz. Tesis Lic. Zoot. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 9-10.
- GUZMÁN, G. 1978. Identificación de los hongos comestibles, venenosos y alucinantes. México, Limusa. 452 p.
- ; et al. 1993. El cultivo de los hongos comestibles con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agroindustriales. México, IPN. p. 14.
- , 1994. Algunos aspectos importantes en la ecología de los hongos en especial de los macromicetos. México, Instituto de Ecología. p. 15.
- , 1995. Los hongos y el hombre. Biodiversidad e impacto ecológico, social y económico. México, Limusa. p. 10-15.

- HUERTA, G. 1994. Morfología de los hongos. En Producción de hongos comestibles. Ed por Sánchez, J. México, Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste. p. 25-26.
- KERLINGER, F.N. 1988. Investigación del comportamiento. 2 ed. México, Mc Graw-Hill. p. 35-60.
- KLIBANSKY, M. et al. 1993. Production of *Pleurotus ostreatus* mushroom on sugar cane agrowastes. Acta Biotechnology. USA 13:71-78.
- KURTZMAN, R.; ZADRAZIL, F. 1989. Physiological and taxonomic considerations for cultivation of *Pleurotus* mushroom. En: Tropical mushrooms biological nature and cultivation methods. Chang, S.T. and Quimio, T.H. (Eds). Hong Kong, The Chinese University Press. p. 229-348.
- LARGENT, D.; THIERS, H. 1977. How to identify mushrooms genus II: Field identification of genera. USA, Mad River Press. 32 p.
- LEVIN, R.; RUBIN, D. 1996. Estadística para administradores. 6 ed. México, Prentice-Hall. p. 480-484, 598-651.
- LÓPEZ, A. 1986. Hongos comestibles y medicinales de México. México, Universidad de Veracruz. p. 2.
- , 1994. Manual para la producción de micelio de hongos comestibles para el cultivo. México, Universidad Veracruzana. p. 2-5.
- ; ALVARADO, J. 1994. El valor nutritivo de los hongos. México, Universidad Veracruzana, Centro de Genética Forestal. p. 8.
- ; ALVARADO, J. 1999. Estructura del pleuroma de *Pleurotus*. <http://www.coacade.uv.mx/institutos/forest/proced.html>.
- MARTÍNEZ, D. et al. 1990. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre bagazo de caña enriquecido con pulpa de café o paja de cebada. Mycology neotropical applicated; USA. 13:49-52.
- MARTÍNEZ-CARRERA et al. 1988. Cultivo de diversas cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus* sobre pulpa de café o paja de cebada. Revista mexicana de micología; México 4:153-160.

- MÉNDEZ, I. et al. 1991. El protocolo de investigación. México, Trillás. 211 p.
- OHI, K.; TORRES, M. 1994. Piedras hongo. Japón, Museo Tabaco y Sal. p. 41.
- PÉREZ, R. 1990. Caracterización química del valor nutritivo de los anacates *Cantharellus cibarius* Fr. Tesis Lic. Quím. Biól. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. p. 12.
- RODENAS, M. et al. 1999. Tablas de valor nutricional de alimentos para animales en Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación. 158 p.
- SÁNCHEZ, J.E. 1994. Producción de hongos comestibles. México, Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste. 108 p.
- SOMMERKAMP, Y. 1990. Hongos comestibles en los mercados de Guatemala. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación. p. 7.
- URDAPILLETA, L. et al. 1988. Aislamiento y caracterización de cepas de *Pleurotus ostreatus* y su cultivo en residuos agroindustriales en el estado de Morelos. Revista mexicana de micología; México, 4:13-20.
- URREOLA, M. 1992. Análisis multielemental por reflexión total de rayos X en hongos comestibles. Tesis Lic. Quím. Biól. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. p. 10-13.

DOCUMENTOS DE INTERNET:

- Pleurotus ostreatus www.grn.es/amjc/bolets/postrea2.htm
- Podría reutilizarse la celulosa de pañales desechables para el cultivo de hongos www.uam.mx/organo-uam/documentos/V-I/i42-07.html
- Hongos www.gripco.com/negocios/archivo/4865.htm
- Guía para el cultivo de setas www.coacade.uv.mx/institutos/forest/cyktuvi1.html
- Granma Internacional-Español Hongos comestibles obtenidos de la caña de azúcar www.granma.cu/nov97/43nov14e.html
- Los hongos, inflorescencias de la tierra poco valoradas www.conabio.gob.mx/biodiversitas/hongos.htm
- Guía Ilustrada. Cultivo de setas. www.uv.mx/institutos/forest/setas.html
- Hongos tropicales www.ecosur.mx/hongos/texto_hongos.htm
- Biodegradación de compuestos aromáticos contaminantes de suelos por hongos del género *Pleurotus* www.cib.csic.es/lignina/lignina_es.html

XIII. GLOSARIO

- Basidios** Es una célula hifal grande, alargada en cuyo extremo se desarrollan cuatro basidiosporas.
- Basidiocarpio** Cuerpo fructífero de los Basidiomicetos; contiene los basidios, donde se producen las esporas.
- Basidioma** Cuerpo fructífero de los Basidiomicetos. Basidiocarpio, carpóforo.
- Basidiosporas** Células haploides producto de la meiosis que sufre un basidio (diploide) y que pueden originar un nuevo micelio.
- Carpóforo** Aparato reproductor de los hongos. Basidioma
- Cuerpo Fructífero** Cuerpo productor del hongo, el cual nace del micelio que crece en el suelo o sustrato. Basidiocarpio, etc.
- Espora** Estructura propagadora, producida por la mayoría de los hongos, sirven para la producción de nuevos individuos de la misma especie.
- Estípite** Parte que sostiene el píleo de los hongos; comunmente conocido como pie.
- Hifa** Cualquiera de los filamentos que componen el micelio de un hongo.

| | |
|--------------------|--|
| Himenio | Superficie fértil de un hongo; corresponde a la parte del cuerpo fructífero que produce esporas. |
| Lámina | Cada tabique delgado situado en la parte inferior del píleo, en donde se encuentra el himenio. |
| Meiosis | División celular que tiene por objeto reducir el número de cromosomas a la mitad. A partir de una célula se generan cuatro. |
| Micelio | Conjunto de filamentos que crecen en el suelo o sustrato como una masa algodonosa, produciendo los cuerpos fructíferos; constituye el verdadero hongo. |
| Macromiceto | Hongo superior que puede observarse a simple vista. |
| Micromiceto | Hongos microscópicos. |
| Parásito | Organismo que infecta las células vivas de animales o plantas para poder vivir. |
| Píleo | Parte superior del cuerpo del hongo; comunmente conocido como sombrero. |
| Pleuroma | Cuerpo fructífero de <i>Pleurotus</i> . Basidioma. |
| Primordio | Primer estado del desarrollo del pleuroma o basidioma. |
| Saprófito | Organismo que obtiene su alimento a través de la degradación de materia orgánica en descomposición. |

XIV. ANEXO 1

SUSTRATOS FRESCOS Y EFICIENCIA BIOLÓGICA (PORCENTAJE)

| SUSTRATO | EFICIENCIA BIOLÓGICA | FUENTE |
|-----------------------------------|----------------------|-----------------------|
| Olote de maíz | 50.00% | Urdapilleta 1988 |
| Tamo de maíz | 187.70% | Urdapilleta 1988 |
| Bagazo de caña | 15.70% | Urdapilleta 1988 |
| Fibra de coco | 80.60% | Bernabé-González 1993 |
| Fibra de coco y pulpa de café 1:2 | 152.20% | Bernabé-González 1993 |
| Fibra de coco y pulpa de café 1:1 | 120.50% | Bernabé-González 1993 |
| Cáscara de Cacahuete | 85.44% | Bernabé-González 1994 |
| Hoja seca de maíz | 144.85% | Bernabé-González 1994 |
| Cacahuete y hoja seca de maíz | 95.70% | Bernabé-González 1994 |

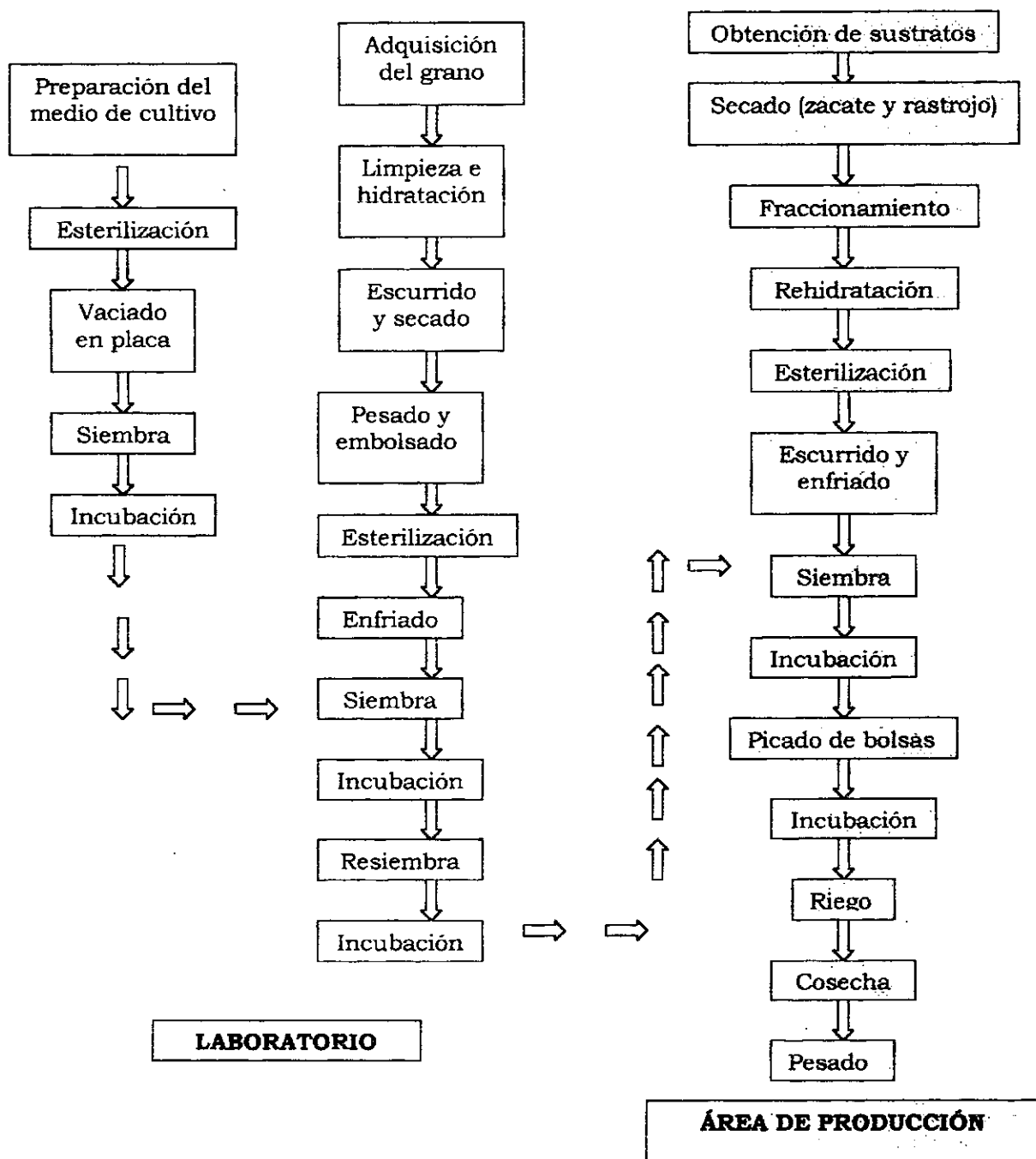
SUSTRATOS FERMENTADOS Y EFICIENCIA BIOLÓGICA (PORCENTAJE)

| SUSTRATO | EFICIENCIA BIOLÓGICA | FUENTE |
|----------------------------------|----------------------|-----------------------|
| Bagazo de caña y pulpa de café | 175.80% | Martínez-Carrera 1986 |
| Pulpa de café | 138.13% | Martínez-Carrera 1988 |
| Paja de cebada | 96.04% | Martínez-Carrera 1988 |
| Bagazo de maguey | 60.20% | Soto-Velasco 1989 |
| Bagazo de maguey y paja de trigo | 96.40% | Soto-Velasco 1989 |
| Bagazo de caña | 14.15% | Martínez-Carrera 1990 |
| Bagazo de caña y pulpa de café | 96.96% | Martínez-Carrera 1990 |
| Bagazo de maguey tequilero | 84% | Guzmán-Dávalos 1991 |
| Bagazo de caña y hoja de maíz | 100% | Soto-Velasco 1991 |
| Lirio acuático | 120.40% | De León 1993 |
| Bagazo de caña | 97% | Klibansky 1993 |

FUENTE: GODOY, C. Cultivo de una cepa mexicana de *Pleurotus ostreatus* utilizando como sustrato aserrín caoba y cedro, fibra de coco y olote de maíz

ANEXO 2

Diagrama de flujo para la producción de *Pleurotus ostreatus* sobre rastrojo, zacate y tusa



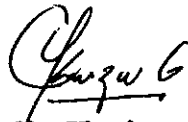
ANEXO 3

Cuadro 4 Resultados de la primera etapa, fase experimental

| Primera Etapa | |
|---|---|
| Procedimiento | Resultados |
| Siembra del micelio de <i>Pleurotus ostreatus</i> sobre agar extracto de malta | 12 cajas de Petri con micelio |
| Preparación de sustrato intermedio | 90 bolsas de polipapel con 200 gramos de sorgo cada una. |
| Preparación de inóculo primario utilizando 45 bolsas de sustrato intermedio (sorgo) | 15 bolsas de inóculo primario, el micelio creció en dos semanas sobre el sustrato intermedio. |
| Preparación de inóculo secundario utilizando 45 bolsas de sustrato intermedio (sorgo) | 38 bolsas de inóculo secundario, el micelio creció en 5 días. |

Cuadro 5 Resultados de la segunda etapa, fase experimental

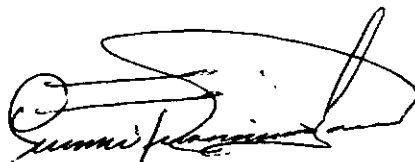
| Segunda Etapa | |
|---|---|
| Procedimiento | Resultados |
| Preparación de los sustratos, zacate, rastrojo y tusa | 3 costales de cada sustrato |
| Siembra sobre sustrato | 60 pasteles (mezcla sustrato-inóculo secundario) 20 con cada tipo de sustrato |
| Cosecha | 3 cosechas de cada pastel de cada sustrato |



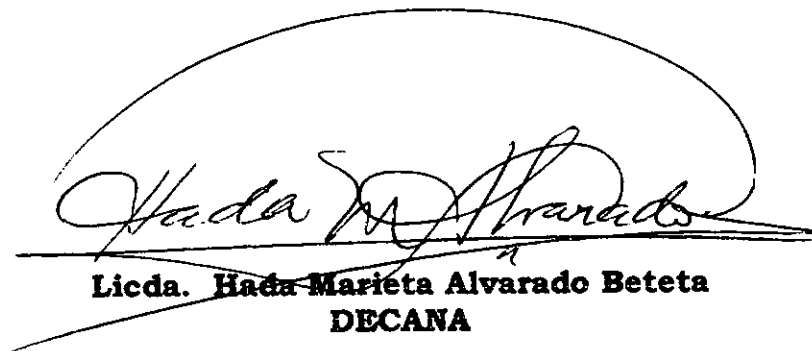
Br. Claudia Karina Orozco Gamboa
AUTORA



M. Sc. Karin Larissa Herrera Aguilar
ASESORA



M. Sc. Oscar Francisco Lara López
DIRECTOR ESCUELA DE BIOLOGÍA



Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta
DECANA