

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
ÁREA INTEGRADA

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA
DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR
JORGE ALFREDO CALDERÓN MÉRIDA

EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO
INGENIERO AGRÓNOMO
EN
SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

EN EL GRADO ACADÉMICO DE
LICENCIADO

GUATEMALA JULIO DE 2009

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

RECTOR

LICENCIADO CARLOS ESTUARDO GÁLVEZ BARRIOS

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA

DECANO

MSc. Francisco Javier Vásquez Vásquez

VOCAL PRIMERO

Ing. Agr. Waldemar Nufio Reyes

VOCAL SEGUNDO

Ing. Agr. Walter Arnoldo Reyes Sanabria

VOCAL TERCERO

MSc. Danilo Ernesto Dardón Avila

VOCAL CUARTO

Br. Rigoberto Morales Ventura

VOCAL QUINTO

Br. Miguel Armando Salazar Donis

SECRETARIO

MSc. Edwin Enrique cano Morales

Guatemala, Julio de 2009

Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala

Honorables miembros:

De conformidad con las normas establecidas por la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, la tesis:

Determinación de la mejor etapa de aplicación de la fertilización nitrogenada en el sustrato caña de maíz (*Zea Mays* L.) para la producción del hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm (Cepa ECS-152).

Como requisito previo a optar al título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

Esperando que el mismo llene los requisitos necesarios para su aprobación, me es grato suscribirme,

Atentamente,

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

JORGE ALFREDO CALDERÓN MÉRIDA

ACTO QUE DEDICO

A:

Mis padres:

Jorge Alfredo Calderón Castillo y Gladys Argentina Mérida Rojas de Calderón, como una pequeña muestra de lo mucho que los amo, un reconocimiento a sus años de esfuerzo en mi formación y un homenaje de agradecimiento por todos los valores, principios y orientación recibidos.

Mis hermanas:

Estela María Calderón Mérida y Ana Gladys Calderón Mérida, por creer en mí y apoyarme en todo cuanto podían.

Mi patria:

Guatemala.

Mis centros de estudio:

Escuela Nacional Central de Agricultura (ENCA) y Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Por haber cimentado los conocimientos que me hacen ser quien soy.

AGRADECIMIENTOS

A:

Dios: Por darme sabiduría e iluminarme para alcanzar mis metas.

Mi familia: Mis abuelos, tíos y primos, como agradecimiento por el amor incondicional que siempre me han brindado.

Mi novia: Ana Gabriela Figueroa Aldana por ser un pilar para mí. Gracias por el amor y apoyo que me has dado.

Mis amigos y compañeros: A todos aquellos con los que compartí tantas experiencias y con quien deseo compartir muchas más. Gracias por todo amigos.

Mi asesor: M. A. Romeo Alfonso Pérez Morales, Q.B., por su valiosa colaboración en la elaboración y redacción del presente estudio.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
3. MARCO TEÓRICO	4
3.1 Marco conceptual	4
3.1.1 Antecedentes	4
3.1.2 Generalidades de los hongos	7
A. Generalidades de los hongos macromicetos.....	8
B. Requerimientos nutricionales para el desarrollo de los macromicetos	10
3.1.3 Descripción de <i>Pleurotus ostreatus</i>	12
A. Habitat	12
B. Taxonomía.....	13
C. Morfología.....	13
D. Valores nutritivos de <i>Pleurotus ostreatus</i>	14
3.1.4 Relación c/n en el desarrollo de <i>Pleurotus</i>	14
3.1.5 Factores ambientales para el desarrollo de <i>Pleurotus</i>	15
3.1.6 Cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	15
A. Producción de <i>Pleurotus ostreatus</i>	15
B. Preparación del inóculo	16
C. Preparación del sustrato.....	17
D. Siembra e incubación	19
E. Fructificación y cosecha	20
3.1.7 Contaminaciones, enfermedades y plagas.....	22
A. Contaminaciones	22
B. Enfermedades	22
C. Plagas.....	23
3.1.8 Indicadores de producción.....	25
A. Eficiencia biológica	25
B. Biodegradación del sustrato por una cepa	26
3.1.9 Sustratos para la producción de <i>Pleurotus</i>	26
3.1.10 Sustrato a utilizar: Caña de maíz.....	27
3.1.11 Factores que afectan el crecimiento y la fructificación de <i>Pleurotus spp.</i>	28
A. La temperatura.....	29
B. El pH.....	29
C. El sustrato	30
a. Carbono	30
b. Nitrógeno.....	31
c. Relación C/N	32
d. Minerales	32
e. Vitaminas y otros compuestos.....	33
D. La humedad en el sustrato	33
E. La humedad del aire	33
F. Tamaño de partícula	34
G. La aireación	34
H. La luz.....	35
3.1.12 Suplementación con urea.....	35

3.1.13	Diseño de bloques al azar.....	36
3.2	Marco referencial	37
3.2.1	Localización del experimento	37
3.2.2	Clima y zona de vida.....	37
4.	OBJETIVOS	38
4.1	General	38
4.2	Específicos	38
5.	HIPÓTESIS.....	39
6.	METODOLOGÍA	40
6.1	Material experimental	40
6.1.1	Material biológico	40
6.1.2	Sustrato.....	40
6.1.3	Suplementos nitrogenados	40
6.1.4	Materiales y equipos de laboratorio	40
6.2	Diseño experimental	41
6.3	Unidad experimental	42
6.4	Tratamientos.....	42
6.5	Variable de respuesta	43
6.6	Análisis estadístico.....	43
6.7	Manejo del experimento.....	43
6.7.1	Preparación del inóculo.....	43
6.7.2	Preparación del sustrato	44
6.7.3	Preparación del suplemento nitrogenado	44
6.7.4	Siembra e incubación	45
6.7.5	Fructificación y cosecha.....	45
6.7.6	Control de plagas durante la fructificación	45
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
7.1	Cuantificación del peso de los carpóforos	46
7.2	Cuantificación de la eficiencia biológica	48
8.	CONCLUSIONES	53
9.	RECOMENDACIONES	54
10.	BIBLIOGRAFÍA	55
11.	APÉNDICES O ANEXOS.....	58

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Contenido nutricional de <i>Pleurotus ostreatus</i>	14
Cuadro 2. Valores óptimos de los factores ambientales que influyen en el crecimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i>	15
Cuadro 3. Condiciones ambientales óptimas para la fructificación de <i>Pleurotus ostreatus</i>	21
Cuadro 4. Familias de insectos plaga durante el cultivo de <i>Pleurotus</i>	24
Cuadro 5. Análisis Proximal del rastrojo y olote de maíz <i>Zea mays</i> L.	28
Cuadro 6. Propiedades de la Urea ((NH ₂) ₂ CO).	36
Cuadro 7. Descripción y códigos de los diferentes tratamientos.	42
Cuadro 8. Distribución aleatoria de las unidades experimentales.	42
Cuadro 9. Duración de las etapas para la producción de <i>Pleurotus ostreatus</i>	46
Cuadro 10. Producción de <i>Pleurotus ostreatus</i> por tratamiento en gramos.	47
Cuadro 11. Eficiencia biológica (EB) promedio en porcentaje para cada tratamiento.	48
Cuadro 12. Resumen del ANDEVA para la eficiencia biológica de <i>Pleurotus ostreatus</i>	49
Cuadro 13. Prueba múltiple de medias de Tukey con un 95 % de confiabilidad para el análisis de varianza de la eficiencia biológica de <i>Pleurotus ostreatus</i>	50
Cuadro 14. Resumen de la prueba múltiple de medias usando el criterio de Tukey.	50
Cuadro 15A. Análisis de laboratorio de materiales orgánicos.	59
Cuadro 16A. Análisis de laboratorio de pH y conductividad eléctrica.	60
Cuadro 17A. Análisis de laboratorio de sustratos evaluados	61
Cuadro 18A. Análisis de laboratorio de nitrógeno en los materiales utilizados.	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de las partes básicas de una seta.	9
Figura 2. Peso fresco promedio en gramos de los carpóforos por tratamiento.	47
Figura 3. Eficiencia biológica (EB) promedio por tratamiento.	48
Figura 4A. Sala de incubación donde se muestra la ubicación de las unidades experimentales.	58
Figura 5A. Unidad experimental cubierta completamente por micelio del hongo <i>P. ostreatus</i>	58
Figura 6A. Etapa de desarrollo del micelio del hongo <i>P. ostreatus</i> adecuada para iniciar la fase de fructificación.	59
Figura 7A. Etapa de desarrollo de los carpóforos de <i>P. ostreatus</i> adecuada para realizar la cosecha.	59

“Determinación de la mejor etapa de aplicación de la fertilización nitrogenada del sustrato caña de maíz (*Zea mays* L.) para la producción del hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm (Cepa ECS-152)”.

“Determination of the best stage of application for nitrogen fertilization of the substrate cane maize (*Zea mays* L.) in the cultivation of the fungus *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm (Cepa ECS-152)”

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal determinar la etapa del proceso de producción del hongo *Pleurotus ostreatus* en la cual éste asimile mejor el nitrógeno proveniente de la suplementación nitrogenada con urea. Con esto se pretende mejorar la eficiencia biológica del hongo y de esta manera poder hacer uso de materiales abundantes, disponibles y de bajo costo como la caña de maíz que son considerados poco adecuados, principalmente en todos aquellos lugares donde no exista disponibilidad de pulpa de café.

La producción del inóculo, siembra, suplementación con urea e incubación se llevaron a cabo en la Unidad de Producción de Hongos Comestibles ubicada en el laboratorio B-15 en la Subárea de Ciencias Químicas de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, mientras que la etapa de fructificación y cosecha se llevaron a cabo dentro de la instalación residencial ubicada en la 3ra calle 23-53, San Cristóbal II, zona 8 del municipio de Mixco.

El experimento consistió en la evaluación de la eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* cepa ECS-0152 en el sustrato caña de maíz, el cual fue suplementado durante la hidratación del sustrato antes de la inoculación, en diferentes momentos dentro de la etapa de crecimiento micelial (al momento de la inoculación, a los 7 y 14 días después de la inoculación). Se usó como testigo relativo la pulpa de café y como testigo absoluto la caña de maíz sin suplementar.

El ciclo de producción de *Pleurotus ostreatus* duró 81 días, desde el crecimiento del micelio en cajas petri hasta obtener la segunda cosecha. El tratamiento que presentó mayor eficiencia biológica fue la pulpa de café con 128.19 por ciento, seguido por suplementar al momento de la inoculación con 113.62 por ciento, luego se encuentran los tratamientos caña de maíz no suplementada y suplementada a los 7 y 14 días después de la inoculación con 101.02, 101.18 y 100.78 por ciento, respectivamente; el peor tratamiento fue suplementar al momento de la hidratación.

Con la eficiencia biológica lograda por el tratamiento en el cual se suplementó la caña de maíz al momento de la inoculación, se puede obtener 1.136 Kg de hongos frescos por Kg de sustrato seco en un período de aproximadamente 39 días que va desde el momento de la incubación hasta la segunda cosecha. Esto hace factible la producción de *Pleurotus ostreatus* bajo condiciones artesanales utilizando materiales poco adecuados pero disponibles, una vez, se realice la suplementación nitrogenada al momento de la inoculación, principalmente en aquellos lugares donde no exista disponibilidad de pulpa de café. No se recomienda realizar la suplementación nitrogenada durante la hidratación del sustrato ni a los 7 o 14 días después de la incubación.

1. INTRODUCCIÓN

Se conocen los factores que afectan el crecimiento y la fructificación del hongo *Pleurotus ostreatus*, dentro de los cuales están: la temperatura, el pH, la aireación, la luz, la humedad del aire, la humedad del sustrato y la naturaleza propia del sustrato. Además, se conoce también, la forma como ellos afectan el crecimiento y el estado óptimo en que deberían de encontrarse cada uno para la producción del hongo. Todos, a excepción del sustrato, son factores invariables pues deben encontrarse dentro del rango adecuado para que el cultivo presente su máximo rendimiento; mientras que el origen del sustrato puede variar, en la medida en que éste contenga todos los requerimientos nutritivos en cantidad suficiente, el hongo sintetizará sus metabolitos y tomará de él, la energía que requiere. Una razón obvia para modificar el sustrato es la disponibilidad biológica de los ingredientes para la elaboración del mismo.

En muchos casos los ingredientes disponibles no son los más adecuados para utilizarlos como sustrato, en cuyo caso el productor se ve en la necesidad de suplementar el sustrato dependiendo de los nutrientes presentes en el medio o sustrato que él posea. De modo que, dependiendo de lo que se disponga se puede hacer uso de materiales clasificados como “regulares o poco adecuados¹” como lo son los rastrojos de cosechas de algunas gramíneas, que poseen una eficiencia biológica entre 80-99 por ciento y, los “malos o inadecuados²” como los mantillos -restos vegetales del bosque- que presentan menos del 80 por ciento de eficiencia biológica, que a pesar de tener suficiente cantidad de celulosa y lignina poseen poco nitrógeno.

En el caso de la suplementación nitrogenada se encontró en la investigación de Monterroso (16), que el suplemento con el que se obtienen los mejores rendimientos es con urea, pero actualmente aun no se conoce cual es la etapa del proceso de producción en la que el hongo asimila mejor el nitrógeno proveniente de dicho compuesto utilizado como suplemento del sustrato, lo que podría tal vez, incrementar el porcentaje de eficiencia biológica.

^{1,2} En trabajos anteriores del Proyecto de Investigación de Hongos de la Subárea de Ciencias Químicas, los sustratos se han clasificado como adecuados, regulares o poco adecuados y “malos o inadecuados” de acuerdo al porcentaje de eficiencia biológica.

En este trabajo se propone evaluar la cepa de *Pleurotus ostreatus* ECS-152 en caña de maíz (*Zea mays* L.), suplementándola con urea a una concentración de nitrógeno total en el sustrato en porcentaje de 1.50, lo cual equivale a una relación C/N aproximada de 31: 1 (óptima recomendada por Hong), en diferentes días de las distintas etapas de desarrollo del micelio del hongo.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En investigaciones previas efectuadas en trabajos desarrollados dentro del Proyecto de “Colecta, domesticación, cultivo y producción de hongos nativos” que se desarrolla en la Subárea de Ciencias Químicas de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, se ha clasificado una serie de sustratos como “buenos o adecuados” como las pulpas de café y las fibras de la palma africana; “regulares o poco adecuados” como los restos de cosechas de gramíneas y los “malos o inadecuados”, fundamentalmente constituidos por los mantillos (restos vegetales del bosque), según lo reportado en los estudios de García (8), Girón (9), Rojas (19) y Garcés (7), en función de la eficiencia biológica que han presentado las cepas de *Pleurotus ostreatus* que han sido evaluadas. De tal modo que los materiales que presenten 100 por ciento o más de eficiencia biológica son considerados buenos o adecuados, entre 80-99 por ciento son regulares o poco adecuados y menos de 80 por ciento son malos o inadecuados.

La suplementación nitrogenada con urea presenta una opción para hacer uso de sustratos clasificados como regulares o malos, por presentar una baja eficiencia biológica, lo cual se supone es causado por la alta relación carbono-nitrógeno. Sin embargo estos son materiales abundantes, disponibles y de bajo coste que al enriquecerlos con suplementos nitrogenados, se espera mejorar la eficiencia biológica del referido hongo, tal como indica el estudio de Monterroso, que la urea tiene un efecto positivo en la eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus*.

Aun se desconoce cual es la etapa del proceso de producción en la que el hongo asimila mejor el nitrógeno proveniente de la urea, información que es indispensable para que el hongo haga el uso mas eficiente de la suplementación que se aplica, lo que se cree, provocará una mejor eficiencia biológica, una mayor degradación del sustrato, una mayor velocidad de crecimiento y por ende, una disminución del tiempo de producción.

Al solucionar este problema se podría utilizar aquellos materiales clasificados como regulares o malos para el crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* de los que se disponga en la comunidad, dentro de los cuales se encuentran materiales de desecho de cosecha, especies de gramíneas y materiales lignocelulósicos que no tienen aprovechamiento, sin tener que depender de la pulpa de café. Los beneficios están relacionados a la producción; con esto se pretende contribuir a mejorar la técnica de

cultivo de *Pleurotus ostreatus*, de modo que se mejore la eficiencia biológica y se disminuya el tiempo de producción.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Marco conceptual

3.1.1 Antecedentes

Desde los años '50 en que se descubrió la capacidad oxidativa e hidrolítica del género *Pleurotus*, que les confiere la secreción de un amplio espectro de enzimas, los cuales actúan con alta especificidad sobre las estructuras lignocelulósicas predominantes en su medio, y dada la abundancia de fuentes lignocelulósicas, es que se plantea la posibilidad de elaborar sustratos artificiales para el desarrollo de estos hongos fuera del entorno natural (Sánchez Vásquez, 2002).

Desde ese entonces para acá el cultivo de *Pleurotus* ha tenido un gran avance, colocándose ahora en el tercer puesto de la producción mundial detrás de *Agaricus bisporus* y el shiitake. Tal grado de expansión ha ido en paralelo a una activa labor de investigación en relación a la preparación de sustratos artificiales de cultivo. Pero aun la investigación no ha propuesto ese mejor método que garantice la obtención de un sustrato altamente selectivo y específico para el desarrollo de *Pleurotus* spp., contando hoy en día con más de media docena de técnicas de elaboración de sustratos (Sánchez Vásquez, Royse, 2002).

Los estudios realizados sobre la identificación, domesticación y producción de hongos comestibles en Guatemala son relativamente escasos en relación a la gran diversidad de micobiontes con que se cuenta principalmente, por la situación fisiográfica en que se encuentra el país.

En el año de 1,955 dio inicio el cultivo de hongos comestibles en Guatemala con la introducción de champiñones (*Agaricus Bisporus*). Mas tarde en 1,983 el Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial (ICAITI), realizó algunos estudios en el cultivo del género *Pleurotus* a nivel de laboratorio, cultivando sobre diferentes sustratos. En 1986 se estableció la primera planta productora de hongos comestibles, y desde entonces se comercializa a mediana escala en la ciudad capital (Monterroso Flores, 2007).

Existen diversos estudios donde se evaluó la eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* en diferentes sustratos pero únicamente se encontró un estudio previo donde se haya evaluado en caña de maíz suplementándola con diferentes fuentes nitrogenadas, donde la concentración de nitrógeno total en el sustrato recomendada es de 1.5 por ciento, considerando una relación C/N 30.46-1 que es la óptima que recomienda Hong, citado por Sánchez y Royse, donde la fuente nitrogenada que presentó la mejor eficiencia biológica fue la urea con 121.38 por ciento (Monterroso Flores, 2007).

Dentro de las evaluaciones de sustratos para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* se puede mencionar:

- a. Aldana Martínez (2000), realizó una comparación de la eficiencia de producción de *P. ostreatus* en cinco diferentes granos siendo estos: sorgo, trigo, arroz, maíz y cebada. Estos granos fueron comparados con un diseño completamente al azar con cinco tratamientos y ocho repeticiones. Se utilizó como testigo el grano de sorgo. Cada unidad experimental se constituyó de una bolsa de polipapel con 300 gramos esterilizados e inoculados con el micelio del hongo. El grano de cebada presentó mejores rangos de crecimiento y en menor tiempo que los demás, incluyendo al grano testigo. A pesar que el grano de cebada tiene mayor precio, por disminución del tiempo de crecimiento es posible incrementar el número de ciclos de producción del hongo que a la vez aumenta la rentabilidad del proceso.
- b. Ardón López (2004), utilizó el pericarpio de jacaranda y el pasto estrella africana para el cultivo artesanal de *P. ostreatus*. Para el estudio se utilizaron siete tratamientos con cuatro repeticiones en un diseño completamente al azar, cada uno a razón de 100 gramos de sustrato por cada unidad experimental. La eficiencia biológica para el pasto estrella africana, pericarpio de jacaranda, su correspondiente mezcla en relación 1:1, son 107.4, 67.8 y 83.75 por ciento respectivamente, las cuales son significativamente menores a las obtenidas sobre el testigo (café), de 147.87 por ciento. Se evidenció que las mezclas no ofrecen efectos favorables para el cultivo artesanal del hongo.
- c. Ceballos Alecio (2007), evaluó los restos de cosecha de maíz (caña de milpa y tusa), y hojarasca de roble de la especie *Quercus peduncularis* para el cultivo artesanal de *Pleurotus ostreatus* Ecs 110, utilizando para ello un diseño experimental completamente al azar con tres tratamientos y cinco repeticiones. Cada unidad experimental contó con 50 gramos de sustrato en peso seco. La eficiencia biológica de los sustratos evaluados rastrojo de maíz y la hojarasca de quercus fue de 113.28 y 113.52 por ciento respectivamente, el período de producción fue de 52 y 49.20 días respectivamente;

y, también presentó una producción diaria de masa fúngica comestible de 2.28 y 1.90 por ciento respectivamente. Estas eficiencias biológicas fueron menores al obtenido por el testigo pulpa de café de 148.21 por ciento, el período de producción de los tratamientos evaluados fue menor también pero únicamente por 5 días y la tasa de producción en porcentaje fue similar en todos los sustratos.

- d. Fajardo Montes (2001), cultivo *P. ostreatus* a partir de mantillos de encino, conacaste y liquidámbar. Para ello se utilizaron cuatro tratamientos y cuatro repeticiones a razón de 100 gramos de sustrato por cada unidad experimental, con un diseño experimental completamente al azar. El encino alcanzó una eficiencia biológica de 70.57 por ciento, muy por debajo del mostrado por café (testigo), que fue 103.54 por ciento. En los demás mantillos (conacaste y liquidámbar), no se pudo cultivar el hongo.
- e. García Ramos (2000), evaluó el rastrojo de maíz y la cascarilla de arroz individualmente y sus mezclas en tres diferentes proporciones (1:1, 2:1 y 1:2), utilizando para ello un diseño completamente al azar, con seis tratamientos y ocho repeticiones a razón de 1 libra de sustrato en peso seco por unidad experimental. El mejor rendimiento en peso y eficiencia biológica se obtuvo con la mezcla 2:1 rastrojo de maíz y cascarilla de arroz respectivamente, con una eficiencia biológica de 117.3 por ciento y un peso promedio de 532.5 gramos por unidad experimental. La eficiencia biológica del testigo pulpa de café fue de 105.5 por ciento y un peso total de 479 gramos por unidad. Concluyendo que es preferible el uso de mezclas de rastrojo de maíz y cascarilla de arroz que el uso de estos mismos sustratos sin mezclar.
- f. Mendoza Leonardo (2001), evaluó el efecto de la pulpa de café sobre el rendimiento y eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* utilizando estopa de coco y estróbilos de pino como sustratos para su cultivo, se realizaron mezclas de sustrato-pulpa en proporciones de 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5 y como testigo la pulpa. Utilizó un diseño completamente al azar con 13 tratamientos y 5 repeticiones. Los resultados mostraron que el tratamiento que presentó mayor rendimiento y eficiencia biológica fue la pulpa de café con 583.68 gramos de hongo y un 128.56 por ciento respectivamente, por otro lado no se recomienda la utilización de estróbilos como sustrato.
- g. Rojas Domingo (2004), evaluó los sustratos paja de trigo, broza de encino y rastrojo de maíz para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* bajo condiciones artesanales. Utilizó un diseño completamente al azar con 6 tratamientos y 7 repeticiones, las unidades experimentales fueron de 6 libras de sustrato. Determinó que la mezcla de paja de trigo más broza de encino en proporciones 1:1 es la que presenta

el mayor rendimiento en peso fresco y la mejor eficiencia biológica, el consumo de lignina del hongo en este sustrato fue de 19.22 por ciento, con una relación beneficio/costo de 1.75.

- h. Tuchan Ruano (2004), evaluó el efecto que tiene la pulpa de café en la producción del hongo en dos sustratos diferentes: cáscara de cacao y madera de bambú agregada en cinco proporciones diferentes a cada sustrato. Utilizó un diseño completamente al azar con 12 tratamientos mas tres testigos y ocho repeticiones. Concluyó que el agregar pulpa de café a los sustratos tiene un efecto positivo, por lo que se recomienda agregar pulpa de café a aquellos sustratos que presentan baja eficiencia biológica.

Actualmente la Subárea de Ciencias Químicas de la Facultad de Agronomía y el Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, continúan realizando estudios sobre la identificación, domesticación y producción de hongos comestibles en Guatemala (Monterroso Flores, 2007).

3.1.2 Generalidades de los hongos

Los hongos son organismos que forman un grupo diferente de los reinos vegetal o animal. Poseen células eucariotes, son heterótrofos, portadores de esporas y carecen de clorofila (Atlas y Barta citados por Sánchez y Royse, 2002). Según Piatkin y Krivoshein citados por Sánchez y Royse, abarcan más de 1000 especies reunidas en 20 clases, se distinguen los hongos sin pared celular Myxomicota y los hongos verdaderos o Eumycota (Deacon citado por Sánchez y Royse, 2002). Su forma de reproducción puede ser sexual o asexual. Con base en su tamaño y forma de crecimiento se distinguen los hongos macroscópicos y los microscópicos. Dentro de estos últimos están comprendidos los mohos, las levaduras, los hongos de interés medico y los hongos Fitopatógenos; dentro de los macroscópicos están considerados los hongos comestibles, los alucinógenos, los venenosos, etc. (Sánchez Vásquez, Royse, 2002).

En función de su forma de nutrición, los hongos se dividen en tres grandes grupos (Guzmán 1990, citado por Sánchez):

- Los saprófitos, que se alimentan de materia orgánica muerta.
- Los parásitos, que se alimentan de materia orgánica viva.
- Los simbioses (micorrizicos), que subsisten solo en relación de mutua ayuda con otros organismos.

Los hongos se nutren a través de su pared celular, tienen la capacidad de producir enzimas para degradar las moléculas de gran tamaño, como la celulosa y la quitina, que no pueden ser absorbidas hacia el interior de la célula.

En la actualidad, gracias a las características de su metabolismo, muchos hongos son utilizados industrialmente para la producción de diferentes productos como antibióticos, productos químicos, etc. (Sánchez Vásquez, 1994).

A. Generalidades de los hongos macromicetos

Los hongos macroscópicos o macromicetos tienen la misma forma de crecimiento en forma de hifas y micelio que los hongos microscópicos, sin embargo tienen la particularidad de formar un cuerpo fructífero visible, aéreo (carpóforo), que es propiamente lo que se suele identificar como “hongo”. El cuerpo fructífero se compone de las siguientes partes (Guzmán citado por Sánchez, 1994): micelio primario, micelio secundario, píleo o sombrero, contexto o carne, estípite o tallo, el himenio y las esporas, que pueden ser sexuales o asexuales (Sánchez Vásquez, 1994).

La mayoría de los hongos macroscópicos pueden identificarse por medio de un examen visual en fresco; sin embargo, para completar los estudios se recurre a la observación de sus características microscópicas como son la forma y dimensiones de sus esporas y sus hifas (Sánchez Vásquez, 1994).

De acuerdo con los criterios taxonómicos tradicionales, las características, muy variables para la identificación de un hongo, son (Guzmán y Delgado citados por Sánchez, 1994):

1. El color. Existen hongos de coloración roja, rosácea, café, blanca, etc. El color es una característica de suma importancia para la identificación de los hongos, ya que permite diferenciar especies.
2. El píleo o sombrero. Puede encontrarse gran variedad de formas como: embudo, campánulado, plano, convexo, cilíndrico, giboso, etc. Tener variaciones sobre sus márgenes: pueden ser dentados, enrollados, levantados, etc. La textura del píleo puede presentar sensación de humedad, ser mucilaginoso, aceitoso, sedoso, tener escamas, vellosidades, estrías, brillantez u ornamentaciones (cavidades, grietas, arrugas, espinas, etc.)

3. El estípite o pie. Algunos hongos pueden no tener estípite, cuando lo tienen puede estar ubicado justo abajo del centro del píleo, de manera lateral o excéntrica. Puede ser bulboso, torcido, rígido, liso, quebradizo, leñoso, flexible, correoso, etc.
4. La presencia y forma de la volva en la base del tallo o de un anillo en la parte superior del mismo.
5. Las estructuras que forman el himenio. Las láminas (su forma, su tamaño, su densidad, la unión con el estípite), la presencia de dientes o poros.
6. El anillo: es un velo parcialmente cerrado que protege las láminas, adherido al pie de la seta, algunos hongos pueden no tenerlo.
7. El olor y el sabor del hongo. Estas características son de importancia secundaria. Sin embargo ayudan a la confirmación de algunas especies en particular. El olor puede ser agradable, imperceptible, nauseabundo, etc.

En la figura 1 se puede observar, a la izquierda el esquema de las partes descritas anteriormente en un hongo macromiceto y a la derecha una seta de *Pleurotus ostreatus*.

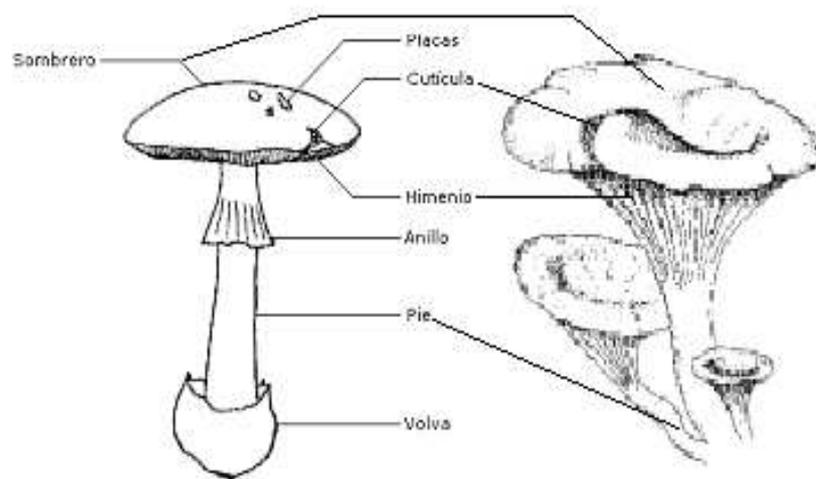


Figura 1. Esquema de las partes básicas de una seta.
Fuente: www.ribagorza.com/asp/micologiapartes.asp

La importancia de los hongos desde el punto de vista bioquímico y ecológico, radica en el complejo sistema enzimático que poseen, gracias al cual pueden, según la especie, degradar moléculas de alto peso molecular como la celulosa, la lignina, la quitina, los taninos, etc. Estas son macromoléculas que presentan dificultad en su degradación; sin embargo el sistema metabólico de estos hongos les permite

metabolizar esos compuestos, de los que obtienen energía para sus procesos vitales y metabolitos para su nutrición (Sánchez Vásquez, 1994).

Este tipo de macromoléculas se encuentra normalmente en las formas vegetales y sus desechos. Su estructura se encuentra normalmente en las formas vegetales y sus desechos. Su estructura química compleja les permite permanecer a la intemperie por largos períodos de tiempo sin ser degradados o sufrir mayores transformaciones (Sánchez Vásquez, 1994), siendo la lignina el polímero aromático más abundante sobre la tierra.

De ahí la importancia de los macromicetos, ya que pueden revalorizar un desecho orgánico. A fin de cuenta, 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 proteínas, enzimas, etc., con el propósito de 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 Vásquez, 1994).

B. Requerimientos nutricionales para el desarrollo de los macromicetos

a) Carbono: el carbono es necesario para los hongos porque es la fuente directa de energía para su metabolismo; así mismo, es necesario para la formación de las diferentes partes y estructuras celulares. Dada la importancia que tiene para la vida de la célula, este elemento es el que requiere en mayores cantidades. El carbono puede ser utilizado por el hongo a partir de diferentes fuentes como polímeros, carbohidratos, lípidos, etc. (Sánchez Vásquez, Royse, 2002).

b) Polímeros: la mayoría de los basidiomicetos son considerados “degradadores de madera” porque son capaces de crecer sobre la biomasa proveniente de las plantas leñosas. Las especies de *Pleurotus* son consideradas de pudrición blanca porque son capaces de degradar materiales ricos en lignina, celulosa y hemicelulosa (Platt citado por Sánchez y Royse, 2002) observaron que el contenido de lignina de rastrojo de algodón fue disminuido por *Pleurotus* spp. en un 70 por ciento en 21 días. Por su parte, Zadrazil citado por Sánchez y Royse, 2002, observó que después de cosechar los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*, las cantidades finales de hemicelulosa, celulosa y lignina se reducían en un 80 por ciento y

concluyó diciendo que todos los materiales que contengan celulosa y lignina (con excepción de los tóxicos y metales pesados o los pobres en nitrógeno), pueden ser usados como sustratos para *Pleurotus* spp. (Sánchez Vásquez, Royse, 2002).

c) Azúcares: los carbohidratos se encuentran entre las fuentes de carbono preferidas por las especies de *Pleurotus* spp. Según Raypeck (citado por Sánchez y Royse, 2002), la glucosa, manosa y la galactosa son buenos sustratos para esta especie, mientras que la xilosa y la arabinosa producen un crecimiento deficiente (Sánchez Vásquez, Royse, 2002).

d) Lípidos: la adición de aceites vegetales tiene un efecto benéfico para el crecimiento micelial de *P. sapidus* y *P. ostreatus*. Según Kurtzman (citados por Sánchez y Royse, 2002), los productores de la hidrólisis de aceites deprimen el crecimiento, pero la adición de triglicéridos y metil ésteres de ácidos grasos generalmente promueven el crecimiento. El incremento en el crecimiento aumenta conforme aumenta el número de carbonos en los ácidos grasos C₄-C₁₄ y disminuye ligeramente entre C₁₄ y C₁₈. al utilizar ácidos C₁₈, el crecimiento aumenta con el grado de insaturación, siendo el ácido linoléico el mejor ácido de este grupo (Sánchez Vásquez, Royse, 2002).

e) Nitrógeno: los sustratos sobre los que suelen fructificar las especies de *Pleurotus* pueden contener valores bajos de nitrógeno por lo que se ha llegado a pensar que este género es capaz de fijar nitrógeno atmosférico. Sin que esto haya sido demostrado, si es notorio que la concentración en nitrógeno en el cuerpo fructífero en algunos casos es mayor que la del sustrato sobre el cual crece. Las especies de *Pleurotus* tienen la capacidad de crecer sobre fuentes inorgánicas de nitrógeno, como el nitrato de potasio o la urea, aunque se observa que prefieren las fuentes orgánicas para su crecimiento óptimo, citado por Monterroso (Monterroso Flores, 2007).

f) Minerales: Desde 1943 Treschow (citado por Sánchez y Royse, 2002), al trabajar con *Agaricus bisporus* llegó a la conclusión que tanto este como otros hongos y levadura son capaces de crecer en ausencia de calcio y que este mineral es requerido en mayores cantidades por sus efectos protectores y antagonistas con respecto de otros minerales como K o Mg. Estudios posteriores han confirmado esta aseveración. Así por ejemplo, Srivastava y Babo (citados por Royse, 2002), obtuvieron los rendimientos más altos para el cultivo líquido de *Pleurotus djamor* cuando usaron concentraciones de 0.22, 0.28, 0.98 y 0.049 mg/l de fósforo, potasio, calcio y magnesio respectivamente. Por su parte, Manu-Tawiah (citado por Sánchez y Royse, 2002), llegaron a la conclusión de que *Pleurotus ostreatus* crece mejor cuando hay

KH_2PO_4 presente en el medio y que sus requerimientos en magnesio son tan bajos que pudieron ser suministrados por el sustrato que ellos utilizaron (turba hidrolizada). Por aparte, Kurtzman y Zadrazil citados por Sánchez y Royse, 2002, reportaron que el cloruro de sodio no tiene efecto significativo sobre *Pleurotus ostreatus*, aunque si un muy ligero efecto en el crecimiento de *P. sapidus* (Sánchez Vásquez, Royse, 2002).

g) Vitaminas: Hashimoto y Takahashi (citados por Sánchez y Royse, 2002), indicaron que *Pleurotus ostreatus* requiere tiamina para su crecimiento en una concentración óptima de 100 mgL^{-1} y que cuando tal vitamina está presente, ninguna otra es necesaria. Hong (citado por Sánchez y Royse, 2002), indicó que la concentración de 50 mgL^{-1} provoca un excelente crecimiento tanto del micelio como de los cuerpos fructíferos y que el ácido indolacético y la citosina causan en esta especie un mejor crecimiento micelial pero que no tienen influencia sobre el rendimiento. Por su parte Jandaik y Kapoor (citado por Sánchez y Royse, 2002), determinaron que para la especie *P. pulmonarius* la tiamina y la biotina son indispensables (Sánchez Vásquez, Royse, 2002).

3.1.3 Descripción de *Pleurotus ostreatus*

A. Habitat

Pleurotus ostreatus, es un hongo que en su ambiente natural, crece en el suelo, troncos o sobre desechos agrícolas o agroindustriales, que están constituidos principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina en porcentaje de 40-60, 15-50 y 10-30 respectivamente, alimentándose de estos nutrientes y degradándolos, y donde las condiciones ambientales sean húmedas y frías. Suárez 2003, citado por Monterroso, 2007.

B. Taxonomía

Reino:	Fungi
División:	Basidiomycota
Subdivisión	Basidiomycotina
Clase	Basidiomycete
Subclase	Agaricomycetidae
Orden	Agaricales
Familia	Pleurotaceae
Género	Pleurotus
Especie	<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.), (Venturella, 2007; CABI, 2008)

C. Morfología

El sombrero o píleo de *Pleurotus ostreatus* es redondeado, con la superficie lisa, abombada y convexa cuando es joven, aplanándose luego poco a poco. El borde está algo enrollado al principio. Su diámetro oscila entre 5 y 15 cm., dependiendo de la edad del hongo. El color es variable, desde gris claro o gris pizarra hasta pardo, tomando una coloración más amarillenta con el tiempo (Infoagro.com, 2007).

En la parte inferior del sombrero hay unas laminillas dispuestas radialmente como las varillas de un paraguas, que van desde el pie o tallo que lo sostiene, hasta el borde. Son anchas, espaciadas unas de otras, blancas o crema, a veces bifurcadas, y en ellas se producen las esporas destinadas a la reproducción de la especie. Estas esporas son pequeñas, oblongas, casi cilíndricas, que en gran número forman masas de polvo o “esporadas”, de color blanco con cierto tono lila-grisáceo (Infoagro.com, 2007).

El pie o estípite suele ser corto, algo lateral u oblicuo, ligeramente duro, blanco, con el principio de las laminillas en la parte de arriba y algo peloso en la base. Pueden crecer de forma aislada sobre una superficie horizontal o en grupo formando repisas laterales superpuestas sobre un costado de los árboles. La carne es blanca, de olor algo fuerte, tierna al principio y después correosa (Infoagro.com, 2007).

D. Valores nutritivos de *Pleurotus ostreatus*

El valor nutritivo de *Pleurotus ostreatus* ha sido reconocido desde hace mucho tiempo. Sus proteínas, las cuales contienen todos los aminoácidos, son de valor nutritivo más alto que las proteínas de las plantas, con una calidad muy cercana a la proteína animal (Lelley citado por Sánchez, 2002). En adición a su valor como alimento rico en proteína, los hongos contienen carbohidratos poliméricos como el glucógeno y la quitina, y varios glúcidos simples (monosacáridos), como la glucosa, fructosa, galactosa, trealosa y muchos otros. Ellos son ricos en minerales como el potasio, el fósforo y el hierro. Contienen un amplio rango de vitaminas y son particularmente ricos en tiamina (B₁), riboflavina (B₂), así como ácido pantoténico (B₃), ácido ascórbico (C), biotina (H). La riqueza en fibra cruda debe ser igualmente mencionada (Sánchez Vásquez, Royse, 2002).

Las setas también tienen propiedades terapéuticas. Por ejemplo, se ha demostrado que el consumo de basidiocarpos de *P. ostreatus*, que contiene varios tipos de estatinas, que previenen el incremento de colesterol (Bodek, Gunde-Cimerman y Cimerman citados Sánchez y Royse, 2002).

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

Cuadro 1. Contenido nutricional de *Pleurotus ostreatus*.

Contenido	Cantidad
Proteína cruda	10-30 por ciento
vitamina C	30-144 mg./100 g
Niacina	109 mg./10 g
Acido fólico	65 mg./100 g
Potasio	306 mg./100 g

Fuente: Monterroso Flores, OG. (16)

3.1.4 Relación c/n en el desarrollo de *Pleurotus*

Mnu-Tawiaj y Martín citados por Sánchez y Royse, 2002, determinaron que la relación óptima para el crecimiento en medio líquido de *P. ostreatus* era 40:1. Por su parte, Hong en 1978, encontró que para

la misma especie, una relación de 15.23 permitía una rápida formación de cuerpos fructíferos con bajos rendimientos, que una relación de 11.42 incrementaba los rendimientos pero que disminuía la formación de cuerpos fructíferos y que tomando en cuenta los dos aspectos (rendimiento y velocidad de formación), la relación óptima debía ser 30.46 (Sánchez Vásquez, Royse, 2002).

3.1.5 Factores ambientales para el desarrollo de *Pleurotus*

Como todo ser vivo, este hongo es susceptible a cambios en la temperatura, humedad, ventilación y luz, entre otros y que son precisamente, los factores ambientales más importantes que se deben considerar y controlar a lo largo del proceso de cultivo de los hongos. Las condiciones varían según la etapa del proceso y según el hongo, por lo que es importante conocer las necesidades específicas de la especie a cultivar. Generalmente, el mantenimiento de estas condiciones para su producción semi o industrial requiere de la construcción de un invernadero (Sánchez Vásquez, 1994).

Para el caso de *Pleurotus ostreatus*, los valores óptimos de estos parámetros se detallan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Valores óptimos de los factores ambientales que influyen en el crecimiento de *Pleurotus ostreatus*.

Factor	Crecimiento micelial	Fructificación
Temperatura	25 – 33°C	28°C
Humedad relativa	Baja humedad	85
Humedad del sustrato	70 %	50 %
pH del sustrato	6.0 – 7.0	6.5 – 7.0
Concentración de CO ₂	20 – 25%	Menor de 0.6 %
Luminosidad 25	Oscuridad	150 - 200 Lux

Fuente: Sánchez Vásquez, J. E. (20)

3.1.6 Cultivo de *Pleurotus ostreatus*

A. Producción de *Pleurotus ostreatus*

La producción de hongos comestibles consta de cuatro etapas fundamentales que son: preparación del inóculo, preparación del sustrato, siembra e incubación y la fructificación (Sánchez Vásquez, 1994).

B. 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 partir también tomando micelio del contexto de un carpóforo fresco. La siembra se hace en caja de petri, sobre agar malta, agar papa dextrosa, agar de saboruraud, etc. Se incuba a 28°C durante 8 días aproximadamente en oscuridad. Al cabo de este período, el hongo se resiembra en un sustrato intermedio (grano de trigo, arroz, sorgo, maíz, etc.), en cantidad suficiente para que una vez desarrollado su micelio, la mezcla grano-hongo se use como semilla en la siembra del sustrato definitivo. Se busca en este caso una colonización rápida y económica que optimice la fructificación del hongo (Sánchez Vásquez, 1994).

La preparación del inóculo incluye los siguientes pasos:

Preparación del inóculo “primario”

El grano elegido como sustrato intermedio se limpia, se rehidrata en agua pura limpia (durante 15 horas para el caso del sorgo, o 24 para el maíz), se deja después escurrir para eliminar el exceso de agua, se preparan porciones de 200 gramos y se mete dentro de bolsas de polipapel. Posteriormente se esteriliza a 121°C durante 30 minutos, se deja enfriar para después inocularlo en condiciones de asepsia rigurosa con micelio proveniente de 1 centímetro cuadrado del hongo, que se ha cultivado previamente en caja petri. Una vez inoculadas, las porciones de 200 gramos colocadas dentro de las bolsas de polipapel se incuban durante 10-15 días a 28°C en oscuridad. A cada porción así preparada se le denomina “primario” (Sánchez Vásquez, 1994).

Preparación de inóculo “secundario”

A partir de un inóculo 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 incuban a las mismas condiciones que al inóculo primario, una vez crecido el hongo, a estos segundos paquetes de grano-hongo se les denomina inóculo “secundario”. 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 inóculo secundario es más rápida en razón de estar ya

adaptado al grano, se puede inocular mayor cantidad de porciones y porque la transferencia de inóculo primario a secundario es más sencilla y menos delicada que la transferencia de caja de petri a inóculo primario. No se recomienda preparar inóculo terciario (Sánchez Vásquez, 1994).

Es de hacer notar que antiguamente se utilizaban frascos de vidrio para la preparación de inóculo primario y secundario; sin embargo estos frascos han sido substituidos exitosamente por bolsas de polipapel, las que con ciertos cuidados, soportan muy bien las condiciones de esterilización y evitan los riesgos y problemas de manipulación y volumen que presentan los frascos de vidrio (Sánchez Vásquez, 1994).

C. Preparación del sustrato

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

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

Esta parte comprende la fermentación (en el caso de la pulpa de café, del bagazo de caña), el picado (en el caso de pajas), el secado y la facturación 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 Vásquez, 1994).

Los acondicionamientos más comúnmente empleados son los siguientes:

Fermentación: Se recomienda únicamente para aquellos materiales que poseen una gran cantidad de azúcares solubles, que si no son eliminados promueven el crecimiento rápido de mohos, levaduras y bacterias, los cuales competirán con el micelio por el sustrato, desplazándolo fácilmente. Por otro lado,

cuando no se eliminan estos carbohidratos y se realiza la inoculación del micelio, estas moléculas se transforman en ácidos, como el acético, butírico o propiónico y actúan como atrayentes para insectos, principalmente de distintos tipos de moscas, las cuales depositan sus huevos sobre el sustrato y sus larvas producidas (“gusanos”) se alimentarán del micelio, provocando fuertes problemas de contaminación (Sánchez Vásquez, 1994).

Los sustratos usados para el cultivo de pleurotus, como las pajas, fibra de algodón, rastrojos, olote de maíz, etc., tienen la ventaja de que se les separa fácilmente la celulosa y la lignina, sin necesidad de fermentarlos (Rojas Domingo, 2004).

Hidratación: Se lleva a cabo con sustratos secos, como pajas, rastrojos, desechos de algodón, papel, aserrín, pulpa de café deshidratados, etc. En caso de que presenten segmentos muy grandes o largos, como en las pajas, es necesario reducir su tamaño a segmentos de aproximadamente 3 a 5 centímetros con lo cual permite una mejor retención de humedad y un fácil manejo del sustrato. La fragmentación puede realizarse fácilmente con una picadora comercial usada en la agricultura (Rojas Domingo, 2004). Para hidratar el sustrato puede seguirse varios métodos, como los que a continuación se señalan:

Remojo en agua. El sustrato se coloca en un canasto de malla metálica de 50 x 80 cm. y se sumerge por espacio de 20 horas, al término de las cuales habrá absorbido suficiente agua para tener cerca del 70 por ciento de humedad. Esto es recomendable hacerlo con las pajas y rastrojos. Para ello se puede emplear toneles metálicos de 200 litros de capacidad, en donde se sumergen los canastos (Rojas Domingo, 2004).

Adición de agua y formación de pilas. Este método es semejante al de la fermentación, únicamente que el sustrato no se deja fermentar. El sustrato se coloca en el piso del área de preparación, se extiende y se aplica agua hasta cerca del 80 por ciento. Se cubre con plástico y se deja por una noche. Al otro día estará listo para la pasteurización (Rojas Domingo, 2004).

Compactación. Se emplea para sustrato que tienen muy poca retención de humedad y son difíciles de hidratar, como es el caso del desecho de algodón, papel, cartón, estopa de coco, aserrín, etc. Para efectuar este método se coloca el sustrato en un cajón de aproximadamente 2 x 2 x 1 metros. Se aplica agua uniformemente y se presiona severamente con los pies, con la finalidad de ir empapando y compactando el sustrato. Se coloca posteriormente otra porción del sustrato encima del anterior y se

repite el proceso. Como en el caso de la fermentación, es necesario realizar un volteo a la pila al segundo día. El sustrato se hidrata en un promedio de 3 a 5 días y se obtiene un 70 a 75 por ciento de humedad (Rojas Domingo, 2004).

Pasteurización: Elimina parcialmente los microorganismos presentes en el sustrato, tales como bacterias, mohos y levaduras. Se estima que cada gramo de sustrato posee cerca de 100,000 organismos, los cuales si no se eliminan, tendrán una ventaja competitiva con el micelio del hongo que se cultivara (Rojas Domingo, 2004).

Se realiza sumergiendo el sustrato debidamente embolsado (sacos de tela) en un recipiente con agua caliente a una temperatura de 90 a 100°C, durante una hora (Monterroso Flores, 2007).

Con temperaturas superiores se corre el riesgo de modificar la composición química del material, limitando un aprovechamiento eficaz de las fuentes de carbono por el micelio del hongo. Además, los azúcares disueltos en el medio se hacen accesibles a otros microorganismos contaminantes, que los pueden consumir con mayor facilidad y rapidez. De igual forma se recomienda no repetir la operación más de tres veces en la misma agua, debido a que la concentración de dichos compuestos se vuelven tóxicos para el crecimiento del micelio del hongo (Ramírez, 2004).

D. Siembra e incubación

La etapa de siembra e incubación se refiere al momento de inocular el sustrato con el hongo y al 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 los 200 gramos de un “secundario” en 4-7 Kg de sustrato. El sustrato debe estar debidamente pasteurizado y enfriado a temperatura ambiente. La mezcla sustrato-secundario se acomoda dentro de una bolsa de polietileno (se recomienda los tamaños de 40X60, 50X60, 40X50 y 50X70 cm.). Al terminar la siembra, la bolsa se cierra por medio de un nudo teniendo cuidado de eliminar el aire del interior (Sánchez Vásquez, 1994).

El enfriado del sustrato de la siembra se realiza con estricto cuidado asepsia para evitar las contaminaciones. 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 durante 10-15 días, según el sustrato.

Durante la incubación, dos días después de haber efectuado la siembra, se hacen unas 80 perforaciones perfectamente distribuidas sobre toda la superficie de cada bolsa de polietileno que se ha sembrado. Esto es para permitir un mejor intercambio gaseoso y un mejor crecimiento del hongo (Sánchez Vásquez, 1994).

Existe también otra forma de siembra denominada método alemán o de “chorizos” (Chang y Hayes citados por Sánchez, 1994). El método de chorizos varía del método tradicional de bolsas de plástico por la forma de acomodar la mezcla sustrato-inóculo. En este caso se requiere de algunos aditamentos simples, como son un bastidor de fierro, un tubo de cloruro de polivinilo (pvc) con agujeros perfectamente distribuidos sobre su superficie, rollo de papel polietileno de 30 cm. de ancho, tela o cedazo y ligas. Para el acomodo del sustrato ya inoculado se coloca primeramente el tubo de pvc en el bastidor de fierro y se amarra a su alrededor el extremo de un pedazo de plástico de 30X80 cm. Se acomoda este plástico de manera que forme un cilindro que tenga por eje el tubo de pvc, y se introduce poco a poco el sustrato, hasta que quede un rollo de 30-35 cm de diámetro con aproximadamente 20-25 Kg de sustrato ya inoculado (Sánchez Vásquez, 1994).

Una vez realizada esta operación, los rollos o chorizos pueden ser apilados en el suelo o acomodados higiénicamente en cualquier parte limpia y oscura por espacio de 2 días, al cabo de los cuales se quita el plástico que protege los extremos del tubo de pvc. A los 10-15 días, cuando aparecen los primordios se retira el plástico que envuelve cada chorizo y se cuelgan estos verticalmente en la sala de fructificación. Las condiciones de incubación son exactamente las mismas que el caso anterior con bolsas (Sánchez Vásquez, 1994).

E. Fructificación y cosecha

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 (Sánchez Vásquez, 1994).

La sala de fructificación debe ser un área amplia, dedicada exclusivamente al fructificación del hongo. Ahí se deben mantener condiciones controladas de humedad, tanto del sustrato como del aire, de

ventilación, de temperatura, así como de iluminación. Para el caso de *Pleurotus ostreatus* se requiere de las siguientes condiciones:

Cuadro 3. Condiciones ambientales óptimas para la fructificación 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

Fuente: Sánchez Vásquez, J. E. (20).

La ventilación tiene como objetivo eliminar el CO₂ generado por la respiración del hongo y renovarlo por aire puro. Una ventilación insuficiente propicia la acumulación de CO₂ y el exceso de ventilación produce el desecamiento del sustrato. Una acumulación, aun baja, de CO₂ puede inhibir el desarrollo de los cuerpos fructíferos o propiciar el crecimiento deforme de éstos. Se recomienda mantener una ventilación en el cuarto de fructificación de tal manera que el volumen de aire en dicho cuarto sea renovado de 4 a 6 veces cada hora. Este dato permite calcular la capacidad del extractor que debe ser usado (Sánchez Vásquez, 1994).

Otro aspecto importante es el riego. Generalmente, aunque sea sólo en algunas horas del día, es necesario aplicar riegos en el cuarto de fructificación para aumentar la humedad y evitar el desecamiento del sustrato. Los riegos deben hacerse de preferencia por medio de pulverización hacia el ambiente. También se puede efectuar riegos directos hacia el sustrato, sin embargo en chorro de agua debe ser suave para no dañar los cuerpos fructíferos. Es siempre recomendable guiarse por un higrómetro o por un higrotermógrafo para saber cuándo es necesario regar. Una humedad inferior al 80 por ciento fue negativa para la formación de los carpóforos (Sánchez Vásquez, 1994).

Dos días después de haber llevado los pasteles a la sala de fructificación y de haber eliminado la bolsa de polietileno, empiezan a aparecer los primordios, es decir, los primeros cuerpos fructíferos. Cuatro días después, los primordios se han desarrollado bien, cubren la totalidad de la superficie del pastel y estarán en madurez comercial, listos para ser cosechados (Sánchez Vásquez, 1994).

Para cosechar se debe esperar a que los carpóforos alcancen el mayor tamaño posible, sin permitir que el borde del píleo comience a enrizarse hacia arriba. La cosecha se hace cortando el estípite con un cuchillo, justo a la base del tallo, en la unión con el sustrato (Sánchez Vásquez, 1994).

3.1.7 Contaminaciones, enfermedades y plagas

A. Contaminaciones

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

Las contaminaciones disminuyen notablemente si se pone un esmerado empeño en trabajar condiciones de asepsia rigurosa y se verifica que los tratamientos de esterilización del grano para inóculo y la pasteurización del sustrato sean efectuados rigurosamente. Los cuartos de incubación, siembra y fructificación deben ser frecuentemente lavados, limpiados, desinfectados con cloro, alcohol, etc. Para este fin se debe diseñar un programa de limpieza y asepsia que permita prevenir las contaminaciones (Sánchez Vásquez, 1994).

También el personal que está en contacto directo con el material en proceso debe observar condiciones de limpieza y pulcritud inobjectables. El uso de uniformes limpios, al menos durante la siembra y el picado de bolsas, así como tapabocas y gorros para cubrir el cabello son aconsejables (Sánchez Vásquez, 1994).

B. Enfermedades

Pueden considerarse dos tipos de enfermedades: las bióticas que son causadas por bacterias, micoplasmas o virus y las abióticas que son las causadas por falta de nutrientes específicos para el desarrollo de los hongos o por las variaciones ambientales del entorno donde se cultiva el hongo (Sánchez Vásquez, 1994).

Las enfermedades bióticas no son comunes en los hongos, o al menos no han sido reportadas como importantes desde el punto de vista económico para el cultivo (Sánchez Vásquez, 1994).

En este sentido los principales se presentan por efecto de una deficiencia en ventilación, lo cual influye directamente en la concentración de CO₂ en variaciones en la humedad relativa o en los efectos del exceso o falta de luminosidad (Sánchez Vásquez, 1994).

El exceso de CO₂ en la atmósfera que rodea al hongo produce que éstos desarrollen estípites más largos. La falta de humedad, además de reducir el rendimiento, afecta el desarrollo de los carpóforos, los cuales pueden presentar deformaciones. La iluminación produce variaciones en la pigmentación de los carpóforos. Cuando la humedad es excesiva, de tal manera que moja demasiado los cuerpos fructíferos, estos presentan un aspecto blando, aguado y amarillento (Sánchez Vásquez, 1994).

C. Plagas

Existen varios entomopatógenos asociados al cultivo de *Pleurotus*; la mejor manera de evitar daños de este tipo es aislando los cuadros de incubación y fructificación del exterior. Esto es fácil de realizar y aun benéfico para los hongos en los casos de las salas de incubación (del inóculo y del sustrato), ya que el hongo crece bien en la oscuridad, y a temperaturas relativamente altas; sin embargo, para el caso de la sala de fructificación, esto es más difícil porque el hongo requiere de ventilación abundante, lo que hace extremadamente difícil mantener un lugar libre de insectos y otros animales como hormigas, cucarachas y aun roedores, sobre todo si el lugar de producción se encuentra en el área rural (Sánchez Vásquez, 1994).

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

La entomofauna observada durante el cultivo de *Pleurotus* pertenece a las familias que se menciona a continuación:

Cuadro 4. Familias de insectos plaga durante el cultivo de *Pleurotus*

ORDEN	FAMILIA
Coleoptera	<i>Staphylinidae</i>
Coleoptera	<i>Chrysomelidae</i>
Coleoptera	<i>Tenebrionidae</i>
Coleoptera	<i>Endomychidae</i>
Diptera	<i>Mycetophilidae</i>
Diptera	<i>Stratiomyidae</i>
Diptera	<i>Drosophylidae</i>

Fuente: Sánchez Vásquez, J. E. (20).

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

Algunos insectos depositan sus huevecillos en la madera de los anaqueles. Al eclosionar, las larvas se introducen al sustrato, sobre todo durante la incubación, después de haber perforado las bolsas. Las larvas se comen entonces el sustrato, el hongo y contaminan con otros hongos el pastel (Sánchez Vásquez, 1994).

En estos casos es necesaria la limpieza constante de anaqueles y paredes con jabón y cloro para matar huevecillos y larvas. Para el control de estas plagas e insectos asociados, se recomienda el aislamiento de los locales y la colocación de trampas. Dos trampas que funcionan muy bien son: 1) tiras de polietileno untada de aceite comestible y colocadas a través de los estantes o 2) recipientes plásticos o de vidrio con un líquido atrayente como cerveza o miel de cacao, a la cual se le pone en la boca un embudo con el orificio pequeño, de tal manera que el insecto pueda entrar pero no salir. Existen trampas comerciales para insectos voladores. Otra forma adecuada resulta mezclar insecticidas con alimento atrayente. Es posible usar los insecticidas para uso ambiental y como un último recurso las fumigaciones con piretroides, un remedio muy eficaz es el uso de aspersiones de infusión de raíz de flor de muerto, también conocida como cempasúchil (flor de muerto) *Tagetes erecta* (Sánchez Vásquez, 1994).

3.1.8 Indicadores de producción

Los indicadores de producción son los parámetros que permiten medir los rendimientos de una cosecha de hongos. Los rendimientos de *Pleurotus*, son estimados en un promedio de rango de 10 a 200 kilos del hongo por tonelada de sustrato preparado y húmedo, rendimiento que se tiene en aproximadamente 7 a 9 semanas. La producción puede escalonarse a lo largo del año teniendo en cuenta que el ciclo total del cultivo se supone entre 2 y 4 meses repartidos así (Sánchez Vásquez, 1994):

- De 15 a 30 días de incubación y crecimiento del micelio.
- De 15 a 20 días en la zona de cultivo.
- De 45 a 60 días de cosecha.

A. Eficiencia biológica

La productividad de un cultivo de hongos es definido por el termino **eficiencia biológica (EB)** en una unidad de tiempo (t). La eficiencia biológica es definida por el peso de hongos frescos producidos por unidad de peso del sustrato seco y expresada en porcentaje (PR). Se han utilizado diferentes unidades de tiempo que pueden usarse en el cálculo del PR. El grado de producción puede representarse por la expresión matemática siguiente $PR = (\% EB)/t$ (Lazo Lemus, 2001).

La eficiencia biológica (EB) consiste en la producción de cuerpos fructíferos, es decir, la bioconversión de la energía y biodegradación del sustrato. EB, se expresa en porcentaje y es la relación entre el peso de la cosecha de hongos frescos y el peso seco del sustrato (Lazo Lemus, 2001).

$$EB = \frac{\text{Peso de hongos frescos (gramos)}}{\text{Peso de sustrato seco (gramos)}} \times 100.$$

Existen otros términos y formas de evaluar la producción, como: Producción promedio de una cepa en sustrato (P), rendimiento de una cepa en un sustrato (R) y eficiencia de sustrato por una cepa (biodegradación), (Lazo Lemus, 2001).

De los términos anteriores, el más utilizado es la eficiencia biológica, debido a la utilización universal. La EB depende básicamente del tipo de sustrato a utilizar; en el caso de *Pleurotus ostreatus*, una no menor del 100 por ciento es considerada adecuada (Lazo Lemus, 2001).

B. Biodegradación del sustrato por una cepa

La biodegradación (Bd) mide el porcentaje de la pérdida de peso del sustrato en base seca. Se expresa de la siguiente fórmula:

$$Bd = \frac{\text{gramos de sustrato seco inicial} - \text{gramos de sustrato seco final}}{\text{gramos de sustrato seco inicial}} \times 100$$

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

3.1.9 Sustratos para la producción de *Pleurotus*

El sustrato es el material (comúnmente de desecho de subproductos de la agroindustria), sobre el cual crece el micelio del hongo. Las propiedades físico-químicas del sustrato determinan que hongos pueden crecer en él, pero también determinan que otros microbios pueden crecer conjuntamente con el hongo. Algunos hongos pueden usar un rango amplio de sustratos, mientras que otros son muy selectivos. Esta selectividad hacia un sustrato depende de los nutrientes disponibles en él, su acidez, la actividad microbiana que soporta, su capacidad de aireación, su contenido de agua, entre otros. Un sustrato selectivo es aquel que satisface las demandas nutricionales de un tipo de hongo específico y no satisface la de otros. Las pajas de gramíneas son un buen ejemplo de sustrato selectivo (Lazo Lemus, 2001).

El sustrato que se utilice para producir los cuerpos fructíferos debe ser un material cuyo costo sea mínimo y que, de acuerdo a la localidad en que se está cultivando hongos, no provoque mayores costos de transporte, debe haber gran disponibilidad en la región de influencia, aun cuando no sea constante. La elección del sustrato ha sido y será siempre uno de los factores decisivos para la optimización del cultivo de hongos (Lazo Lemus, 2001).

Para la preparación del inóculo

Para la preparación del inóculo se utiliza generalmente como sustrato un grano que permita un crecimiento rápido del hongo y que de facilidad para distribuirlo en el sustrato definitivo, cuando haya colonizado bien, al momento de la siembra en éste. No se debe utilizar los granos que se expenden comercialmente para siembra en el campo, ya que generalmente están protegidos con fungicidas (Lazo Lemus, 2001).

Para utilizar el grano se requiere únicamente lavarlo y limpiarlo, sumergirlo en agua por unas horas y esterilizarlo a 121°C durante 30 minutos antes de la inoculación (Lazo Lemus, 2001).

3.1.10 Sustrato a utilizar: Caña de maíz

Juntamente con el arroz y el trigo, el maíz es una de las tres gramíneas más cultivadas en el mundo. Tiene una amplia utilidad en la industria moderna, más que todo en la producción de diversos tipos de alimentos, como hojuelas de maíz, harinas, papillas, entre otros. Los gérmenes de maíz contienen aceites para la alimentación humana, para la elaboración de margarinas, etc. Además, se puede utilizar como alimento para animales en forma de rastrojo forrajero, así mismo en el ensilaje (García Ramos, 2000).

El rastrojo dejado luego de la recolección de las mazorcas muchas veces es utilizado como forraje para ganado, otras veces se incorpora al suelo como abono para la siguiente siembra, pero regularmente es amontonado y quemado (García Ramos, 2000).

Descripción taxonómica del maíz *Zea mays* L.:

Familia:	Poaceae
Género:	<i>Zea</i>
Especie:	<i>Zea mays</i> L.
Nombre Común:	Maíz (García Ramos, 2000)

La planta de maíz es de porte robusto de fácil desarrollo y se considera de producción anual, sin embargo hay zonas donde el ciclo puede ser de 4 meses (García Ramos, 2000).

El maíz también puede ser utilizado para preparar inóculo de *Pleurotus*, es barato, aunque menos que el sorgo. Es muy fácil de conseguir, sin embargo su tamaño es mayor y el hongo crece menos que en aquel grano. Es necesario hidratarlo durante 24 horas (Sánchez Vásquez, 1994)

Cuadro 5. Análisis Proximal del rastrojo y olote de maíz *Zea mays* L.

Componentes	Rastrojo	Olote
Materia seca	94.8%	91.9%
Extracto libre de nitrógeno	36.7%	48.1%
extracto etéreo	1.8%	0.9%
Fibra cruda	40.2%	38.9%
Proteína cruda	8.0%	2.4%
Nitrógeno	1.28%	0.39%
Cenizas	8.1%	1.6%
Calorías	166	186
Calcio	-	765 mg./100g
Fósforo	-	274 mg./100g
Hierro	-	7.4 mg./100g

Fuente: INCAP (Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá), (16).

Dentro de la planta de maíz (*Zea mays* L.) los tallos son los que presentan las estructuras más lignificadas con un contenido de proteínas de 3.1 por ciento y las hojas con 4 a 7 por ciento. La composición química indica que el rastrojo de maíz es bajo en materias nitrogenadas con 4.5 por ciento de proteína bruta promedio. La pared celular presenta un mayor porcentaje de hemicelulosa que de celulosa, su bajo porcentaje de lignina lo hace ser más digestible que las pajas de cereales, siendo así mismo en azúcares solubles que estas. Por esta razón este residuo presenta un mayor valor energético superior al de las pajas de cereales, fluctuando entre 1.69 y 2.1 Kcal. /Kg de materia seca (Sánchez Vásquez, 1994).

3.1.11 Factores que afectan el crecimiento y la fructificación de *Pleurotus* spp.

El desarrollo de los hongos se ve afectado por varios factores. A continuación se comentan los más importantes:

A. La temperatura

La temperatura afecta el metabolismo de las células. Influye tanto en la capacidad enzimática del organismo, como en la fluidez de los lípidos de la membrana celular. La susceptibilidad a la temperatura no solo varía entre cepas sino también para una misma cepa según su etapa de desarrollo. Así, es posible y aun frecuente que un hongo tenga una temperatura óptima de germinación y que ésta sea diferente de su temperatura óptima de crecimiento micelial o de su temperatura óptima de fructificación.

Pleurotus es un género de hongo cuyo micelio puede crecer en un rango amplio de temperaturas. Zadrazil (citado por Sánchez, 1994), reportó que las especies *P. ostreatus*, crecían en un rango entre 0 y 35°C con temperaturas óptimas de 30°C. Este mismo autor demostró que estas especies podían soportar 40°C durante 24 horas (pero no 72 h), y después reiniciar su crecimiento. Por regla general, las temperaturas óptimas para la fructificación de las especies de *Pleurotus* son ligeramente inferiores que las temperaturas óptimas para crecimiento micelial (Sánchez Vásquez, 1994).

B. El pH

El potencial de hidrógeno del medio de cultivo donde crece un hongo tiene una influencia directa sobre éste, porque incide sobre el carácter iónico del medio e influye directamente sobre las proteínas de la membrana y sobre la actividad de las enzimas ligadas a la pared celular; es decir, afecta directamente su metabolismo (Sánchez Vásquez, 1994).

Si el pH del sustrato donde crece un hongo no es el adecuado, aunque las condiciones de temperatura y nutrientes sean óptimos, el crecimiento se verá afectado. Por otra parte, el valor del pH del medio es alterado por el crecimiento del hongo, por ejemplo, Rajarathnam y Bano (citados por Sánchez, 1994), comentan que las fuentes de nitrógeno producen cambios importantes en el valor del pH del medio, de tal manera que las sales de amonio ocasionan que el medio en el que crece una cepa de *Pleurotus* que degrada amonio se acidifique y que las sales de nitrato lo vuelvan alcalino (Sánchez Vásquez, 1994).

Para el crecimiento de *Pleurotus* se han citado rangos de crecimiento entre 4 y 7 de pH. Con un óptimo entre 5 y 6. Este valor sin embargo suele variar entre cepas y especies. Así, Zadrazil (citado por

Sánchez, 1994), cita que los sustratos ácidos (pH 4), inhiben el desarrollo de *P. ostreatus* y *P. eryngii* y que estos hongos encuentran un pH óptimo en un rango entre 5.5 y 6.5 (Sánchez Vásquez, 1994).

Dado que la mayoría de los contaminantes que se encuentran durante el proceso de cultivo son más sensibles a los valores altos de pH que las especies de *Pleurotus*, actualmente al preparar el sustrato se prefieren valores más elevados que los señalados como óptimos. Esto deriva de los resultados obtenidos por diversos investigadores, entre ellos Stölzer y Grabbe (citados por Sánchez, 1994), por ejemplo, quienes demostraron que *Trichoderma hamatum* reduce notablemente su crecimiento a pH 7 y es totalmente inhibida a pH 8.5 (Sánchez Vásquez, 1994).

C. El sustrato

Un sustrato es conveniente para el crecimiento de un hongo, si contiene todos los requerimientos nutritivos en cantidad suficiente para que éste sintetice sus metabolitos y tome de él la energía que requiere (Sánchez Vásquez, 1994).

a. Carbono

El carbono es necesario para los hongos porque es la fuente directa de energía para su metabolismo; así mismo, es necesario para la formación de las diferentes partes y estructuras celulares. Dada la importancia que tiene para la vida de la célula, este elemento es el que requiere en mayores cantidades. El carbono puede ser utilizado por el hongo a partir de diferentes fuentes como polímeros, carbohidratos, lípidos, etc (Sánchez Vásquez, 1994).

Polímeros: La mayoría de los basidiomicetos son considerados “degradadores de madera” porque son capaces de crecer sobre la biomasa proveniente de las plantas leñosas. Las especies de *Pleurotus* son consideradas de pudrición blanca porque son capaces de degradar materiales ricos en lignina, celulosa y hemicelulosa. Zadrazil (citado por Sánchez, 1994), observó que después de cosechar los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*, las cantidades finales de hemicelulosa, celulosa y lignina se reducían en un 80 por ciento y concluyó diciendo que todos los materiales que contengan celulosa y lignina, con excepción de los tóxicos y con metales pesados y los pobres en nitrógeno, pueden ser usados como sustratos para *Pleurotus* spp (Sánchez Vásquez, 1994).

Azúcares: Los carbohidratos se encuentran entre las fuentes de carbono preferidas por las especies de *Pleurotus*. Según Raypeck (citado por Sánchez, 1994), La glucosa, la manosa y la galactosa son buenos sustratos para esta especie, mientras que la xilosa y la arabinosa producen un crecimiento deficiente (Sánchez Vásquez, 1994).

Lípidos: La adición de aceites vegetales tiene un efecto benéfico para el crecimiento micelial de *P. ostreatus*. Según Kurtzman (citado por Sánchez, 1994), los productos de la hidrólisis de aceites (glicerol, ácidos grasos y saponinas), deprimen el crecimiento, pero la adición de triglicéridos y metil ésteres de ácidos grasos generalmente promueven el crecimiento. El incremento en el crecimiento aumenta conforme aumenta el número de carbonos en los ácidos grasos C4-C14 y disminuye ligeramente entre C14 y C18. Al utilizar ácidos C18, el crecimiento aumenta con el grado de insaturación, siendo el ácido linoléico el mejor ácido de este grupo (Sánchez Vásquez, 1994).

b. Nitrógeno

Los sustratos sobre los que suelen fructificar las especies de *Pleurotus* pueden contener valores bajos de nitrógeno por lo que se ha llegado a pensar que este género es capaz de fijar nitrógeno atmosférico. Sin que esto haya sido demostrado, sí es notorio que la concentración en nitrógeno en el cuerpo fructífero en algunos casos es mayor que la del sustrato sobre el cual crece. Las especies de *Pleurotus* tienen la capacidad de crecer sobre fuentes inorgánicas de nitrógeno, como el nitrato de potasio o la urea, aunque se observa que prefieren las fuentes orgánicas para un crecimiento óptimo. Así, Hong citado por Sánchez, 2002, indicó que la peptona es una fuente de nitrógeno que da un rápido crecimiento micelial y formación de cuerpos fructíferos, aunque la alanina, el ácido aspártico, la glicina y la serina, dan rendimientos pobres. Las fuentes inorgánicas agregadas a la peptona, como el sulfato y el tartrato de amonio, o varios aminoácidos como la alanina, la leucina, el ácido glutámico o la lisina producen incrementos en el rendimiento entre 10 y 25 por ciento. Más tarde, Khanna y Garcha (citados por Sánchez, 1994), encontraron que la peptona beneficia el crecimiento de *P. pulmonarius* y *P. ostreatus* y que los nitratos de sodio y potasio son una buena fuente para *P. pulmonarius*, *P. ostreatus*, y *P. sapidus*. Voltz (citado por Sánchez, 1994), determinó que el citrato de amonio era una buena fuente para *P. ostreatus* y Rajarathnam y Bano (citados por Sánchez, 1994), indicaron que los ácidos orgánicos son nutrientes que no confieren ninguna ventaja para la explotación industrial de las especies de *Pleurotus* (Sánchez Vásquez, 1994).

La afinidad por las fuentes de suministro de nitrógeno varía entre las diferentes especies de este género, pero además varía para una cepa determinada según el sustrato sobre el que esta crece; por ejemplo, Manu-Tawiah y Martin (citados por Sánchez, 1994), encontraron que *P. ostreatus* alcanzaba un máximo rendimiento (60 por ciento), en cultivo líquido cuando usaron un hidrolizado de turba suplementado con extracto de levadura, sin embargo cuando utilizaron un medio sintético, la mejor fuente de nitrógeno fue el citrato de amonio (64 por ciento), (Sánchez Vásquez, 1994).

Es importante hacer notar que según el metabolismo de cada especie, y en función de la fuente de nitrógeno, el pH del sustrato puede variar durante el crecimiento del hongo, hasta hacerlo poco o nada propicio. Bajo estas circunstancias, un sustrato puede parecer inadecuado para el crecimiento, cuando en realidad es por consecuencia del pH del medio. Esto generalmente se presenta cuando un hongo crece en sales de amonio de un ácido inorgánico, ya que el medio se vuelve rápidamente ácido y puede alcanzar valores de 3 e inferiores. (Srivastava y Bano, Manu-Tawiah y Martin citados por Sánchez, 1994).

c. Relación C/N

Manu-Tawiah y Martin (citados por Sánchez, 1994), determinaron que la relación óptima para el crecimiento en medio líquido de *P. ostreatus* era 40:1. Por su parte, Hong en 1978, encontró que para la misma especie, una relación de 15:23 permitía una rápida formación de cuerpos fructíferos con bajos rendimientos, que una relación de 11:42 incrementaba los rendimientos pero que disminuía la formación de cuerpos fructíferos y que tomando en cuenta los dos aspectos (rendimiento y velocidad de formación), la relación óptima debía ser 30:46 (Sánchez Vásquez, 1994).

d. Minerales

Desde 1943 Treschow (citado por Sánchez, 1994), al trabajar con *Agaricus bisporus* llegó a la conclusión de que tanto éste como otros hongos y levadura no son capaces de crecer en ausencia de calcio y que este mineral es requerido en mayores cantidades por sus efectos protectores y antagonistas con respecto de otros minerales como K o Mg. Estudios posteriores han confirmado esta aseveración. Por su parte, Manu-Tawiah y Martin (citados por Sánchez, 1994), llegaron a la conclusión de que *P. ostreatus* crece mejor cuando hay KH_2PO_4 presente en el medio y que sus requerimientos en magnesio son tan bajos que pudieron ser suministrados por el sustrato que ellos utilizaron (turba hidrolizada). Por

aparte, Kurtzman y Zadrazil citados por Sánchez, 1994, reportaron que el cloruro de sodio no tiene efecto significativo sobre *P. ostreatus*, aunque sí un muy ligero efecto en el crecimiento de *P. sapidus* (Sánchez Vásquez, 1994).

e. Vitaminas y otros compuestos

Hashimoto y Takahashi (citados por Sánchez, 1994), indicaron que *P. ostreatus* requiere tiamina para su crecimiento en una concentración óptima de 100 mg/l y que cuando tal vitamina está presente, ninguna otra es necesaria. Hong (citado por Sánchez, 1994), indicó que la concentración de 50 mgL⁻¹ provoca un excelente crecimiento tanto del micelio como de los cuerpos fructíferos y que el ácido indolacético y la citosina causan en esta especie un mejor crecimiento micelial pero que no tienen influencia sobre el rendimiento (Sánchez Vásquez, 1994).

D. La humedad en el sustrato

El contenido de humedad influye directamente sobre el desarrollo de los hongos porque afecta la disponibilidad de nutrientes. Así, los contenidos de humedad inferiores al 50 por ciento no serán propicias y una humedad superior al 80 por ciento tendrá un efecto negativo en el crecimiento de *Pleurotus* spp. El contenido óptimo de humedad depende no solo de la especie de hongo que se cultiva, sino también del tipo de sustrato utilizado. Rajarathnam y Bano (citados por Sánchez, 1994), indicaron que las especies *P. cornucopiae*, *P. ostreatus* y *P. eryngii* tienen una relación óptima rastrojo de trigo: agua de 1:4.4 (Sánchez Vásquez, 1994).

El contenido de humedad no sólo afecta la disponibilidad de nutrientes en el sustrato, sino también la disponibilidad de oxígeno. En efecto, el agua ocupa espacios que pueden ser ocupados por el aire. A niveles excesivos esto se vuelve una limitante para la respiración del hongo (Sánchez Vásquez, 1994).

E. La humedad del aire

Este es un factor de suma importancia para la adecuada fructificación de las especies de *Pleurotus*. Dado que los cuerpos fructíferos están formados por un alto contenido de agua y su estructura hifal no les permite retener la humedad en condiciones adversas, un balance adecuado entre la humedad

ambiental y el contenido de humedad del hongo es necesario. Debido a esto, la humedad relativa del ambiente donde crece el hongo debe ser suficiente para evitar que tanto el sustrato como los cuerpos fructíferos se deshidraten. En general, los hongos son muy susceptibles a las variaciones en la humedad relativa. Block (citado por Sánchez, 1994), indicaron que la humedad óptima para la fructificación de *P. ostreatus* era de 85 por ciento (Sánchez Vásquez, 1994).

F. Tamaño de partícula

El tamaño de partícula afecta el crecimiento y la fructificación porque se relaciona con la accesibilidad a los nutrientes, al agua y al aire por parte de las hifas del hongo. Los tamaños de partícula muy pequeños dificultan la aireación necesaria para la respiración y los tamaños muy grandes son inadecuados porque dificultan la compactación del sustrato y el acceso del hongo a los nutrientes. Rajarathnam y Bano (citado por Sánchez, 1994), recomiendan tamaños de partícula de 2-3 cm. cuando se usa rastrojo de arroz para el cultivo de especies de *Pleurotus* (Sánchez Vásquez, 1994).

G. La aireación

El oxígeno es un elemento de gran importancia para el crecimiento de los basidiomicetos porque son organismos aerobios. Estos organismos presentan requerimientos de oxígeno diferentes según el estado fisiológico en que se encuentren. Para el caso de *Pleurotus* spp. , se ha notado que la concentración alta en CO₂ estimula la germinación de las esporas y el crecimiento micelial pero inhibe la fructificación. Según Zadrazil, (citado por Sánchez, 1994), la estimulación varía según las especies; por ejemplo: *P. ostreatus* obtiene una máxima estimulación de su crecimiento micelial cuando el aire contiene 28 por ciento de CO₂. Kamra y Zadrazil (citados por Sánchez, 1994), señalaron que la pérdida de materia orgánica y la deslignificación del sustrato son mayores cuando se da en una atmósfera con 100 por ciento de oxígeno y que la concentración de CO₂ las influencia negativamente. Estos mismos autores señalaron que, durante su experimento en matraces, la formación de primordios se dio a los 8-10 días después de la inoculación sólo cuando se mantuvo un flujo continuo de aire de 30 l/h; que cuando la aireación forzada se detuvo la fructificación se pospuso de 1 a dos días y que no se dio en absoluto cuando los matraces se ventilaban solo 2 veces al día. La fructificación suele darse en condiciones normales cuando se tiene un 20 por ciento de oxígeno y una concentración de CO₂ no mayor de 800 ppm en el ambiente que circunda al hongo (Sánchez Vásquez, 1994).

H. La luz

Según Eger (citado por Sánchez, 1994), *P. ostreatus* no puede fructificar en oscuridad continua. Para poder hacerlo requiere ser expuesto a longitudes de onda inferiores a 600 nm, sin embargo la sensibilidad tanto de la cantidad como de la calidad de la luz depende de las especies. Esta misma autora indicó que la sensibilidad a la luz es máxima desde momentos previos hasta horas después de que el micelio ha colonizado el sustrato (Sánchez Vásquez, 1994).

3.1.12 Suplementación con urea

La urea, también conocida como carbamida, carbonildiamida o ácido carbamídico, es el nombre del ácido carbónico de la diamida, con fórmula química $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$. La urea se presenta como un sólido cristalino y blanco de forma esférica o granular. Es una sustancia higroscópica, es decir, que tiene la capacidad de absorber agua de la atmósfera y presenta un ligero olor a amoníaco. Es muy soluble en agua, alcohol y amoníaco. Poco soluble en éter y otros solventes a temperatura ambiente (Sánchez Vásquez, 1994). Otras propiedades de la urea se muestran en el cuadro 6.

Dentro de las principales reacciones de la urea, se encuentra la termo descomposición. A temperaturas cercanas a los 150 – 160 °C, produce gases inflamables y tóxicos y otros compuestos, por ejemplo amoníaco, dióxido de carbono, cianato de amonio (NH_4OCN) y biurea $\text{HN}(\text{CONH}_2)_2$. Si se continúa calentando, se obtienen compuestos cíclicos del ácido cinabrio³. Soluciones de ureas neutras, se hidrolizan muy lentamente en ausencia de microorganismos, dando amoníaco y dióxido de carbono. La cinética aumenta a mayores temperaturas, con el agregado de ácidos o bases y con un incremento de la concentración de urea (Ribagorza.com, 2004).

³ Cinabrio: Sulfuro mercuríco

Cuadro 6. Propiedades de la Urea ((NH₂)₂CO).

Peso molecular:	60.06 g/mol
Densidad:	768 Kg/m ³
Punto de fusión:	132.7 °C
Calor de fusión:	5.78 a 6 cal/gr.
Calor de combustión:	2531 cal/gr. Humedad crítica relativa (a 30°C): 73%
Acidez equivalente a carbonato de calcio:	84 (Partes de carbonato de calcio necesarias para neutralizar el efecto acidificante de 100 partes de urea)
Índice de salinidad:	75.4
Calor de disolución en agua:	57.8 cal/gr. (endotérmica)
Energía libre de formación a 25 °C:	47120 cal/mol (endotérmica)
Corrosividad:	Altamente corrosivo al acero al carbono. Poco al aluminio, zinc y cobre. No lo es al vidrio y aceros especiales

Fuente: Urea. Disponible en: textoscientificos.com (27)

3.1.13 Diseño de bloques al azar

Este diseño se caracteriza porque estratifica el material experimental en bloques, cuando se logra determinar un gradiente de variabilidad, pudiendo ser ésta, climática, edáfica o de otro tipo; para lo cual se agrupan los “k” tratamientos en “b” bloques, colocando los bloques en sentido perpendicular a la gradiente que se ha establecido, de tal manera que las unidades experimentales dentro de un bloque sean relativamente homogéneas. Se dice que se trata de un diseño aleatorizado porque se asignan aleatoriamente los tratamientos a las “k” unidades experimentales dentro de cada bloque. El número de unidades experimentales dentro de un bloque debe ser igual al número de tratamientos a evaluar. En este caso el número de repeticiones es igual al número de bloques (García Ramos, 2000).

3.2 Marco referencial

3.2.1 Localización del experimento

La producción del inóculo, siembra, suplementación con urea e incubación se realizaron en el laboratorio identificado como B-15 de la Subárea de Ciencias Químicas en el segundo nivel del edificio T-8 de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, ubicada en la parte sur de la zona 12 del municipio de Guatemala cuya localización geográfica corresponde a las coordenadas UTM: 763563.67 Este, 1613784.51 Norte y a una altitud de 1,502 msnsm (IGM (Instituto Geográfico Militar, GT), 1983).

La etapa de fructificación se llevó a cabo en la 3ra calle 23-53, San Cristóbal II, zona 8 del Municipio de Mixco, cuya localización geográfica corresponde a las coordenadas geográficas en grados: 14.38° Norte, 90.36° Oeste y a una altitud de 1,489 msnm (IGM (Instituto Geográfico Militar, GT), 1983).

3.2.2 Clima y zona de vida

Según Holdrige, el experimento se realizó en la zona de vida correspondiente a Bosque Húmedo Subtropical Templado (Bh –st). Las condiciones climáticas promedio anuales registradas por el Insivumeh durante el año 2007 para el área del municipio de Guatemala, fueron las siguientes (Mendoza Leonardo, 2001):

Precipitación promedio anual:	1268.5 mm
Temperatura media anual:	19.7° C
Humedad relativa:	77 %
Radiación solar media:	0.4 Cal/Cm ² /Min
Presión atmosférica:	640.0 mm
Brillo solar:	210.4 Hrs.

4. OBJETIVOS

4.1 *General*

Evaluar el efecto de la suplementación nitrogenada con Urea en el sustrato caña de maíz *Zea mays L.* en las distintas etapas del proceso de producción, sobre la eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* (cepa ECS-152).

4.2 *Específicos*

- Determinar la etapa más adecuada para realizar la suplementación nitrogenada con Urea en el proceso de producción del hongo *Pleurotus ostreatus* utilizando como sustrato caña de maíz *Zea mays L.*
- Identificar el tratamiento que presente la mejor eficiencia biológica y tasa de producción de *Pleurotus ostreatus*.

5. HIPÓTESIS

La suplementación del sustrato caña de maíz *Zea mays* L. con urea efectuada durante la fase de inoculación del hongo *Pleurotus ostreatus* hasta la invasión de la mitad del sustrato producirá mayor eficiencia biológica.

6. METODOLOGÍA

6.1 *Material experimental*

6.1.1 Material biológico

La cepa de *Pleurotus ostreatus* evaluada fue la ECS-152; proveniente del cepario de hongos comestibles y medicinales del Colegio de la Frontera Sur, de la unidad de Tapachula, Chiapas, México.

6.1.2 Sustrato

El material vegetal utilizado en la investigación fue la caña de maíz (*Zea mays* L.)

6.1.3 Suplementos nitrogenados

El suplemento utilizado fue la urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) a una concentración de Nitrógeno total de 1.50 por ciento.

6.1.4 Materiales y equipos de laboratorio

- Cajas petri de vidrio
- Probetas graduadas de 100ml.
- Erlenmeyer de 250, 500 y 1000 ml.
- Frascos goteros
- Campana de flujo laminar
- Autoclave de olla
- Estufa
- Balanza semi-analítica
- Termómetro
- Mechero bunzen
- Incubadora marca Lab Line, Modelo 306

- Alcohol etílico concentrado al 95 por ciento
- Atomizador
- Como medio de cultivo papa dextrosa agar
- Cubetas plásticas
- Bolsas de polipapel

6.2 *Diseño experimental*

Debido a las condiciones en las que se realizó el experimento se consideró que el diseño de bloques al azar es el más adecuado, el cual contó con 4 tratamientos, más el testigo absoluto el cual fue la caña de maíz sin suplementar y el testigo relativo fue la pulpa de café sin suplementación.

Se realizaron 6 repeticiones, con lo cual se hizo un total de 36 unidades experimentales.

El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \gamma_k + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* ECS-152 en cada uno de los tratamientos con su respectiva fecha de suplementación.

μ = Media general de la eficiencia biológica.

α_i = Efecto del i-ésimo etapa de suplementación.

β_j = Efecto de la j-ésima aplicación de Urea.

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre la i-ésima etapa de suplementación y la j-ésima aplicación de urea.

γ_k = Efecto del K-ésimo bloque.

ε_{ijk} = Error experimental asociado a la ijk-ésimo unidad experimental.

6.3 Unidad experimental

Cada unidad experimental estuvo compuesta por una bolsa con 50 gramos de sustrato en peso seco más la suplementación con urea realizada en sus respectivos días de las distintas fases de desarrollo (figura 5A).

6.4 Tratamientos

En el cuadro 7 se presentan los tratamientos evaluados, así como su respectiva descripción y código para su identificación.

Cuadro 7. Descripción y códigos de los diferentes tratamientos.

TRATAMIENTO	CÓDIGO	DESCRIPCIÓN
T1	CSH	Caña de maíz suplementada etapa de hidratación
T2	CS7	Caña de maíz suplementada, 7 días después de siembra
T3	CS14	Caña de maíz suplementada, 14 días después de siembra
T4	CSI	Caña de maíz suplementada, durante la inoculación
T5	CNS	Caña de maíz sin suplementar
T6	P	Pulpa de café sin suplementar

El ordenamiento de los tratamientos en cada uno de los bloques después de la aleatorización se puede observar a continuación en cuadro 8.

Cuadro 8. Distribución aleatoria de las unidades experimentales.

BLOQUES					
I	II	III	IV	V	VI
T2	T2	T1	T6	T1	T3
T1	T5	T5	T2	T2	T4
T4	T1	T4	T1	T6	T1
T3	T6	T3	T4	T3	T5
T5	T4	T2	T3	T5	T6
T6	T3	T6	T5	T4	T2

6.5 Variable de respuesta

La variable medida fue la eficiencia biológica la cual se expresó en porcentaje y se obtuvo de la relación del peso total de los hongos frescos en gramos entre el peso seco del sustrato en gramos, multiplicado por 100.

6.6 Análisis estadístico

Para el análisis de la información obtenida, se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) de la variable en estudio, que en este caso fue la eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* en cada uno de los tratamientos a evaluar, para determinar que tratamientos presentaron diferencias significativas. Debido a los resultados obtenidos, cuando los tratamientos presentaron diferencias significativas se les realizó una prueba múltiple de medias bajo el criterio de Tukey al 95 por ciento de confiabilidad ($\alpha = 0.05$), para determinar el o los mejores tratamientos en base a la variable respuesta.

6.7 Manejo del experimento

Previamente a realizar cualquier procedimiento fue necesario la desinfección de las áreas de trabajo con una solución de alcohol al 95 por ciento, así mismo fue necesario, también, que todo el equipo estuviese previamente esterilizado.

6.7.1 Preparación del inóculo

- En esta fase se realizó en las instalaciones de la Facultad de Agronomía de la USAC, específicamente en el laboratorio de la Subareá de Ciencias Químicas. La cepa utilizada es la ECS-152.
- El micelio se propagó en caja petri utilizando como medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), dentro de la campana de flujo laminar.
- Luego se almacenó dentro de la incubadora a una temperatura de 28°C en total oscuridad durante 8 días, después de haber transcurrido ese lapso, el micelio colonizó todo el medio de cultivo contenido en las cajas petri.
- Preparación del inóculo primario: se eligió grano de sorgo el cual se limpió e hidrató en agua limpia durante 36 horas, luego se escurrió para eliminar el exceso de agua y se pesaron unidades de 100 gramos colocadas dentro de bolsas de polipapel, después se esterilizaron a 121°C por 30 minutos y posteriormente, se sometieron a enfriamiento.

- Luego se procedió a cortar el agar con el micelio en cuadritos de 1 cm² aproximadamente, esta operación debió realizarse dentro de la campana de flujo laminar y, utilizando un bisturí estéril. Posteriormente se inoculó 1 cuadrito de ese agar-micelio por cada bolsa de 100 gramos.
- Cada bolsa fue compactada lo máximo posible previo a ser cerrada, además cada bolsa fue identificada con el nombre de la cepa y fecha de inoculación. Finalmente se realizó la incubación a 28 °C en oscuridad durante 20 días.

6.7.2 Preparación del sustrato

- En esta fase se procedió a fragmentar en trozos de 3 a 5 cm. de largo la caña de maíz, lo cual permitió una mejor retención de humedad y un fácil manejo del sustrato. Este proceso se realizó con una picadora comercial.
- Luego el sustrato fue humedecido por 24 horas y escurrido por una 1 hora.
- Posteriormente el sustrato fue embolsado en unidades equivalentes 50 gramos de peso seco en bolsas nuevas de polipapel en medidas de 23 x 37 cm.; luego se esterilizó en el autoclave a 121°C (15 atms. de presión) por 20 minutos.
- Finalmente se dejó enfriar el sustrato hasta que alcanzó la temperatura ambiente.

6.7.3 Preparación del suplemento nitrogenado

- Se solubilizó 1.17 g de urea en 5 mililitros de agua destilada estéril.
- Se determinó el pH de cada solución con un potenciómetro.
- Luego se pasteurizó la solución de urea a 80°C por 15 minutos y se adicionó al sustrato.
- El método de aplicación de la urea consistió en colocar la solución de urea perfectamente distribuida dentro de cada unidad experimental, para ello fue necesario utilizar una jeringa estéril de 5 mililitros.
- El método de aplicación varió para los tratamientos “CSH” (caña de maíz suplementada al momento de la hidratación) y “CSI” (caña de maíz suplementada durante la inoculación). En el primer caso la solución de urea se adicionó al agua utilizada para hidratar al sustrato durante la etapa de preparación del mismo y en el segundo caso, la solución de urea se adicionó con ayuda de 1 gramo de algodón que fue humedecido con la solución y colocado en el extremo contrario al punto donde se encontraba el inóculo.

6.7.4 Siembra e incubación

- La siembra se realizó dentro de la campana de flujo laminar mezclando en forma homogénea el inóculo primario con el sustrato, dentro de bolsas nuevas transparentes de polipapel de 23 x 37 cm.
- Al momento de cerrar la bolsa, luego de terminar la siembra, se tuvo el cuidado de sacar el aire del interior de las bolsas antes de hacer el nudo con la misma bolsa.
- Luego las bolsas ya inoculadas se trasladaron a la sala de incubación donde se mantuvieron bajo condiciones de oscuridad y a una temperatura de 26°C durante 30 días (figura 4A).
- Cuatro días después de la siembra se realizó perforaciones perfectamente distribuidas sobre la parte superior de la bolsa de polietileno teniendo el cuidado de no tocar al sustrato. Esto con el fin de permitir un mejor intercambio gaseoso y un mejor crecimiento del hongo.
- Al finalizar el período de incubación la apariencia del micelio fue blanco-algodonosa que cubrió y compactó totalmente el sustrato (figura 6A).

6.7.5 Fructificación y cosecha

- Dentro de la sala de fructificación se procedió a eliminar la bolsa de polipapel y se colocó cada tratamiento conforme a la distribución espacial del diseño para su fructificación.
- En la sala de fructificación fue necesario considerar las condiciones adecuadas de ventilación, humedad, temperatura e iluminación; para evitar el resecado del sustrato.
- Para cosechar los carpóforos se esperó a que alcanzaran el mayor tamaño posible, pero sin permitir que el borde del píleo comenzara a enrizarse. La cosecha se realizó cortando el estípite con un cuchillo o bisturí estéril, justo a la base del tallo, en la unión con el sustrato. Se tomó el peso fresco de los hongos de cada corte de cada unidad experimental. Para calcular la eficiencia biológica se consideró el peso acumulativo de los hongos frescos hasta la segunda cosecha (figura 7A).

6.7.6 Control de plagas durante la fructificación

- El control de plagas durante esta etapa se realizó más como de carácter preventivo, por lo que la sala de fructificación se mantuvo cerrada todo el tiempo.
- Para ingresar a la sala de fructificación fue necesario pasar por un pediluvio lleno con desinfectante a base cloro con el fin de evitar el ingreso de cualquier agente patógeno o contaminante a las instalaciones.
- Ninguna unidad fue atacada por alguna plaga insectil, hongo o bacteria dañina, por lo que no fue necesario eliminar alguna de ellas.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La producción del hongo *Pleurotus ostreatus* en los tratamientos evaluados, se efectuó de acuerdo a la metodología descrita anteriormente y duró 81 días; desde la siembra del micelio en cajas petri hasta la obtención de la segunda cosecha.

En el cuadro 9 se puede observar la duración de cada una de las etapas del ciclo de vida del hongo *Pleurotus ostreatus*, en el cual demuestra su corto tiempo de producción.

Cuadro 9. Duración de las etapas para la producción de *Pleurotus ostreatus*.

Etapas	Duración en días
Crecimiento del micelio en cajas de petri	12
Obtención del inóculo en semilla de sorgo	30
Incubación y Crecimiento	21
Fructificación	18
Total	81

Los resultados obtenidos se detallan ordenadamente a continuación:

7.1 Cuantificación del peso de los carpóforos

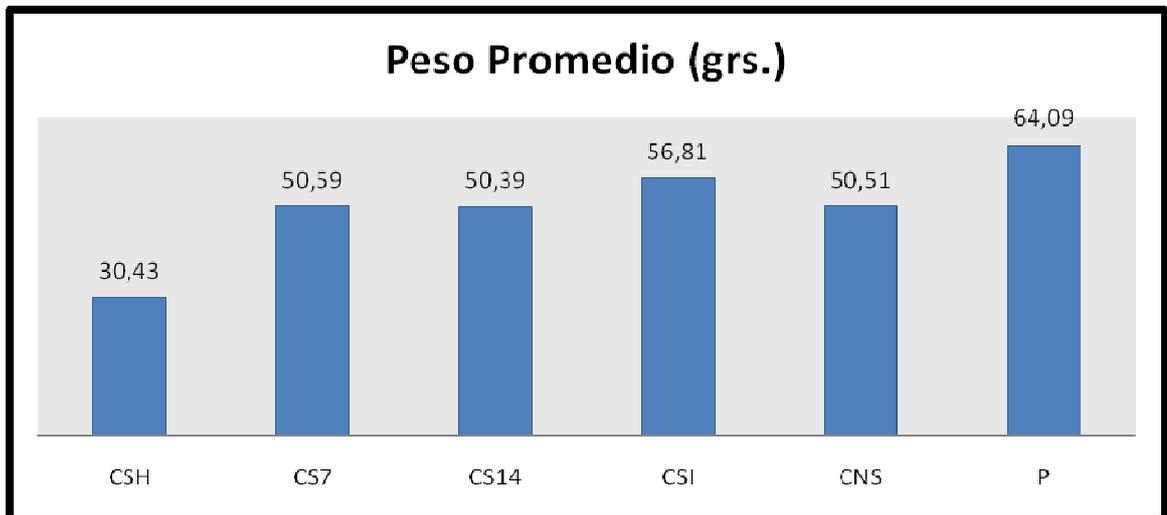
Para cuantificar el peso fresco de los carpóforos producidos, se realizaron dos cosechas, en un lapso de 26 días de fructificación. El mayor rendimiento en peso fresco se obtuvo en la primera cosecha, y disminuyó en la siguiente. En promedio en la primera cosecha se obtuvo 69.83 por ciento de la producción total obtenida.

El cuadro 10 presenta los diferentes pesos frescos en gramos obtenidos de los carpóforos en cada unidad experimental.

Cuadro 10. Producción de *Pleurotus ostreatus* por tratamiento en gramos.

Tratamientos	Bloques (Repeticiones)						Peso Fresco Promedio (gramos)
	I	II	III	IV	V	VI	
CSH	34.0	30.1	29.6	26.7	31.3	30.9	30.43
CS7	55.4	52.4	50.5	48.0	48.5	48.6	50.59
CS14	49.3	54.2	50.7	48.0	50.6	49.6	50.39
CSI	55.1	56.0	55.9	59.2	56.6	58.1	56.81
CNS	55.9	50.7	49.9	48.6	49.5	48.5	50.51
P	68.5	63.2	59.7	63.8	63.1	66.3	64.09

En la figura 2 se muestra de manera gráfica el comportamiento del peso fresco en gramos obtenido por los carpóforos en cada tratamiento.

**Figura 2.** Peso fresco promedio en gramos de los carpóforos por tratamiento.

La figura 2 muestra el rendimiento del peso fresco promedio obtenido por cada tratamiento. El mayor rendimiento en peso fresco se obtuvo con el tratamiento “P” que corresponde a la pulpa de café (testigo relativo), con 64.09 gramos, luego el segundo mejor peso lo presentó el tratamiento “CSI” (caña de maíz suplementada al momento de la inoculación), con 56.81 gramos seguidos por los tratamientos “CS7”, “CS14” (caña de maíz suplementada a los 7 y 14 días después de la inoculación) y “CNS” (caña de maíz sin suplementar), con 50.59, 50.39 y 50.51 gramos respectivamente. En tanto que el peso más bajo lo registró el tratamiento “CSH” (caña de maíz suplementada al momento de la hidratación), con un peso de 30.43 gramos.

7.2 Cuantificación de la eficiencia biológica

En el cuadro 11 se presenta la eficiencia biológica obtenida en porcentaje del hongo *Pleurotus ostreatus*, para cada unidad experimental.

Cuadro 11. Eficiencia biológica (EB) promedio en porcentaje para cada tratamiento.

Tratamientos	Bloques						EB (%) promedio
	I	II	III	IV	V	VI	
CSH	68.0	60.2	59.3	53.4	62.5	61.8	60.86
CS7	110.8	104.9	101.1	96.0	97.1	97.3	101.18
CS14	98.5	108.4	101.4	96.0	101.2	99.2	100.78
CSI	110.2	111.9	111.7	118.4	113.2	116.3	113.62
CNS	111.7	101.5	99.8	97.3	99.0	96.9	101.02
P	137.0	126.4	119.3	127.7	126.2	132.6	128.19

En la figura 3 se observa de manera gráfica el comportamiento de la eficiencia biológica en porcentaje del hongo *Pleurotus ostreatus* en cada uno de los tratamientos evaluados.

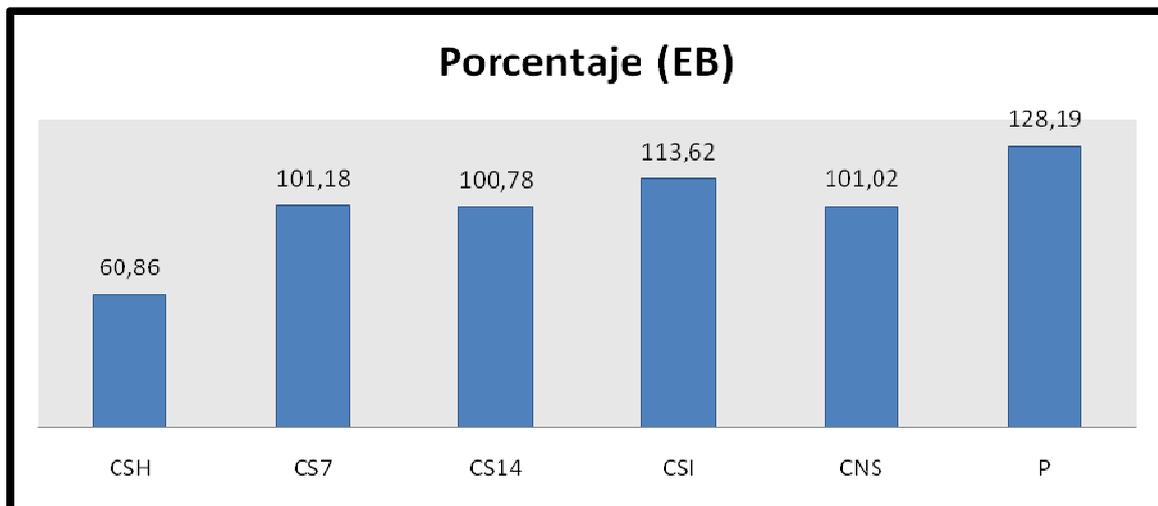


Figura 3. Eficiencia biológica (EB) promedio por tratamiento.

En la figura 3 se presenta la eficiencia biológica promedio en porcentaje del hongo *Pleurotus ostreatus*, en donde se observa que la mejor eficiencia biológica la obtuvo el tratamiento “P” (pulpa de café), con 128.19 por ciento, en segundo lugar se encuentra el tratamiento “CSI” (caña de maíz suplementada al momento de la inoculación), con 113.62 por ciento, seguidos por los tratamientos “CS7”, “CS14” (caña de maíz suplementada a los 7 y 14 días después de la inoculación) y “CNS” (caña

de maíz sin suplementar), con 101.18, 100.78 y 101.02 por ciento respectivamente. En tanto que el tratamiento que presentó la eficiencia biológica más baja fue “CSH” (caña de maíz suplementada al momento de la hidratación), con 60.86 por ciento.

Los resultados de eficiencia biológica se relacionan directamente con el contenido de lignina y celulosa, aminoácidos, vitaminas y minerales. Es decir, que las diferencias entre tratamientos evaluados en cuanto a eficiencia biológica, pudieron deberse al grado de biodisponibilidad de estos en el sustrato; de manera que a mayor eficiencia biológica mayor consumo de lignina y celulosa, aminoácidos, vitaminas y minerales; y viceversa (Ceballos Alecio, 2007).

A la variable de respuesta de eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* se le realizó un análisis de varianza (ANDEVA), y prueba de medias de Tukey con un nivel de confianza del 95 por ciento ($\alpha = 0.05$). El cuadro 12 contiene el resumen del ANDEVA realizado a los datos de eficiencia biológica.

Cuadro 12. Resumen del ANDEVA para la eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus*.

FV	GL	SC	CM	Valor de F	Pr>F
Bloques	5	62.2935479			
Tratamientos	5	3764.08215	752.81643	150.164422	2.603
Error experimental	25	125.332023	5.01328092		
Total	35	3951.70772			
C.V. = 4.44%			$\alpha = 0.05$		

El análisis de varianza del cuadro 12 reveló que existen diferencias significativas entre los tratamientos ya que Pr>F es igual a 2.603. Por otro lado, la variabilidad experimental debida al error permitido para el experimento fue relativamente baja, de 4.44 por ciento. Este coeficiente de variación indica que la metodología se llevo a cabo correctamente.

Al encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre los sustratos evaluados se procedió a realizar la prueba de comparación múltiple de medias de acuerdo con el criterio de Tukey, a un nivel de significancia de 0.05. Los resultados se muestran en los cuadros 13 y 14.

Cuadro 13. Prueba múltiple de medias de Tukey con un 95 % de confiabilidad para el análisis de varianza de la eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus*.

Tratamientos	EB (%)	P	CSI	CS7	CNS	CS14	CSH
		128.19	113.62	101.18	101.02	100.78	60.86
CSH	60.86	67.32 *	52.76 *	40.31 *	40.15 *	39.92 *	0.00
CS14	100.78	27.40 *	12.84 *	0.39 NS	0.23 NS	0.00	
CNS	101.02	27.17 *	12.60 *	0.16 NS	0.00		
CS7	101.18	27.01 *	12.45 *	0.00			
CSI	113.62	14.57 *	0.00				
P	128.19	0.00					

* = Significativo al 95 %

NS = No significativo

W = 4.01

Cuadro 14. Resumen de la prueba múltiple de medias usando el criterio de Tukey.

Tratamientos	EB (%)	Grupo
P	128.19	a
CSI	113.62	b
CS7	101.18	c
CNS	101.02	c
CS14	100.78	c
CSH	60.86	d

De acuerdo a los dos cuadros anteriores, las prueba de Tukey dio como resultado que la mayor eficiencia biológica del hongo *Pleurotus ostreatus* la presentó el tratamiento “P” (pulpa de café), en segundo puesto el tratamiento “CSI” (caña de maíz suplementada al momento de la inoculación), seguido por los tratamientos “CS7”, “CS14” y “CNS” (caña de maíz suplementada a los 7, 14 días y no suplementada) y por último el tratamiento que presentó la peor eficiencia biológica “CSH” (caña de maíz suplementada al momento de la hidratación).

También se puede observar que suplementar a los 7 ó 14 días no mejora la eficiencia biológica en comparación a no suplementar en lo absoluto y que suplementar al momento de la hidratación disminuye la eficiencia biológica. En estos tratamientos es necesario tener en cuenta un factor muy importante que influyó, el cual es el pH; el potencial hidrógeno donde crece el hongo tiene una influencia directa sobre éste, porque incide directamente sobre el carácter iónico del medio e influye directamente sobre las proteínas de la membrana y sobre la actividad de las enzimas ligadas a la pared celular; es decir, afecta directamente el metabolismo del propio hongo (Sánchez Vásquez, Royse, 2002).

En el caso del tratamiento “suplementar al momento de la hidratación” existió una variación notable en el pH, dado que este alcanzó un valor de 8.4 y una conductividad eléctrica de $9.2 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ ⁴ en la etapa inicial previó a realizar la inoculación, lo cual afectó el crecimiento del hongo debido a que el hongo tiene un rango de crecimiento entre 4 y 7 de pH (21). Además de que el hongo está en la etapa inicial de crecimiento (etapa más sensible a los valores altos de pH), lo que complicó la invasión del micelio en el sustrato y el hongo redujo completamente su crecimiento a tal punto que se vio casi totalmente inhibido su desarrollo.

Los tratamientos “suplementar a los 7 ó 14 días después de la inoculación” también vieron reducido su crecimiento debido a la variación del pH producido por la suplementación con urea, esta variación del pH consiste en el aumento inicial del mismo debido a la amonificación, por causa del NH_3 (producto de amonificación) que reacciona con el agua formando hidróxido de amonio lo cual aumenta el pH del sustrato. Posteriormente el pH tiende a bajar al darse el proceso de nitrificación en la cual se liberan iones hidrógeno (H^+) lo que acidifica el sustrato (25). Esta variación de pH afectó el crecimiento del hongo aun cuando las condiciones de temperatura y nutrientes fueron óptimos, a pesar también de que la concentración teórica de nitrógeno y la relación C/N en el sustrato fue la óptima recomendada por Hong.

El tratamiento “suplementar al momento de la inoculación” produjo un incremento en la eficiencia biológica de 12.6 por ciento en comparación a no suplementar en lo absoluto, esto concuerda con lo citado por Sánchez y Royse donde mencionan un incremento entre 10 y 25 por ciento. Aunque este tratamiento no superó a la pulpa de café, presentó un incremento en su rendimiento debido a la suplementación nitrogenada y este resultado positivo a diferencia de los otros tratamientos evaluados puede deberse a la forma en que se aplicó la urea. En este tratamiento la aplicación se hizo en un punto alejado del inóculo para tratar de no afectar al hongo en la etapa inicial de crecimiento, lo que permitió la invasión del micelio en el sustrato y el posterior aprovechamiento de la urea cuando el hongo ya estuviera más desarrollado y fuese más resistente a la elevada concentración de nitrógeno disponible que fue suplementado. De no haberlo hecho de esta manera hubiera sucedido lo mismo que con el tratamiento suplementado al momento de la hidratación (peor tratamiento) donde al contrario la urea estaba homogenizada en todo el sustrato.

⁴ $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ significa milisiemens por centímetro que es una unidad de medida de la conductividad eléctrica.

Habría que hacer notar que el método de suplementación de la urea en los tratamientos “suplementar al momento de la hidratación y al momento de la inoculación” varió de los demás tratamientos. En la etapa de hidratación no hay otra forma de agregar la urea más que en el agua utilizada para humedecer el sustrato, mientras que en la etapa de inoculación se optó por utilizar un algodón para llevar la urea al sustrato, debido a que este tiene la ventaja de poder reunir la urea y permitir su difusión lenta. En los tratamientos “suplementar a los 7 ó 14 días después de la inoculación” no tiene sentido agregar el algodón porque el micelio ya ha cubierto el sustrato formando una capa compacta en el mismo.

Finalmente se vuelve a establecer como mejor sustrato para la producción del hongo *Pleurotus ostreatus* la pulpa de café, siempre y cuando exista disponibilidad de la misma; para aquellos lugares donde no hay disponibilidad de la pulpa de café la suplementación nitrogenada con urea en la etapa de la inoculación de materiales abundantes, disponibles y de bajo costo como la caña de maíz puede ser una opción válida para mejorar la eficiencia biológica.

8. CONCLUSIONES

- 8.1 La etapa del proceso de producción más adecuada para realizar la suplementación nitrogenada con urea es al momento de la inoculación del hongo.
- 8.2 El efecto de suplementar con urea la caña de maíz en las distintas etapas del proceso de producción si tiene efecto sobre la eficiencia biológica del hongo *Pleurotus ostreatus*, ya sea que aumente o disminuya la eficiencia biológica.
- 8.3 Se determinó que ninguno de los tratamientos supera a la pulpa de café (testigo relativo) que se confirmó como el mejor sustrato para la producción de *Pleurotus ostreatus* con una eficiencia biológica de 128.19 por ciento, sin embargo entre los tratamientos evaluados el que presenta la mayor eficiencia biológica es suplementar la caña de maíz al momento de la inoculación con 113.62 por ciento.

9. RECOMENDACIONES

- 9.1 Según los resultados obtenidos se recomienda realizar la suplementación nitrogenada con urea de la caña de maíz (*Zea mays* L.) al momento de la inoculación, para la producción de *Pleurotus ostreatus*.
- 9.2 Continuar utilizando pulpa de café (*Coffea arábica* L.) como sustrato para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*, principalmente en regiones donde esta misma es de fácil adquisición.
- 9.3 Continuar con los estudios que ayuden a definir con más precisión cada una de las etapas fisiológicas del hongo y los procesos metabólicos que se dan en cada una de ellas.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Aldana Martínez, A. 2000. Comparación de la eficiencia de producción de inóculo primario del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* Cepa ECS 0110, en cinco granos. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 55 p.
2. Ardón López, CE. 2004. Evaluación de pericarpio de jacaranda (*Jacaranda mimosaeifolia*) y pasto estrella africana (*Cynodon plectostachyus*), para el cultivo artesanal del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus* ECS-0112). Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 85 p.
3. CABI (Centro internacional para agricultura y biociencias). 2008. Species Fungorum (en línea). Estados Unidos. Consultado 14 set 2007. Disponible en: <http://www.indexfungorum.org/Names/SynSpecies.asp?RecordID=174220>
4. Calderón Mérida, JA. 2007. Trabajo de investigación para graduación realizada en la facultad de agronomía, USAC. Guatemala, USAC, facultad de agronomía.
5. Camey Montepeque, CA. 2002. Comparación de la eficiencia de cinco métodos de desinfección como alternativa a la pasteurización de sustratos en el cultivo de *Pleurotus ostreatus* ECS-0112. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 32 p.
6. Ceballos Alecio, DA. 2007. Evaluación de rastrojo de maíz (*Zea mays* L.) y hojarasca de roble (*Quercus peduncularis*) previo al cultivo artesanal del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus* ECS 110). Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 42 p.
7. España Morales, HE. 2001. Evaluación de la utilización de frutos de cushin (*Inga micheliana*) y frutos de hule (*Hevea brasiliensis*) para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 39 p.
8. Fajardo Montes, FA. 2001. Producción de *Pleurotus ostreatus* ECS 0110 utilizando como sustratos los mantillos de encino (*Quercus acatenangensis*), conacaste (*Enterolobium cyclocarpum*) y liquidambar (*Liquidambar styraciflua*). Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 46 p.
9. Garcés, A; Vélez, N; Ruiz, S; Serna, J; Suárez, E. 2005. Evaluación de algunos residuos orgánicos como sustrato para el cultivo de hongos comestibles (en línea). España. Revista Lasallista de Investigación, 2: 15-20. Consultado 17 set 2007. Disponible en: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=zbh&AN=20948966&lang=es&site=eh-ost-live>
10. García Ramos, DA. 2000. Utilización de rastrojos de maíz (*Zea mays* L.) y cascarilla de arroz (*Oriza sativa* L.) como sustrato para el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 37 p.
11. Girón de León, DF. 2000. Cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* en subproductos lignocelulosicos derivados de la agroindustria de la palma africana (*Elaeis guineensis* jacq.). Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 53 p.

12. González Molina, MA. 2002. Domesticación de la cepa nativa del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*) RPM-FAUSAC:001 sobre la pulpa de café, bajo las condiciones de la ciudad capital. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 40 p.
13. IAPT (International code of botanical nomenclature). 2005. Names of fungi with a pleomorphic life cycle (en línea). Viena, Austria. Consultado 14 set 2007. Disponible en: <http://ibot.sav.sk/icbn/main.htm>
14. IGM (Instituto Geográfico Militar, GT). 1983. Mapa topográfico de la república de Guatemala; hoja Ciudad de Guatemala, no. 20591. Guatemala, Esc. 1:50,000. Color.
15. Infoagro.com. 2007. Cultivo industrial de setas (en línea). Madrid, España Consultado 17 set 2007. Disponible en: <http://www.infoagro.com/>
16. INSIVUMEH (Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología, GT). 2006. Tarjetas de registros climáticos de la estación experimental de la ciudad capital; Guatemala; Guatemala.
17. Lazo Lemus, G. 2001. Determinación de la eficiencia del rastrojo de tomate (*Lycopersicon sculentum* Miller) y la corona del fruto de piña (*Ananas comosus* L.) Merrill) y sus mezclas en el cultivo de la Cepa ESC 0110 de *Pleurotus* (*Pleurotus ostreatus*). Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 40 p.
18. Mendoza Leonardo, AO. 2001. Evaluación del efecto de la pulpa del café (*Coffea arabica* L.) sobre el rendimiento y eficiencia biológica de la cepa ECS-0110 de *Pleurotus ostreatus* utilizando estopa de coco (*Cocos nucifera* L.) y estróbilos de pino (*Pinus spp.*) como sustratos. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 45 p.
19. Monterroso Flores, OG. 2007. Efecto de la suplementación de la caña de maíz (*Zea mays* L.) con nitrato de amonio, nitrato de potasio y urea en el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* (Cepa ECS-152). Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 46 p.
20. Ramírez, A. 2004. Selección y tratamiento de sustratos (en línea). México. Consultado 27 Ago 2007. Disponible en: <http://www.geocities.com/agrotlahuac/seleccionhongo.html>.
21. Ribagorza.com. 2004. Partes básicas de una seta (en línea). España. Consultado 28 oct 2007. Disponible en: www.ribagorza.com/asp/micologiapartes.asp.
22. Rojas Domingo, EA. 2004. Evaluación de paja de trigo, *Triticum sativum*; broza de encino, *Quercus* sp. y rastrojo de maíz, *Zea mays*; para el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* bajo condiciones artesanales en San Rafael La Independencia, Huehuetenango. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 82 p.
23. Sánchez Vásquez, JE. 1994. Producción de hongos comestibles. México, Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste. 109 p.
24. Sánchez Vásquez, JE; Royse, D. 2002. La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. México, Limusa . 294 p.

25. Schiess M. 2002. Hongos comestibles (en línea). México. Consultado 17 set 2007. Disponible en: <http://www.ceiren.uchile.cl/webcursos/cmd>
26. Tarot Gálvez, ME. 2002. Evaluación del fruto de morro (*Crescentia alata*) y madera de pito (*Erithrina beteroana* U.) utilizados como sustratos en el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 46 p.
27. Textoscientificos.com. 2005. Urea (en línea). México. 5 p. Consultado 17 set 2007. Disponible en: <http://www.textoscientificos.com/quimica/urea>.
28. Tisdale, SL; Nelson, WL. 1966. Fertilidad de los suelos y fertilizantes. Nueva York, Estados Unidos, MacMillan. 737 p.
29. Tuchan Ruano, OE. 2004. Evaluación del efecto de la pulpa de café (*Coffea arábica*) en el incremento de la eficiencia biológica de la cepa inireb-8 de *Pleurotus ostreatus* utilizando cascara de cacao (*Theobroma cacao*) y bambú (*Bambusa vulgaris* var. *Striata*) como sustratos. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 46 p.
30. Venturella, G. 2007. Red List of threatened species *Pleurotus nebrodensis* (en línea). Estados Unidos. IUCN. Consultado 14 set. 2007. Disponible en: www.iucnredlist.org.

11. APÉNDICES O ANEXOS



Figura 4A. Sala de incubación donde se muestra la ubicación de las unidades experimentales.
Fuente: Calderón Mérida, 2007.



Figura 5A. Unidad experimental cubierta completamente por micelio del hongo *P. ostreatus*.
Fuente: Calderón Mérida, 2007.



Figura 6A. Etapa de desarrollo del micelio del hongo *P. ostreatus* adecuada para iniciar la fase de fructificación.

Fuente: Calderón Mérida, 2007.



Figura 7A. Etapa de desarrollo de los carpóforos de *P. ostreatus* adecuada para realizar la cosecha.

Fuente: Calderón Mérida, 2007.



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
 FACULTAD DE AGRONOMÍA
 LABORATORIO DE SUELO-PLANTA-AGUA "SALVADOR CASTILLO ORELLANA"



ANEXO 1

INTERESADO: JORGE CALDERON
ANALISIS DE MATERIALES ORGANICOS

IDENTIFICACION	pH	mS/cm C.E.	%				ppm					%		C : N
			P	K	Ca	Mg	Cu	Zn	Fe	Mn	Na	M.O	NT	
PULPA DE CAFE	6.7	37.10	0.21	3.81	0.56	0.13	10	10	125	10	925	19.24	2.51	4.4 : 1
RASTROJO PICADO	8.2	6.77	0.22	1.63	0.25	0.13	5	30	110	45	300	80.05	0.55	84.3 : 1

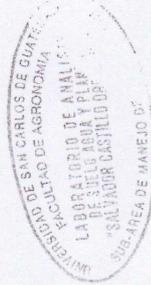




ANEXO 2

INTERESADO: JORGE CALDERON
ANÁLISIS DE pH y Conductividad Eléctrica.
FECHA DE INGRESO: 22/9/08

Tratamiento	pH inicial	pH final	C.E. Inicial	C.E. Final
Rastrojo de maíz suplementado al momento de la inoculación	8.4	6.8	9.2 mS·cm ⁻¹	4.05 mS·cm ⁻¹



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
 FACULTAD DE AGRONOMÍA
 LABORATORIO DE SUELO-PLANTA-AGUA "SALVADOR CASTILLO ORELLANA"

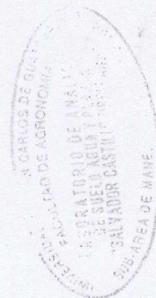


ANEXO 3

INTERESADO: JORGE CALDERON
ANÁLISIS DE SUSTRATOS
FECHA DE INGRESO: 22/9/08

Análisis de sustratos evaluados.

Tratamiento	% N	% C.O.	Relación C/N en el sustrato
Rastrojo de maíz	0.50	42.15	84.3:1
Pulpa de café	2.51	11.04	4.4:1



ANEXO 4

**INTERESADO: JORGE CALDERON
ANÁLISIS DE NITROGENO
FECHA DE INGRESO: 22/9/08**

Tratamiento	% N inicial sustrato	% N a suplementar	Suplemento en gramos	% N final sustrato	% C.O.	Relación C/N en el sustrato
Rastrojo de maíz	0.50	1.00	1.087	1.50	42.15	84.3:1
Pulpa de café	2.51	2.51	0.00	2.51	11.04	4.4:1

