



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESTANDARIZACIÓN DE UN PROTOCOLO PARA LA PRODUCCIÓN
DE SEMILLAS DE HONGO OSTRA *Pleurotus ostreatus* ADAPTADO A
LAS CONDICIONES DE LABORATORIO



AUTORA

Carla Andrea Villacís Junco

AÑO

2017



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESTANDARIZACIÓN DE UN PROTOCOLO PARA LA PRODUCCIÓN DE
SEMILLAS DE HONGO OSTRA *Pleurotus ostreatus* ADAPTADO A LAS
CONDICIONES DE LABORATORIO.

Trabajo de titulación presentado en conformidad con los requisitos para optar
por el título de Ingeniera Agroindustrial y de Alimentos.

Profesor guía

Ing. María Elizabeth Mosquera Quelal

Autora

Carla Andrea Villacís Junco

Año

2017

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

María Elizabeth Mosquera Quelal
Ingeniera Agropecuaria
C.C. 1715044192

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

Mauricio Andrés Racines Oliva
Doctorado en Biociencias
C.C. 1710902162

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”.

Carla Andrea Villacís Junco

C.C.1104128143

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia, por apoyarme en todas las fases de mi vida.

A mi tutora de tesis Elizabeth Mosquera por su paciencia y por brindarme sus conocimientos y guía. A Ana Parra que me brindo su ayuda desde el inicio del proyecto.

DEDICATORIA

A mi familia que me brindo apoyo y fortaleza para culminar mis estudios.

RESUMEN

Pleurotus ostreatus, es un hongo capaz de degradar la celulosa, hemicelulosa, y lignina que están presente en casi todos los desechos agroindustriales. Cultivar hongos ostra es una posible solución para darle un uso a los desperdicios de las empresas que elaboran productos agrícolas y se incentiva al cultivo de este hongo a través de un protocolo. Los hongos ostras han sido cultivados principalmente en tocones de maderas, botellas de vidrios y fundas, siendo estas las más utilizadas comercialmente debido a su facilidad de uso y de obtención. Esta investigación tuvo como objetivo estandarizar un protocolo para la producción de semillas de hongo ostra mediante la determinación del sustrato con mayor índice de producción de hifas comercialmente conocidas como semillas, mayor rendimiento de setas y el menor índice de contaminación, factores que en el estudio se consideraron como variables. A nivel de laboratorio se evaluaron 3 materias primas diferentes: bagazo de caña, tamo de cebada y aserrín. Cada una de ellas con un porcentaje mayor al 80% de materia orgánica; se realizó 5 formulaciones con un nivel alto, medio y bajo de cada una de las materias primas y 3 tratamientos con 100% de cada una, para determinar en qué formulación se obtuvo los mejores resultados en las variables ya mencionadas. En el índice de producción de semillas no hubo diferencias estadísticas entre los 7 tratamientos, según la media aritmética el tratamiento 1 conformado por 75% bagazo de caña y 25% tamo de cebada fue el sustrato que mayor porcentaje de semillas tuvo con $2,5 \pm 0,5\%$. En la segunda variable rendimiento de setas, según el grupo tukey los tratamientos que pertenecían al grupo A, fueron los que obtuvieron un mayor porcentaje de rendimiento, siendo el tratamiento 1 el que obtuvo el porcentaje más alto con una media de $25 \pm 2\%$ y un peso de setas de $35 \pm 2,8$ gramos. En la tercera variable, índice de contaminación, de las 28 unidades experimentales, solo se contaminó una funda con un índice de contaminación de 1,05% que no repercutió significativamente en el crecimiento del hongo ostra. Se evaluó tres diferentes tiempos; tiempo de incubación que se

comprende desde el día que se realiza la inoculación hasta el día que el micelio se expandió, tiempo de fructificación que comprende desde que se realiza los cortes en la funda hasta la aparición de los primordios y el tiempo de cosecha que comprende desde la aparición de los primordios hasta que los sombreros estuvieron listos para cosechar. En el tiempo de incubación, según la media aritmética el tratamiento 1 (75% bagazo de caña y 25% tamo de cebada) y tratamiento 7 (100% tamo de cebada) tuvieron tiempos inferiores con 22 ± 1 días. En el tiempo de fructificación se obtuvo que el tratamiento 1 (75% bagazo de caña y 25% tamo de cebada) y tratamiento 5 (100% bagazo de caña) obtuvieron tiempos inferiores según la media aritmética con $4,8 \pm 0,5$ días. En el tiempo de cosecha según la prueba tukey, los tratamientos que pertenecían al grupo B tenían menor tiempo de cosecha, siendo el tratamiento 1 (75% bagazo de caña y 25% tamo de cebada) el que menor tiempo de cosecha tuvo con $5,3 \pm 1$ días. El bagazo de caña mezclado con tamo de cebada brinda un alto contenido de materia orgánica que el hongo degrada y lo transforma en cuerpos fructíferos, siendo el tratamiento óptimo para el cultivo de hongo ostra.

ABSTRACT

Pleurotus ostreatus, is a fungus capable of degrading the cellulose, hemicellulose, and lignin that is present in almost all agro industrial wastes. Growing oyster mushrooms is a possible solution to give a use to waste from companies that produce agricultural products and encourages the cultivation of this fungus through a protocol. Oyster mushrooms have been grown mainly on stumps of wood, glass bottles and sheaths, these being the most commonly used commercially due to their ease of use and obtaining. This research aimed to standardize a protocol for the production of oyster mushroom seeds by determining the substrate with the highest production index of commercially known hyphae as seeds, higher yield of mushrooms and the lowest contamination index, factors that in the study were considered as variables. At the laboratory level, 3 different raw materials were evaluated: cane bagasse, barley loaf and sawdust. Each one with a percentage greater than 80% of organic matter; 5 formulations were carried out with a high, medium and low level of each of the raw materials and 3 treatments with 100% of each, to determine in which formulation the best results were obtained in the variables already mentioned. In the seed production index there were no statistical differences between the 7 treatments, according to the arithmetic mean treatment 1 made up of 75% bagasse of cane and 25% of barley was the substrate that had the highest percentage of seeds with $2,5 \pm 0,5\%$. In the second variable, yields of mushrooms, according to the tukey group, treatments that belonged to group A, were the ones that obtained a greater percentage of yield, being the treatment 1 that obtained the highest percentage with an average of $25 \pm 2\%$ and A mushroom weight of $35 \pm 2,8$ grams. In the third variable, contamination index, of the 28 experimental units, only one sheath was contaminated with a contamination index of 1,05%, which did not significantly affect oyster mushroom growth. Three different times were evaluated; Incubation time from the day of the inoculation to the day the mycelium expanded, a fruiting time from the time the

cuts are made in the sheath to the appearance of the primordia and the harvest time comprising from the appearance of the primordia until the hats were ready to harvest. In the incubation time, according to the arithmetic mean treatment 1 (75% cane bagasse and 25% barley) and treatment 7 (100% barley) had lower times with 22 ± 1 days. In the fruiting time, treatment 1 (75% cane bagasse and 25% barley) and treatment 5 (100% cane bagasse) obtained lower times according to the arithmetic mean with $4, 8 \pm 0, 5$ days. At the time of harvest according to the tukey test, the treatments that belonged to group B had less time of harvest, being the treatment 1 (75% bagasse of cane and 25% of barley) the one that less time of harvest had with $5, 3 \pm 1$ days. The cane bagasse mixed with barley straw provides a high content of organic matter that the fungus degrades and transforms it into fruiting bodies, being the optimal treatment for the cultivation of oyster mushroom.

ÍNDICE

1. CAPÍTULO I. Introducción.....	1
2. CAPÍTULO II. Marco teórico.....	5
2.1 Champiñón u hongo ostra	5
2.1.1 Características nutricionales del hongo ostra.....	6
2.1.2 Clasificación taxonómica del hongo ostra	8
2.1.3 Importancia del hongo ostra	8
2.2 Crecimiento comercial del hongo ostra.....	9
2.3 Cultivo del hongo ostra	10
2.4 Condiciones ambientales.....	12
2.4.1 Temperatura.....	13
2.4.2 pH.....	13
2.4.3 Humedad.....	14
2.4.4 Ventilación.....	14
2.4.5 Iluminación	15
2.5 Elementos necesarios para el cultivo del hongo	17
2.5.1 Semilla o inóculo	17
2.5.2 Sustratos	17
2.5.2.1 Tipos de sustratos	18
2.5.3 Preparación del sustrato.....	21
2.5.3.1 Corte	21
2.5.3.2 Humectación	21
2.5.3.3 Recipientes	22
2.5.3.4 Esterilización	22
2.5.3.5 Tasa de inoculación	23
2.6 Etapas de cultivo	24
2.6.1 Inoculación	24

2.6.2 Incubación	25
2.6.3 Fructificación	26
2.6.4 Cosecha	26
2.7 Problemas en el cultivo.....	27
2.7.1 Plagas	27
2.7.2 Patógenos para el cultivo	28
2.7.3 Acciones preventivas para el cultivo	29
2.8 Medición de calidad.....	30
2.8.1 Índice de producción de hifas.....	30
2.8.2 Rendimiento de setas.....	30
2.8.3 Contaminación	31
3. CAPITULO III. Estudio técnico.....	32
3.1 Lugar de investigación.....	32
3.2 Materiales y equipos.....	33
3.2.1 Materiales.....	33
3.2.2 Equipos	33
3.3 Diseño experimental.....	34
3.4 Metodología.....	36
3.4.1 Adaptación de espacio físico.....	36
3.4.2 Preparación de sustratos.....	37
3.4.3 Etapas de producción.....	38
3.4.3.1 Inoculación	38
3.4.3.2 Incubación.....	38
3.4.3.3 Fructificación	39
3.4.3.4 Cosecha	40
4. CAPÍTULO IV. Resultados y discusiones.....	40
4.1 Análisis estadístico del índice de producción de semilla.....	41
4.2 Análisis estadístico del rendimiento de setas.....	45

4.3 Análisis estadístico de tiempos de crecimiento en el hongo ostra.....	51
4.4 Contaminación.....	56
5. Conclusiones y recomendaciones.....	60
5.1 Conclusiones.....	60
5.2 Recomendaciones.....	62
REFERENCIAS	64
ANEXOS	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología del hongo	5
Figura 2. Contaminación en el tratamiento 4.....	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del hongo ostra	8
Tabla 2. Producción de hongo ostra en países de América	9
Tabla 3. Resumen de condiciones ambientales en las diferentes etapas de producción	16
Tabla 4. Materia orgánica presente en pajas y salvado de cereales	20
Tabla 5. Temperaturas letales para agentes problemas que atacan al hongo ostra	23
Tabla 6. Descripción de condiciones ambientales del laboratorio de la Udla sede Queri	32
Tabla 7. Característica del proyecto investigativo	34
Tabla 8. Tratamientos utilizados	35
Tabla 9. Análisis de varianza de índice de producción de semilla (IP)	41
Tabla 10. Promedio de las 4 repeticiones del IP, peso del sustrato inoculado y el peso del sustrato a los 23 días de haber sido inoculado (n=4)	43
Tabla 11. Análisis de varianza de rendimiento de setas	46
Tabla 12. Promedio del peso de setas y promedio del rendimiento (n=4)	47
Tabla 13. Análisis de varianza del tiempo de incubación	52
Tabla 14. Análisis de varianza del tiempo de fructificación	52
Tabla 15. Análisis de varianza del tiempo de cosecha	53
Tabla 16. Promedio del tiempo en días del cultivo del hongo ostra	54

1. CAPÍTULO I. Introducción

Los hongos ostra son cultivados alrededor del mundo siendo las segundas setas comestibles más producidas (Garzón y Cuervo, 2008), esto se debe a su capacidad de crecer en un amplio rango de temperaturas y que se puede utilizar como sustrato todo tipo de desecho agro industrial. El crecimiento de hongo ostra convierte un gran porcentaje de lignina presente en el sustrato en cuerpos fructíferos debido a enzimas extracelulares degradadoras como manganeso peroxidasa presente en los hongos de podredumbre blanca. (Sharma, Yadav, y Pokhrel, 2013).

Los hongos ostra, son conocidos por ser de pudrición blanca, es decir que la lignina del sustrato en el que se encuentran, es el polímero que descomponen primeramente (Luley, 2006). Este hongo puede ser sembrado en cualquier tipo de residuo agrícola o agroindustrial que contenga lignina, celulosa y hemicelulosa. Es decir, cualquier tipo de desecho de plantaciones agrícolas, principalmente de cereales, de la misma forma se puede utilizar desechos de empresas industriales como el aserrín, cartón, papel, entre otros (Bilal, Mushtaq y Moinuddin, 2014).

El hongo ostra no requiere controles ambientales tan exhaustivos, ya que los cuerpos fructíferos no son comúnmente atacados por plagas o enfermedades y pueden ser sembrados en una forma simple y económica. El tiempo que se requiere para cosechar este tipo de hongo es hasta 15% menor en comparación a otras especies (Patil, Ahmed y Telang, 2010). Esta especie de hongo es alto en proteína, vitaminas y minerales. Es consumido no sólo por su sabor, sino también por sus propiedades medicinales ya que contiene potasio en la misma proporción que el sodio, convirtiendo al hongo en un alimento ideal para

personas con enfermedades del corazón y que sufren de hipertensión (Sharma *et al.*, 2013).

Los hongos ostra han sido apreciados por su sabor, por el bajo costo de producción y sus propiedades medicinales. En general, los hongos contienen 90% agua y 10% de materia seca (Sánchez, 2006). La producción de hongos es una opción rentable y viable debido a que se obtienen cantidades de proteína relevantes. No se compara con la proteína animal, sin embargo, al ser producida en desechos de lignina, se vuelve más fácil su obtención ya que para obtener proteína animal, se debe alimentar al ganado con cantidades exorbitantes de forrajes por un periodo largo de tiempo (Nieto y Chegwin, 2010). La cantidad de proteína que aporta el hongo ostra en relación al peso seco varía entre 27 y 48% (Sánchez, 2006).

Al cultivar este tipo de hongo, se obtiene un alimento de alta calidad. El sustrato que se utiliza se convierte posteriormente en “compost gastado” es decir una mezcla de pajas de fácil digestión para el ganado por la disminución de lignina o incluso para la siembra de otras especies de hongos (Cisterna, 2002). El costo en el mercado de la libra de hongo ostra en Ecuador es de \$1,50 y el mercado que más demanda este producto es el nicho de los veganos y de las personas que desean llevar una dieta baja en productos cárnicos (Villacís, 2010).

Los pobladores autóctonos de Nono se han limitado a actividades como la producción agrícola y de leche a pequeña escala causando niveles bajos de economía. El 80% de los pobladores de Nono son adultos mayores que se dedican principalmente a la ganadería y a la agricultura, pero no a gran escala, lo que provoca que por lo menos el 60% de la población no gane ni la mitad de un sueldo básico (Parra, 2016). Cultivar hongos ostra es una alternativa que

puede generar ingresos extras ya que la mano de obra es mínima, permitiendo mejorar la economía familiar y volviéndola sustentable.

Se realizó un protocolo en donde se determinó, el tipo de sustrato que proporcione mayor crecimiento de semillas o hifas y carpóforos, el cual se utilizó en la provincia de Pichincha, zona de Nono.

En el capítulo I, INTRODUCCIÓN, se menciona información general del hongo ostra, situación económica y situación actual de Nono.

En el capítulo II, MARCO TEÓRICO, se sustenta de forma teórica las bases previas para el cultivo del hongo ostra, sus características, importancia, condiciones ambientales, tipos de sustratos, plagas, enfermedades, rendimiento, índice de producción de semillas y contaminación.

En el capítulo III, ESTUDIO TÉCNICO, se detalla las operaciones para la fase práctica del estudio, lugar de investigación, materiales, equipos, y se menciona en orden cronológico y específico las fases de la producción de semilla y rendimiento de setas.

En el capítulo IV, RESULTADOS Y DISCUSIÓN, se muestra el análisis estadístico y los resultados plasmados en función de los objetivos planteados junto con la respectiva discusión en comparación con estudios previos.

En CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES, se muestra los resultados óptimos del estudio y las razones de las respectivas deducciones y, se recomienda acciones que pueden ayudar a futuras investigaciones relacionadas con el tema.

OBJETIVOS

Objetivo General

Generar un protocolo estandarizado, para la producción de semillas de hongos ostra.

Objetivos específicos

Determinar el sustrato con mayor índice de producción de semillas (hifas), mediante el peso de biomasa.

Determinar la calidad de la semilla mediante el rendimiento en peso de la producción de hongo ostra.

Determinar el sustrato con menor índice de contaminación mediante diferencias de peso del sustrato.

2. CAPÍTULO II. Marco teórico

2.1 Champiñón u hongo ostra

El hongo ostra es conocido como champiñón ostra, hongo oreja, u hongo seta. Se lo denomina así por su color pardo o blanco y la forma que posee su sombrero o carpóforo, el cual es redondo y de superficie lisa. El diámetro fluctúa entre 5-15 cm, el color puede variar según la especie: puede ser blanco gris e incluso rosado, siendo el más resistente el de color blanco (Wuu Kong, 2005). En la figura 1 se muestra la morfología del hongo.

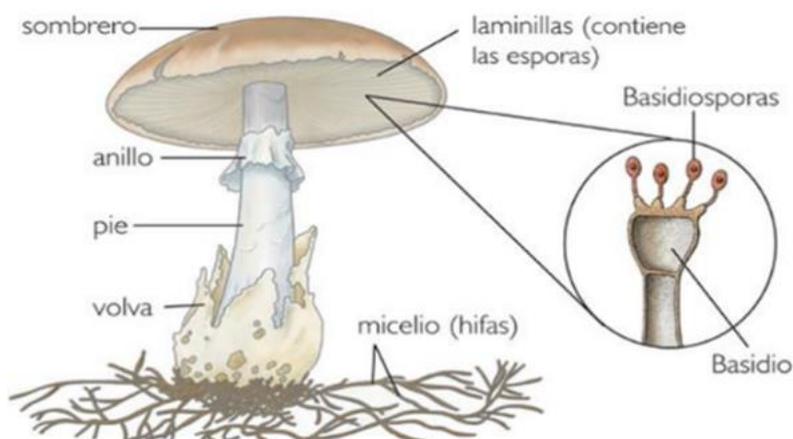


Figura 1. Morfología del hongo

Tomado de (Barbado, 2003)

Como se muestra en la figura 1, el hongo cuenta con estructuras básicas como el sombrero o carpóforo, el pie que en el caso del Hongo ostra no es largo, ambos partes comestibles del hongo. Se observa los basidiosporas que se forman al

final del basidio en la laminilla, son las estructuras reproductoras de los hongos. Las esporas al germinarse forman el micelio primario y por plasmogónesis (fusión de hifas) se forma el micelio secundario, el cual es utilizado para la producción de hongo ostra, ya que se conservan las características genéticas del hongo (Barbado, 2003).

Los cuerpos fructíferos o setas, se producen cuando existen las condiciones ambientales adecuadas, es decir, bajas temperaturas, alta humedad, oxígeno y luz. Los primordios es la primera etapa de crecimiento de las setas, son pequeños botones de color habano, que se vuelven cuerpos fructíferos en 7 días aproximadamente (Vedder, 1996).

2.1.1 Características nutricionales del hongo ostra

El hongo ostra contiene todos los aminoácidos esenciales para el hombre como; lisina, leucina, valina, isoleucina, metionina, fenilalanina, treonina y triptófano. Posee minerales como el selenio, fósforo y potasio y de igual forma vitaminas como tiamina, ácido ascórbico, tocoferol, cobalamina, entre otros. Este hongo comestible presenta propiedades que hacen de este un alimento popular, por ejemplo, evita la formación de tumores y reduce el colesterol debido a que tiene una gran cantidad de estatinas (Velez, Garcés, Ruíz, Serna de León y Suarez, 2006).

Los hongos ostras, han sido apreciados por su sabor, por su bajo costo de producción y sus propiedades medicinales, en general los hongos contienen 90% agua y 10% de materia seca (Sánchez, 2006). La producción de hongo ostra es una opción rentable y viable debido a que se obtienen cantidades relevantes de proteína, no se compara con la proteína animal, sin embargo, al

ser producido en desechos de lignina se vuelve más fácil su obtención, ya que, para obtener proteína animal, se debe alimentar al ganado con cantidades exorbitantes de forrajes por un periodo largo de tiempo (Nieto y Chegwin, 2010).

La cantidad de proteína en relación al peso seco varía entre 14 y 30% (Sánchez, 2006), similar al de ciertas leguminosas como la lenteja, arveja y de la leche. Las proteínas de los hongos poseen una mayor digestibilidad entre 76,7 y 80% en relación a ciertas leguminosas como las vainas, la lenteja, y arveja que poseen un 73% de digestibilidad proteica (Roncero, 2015). Posee una gran cantidad de fibra, casi el 50% del peso seco. El hongo ostra presenta aproximadamente 5,7% en fibra dietética superando en 3% al de las hortalizas (Royse y Sánchez, 2001).

La parte más consumida del hongo, es el sombrero, pero en el caso de esta especie *Pleurotus*, se consume de igual forma el tallo, siendo más rentable la producción del hongo (Cisterna, 2002).

2.1.2 Clasificación taxonómica del hongo ostra

En la tabla 1 se contempla la división taxonómica del hongo ostra

Tabla 1.

Clasificación taxonómica del hongo ostra

Reino	Fungi
Filo	Basidiomycota
Clase	Homobasidiomycetes
Orden	Agaricales
Familia	Pleurotaceae
Genero	<i>Pleurotus</i>
Especie	<i>P. ostreatus</i>

Tomado de (Cruz, López de León, Pascual y Battaglia, 2010)

Como se muestra en la tabla 1, el hongo ostra o *Pleurotus ostreatus*, pertenece a la familia Pleurotaceae del Filo Basidiomycota, que tienen como característica principal su estructura en forma de botella llamado basidio que contiene basidiosporas, esporas sexuales del hongo.

2.1.3 Importancia del hongo ostra

Pleurotus ostreatus, es un hongo que degrada la materia orgánica de los sustratos en el que es sembrado, también conocido como de podredumbre blanca ya que lo primero que consume es la lignina (Luley, 2006) .

Cultivar hongos ostras, en un sustrato que contenga lignocelulosa puede convertirse en una de las soluciones para transformar los desperdicios de las industrias agropecuarias en una biomasa comestible, que puede ser utilizada para balanceado animal, debido a la facilidad de digestión del “compost gastado” (Obodai, Vowotor y Cleland- Okine, 2003).

2.2 Crecimiento comercial del hongo ostra

Entre los años 1999 y 2010 la producción de hongos mundial ha incrementado en un 12,5% (Chang, 2007). El hongo ostra ha alcanzado el 25% de la producción mundial con respecto a los hongos comestibles, siendo el primer productor con casi 88% de la producción, China (Garzón y Cuervo, 2008), siendo el segundo hongo más cultivo en el mundo después del champiñón, *Agaricus bisporus* (Sánchez C. , 2010).

La producción estimada del Hongo ostra en algunos países de América se representa en la Tabla 2 a continuación:

Tabla 2.

Producción de hongo ostra en países de América

País	Tonelada	Porcentaje %
México	1.825	47,43
Brasil	450	11,53
Venezuela	18	0,47
Colombia	9	0,23

Tomado de (Royse y Sánchez, 2001)

A principios del año 1980 la oferta de champiñón blanco era alrededor del 70%, mientras que el del hongo ostra no llegaba al 2%, a principios del 2000 el hongo ostra había llegado a ocupar el 60% de la producción en América, siendo México el que lidera la producción de hongo ostra (Sánchez, Martínez, Mata y Leal, 2007).

Ecuador no satisface la demanda de hongos comestibles, hay muy pocas zonas que producen hongos ostra y la mayoría de estos se encuentran en la zona Cayambe- Coca. El consumo per cápita de hongos comestibles en Ecuador es de alrededor de 500 gramos a 1 kilogramo (Llor Alcívar, 2008).

2.3 Cultivo del hongo ostra

El hongo ostra es un gran colonizador, su crecimiento es rápido teniendo aproximadamente un 20% de rendimiento en relación al peso del sustrato que se utilice. La consistencia de sus carpóforos es mayor a comparación al champiñón y su capacidad de crecer en casi cualquier desperdicio agro industrial lo hace un hongo deseable de producir (France, Cañumir y Cortez, 2000).

A diferencia de otros hongos como el champiñón blanco, el ostra es más económico y de crecimiento rápido, requiere menos tiempo y preparación (Mandeel, Al-Laith y Mohamed, 2005).

Para realizar el cultivo del hongo ostra se puede utilizar diferentes técnicas como el uso de botellas de vidrio, bandejas y fundas plásticas. Siendo el último el más utilizado debido a su accesibilidad y facilidad de uso (Barbado, 2003).

El sustrato es el material que los hongos utilizan para crecer, debe contener material ligno celulósico, principal nutriente del que se alimenta el hongo ostra. El sustrato debe ser remojado 24 horas antes, con cal agrícola para cumplir con la humedad del 70 a 80%, en la etapa de inoculación e incubación. El sustrato escogido debe estar disponible en grandes cantidades y cerca de la zona de producción (Quimio, 2005).

La semilla es denominada a los granos de cereales como avena, trigo o cebada infectados por el micelio secundario para la producción de hongo ostra (Cisterna, 2002).

Una vez escogido la técnica y el sustrato adecuado, se debe realizar la pasteurización del sustrato para evitar futuras contaminaciones en el cultivo. Se realiza la siembra con las semillas infectadas por el micelio, la cantidad de semilla recomendada es el 30% del peso del sustrato a utilizar (Annenkov y Azarova, 2009). La técnica más utilizada es colocar el sustrato ya pasteurizado sobre una mesa desinfectada y esparcir la semilla obteniendo un sustrato inoculado homogéneo. Se arma las fundas o botellas con el sustrato inoculado, si se utiliza fundas se puede utilizar doble funda, una externa de color negra para la etapa de incubación en la cual no necesita del factor luz y una interna transparente para la etapa de fructificación que necesita luz.

En la etapa de incubación cuando el micelio invade el sustrato, la lignina y la celulosa son degradadas ya que el hongo ostra posee una enzima celulósica que le ayuda a degradar los nutrientes del sustrato en el que se encuentre (García, Bermúdez, Gros y Hernández, 2006). Como se pierde gran parte de carbohidratos insolubles, el sustrato llega a ser un ingrediente fácilmente digerible para el ganado y tiene la peculiaridad de tener nutrientes que son

aportados por el micelio del hongo (France *et al.*, 2000). En esta etapa el cultivo no necesita de iluminación.

La incubación tiene una duración aproximada de 27 días, la etapa de fructificación en donde se forman los cuerpos fructíferos tiene una duración aproximada de 13 días tiempo en el cual se podrá cosechar los hongos (Chang, 2007).

Cada funda, botella o bandeja puede tener hasta 4 oleadas, término utilizado para determinar la fase después de cosechar las setas y la producción de nuevas, con un tiempo de 10 días, haciéndole pasar al cultivo por las mismas condiciones de la etapa de incubación y fructificación, que se determinarán más adelante (tabla3).

La bio transformación de los residuos de lignina por medio del cultivo de hongos ostra, es el proceso más económico y viable. Este tipo de tecnología puede ayudar a disminuir la contaminación del aire ya que los agricultores tienden a incendiar los desperdicios de sus cosechas, que pueden ser utilizados como sustrato para hongos comestibles (Mandeeel *et al.*, 2005).

2.4 Condiciones ambientales

Los hongos ostra son altamente resistentes, pero se les debe brindar un ambiente estéril con la debida iluminación y ventilación para cada etapa, evitando la posible contaminación del sustrato o de los cuerpos fructíferos.

2.4.1 Temperatura

Los rangos de temperatura varían según la etapa en la que este se encuentre aunque tiene un rango amplio de adaptación que va desde los 15°C hasta los 35°C, cualquier temperatura fuera de este rango causaría la latencia del hongo o la muerte del mismo (Chang, 2007). En etapa de incubación se requiere una temperatura promedio de 25°C, en fructificación de 14 – 25°C.

La temperatura ambiental, aunque es amplia deber ser controlada ya que influye directamente sobre la temperatura del sustrato, consecuentemente sobre el rendimiento de las setas. La temperatura del micelio del hongo en el sustrato no debe ser menor a 10°C ya que retarda el crecimiento (France *et al.*, 2000).

2.4.2 pH

El rendimiento del hongo ostra es óptimo si el pH del sustrato se encuentra en un rango de 6,5 a 7,5 debido a la disponibilidad y la facilidad de absorción de los nutrientes. Este rango de pH aumenta el rendimiento tanto de setas como de diámetro de carpóforos, aunque si el pH se encuentra en un rango superior, el crecimiento del hongo es menor pero no escaso ni latente (Pereira, Herrera, Machuca y Sánchez, 2007).

Para alcanzar este pH en los sustratos se utiliza carbonato de calcio, comercialmente cal agrícola en un 2% del peso del sustrato, con este porcentaje se llega a tener un pH alrededor de 7 a 8. Con cal agrícola se llega hasta esterilizar parcialmente el sustrato que se vaya a utilizar, debido a que es un producto alcalino, que mantiene el pH neutro. (INPOFOBOS, 1997).

2.4.3 Humedad

La humedad al igual que la temperatura varía según la fase productiva en la que se encuentre. La parte de incubación es la más crítica ya que la humedad debe mantenerse en un 60-70% pero las fundas botellas o bandejas deben mantenerse selladas y en oscuridad, por lo que esta humedad se deberá obtener en el tratamiento del sustrato previo a la inoculación (Chang, 2007). En la etapa de fructificación la humedad debe mantenerse en un rango de 80-90%.

El manejo de la humedad debe ser controlado, si se excede el porcentaje de humedad en la etapa de inoculación el micelio va a tener competencia por otros organismos como puede ser el moho, ya que existe una disminución de oxígeno, lo que dificulta el crecimiento óptimo del hongo (Cisterna, 2002).

Para obtener la humedad deseada, se riega las paredes y el piso del invernadero, nunca directamente sobre las fundas ya que esto podría causar contaminación, o deformidad de los carpóforos (Quimio, 2005)

2.4.4 Ventilación

La ventilación varía según la fase productiva del hongo, en estado de incubación se mantienen sin ventilación ya que la acumulación de CO₂ favorece el crecimiento del micelio. En etapa de fructificación debe existir por lo menos un 60% de oxígeno, porcentajes menores inhiben el crecimiento de carpóforos, la aireación en un ambiente controlado debe ser cada dos horas, si se realiza en un invernadero este debe contar con ventilación o flujos de aire no en exceso ya que podría llevar partículas de otros hongos o contaminantes que causarían que

haya una competencia por nutrientes en el sustrato disminuyendo el rendimiento del hongo (Royse y Sánchez, 2001).

El exceso de ventilación causa contaminación en el sustrato o en los cuerpos fructíferos, además de una pérdida de agua en el sustrato, lo que provoca deterioros en el desarrollo del hongo. En el caso del cuello este se alarga evitando el desarrollo del sombrero (Kwon y Byung, 2005).

2.4.5 Iluminación

En la etapa de incubación se requiere total oscuridad para que el micelio pueda desarrollarse, en etapa de fructificación se necesita un mínimo de 12 horas de luz. Un tiempo menor al indicado disminuye en un 68% la eficiencia biológica de los hongos y hasta un 60% el rendimiento (Bermúdez, Donoso, Martínez, Ramos y Morris, 2002).

La luz más adecuada es aquella que es tenue con un nivel de intensidad de 400 a 600 lux en un fotoperiodo de 12 horas, tanto para la formación de primordios como para la producción de carpóforos (Bermudez, Donoso, Martínez, Morris y Ramos, 2003).

La iluminación no debe ser directa sobre el envase que contiene a los hongos, una baja iluminación causa que el tallo se alargue y el rendimiento disminuya. La luz es directamente proporcional al color del hongo, si no existe la adecuada iluminación el color del hongo va a ser pálido (Vivero, Ticante, Gómez, Linares y Gonzáles, 2008).

En la tabla 3 se encuentra los rangos de las condiciones ambientales que debe tener el hongo según la etapa en la que se encuentre

Tabla 3.

Resumen de condiciones ambientales en las diferentes etapas de producción

Etapa	Descripción	Condición ambiental
Inoculación	Sustrato	Temperatura: 25°C Humedad 70-80% Iluminación: no necesaria
Incubación	Ambiente	Temperatura: 22-27°C Humedad: 60-70% Iluminación: no necesaria
Fructificación	Ambiente	Temperatura: 14-25 °C Humedad: 80-90% Iluminación: 12 horas
Cosecha	Ambiente	Temperatura:12-14°C

Adaptado de (Cisterna, 2002)

Aunque las condiciones ambientales para el cultivo del hongo ostra son extremadamente amplios, en la tabla 3 se muestran los rangos en donde un rendimiento es mayor es obtenido.

2.5 Elementos necesarios para el cultivo del hongo

Para poder realizar el cultivo del hongo, es necesario realizar ciertos tratamientos y utilizar materiales que estarán detallados a continuación.

2.5.1 Semilla o inóculo

La semilla del hongo ostra es el micelio del hongo que ha colonizado en granos de cereales, esto es conocido como la primera generación, que parte de la cepa aislada en un medio de cultivo y luego llevada a un sustrato. La cepa es el micelio que se ha desarrollado en un medio de cultivo en el laboratorio. Esta cepa se obtiene por medio de esporas o por medio del tejido del hongo. La cepa se lleva a incubación en un periodo de 7-8 días y luego es inoculada en granos de cereales. Para aumentar el rendimiento de las semillas y de la producción del hongo, se parte de la primera generación propagando el micelio en semillas a un sustrato óptimo (Gaitán Hernandez, Salmones, Pérez y Mata, 2006).

Para asegurar que la siembra sea efectiva, el micelio debe ser denso de color blanco, fresco y sin contaminación presente. Puede existir exudaciones de color amarillo, pero preferible que el color sea homogéneo (Cha, 2005).

2.5.2 Sustratos

El sustrato es la base en donde se realiza la siembra del hongo, puede ser cualquier tipo de desperdicios, como el aserrín, orujos, el tamo o el afrecho de cereales como la cebada, avena, trigo entre otros. Es el que le brinda los nutrientes necesarios para que el micelio pueda crecer. Para el óptimo crecimiento del hongo ostra, se necesita un sustrato que tenga una relación

óptima entre carbono y nitrógeno, que se pueden obtener de dos grupos principales de desechos, paja de cereales y el salvado de granos (Wuu Kong, 2005).

El hongo ostra puede crecer casi en cualquier desecho agro industrial, pero para optimizar su rendimiento, se considera recomendable que posea un porcentaje de fuente de carbono alrededor de 60%, siendo la celulosa y hemicelulosa fuentes del mismo. Este tipo de hongo es el único capaz de convertir la celulosa en alimento, degradándola (Royse y Sánchez, 2001).

2.5.2.1 Tipos de sustratos

Una de las cualidades del sustrato a considerar es la fácil obtención del mismo, que sea un desperdicio, autóctono de la zona en donde se va a realizar el cultivo, para que el costo y el traslado sean económico y factible. La disponibilidad del mismo debe ser continua y abundante para abastecer la producción del hongo (Garzón y Cuervo, 2008).

El bagazo de caña es el residuo que se obtiene en el proceso de molienda de la caña de azúcar. Es un residuo que tiene un alto contenido de fibra, es leñoso y tiene un porcentaje de celulosa de hasta 48% (Medina, Martínez y Bonilla, 2007).

El tallo de cereales, estructuras que no son utilizadas en la industria alimentaria son denominados tamo. El tamo constituye un desperdicio que usualmente se utiliza como alimentación para equinos, posee un bajo valor comercial, tiene un alto contenido de carbohidratos y un bajo porcentaje de lignina, siendo su adquisición es factible y ergonómica (Sánchez *et al.*, 2007). El tamo de cebada

posee un bajo valor nutritivo, ya que posee un alto contenido de carbohidratos insolubles que en alimentación animal representa un problema, pero para el desarrollo de hongos descomponedores de lignina presenta un sustrato ideal para el cultivo (Tomaso y Gimenez, 2006).

El aserrín es uno de los tipos de sustratos que es más factible y asequible, sin embargo, debe ser proveniente de maderas duras, para que aporte con un alto contenido de celulosa y lignina que es lo que principalmente degrada el hongo ostra. Al ser de maderas blandas el rendimiento disminuye debido a la baja cantidad de estos compuestos, de igual forma este tipo de maderas contiene compuestos fenólicos que deben ser eliminados previamente antes de usarlo como sustrato (Kwon y Byung, 2005).

El aserrín brinda un alto porcentaje de lignina, este valor es variable dependiendo el tipo de madera del que se obtenga, ya que las fracciones ligno celulósicas varían según el tipo de madera (Varnero, Quiroz y Álvarez, 2010).

Se muestra en la tabla 4 la composición de algunos desperdicios agroindustriales que serían aptos para el cultivo del hongo ostra.

Tabla 4.

Materia orgánica presente en pajas y salvado de cereales

Material utilizado		materia orgánica %	Hemicelulosa %	Celulosa %	Lignina %	C/N
Tamo de cebada	de	94	14	20	5,3	119
Bagazo de caña	de	97,5	26,6	36,6	9,4	314,2
Aserrín		88	18,3	26,6	6,2	97

Adaptado de (Royse y Sánchez, 2001)

El bagazo de caña es la materia prima que mayor porcentaje de materia orgánica posee, razón por la que fue escogido para los tratamientos a realizarse, esperando aumentar el rendimiento del hongo ostra.

Las principales fuentes de carbono que debe contener el sustrato para que pueda brindar un rendimiento óptimo a las setas son la celulosa en un porcentaje del 60% la hemicelulosa en 20% y la lignina hasta un 15% (Ardon, 2007).

En etapa de incubación el exceso de carbono facilita el crecimiento del micelio, es decir mayor rendimiento de las hifas o producción de semillas, mientras que un bajo porcentaje de carbono en etapa de fructificación beneficia el desarrollo de los carpóforos (Garzón y Cuervo, 2008).

2.5.3 Preparación del sustrato

Para que el sustrato pueda cumplir con las necesidades del hongo, lograr que el micelio invada de manera uniforme todo el sustrato y no se presente casos de contaminación o de bajo rendimiento, se deben seguir los siguientes pasos:

2.5.3.1 Corte

Tanto las pajas como el bagazo de caña deben ser cortadas, esto se puede realizar con ayuda de tijeras de jardín y a nivel industrial se lo puede realizar con una picadora de pajas, con una distancia de 5-6 centímetros entre cada corte, esto facilita la invasión del micelio y la correcta absorción del agua, ya que, si se tiene una distancia menor de corte, el pastel como se le denomina a la funda de sustrato, va a estar demasiado compacta evitando el intercambio de gases. Si se tiene una distancia de corte mayor no va a existir una absorción de humedad ni de fijación de la semilla (Cisterna, 2002).

2.5.3.2 Humectación

Las pajas de cereales deben estar en remojo 24 horas en agua para tener la humedad deseada de 70-80%, con una solución de 2% de cal para neutralizar el pH de los sustratos. Con tiempos inferiores al citado la paja no absorbe la cantidad de agua deseada y con tiempos mayores existe contaminación por mohos (Cruz *et al.*, 2010).

A los sustratos que poseen alto contenido de azúcar como el caso del bagazo de caña se debe sumergir en agua a temperatura ambiente durante 48 horas,

cambiando el agua cada 12 horas para eliminar los azúcares contenidos, evitando competencia con otros hongos. Se le agrega 2% de cal agrícola para ajustar el pH en un rango de 6-7 (Rivera, Martínez y Morales, 2013).

2.5.3.3 Recipientes

El cultivo de hongo ostra ha sido probado en diferentes tipos de sistemas, botellas de vidrio, tocones de madera, bandejas, entre otros. Sin embargo, el método en fundas plásticas es el que mejores rendimientos ha dado con un nivel mínimo de contaminación (Mandeel *et al.*, 2005).

El cultivo necesita un intercambio de CO₂, que es obtenido realizando perforaciones en el recipiente, este paso es factible y de menor riesgo al tratarse de contaminación, si se realiza el cultivo en fundas plásticas (Chang, 2007).

Utilizar fundas plásticas permite que el cultivo tenga un mejor intercambio gaseoso debido a que el material de las fundas permite que el sustrato respire, es decir expulse el CO₂ formado internamente e ingrese el O₂ del exterior. Este suceso favorece la etapa de fructificación en donde se necesita mayor absorción de humedad.

2.5.3.4 Esterilización

Los materiales utilizados para formar el sustrato base, deben ser esterilizados para evitar contaminaciones y competidores para el hongo ostra. Se autoclava las fundas que están llenas con los sustratos escogidos, a una temperatura de 121°C durante dos horas. Esto elimina patógenos, aunque no en su totalidad,

permitiendo que el desarrollo del hongo ostra sea óptimo evitando el crecimiento de patógenos indeseables (Cisterna, 2002).

En la tabla 5 se encuentran los agentes más comunes que atacan al cultivo del hongo ostra, junto con la temperatura a la que pueden ser eliminados.

Tabla 5.

Temperaturas letales para agentes problemas que atacan al hongo ostra

Agentes Problemas	Temperatura letal °C
Moscas	≥55
Ácaros	≥60
Pseudomonas fluorescens	≥50
Esporas de Agaricus bisporus	≥65

Tomado de (Cha, 2005).

El proceso de auto clave, elimina, aunque no en su totalidad cualquier tipo de agente contaminante presente en el sustrato que podría causar problemas en el rendimiento del hongo.

2.5.3.5 Tasa de inoculación

La tasa de inoculación varía según el peso del sustrato que se va a utilizar, y es directamente proporcional al costo de producción. Al utilizar menor cantidad de inóculo el costo de producción disminuye, pero aumenta el tiempo de fructificación. Se puede utilizar una tasa de inoculación desde el 10% del peso del sustrato, asegurando el crecimiento del hongo en un tiempo mayor al esperado. Una tasa de inoculación del 30% del peso del sustrato húmedo,

asegura que el micelio invada completamente el sustrato logrando un óptimo rendimiento (Sánchez, 2010).

Para conocer que cantidad de semilla se va a utilizar en relación al sustrato, se debe conocer el peso del sustrato húmedo que se va a usar y la tasa de inoculación (Annenkov y Azarova, 2009 y Garzón Gomez y Cuervo Andrade, 2008). Este dato se puede conocer utilizando la siguiente ecuación.

$$PS = PSH \times \% TI$$

Ecuación 1

Donde:

PS= peso de la semilla

PSH= peso del sustrato húmedo

TI= tasa de inoculación

2.6 Etapas de cultivo

El cultivo del hongo ostra tiene 4 etapas cada una de ellas posee diferentes condiciones ambientales, que serán detalladas en la siguiente sección.

2.6.1 Inoculación

La inoculación es una de las fases más críticas, se lo realiza en un lugar previamente desinfectado y sin corrientes de aire. Se puede realizar en una cámara de flujo laminar o en un cuarto cerrado con una mesa desinfectada con detergente y luego con alcohol, ya que, si las semillas del hongo se llegan a contaminar, el crecimiento va a ser mínimo, por la competencia por nutrientes con algún otro hongo o moho no deseado (Forero, Hoyos y Bazante, 2008).

El sustrato esterilizado posee una humedad de 70-80% y debe llegar a una temperatura de 25°C, ya que una temperatura mayor causaría la muerte del hongo y una temperatura menor causaría latencia de las semillas. Se realiza el llenado de bolsas con la semilla infectada por el micelio, realizando un intercambio de paja- inóculo-paja, hasta llenar la funda (Michel, Ariza, Otero, y Aristeo, 2015).

Para comprobar la humedad en el sustrato, se puede realizar una prueba de mano, la cual se debe coger el sustrato con la palma de la mano y exprimir la muestra, si la palma queda húmeda el sustrato está listo para realizar la inoculación. Si gotea significa que la humedad es excesiva, esto evita el flujo de aire pudiendo causar futuras contaminaciones y retraso del crecimiento del hongo ostra (Kwon y Byung, 2005).

Si las bolsas son muy compactas, causará que haya una fermentación anaerobia, misma que ocasionará incremento de la temperatura sobrepasando el rango óptimo, provocando así la muerte del micelio debido al inadecuado intercambio gaseoso (Cisterna, 2002).

2.6.2 Incubación

En la etapa de incubación se mantiene una temperatura de 22-27°C y sin luz. El control de la temperatura es importante debido a que el descenso o un aumento exagerado frenará el crecimiento del micelio (Tisdale, Miyasaka y Hemmes, 2006). En esta etapa se mantiene una humedad del 60-70%, no es necesario regar las fundas si se tuvo un correcto manejo en la parte de inoculación, si se observa alguna funda deshidratada se puede regar manualmente (Vivero *et al.*,

2008). Esta etapa finaliza cuando el micelio invade completamente el sustrato y se observa una capa blanca que recubre toda la superficie del mismo.

2.6.3 Fructificación

En esta etapa se visualizan los primordios, los cuales tienen el tamaño de una aguja y que van creciendo al pasar los días. Se realizan perforaciones a lo largo de la funda para permitir el crecimiento de los primordios, se puede bajar la temperatura a un rango entre 14-25°C, y, otra forma de realizarlo es abriendo un orificio en la parte superior de la funda y colocando un círculo hecho de tubo PVC para permitir la entrada de aire. Se puede realizar un corte oval en la parte delantera de la funda (Cisterna, 2002).

La humedad se mantiene en 80-90% con un fotoperiodo de 8-12 horas (Forero *et al.*, 2008). La humedad debe ser controlada para evitar deterioros en la calidad de los hongos, no se debe realizar riegos directos si no sobre las paredes o pisos, debe existir un intercambio gaseoso por lo que es necesario la ventilación del lugar en donde se encuentren los hongos (Boa, 2006).

2.6.4 Cosecha

Los sombreros se desarrollan completamente a los 6-7 días después de la aparición de los primordios (Cruz, *et al.*, 2010). Una vez compactos, se cortan desde la base con un cuchillo afilado previamente desinfectado con una solución de alcohol al 70%. En esta etapa se mantendrá una temperatura de 12-14°C (Vedder, 1996).

Cada recipiente que contiene el sustrato inoculado puede producir hasta 4 oleadas, pasado ese número de oleadas el rendimiento disminuye y el sustrato es más susceptible a contaminación, después de la primera oleada el sustrato es llevado a las mismas condiciones de fructificación para obtener la siguiente oleada en un promedio de 10 días (Sánchez, 2006).

2.7 Problemas en el cultivo

El cultivo tiene una alta resistencia a enfermedades y plagas. La fase más delicada en el proceso productivo del hongo es la incubación, esto se debe a que el sustrato no es esterilizado correctamente, un excesivo porcentaje de humedad o la inoculación se hizo en un área contaminada (Cha, 2005).

2.7.1 Plagas

Las principales plagas que atacan al hongo ostra son las moscas entre ellas se encuentran: Sciáridos (*Lycoriella auripila*), Cécidos (*Mycophila sp.*), entre otros. Estas plagas en estado larvario se alimentan del micelio del hongo retrasando el crecimiento de los cuerpos fructíferos: perforan los tallos del hongo y los vuelven de color marrón. La principal razón de que el sustrato se encuentre contaminado con este tipo de moscas es que no se realizó una adecuada desinfección del cuarto o espacio en donde se ejecutó la inoculación o el sustrato utilizado no fue correctamente esterilizado (Cha, 2005).

Los ácaros son invisibles a simple vista, pero disminuyen la producción y la calidad de los hongos ostras, los más dañinos son: *Histiostoma sp.* y *Tarsonemus sp.* Este tipo de plagas no solo afectan al crecimiento del hongo si

no que causa malestar a los trabajadores que estén en contacto con el cultivo como; picazón y ronchas (Otero, Díaz, Aríza , Aristeo y Michel, 2010).

2.7.2 Patógenos para el cultivo

Los hongos patógenos invaden el micelio, dificultando el crecimiento de los cuerpos fructíferos del hongo ostra, como el *Trichoderma spp.* Que se desarrolla durante la fase de incubación, impidiendo la expansión del micelio del hongo ostra, si no es detectado a tiempo ocasiona pérdidas que sobrepasan el 77%. Son los hongos más perjudiciales para el cultivo ya que de igual forma que el hongo ostra, pueden descomponer la celulosa. La característica de este tipo de hongo es que invade el sustrato y lo vuelve de un color verde oscuro al igual que *Gliocladium virens* y *Penicillium italicum*, aunque estos dos últimos son menos perjudiciales para el cultivo (Cha, 2005).

Los hongos patógenos pueden retrasar el crecimiento de los primordios hasta 5 días más, como es el caso de *Mucor pusillus* cuyo desarrollo se atribuye al aumento de temperatura del sustrato (Otero *et al.*,2010).

Estos tipos de hongos aparecen debido a la inadecuada manipulación del inóculo, la falta de asepsia al realizar el proceso del cultivo y a que el sustrato no fue esterilizado ni ajustado correctamente el pH. Para evitar la propagación de este tipo de hongos patógenos, el pH debe ser superior a 7,5; con estas condiciones se disminuye parcialmente el rendimiento óptimo del hongo pero se evita la formación de hongos competidores (Cha, 2005).

Las bacterias causan deterioro en los cuerpos fructíferos y atrofian los primordios disminuyendo el rendimiento del cultivo. En el caso de *Pseudomonas agarici* o

Pseudomonas tolaasii causan manchas en tonalidades habano, amarillo o naranja, en ocasiones estas bacterias no se expresan en la primera oleada del hongo sino a partir de la segunda. Si no son controladas, se pudren y llegan a tener un mal olor. Se propagan por la excesiva humedad en el sustrato y por la inadecuada limpieza de utensilios y de material utilizado (Cha, 2005).

2.7.3 Acciones preventivas para el cultivo

Para evitar que el rendimiento de los hongos disminuya a causa de plagas o enfermedades, se debe dar importancia a las gestiones de saneamiento, es decir, limpieza exhaustiva del área en donde se va a realizar la inoculación, controlar la ventilación para evitar el ingreso de moscas. El sustrato, como se menciona anteriormente debe ser esterilizado, el pH debe ser regulado y la humedad no debe ser excesiva, de preferencia el sustrato no debe haber estado expuesto a plaguicidas o fertilizantes. El inóculo no debe estar contaminado ni haber estado expuesto al ambiente, es decir que las fundas llenas deben estar selladas y sin exposición a la luz para evitar la degradación de la semilla del hongo ostra (Cha, 2005).

Se debe tomar en cuenta, que la siembra en el sustrato caliente favorece el crecimiento de bacterias, por tanto, se debe sembrar después de esterilizar el sustrato y a temperatura ambiente y desinfectar con una concentración de 0,5% de cloro y alcohol al 70% los utensilios a utilizar; si se sigue las acciones preventivas el rendimiento del hongo va a ser más productivo (Otero *et al.*,2010).

2.8 Medición de calidad

Para evidenciar que los sustratos inoculados sean óptimos y tengan un alto rendimiento se toma en cuenta las siguientes variables.

2.8.1 Índice de producción de hifas

Para medir el porcentaje que aumentó el sustrato en semillas o hifas de hongo se utiliza la ecuación 2 descrita por Bilal (2014) en su estudio sobre el efecto de granos en el crecimiento del hongo ostra.

$$IP = \left(\frac{Px - PSI}{PSI} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

IP = índice de producción de semillas

Px = peso del sustrato inoculado pesado a los 23 días

PSI = peso inicial del sustrato inoculado

El resultado que se obtiene, muestra el porcentaje de aumento de la semilla del hongo debido a la expansión del micelio, incrementando el peso final del sustrato, mismo que representa el peso extra de la semilla.

2.8.2 Rendimiento de setas

Este es el principal parámetro para medir el rendimiento de los hongos ostra; depende del material utilizado y de las circunstancias en las que haya crecido.

Se determina por la ecuación 3 descrita por Forero (2008) en su estudio sobre evaluación de residuos de ají para la siembra de hongo ostra.

$$R = \frac{\text{Peso fresco total}}{\text{peso seco inicial del sustrato}} \times 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

Se considera aceptable una producción que tiene 30% de rendimiento, aunque estos rangos van disminuyendo según las oleadas. Es aceptable económicamente hasta la tercera oleada con un rendimiento de 15% (Melo de Carvalho, Sales-Campo y Nogueira de Andrade, 2010).

2.8.3 Contaminación

Aunque el hongo ostra es altamente resistente, se puede llegar a tener contaminación en el sustrato debido al pobre control de las condiciones ambientales. Para medir el porcentaje de contaminación se realiza la ecuación 4.

$$\text{Contaminación} = \frac{(\text{PSC} \times 100)}{\text{PS}} \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde:

PSC = peso del sustrato contaminado

PS = peso del sustrato

El porcentaje obtenido hace referencia a la contaminación encontrada únicamente en el sustrato, mas no a los cuerpos fructíferos.

3. CAPITULO III. Estudio técnico

En la siguiente sección se detalla el lugar en donde se realizó el proyecto de investigación y sus condiciones ambientales.

3.1 Lugar de investigación

El presente proyecto de investigación se realizará en los laboratorios de la Universidad de las Américas campus Queri, ubicado en la calle José Queri. Los laboratorios que se utilizarán para el proyecto son el Lq 6, ya que el objeto de estudio se adaptará a las condiciones ambientales ahí presentes.

En la tabla 6, se muestra las condiciones ambientales promedio que se tienen en los laboratorios de la Universidad

Tabla 6.

Descripción de condiciones ambientales del laboratorio de la Udla sede Queri

Condiciones ambientales	Promedio
Temperatura	18°C± 3°C
Humedad	55% ± 10 %

Aunque la temperatura se encuentra dentro del rango para el cultivo del hongo ostra, esta se puede adaptar según las condiciones que se requieran. Mediante el ajuste de los materiales para que cumplan la función de un invernadero.

3.2 Materiales y equipos

A continuación, se detalla los materiales y equipos que se utilizó para el proyecto investigativo.

3.2.1 Materiales

Los materiales utilizados se detallan a continuación:

Semilla o spawn

Fundas transparentes de polyfan de 50x70 cm

Bisturí

Cinta adhesiva

Tijera de jardín

Tamo de cebada

Bagazo de caña de azúcar

Aserrín de maderas

Carbonato de calcio

Estante de plástico

Fundas grandes de plásticos negros y transparentes

Fundas grandes de plástico transparentes

3.2.2 Equipos

Los equipos utilizados en el proyecto investigativo se detallan a continuación

Cámara de flujo laminar

Autoclave

3.3 Diseño experimental

Para el presente proyecto investigativo se realizó 7 tratamientos o mezclas, que son diferentes formulaciones de sustratos con 3 materias primas diferentes, cada una con 4 repeticiones. En la tabla 7 se muestra los detalles del proyecto investigativo.

Tabla 7.

Característica del proyecto investigativo

F.V	gl
Total de tratamientos	27
Tratamientos	6
Repetición	3
Error	18

Se realizó un análisis de varianza ANOVA de un solo factor, con un intervalo de confianza del 95% y se realizó la prueba tukey para la separación de medias. Se utilizó InfoStat un programa estadístico para obtener los resultados.

Las variables a medir fueron; índice de producción de semillas (hifas), rendimiento medido en peso de cuerpos fructíferos, índice de contaminación y se medirá tiempos de incubación que comprende desde que se inocula el sustrato hasta que el micelio se expanda por completo, tiempo de fructificación que comprende desde que se realiza los cortes en la funda hasta la aparición de los primordios y el tiempo de cosecha que comprende desde la aparición de los primordios hasta que los sombreros estén listos para cosechar.

3.3.1 Formulación de tratamientos

Se realizó 4 diferentes combinaciones de sustratos, 2 sustratos que se componen de 100% aserrín y 100% tamo de cebada y 1 testigo control que se compone de 100% bagazo de caña. Se determinó en cuál de ellos los hongos presentaron mayor índice de producción de semillas, calidad medida en el peso final de setas y menor contaminación del sustrato. Se utilizará un peso de 140 gramos de sustrato. La combinación de sustratos se muestra en la tabla 8.

Tabla 8.

Tratamientos utilizados

Tratamiento	Bagazo de Caña %	Aserrín %	Tamo de Cebada %
1	75	0	25
2	50	25	25
3	25	50	25
4	0	75	25
5 (testigo)	100	0	0
6	0	100	0
7	0	0	100

Los 4 primeros tratamientos tienen un nivel alto (75%), medio (50%) y bajo (25%), de las 3 materias primas utilizadas, para observar la reacción de los mismos en el desarrollo de hifas y de cuerpos fructíferos.

En un estudio previo realizado por Garzón y Cuervo (2008) sobre la producción de hongo ostra sobre residuos ligno celulósicos, se menciona, que el sustrato se debe formular con materias primas que se encuentren disponibles todo el año

que sean accesibles económicamente y tengan un alto contenido de materia orgánica. Las materias primas utilizadas, para este estudio fueron escogidas por su porcentaje alto de celulosa, hemicelulosa y lignina.

El bagazo de caña y el aserrín son accesibles económicamente, ya que son desperdicios comunes dentro de los alrededores de Nono, a diferencia del tamo de cebada, que es un desperdicio que se encuentra más comúnmente en provincias como Imbabura y Chimborazo, el tamo de cebada posee un bajo valor nutritivo para la alimentación de rumiantes por el alto contenido de carbohidratos insolubles que hacen difícil la digestión, sin embargo, es ampliamente utilizado como alimento para vacas y caballos, lo que hace difícil su obtención (Tomaso y Gimenez, 2006).

3.4 Metodología

A continuación, se detalla el procedimiento que se siguió para el desarrollo del proyecto de investigación.

3.4.1 Adaptación de espacio físico

El hongo ostra necesita espacio físico adaptado para que cumpla cada una de sus fases sin disminuir su rendimiento. En fase de inoculación se necesita una mesa previamente desinfectada con una solución de cloro con una concentración de 0,5% y luego con alcohol de 70 %, para evitar que las semillas del hongo se contaminen. En etapa de incubación necesita una habitación o un espacio cerrado con total oscuridad y que no haya corrientes de aire externas, las fundas separadas del piso y que las fundas no estén encima de otras (Ardon, 2007) .

En pequeña escala se puede utilizar un estante plástico previamente esterilizado y cubrirlo con plástico negro dando el ambiente de oscuridad que necesita. En fase de fructificación, se necesita controlar humedad, ventilación y aireación. En el mismo ejemplo mencionado, se cambia el plástico negro por un plástico transparente controlando así la iluminación y la humedad (Bilal *et al.*,2014).

Todos los utensilios a utilizar deben ser lavados y desinfectados, para evitar futuras contaminaciones.

3.4.2 Preparación de sustratos

Los materiales obtenidos se cortaron hasta conseguir fragmentos de alrededor de 4 - 6 centímetros, lo que permite que el micelio del hongo crezca con facilidad (Cisterna, 2002).

El bagazo de caña se sumergió en agua a temperatura ambiente durante 48 horas, cambiando el agua cada 12 horas para eliminar los azúcares contenidos. Se le agregó 2% de cal agrícola para ajustar el pH en un rango de 6-7 (Rivera *et al.*,2013).

El aserrín junto con el tamo de cebada se remojó por 48 horas en agua y se le colocó de igual forma 2% de cal agrícola para ajustar el pH. Se autoclavó cada una de las mezclas de los sustratos a una temperatura de 121 °C durante dos horas. Se controló humedad al 70% y se lo dejará enfriar hasta que llegue a una temperatura de 25°C ± 3°C para poder realizar la inoculación, temperaturas mayores o inferiores disminuirán el rendimiento del hongo (Cisterna, 2002).

3.4.3 Etapas de producción

A continuación, se detalla las diferentes etapas del cultivo del hongo ostra.

3.4.3.1 Inoculación

Esta etapa se realizó en la cámara de flujo laminar para controlar futuras contaminaciones. El sustrato con un peso de 140 gramos se colocó en fundas transparentes de polyfan. Para conocer la cantidad de semilla que se debe inocular, se toma el peso húmedo del sustrato y se multiplica por la tasa de inoculación que se desea realizar. En esta investigación se tomó como punto de partida 33% de tasa, por lo cual se usó 50 gramos de semillas que se distribuyó a lo largo de la funda (Annenkov y Azarova, 2009). Se colocó en proporción de una parte sustrato una parte semilla, así hasta que la funda se llenó, se cerró la funda dejando un espacio en la parte superior (Michel *et al.*, 2015). Por consiguiente, se tiene una funda con 140 gramos de sustrato más 50 gramos de semillas (hifas) con un total de 190 gramos por funda.

3.4.3.2 Incubación

En esta etapa se esperó hasta que una capa blanca cubra todo el sustrato, en esta etapa se mantuvo una temperatura de 20 – 26°C, sin luz (Cruz *et al.*, 2010). Cuando el micelio cubrió todo el sustrato se tomó un registro diario, con la ayuda de una ficha de observación, en la cual se anotó los cambios ocurridos en el sustrato. En el momento que el micelio se haya expandido completamente, es decir se observa una capa blanca que envuelve el sustrato. Se tomó el tiempo de incubación que comprende desde el día que se realizó la inoculación hasta el día que el micelio se expandió.

Se realizó un pesado de las fundas, en el momento que se observaba que el micelio cubría todo el sustrato esto se realizaba para medir la cantidad de semillas que se tuvo por tratamiento. Se tomó como variable dependiente el peso obtenido en las diferentes fundas, que será el peso de las semillas (hifas), y el tiempo transcurrido.

En este punto se debe evaluar el índice de producción de semillas, para el cual se utiliza el peso inicial del sustrato inoculado, se pesa el sustrato a los 23 días de haber sido inoculado y se utiliza el índice de producción de semillas que fue definido en la etapa de inoculación. Se utiliza la ecuación 2 (ver 1, 8,1).

Para evaluar la posible contaminación de los sustratos, se realizó una evaluación visual de los mismos; si se observaba alguna parte del sustrato de color negro o verde, se identifica el peso de la parte contaminada y se utilizaba la ecuación 4 (ver 1, 8,3) para obtener el porcentaje de contaminación.

3.4.3.3 Fructificación

Se procedió a realizar cortes verticales en la funda de 5 centímetros separados cada uno a 10 centímetros, por estos cortes se espera el crecimiento de los primordios. Las condiciones con las que se debe manejar son temperaturas de 18-23°C, iluminación de 12 horas y una humedad al 85%. Los primordios crecen alrededor de 6-8 días (Cruz *et al.*,2010). Para esta etapa se usó una ficha de observación en donde se anotaron los días que transcurrieron desde que se realizaron los cortes hasta que aparecieron los primordios y los cambios más relevantes que ocurrieron en el sustrato hasta la etapa de cosecha.

3.4.3.4 Cosecha

Los sombreros se desarrollan completamente en 6-7 días después de la aparición de los primordios (Cruz *et al.*, 2010). Una vez compactos, son cortados desde la base con un cuchillo afilado previamente desinfectado con una solución de cloro al 0,5 % y de alcohol al 70%. Los cuerpos fructíferos del hongo son pesados y se midió el rendimiento, dividiendo el peso en kilogramos de hongo fresco sobre el peso en kilogramos de sustrato seco.

En esta etapa se mantuvo una temperatura de 12-14°C (Vedder, 1996). Se tomó el tiempo de fructificación, que comprende desde que aparecen los primordios hasta que estén listos para la cosecha.

Se pueden producir hasta 4 oleadas. Pasado ese número de oleadas el rendimiento disminuye y el sustrato es más susceptible a contaminación. Después de la primera oleada el sustrato es llevado a las mismas condiciones de incubación para obtener la siguiente oleada en un promedio de 10 días (Sánchez, 2006).

Para evaluar el rendimiento de las setas, se pesó con una balanza analítica los cuerpos fructíferos de cada tratamiento y se utiliza la ecuación 3 (ver 1, 8,2) para medir el rendimiento.

4. CAPÍTULO IV. Resultados y discusiones

En la siguiente sección, se muestra los resultados obtenidos de las 28 fundas experimentales, divididos según la variable estudiada.

4.1 Análisis estadístico del índice de producción de semilla

El análisis estadístico, se realizó aplicando un análisis de varianza ANOVA de un sólo factor para comprobar si los tratamientos utilizados son diferentes entre ellos, y si esta diferencia es significativa. Se aplicó un intervalo de confianza del 95% y se realizó la prueba tukey para la separación de medias.

El análisis de varianza de la primera variable, índice de producción de semilla, se muestra en la tabla 9.

Tabla 9.

Análisis de varianza de índice de producción de semilla (IP)

F.V	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9	0,18	0,78	0,637
Tratamientos (mezclas)	6	0,24	1,03	0,438
Repetición	3	0,06	0,28	0,8386
Error	18	0,23		
Total	27			

Nota: F.V= fuentes de variación, gl= grados de libertad, CM= cuadros medios

Según el p-valor, no existe diferencia significativa entre tratamientos ni repeticiones, correspondiente al índice de producción de semillas. No se realizó una prueba tukey debido a que el p-valor es menor a 0,05.

Para el índice de producción de semillas se identificó el peso del sustrato inoculado y el peso del sustrato a los 23 días de haber sido inoculado y se calculó según la ecuación 2 (ver 1.8.1, marco teórico).

En la tabla 10 se muestran los 7 tratamientos con el promedio más la desviación estándar de las 4 repeticiones del índice de producción de semillas o IP, el promedio del peso del sustrato inoculado y el promedio del peso del sustrato a los 23 días de haber sido inoculado.

Tabla 10.

Promedio de las 4 repeticiones del IP, peso del sustrato inoculado y el peso del sustrato a los 23 días de haber sido inoculado (n=4)

Tratamiento	Promedio sustrato inoculado (g)	Promedio sustrato inoculado a los 23 días (g)	Promedio IP
1 (75% bg + 25% tc)	188	193	2,5 ± 0,5
2 (50% bg+25% as+25% tc)	188	192	2,1 ± 0,5
3 (25% bg+ 50% as+25% tc)	191	194	1,8 ± 0,3
4 (75% as+ 25% tc)	189	193	1,9 ± 0,3
5 (100% bg) testigo	191	195	2,0 ± 0,3
6 (100% as)	189	192	1,9 ± 0,7
7 (100% tc)	188	192	2,0 ± 0,5

Nota: Bg= bagazo de caña. As= aserrín. Tc= tamo de cebada

El sustrato aumenta su peso hasta 5 gramos y $2,5 \pm 0,5$ % de índice de producción de semillas en el tratamiento 1, debido a que el micelio invade la materia prima y el peso del sustrato incrementa, este aumento es considerado netamente peso de semillas.

En las 4 repeticiones de los 7 tratamientos, el tratamiento 1 obtuvo un mayor índice de producción de semillas con una media de $2,5 \pm 0,5$ (Anexo 1), en la tabla

10 se observa que no hay diferencia estadística entre tratamientos, es decir que no influye la formulación del sustrato para la expansión del micelio del hongo.

El micelio del hongo ostra necesita de un sustrato que contenga un alto contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina. Según estudios de Ardón (2007) sobre la producción de hongos comestibles, si el sustrato contiene este tipo de carbohidratos la expansión del micelio no se ve afectada, debido a que el hongo es de podredumbre blanca, es decir que degrada fácilmente la materia orgánica. En el presente estudio los 7 tratamientos tienen un alto porcentaje de materia orgánica lo que hace de estos sustratos ideales para la expansión del micelio, por lo cual no hubo diferencias significativas entre tratamientos. El contenido orgánico de los sustratos no asegura el 100% del crecimiento del micelio, ya que de igual forma influye el procedimiento de inoculación del hongo, las condiciones ambientales y el procedimiento de limpieza que se realice.

En el estudio realizado por Sharma, Yadav y Pokhrel (2013), sobre el crecimiento y rendimiento del hongo ostra en diferentes sustratos se demuestra que la cantidad de materia orgánica no influye en el crecimiento del micelio del hongo, en los 5 tratamientos estudiados por Sharma, Yadav y Pokhrel, no hubo diferencia significativa en el crecimiento del micelio, este se midió en centímetros. En el presente estudio, los 7 tratamientos no tuvieron diferencia estadística significativa en relación al peso del micelio, se puede interpretar que tuvieron la misma expansión.

El espesor de cada uno de los tratamientos fue variable, ya que el aserrín brindaba mayor consistencia que el bagazo de caña. En un estudio previo sobre la producción del champiñón ostra en Chile realizado por Cisterna (2002), se menciona que el sustrato al ser demasiado compacto dificulta la expansión del

micelio ya que no existe un adecuado intercambio gaseoso elevando la temperatura interna del sustrato y por consiguiente afectando el desarrollo de los cuerpos fructíferos. En la presente investigación, se determinó que el espesor de las mezclas no influye en la producción de semillas, ya que en los 7 tratamientos el peso del micelio no fue estadísticamente diferente, aunque la porosidad varió por la estructura física de las materias primas. Es decir, el tratamiento 5 compuesto por 100% bagazo de caña era menos compacto que el tratamiento 6 compuesto por 100% de aserrín, pero la expansión del micelio no se vio afectada por este factor.

4.2 Análisis estadístico del rendimiento de setas

Se realizó un análisis de varianza ANOVA, con un intervalo de confianza del 95% para comprobar si los tratamientos utilizados en este estudio son estadísticamente diferentes, se realizó una prueba tukey para la separación de medias.

En la tabla 11 se muestra el análisis de varianza de la segunda variable, rendimiento de setas.

Tabla 11.

Análisis de varianza de rendimiento de setas

F.V	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos (mezclas)	6	89,6	20,13	0,0001
Repetición	3	7,01	1,57	0,2303
Error	18	4,45		
Total	27			

Nota: F.V= fuentes de variación, gl= grados de libertad, CM= cuadros medios

Según el p-valor, los tratamientos utilizados son estadísticamente diferentes, en la variable estudiada, rendimiento de setas. Por consiguiente, la formulación de los tratamientos influye en el peso final de los cuerpos fructíferos. Se realizó un análisis tukey debido al p-valor.

El promedio del peso, el rendimiento de los cuerpos fructíferos y la categoría a la que pertenecen se muestran en la tabla 12, de los 7 tratamientos en sus 4 repeticiones, datos obtenidos en la prueba tukey.

Tabla 12.

Promedio del peso de setas y promedio del rendimiento obtenido (n=4)

Tratamiento	Promedio de peso de cuerpo fructíferos (g)	Promedio rendimiento (%)	Grupos tukey
1 (75% bg + 25% tc)	35 ± 2,8	25,0 ± 2,0	A
2 (50% bg+25% as+25% tc)	29 ± 1,3	20,3 ± 0,9	ABC
3 (25% bg+ 50% as+25% tc)	16 ± 2,6	11,0 ± 1,9	E
4 (75% as+ 25% tc)	22 ± 4,2	15,7 ± 3,0	CDE
5 (100% bg) testigo	25 ± 4,6	18,0 ± 3,3	BCD
6 (100% as)	21 ± 1,9	15,0 ± 1,5	DE
7 (100% tc)	31 ± 2,6	22,1 ± 1,8	AB

Nota: Bg= bagazo de caña, as= aserrín, tc= tamo de cebada

En la tabla 12, se muestra que el tratamiento 1 que pertenece al grupo A obtuvo el rendimiento más alto con 25± 2,0% y un peso promedio de 35 ±2,8 gramos.

El tratamiento 1 tiene un peso promedio de rendimiento de setas de 25 ± 2 % siendo el tratamiento con mayor rendimiento de cuerpos fructíferos y es diferente estadísticamente de los tratamientos 3, 4, 5 y 6 que poseen un rendimiento inferior. La segunda formulación con mayor rendimiento es el tratamiento 7 compuesto por 100% tamo de cebada que es estadísticamente diferente de los tratamientos 3,4 y 6 que presentan rendimientos y pesos de cuerpos fructíferos

inferiores. Por consiguiente, los tratamientos que pertenecen al grupo A son los tratamientos con mayor rendimiento.

El tratamiento que mejor rendimiento obtuvo en las 4 repeticiones fue el tratamiento 1, con una media de 25 ± 2 , la composición fue de 75% bagazo de caña y 25% de tamo de cebada. El bagazo de caña contiene 97% de materia orgánica, siendo el 36% celulosa, el tamo de cebada cuenta con 94% de materia orgánica siendo el 20% celulosa, siendo estas las materias primas que mayor porcentaje de carbohidratos estructurales posee, ambas son un componente esencial en el desarrollo del micelio del hongo ostra, por su composición (Royse y Sánchez, 2001).

En un estudio previo realizado por Ríos, Hoyos y Mosquera (2010), sobre la evaluación de los parámetros productivos de la semilla del hongo ostra, se menciona que el hongo posee una capacidad enzimática capaz de degradar polímeros de estructura compleja, obteniendo mayor rendimiento en sustratos con un alto porcentaje de lignocelulosa. Las materias primas que se evaluaron fueron el bagazo de caña y cebada con cepas comerciales del hongo ostra, obteniendo una eficiencia biológica del 40% sin diferencia estadística entre tratamientos; se concluye que, para el desarrollo de cuerpos fructíferos, el hongo necesita un sustrato con porcentajes altos de materia orgánica. En el presente estudio se evaluaron 3 tipos de materias primas con porcentajes altos de materia orgánica y se obtuvieron diferencias estadísticas entre tratamientos, obteniendo un mayor rendimiento en la mezcla de bagazo de caña y tamo de cebada ya que representan un mayor porcentaje de celulosa y lignina que el resto de tratamientos y su porosidad era la adecuada.

El bagazo de caña es la materia prima que posee mayor contenido de celulosa y de lignina (tabla 4). En el testigo, compuesto por 100% de bagazo de caña, no se obtuvo los mejores resultados a pesar de su composición de materia orgánica, esto se debe a la estructura física de la caña de azúcar. El bagazo, al ser fibroso y en forma de tronco dificulta el corte y manipulación causando que la porosidad sea inadecuada, es decir, existe demasiado espacio entre materias primas dentro de la funda. Aunque el micelio se expanda, el desarrollo de los cuerpos fructíferos se ve afectado debido al espacio inter estructural. El hongo va a buscar desarrollarse donde encuentre espacios, disponibilidad de oxígeno y luz; si hay áreas libres entre materias primas va a crecer en ambas direcciones, buscando disponibilidad de oxígeno, es decir hacia los cortes de la funda de polyfan y en el espacio inter estructural. Al no existir las condiciones ambientales necesarias para su desarrollo se estanca el crecimiento del hongo. Según Cisterna (2002) en su estudio sobre la producción del champiñón ostra en Chile, menciona que el hongo necesita que el sustrato sea compacto para que haya una expansión completa del micelio y si la compactación del sustrato es laxa no existirá un desarrollo completo del micelio disminuyendo el rendimiento de cuerpos fructíferos.

Se observa rendimientos favorables cuando el bagazo de caña se mezcla con una materia prima más densa como el tamo de cebada o el aserrín, siendo el tratamiento 2, mezcla de 50% bagazo de caña, 25% aserrín y 25% tamo de cebada, el tercer tratamiento con mayor rendimiento de setas. En un estudio previo realizado por Rivera, Martínez y Morales (2013) se evaluaron 4 mezclas de sustratos, obteniendo mayor peso de setas en los tratamientos en que se mezclaba bagazo de caña con una variedad de paja, teniendo una diferencia en peso de setas de hasta 30 gramos entre los tratamientos que tenían bagazo de

caña más paja y los tratamientos que tenía bagazo de caña más cáscara de papa.

Los tratamientos que menor rendimiento presentaron, según el análisis estadístico (tabla 12) fueron las mezclas que contenían aserrín en un porcentaje mayor a 50. En un estudio previo realizado por Bilal, Mushtaq y Moinuddin (2014) sobre el efecto de diferentes sustratos en el crecimiento del hongo ostra, se menciona que el rendimiento de los sustratos que tenían una combinación de aserrín eran los más altos a comparación de los que contenían paja de trigo, debido a que el aserrín proviene de desechos madereros con alto porcentaje de lignina, lo que permitía obtener un rendimiento del 78% a diferencia del tratamiento que contenía paja de trigo con 63% de rendimiento en fundas de 1000 gramos. En este estudio se obtuvo que los tratamientos con un porcentaje alto de aserrín fueron los que tuvieron menor rendimiento en peso de setas, aunque el aserrín es la materia prima con mayor accesibilidad. Los rendimientos obtenidos fueron mínimos, esto se debe a que el aserrín se vuelve denso con la humedad dificultando el intercambio de oxígeno y CO₂, y aunque posee mayor contenido de celulosa y hemicelulosa que el tamo de cebada su aprovechamiento fue mínimo, esto se debe a que el nivel de C/N es menor en el aserrín dificultando la degradación de la materia orgánica (Royse y Sánchez, 2001).

En el estudio sobre la evaluación de residuos agrícolas como sustrato para el hongo ostra realizado de Rivera, Martínez y Morales (2013) se menciona que los carbohidratos estructurales que componen las materias primas utilizadas son directamente proporcional al crecimiento de las setas, debido a que el hongo ostra cuenta con enzimas que degradan fácilmente estos compuestos, incrementando su rendimiento. Por otro lado, se ha demostrado que, si existen

carbohidratos solubles en las materias primas a utilizar, el rendimiento del hongo disminuye debido a que no son aprovechadas ni necesarias para el crecimiento de cuerpos fructíferos. En el presente estudio se obtuvieron resultados positivos con las combinaciones de sustratos porque se favoreció el contenido de compuestos orgánicos como lignina y celulosa para la formación de los sustratos.

El tratamiento control obtuvo un peso de cuerpos fructíferos de $25 \pm 4,6$ gramos. En un estudio previo realizado por Vargas, Hoyos y Mosquera (2012), sobre el cultivo de hongo ostra sobre bagazo de caña y hojarasca, se obtuvo que el tratamiento formulado con 75% de bagazo de caña obtuvo un mayor peso en cuerpos fructíferos. En fundas de 2 kilogramos se obtuvo 196 gramos de cuerpos fructíferos. En el presente estudio el tratamiento 1 formulado con 75% bagazo de caña, tuvo $35 \pm 2,8$ gramos de cuerpos fructíferos en fundas de 190 gramos. Por consiguiente, si las fundas experimentales en el presente estudio tuvieran un peso de 2 kilogramos como el estudio previo realizado por Vargas, Hoyos y Mosquera los pesos de los cuerpos fructíferos en el presente estudio serían mayor.

4.3 Análisis estadístico de tiempos de crecimiento en el hongo ostra

Se evaluó 3 diferentes tiempos en el cultivo del hongo que fueron: tiempo de incubación, tiempo de fructificación y tiempo de cosecha. Se realizó un análisis de varianza ANOVA, con un intervalo de confianza del 95%, para comprobar si los tiempos obtenidos en este estudio son estadísticamente diferentes.

La tabla 13 se presenta el análisis de varianza del tiempo de incubación.

Tabla 13.

Análisis de varianza del tiempo de incubación

F.V	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos (mezclas)	6	2,48	1,88	0,1399
Repetición	3	1,18	0,89	0,4630
Error	18	1,32		
Total	27			

Nota: F.V= fuentes de variación, gl= grados de libertad, CM= cuadros medios

Según el p-valor, el tiempo de incubación obtenido en las 28 fundas experimentales no fueron estadísticamente diferentes. Por consiguiente, el tiempo de incubación no tiene una variación significativa entre los 7 tratamientos.

La tabla 14 se muestra el análisis de varianza del tiempo de fructificación

Tabla 14.

Análisis de varianza del tiempo de fructificación

F.V	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos (mezclas)	6	0,81	1,55	0,2201
Repetición	3	0,61	1,16	0,3526
Error	18	0,52		
Total	27			

Nota: F.V= fuentes de variación, gl= grados de libertad, CM= cuadros medios

Según el p-valor, el tiempo de fructificación que se obtuvo en las 28 fundas experimentales no fue estadísticamente diferente.

Se muestra el análisis de varianza del tiempo de cosecha, en la tabla 15.

Tabla 15.

Análisis de varianza del tiempo de cosecha

F.V	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos (mezclas)	6	1,75	2,88	0,0378
Repetición	3	0,86	1,41	0,2719
Error	18	0,61		
Total	27			

Nota: F.V= fuentes de variación, gl= grados de libertad, CM= cuadros medios

Según el p-valor el tiempo de cosecha es estadísticamente diferente entre tratamientos.

En la tabla 16 se muestra, el tiempo promedio junto con la desviación estándar y el grupo tukey de los 3 tiempos del cultivo del hongo.

Tabla 16.

Promedio del tiempo en días del cultivo del hongo ostra

Tratamientos	Incubación (d)	Fructificación (d)	Cosecha (d)	Grupos tukey
1 (75% bg + 25% tc)	22 ± 1	4,8 ± 0,5	5,3 ± 1	B
2 (50% bg+25% as+25% tc)	23 ± 1	5,8 ± 0,5	5,5 ± 0,6	AB
3 (25% bg+ 50% as+25% tc)	23 ± 2	5,3 ± 0,5	6,3 ± 0,5	AB
4 (75% as+ 25% tc)	24 ± 1	5,8 ± 1,5	7,3 ± 1,3	A
5 (100% bg) testigo	23 ± 1	4,8 ± 0,5	6,3 ± 0,5	AB
6 (100% as)	23 ± 0,5	5,8 ± 0,5	5,8 ± 1	AB
7 (100% tc)	22 ± 1	5,3 ± 0,5	5,8 ± 0,5	AB

Nota: Bg= bagazo de caña, as= aserrín, tc= tamo de cebada

El tratamiento 1 pertenece al grupo B y muestra tiempos menores en la etapa de incubación, fructificación y cosecha. El grupo B muestra tiempos inferiores en todas las fases del cultivo.

El tratamiento 4 conformado por 75% aserrín y 25% tamo de cebada es estadísticamente diferente en relación al tiempo de cosecha con el tratamiento 1 conformado por 75% bagazo de caña y 25% tamo de cebada. Es decir el tratamiento 1 tiene un tiempo de cosecha más óptimo que el tratamiento 4, esto se ve relacionado por la formulación del sustrato, ya que el tratamiento 1 posee

más cantidad de materia orgánica y de lignina, lo que disminuye el tiempo de formación de sombreros (Loor Alcívar, 2008).

En un estudio previo realizado por Escobedo (2012), sobre la producción del hongo seta *Pleurotus ostreatus* en México, determina que el tiempo máximo de incubación para el hongo ostra sobre un sustrato de cebada es de 25 días, en tiempo de fructificación es de 7-10 días y de cosecha de 6-7 días. En el presente estudio se obtuvo que en el tratamiento 7 conformado por 100% tamo de cebada tuvo un promedio de 22 ± 1 días en la etapa de incubación. En etapa de fructificación se obtuvo un promedio de $5,3 \pm 0,5$ días y en etapa de cosecha de $5,8 \pm 0,5$ días. Por consiguiente, en etapa de incubación se encuentra dentro del tiempo óptimo, mientras que en las dos siguientes etapas se obtuvo menor tiempo que el registrado en el estudio de Escobedo.

El tratamiento control conformado por 100% bagazo de caña, en el presente estudio mostro un período de incubación de 23 ± 1 días, de fructificación de $4,8 \pm 0,5$ y de cosecha de $6,3 \pm 0,5$ días. En un estudio previo realizado por Pineda, Soto, Guzmán, Vispo, Huaca y Duarte (2016), sobre la producción de hongo ostra en bagazo de caña, menciona que el tiempo de incubación es de $21 \pm 1,5$ días. Por consiguiente, en este estudio en el tratamiento control se obtuvieron tiempos mayores comparados al del estudio previo. En relación al tratamiento 1 que posee 75% bagazo de caña se obtuvieron tiempos de 22 ± 1 días, que son más acercados al obtenido en el estudio sobre la producción de hongo ostra en bagazo de caña.

El tratamiento control colonizó el sustrato en un periodo de 23 ± 1 . En un estudio realizado por Vargas, Hoyos y Mosquera (2012), sobre el uso de hojarasca y bagazo de caña para la producción de hongo ostra, muestra que usando un

sustrato de bagazo de caña, la etapa de incubación tiene un periodo de 20 días. En el mismo estudio un sustrato conformado por 75% de bagazo de caña y 25% de hojarasca tuvo un periodo de incubación de 25 días. En el presente estudio el tratamiento 1 conformado por 75% de bagazo de caña tuvo un periodo de incubación menor que el tratamiento control y un tiempo menor que el del estudio previo, con un tiempo de incubación de 22 ± 1 . Por consiguiente, tiene tiempos óptimos a comparación al control y al estudio previo.

En tiempos de fructificación el tratamiento 1 obtuvo similares resultados que el tratamiento control, $4,8 \pm 0,5$ días, ambos tiempos menores a comparación al resto de tratamientos. En tiempos de cosecha el tratamiento 1 obtuvo un menor tiempo $5,3 \pm 1$ días que el tratamiento control que tuvo $6,3 \pm 0,5$ días. El tiempo considerado óptimo para etapas de fructificación y cosecha son de 6-8 días según Cisterna (2002), en su estudio sobre el cultivo de champiñón ostra. Por consiguiente, en este estudio se obtuvieron mejores resultados en tiempos de fructificación y cosecha.

4.4 Contaminación

De las 28 fundas experimentales, se contaminó una funda correspondiente al tratamiento 4, el porcentaje de contaminación en relación al peso del sustrato fue de solamente 1,05%, lo cual no repercutió en el desarrollo del hongo ostra.

La contaminación del sustrato fue de color negro, como se observa en la figura 2 dentro del círculo en la parte inferior de la misma.



Figura 2. Contaminación en el tratamiento 4

Las manchas de color negro, como se observa en la figura previa, no es parte del micelio del hongo ostra ya que este, se caracteriza por ser de color blanco.

Una de las causas que produjo la contaminación del tratamiento 4 fue el exceso de humedad. El hongo ostra en etapa de incubación necesita una humedad de 60 al 70%. Se debe controlar rigurosamente esta condición, distribuyendo el agua por todo el envase que contiene el sustrato. El tratamiento 4 estuvo conformado por 75% aserrín y 25% tamo de cebada; el aserrín, al sobrepasar el 60% de humedad se vuelve compacto impidiendo que haya un intercambio de

oxígeno y de CO₂, causando que la temperatura se eleve y generando susceptibilidad a cualquier tipo de plaga o enfermedad (Cisterna, 2002).

En un estudio previo sobre la naturaleza de los hongos ostra, realizado por Wu Kong (2005), se menciona que al aumentar la temperatura del cuarto de inducción, en la etapa de fructificación, la humedad relativa disminuye aumentando la tasa de respiración del hongo ostra y provocando que haya un mayor intercambio de CO₂ mismo que promueve el crecimiento de las setas. En el presente estudio, la temperatura en el tratamiento 4 se elevó a causa del exceso de humedad en la fase de incubación, paso de una temperatura de 25°C a 30°C, lo que causó el retraso del crecimiento de los primordios a 2 días más. Mientras que el resto de los tratamientos mantuvieron una temperatura ambiente de 25°C. Como menciona Michel, Otero, Díaz, Ariza y Aristeo (2010) en su manual de producción de hongos, si hay contaminación de hongos patógenos el crecimiento de los primordios puede verse retrasado hasta 5 días más. A pesar de la contaminación el retraso del crecimiento de los primordios no fue representativo en comparación al estudio antes mencionado. En fase de fructificación, la temperatura fue de 25°C lo que disminuyó la humedad y permitió el crecimiento de las setas; aunque el rendimiento fue bajo, no se observó que las setas estuviesen contaminadas, los cuerpos fructíferos fueron carnosos y no presentaron manchas ni agujeros en el sombrero.

El control de las condiciones ambientales es un paso de vital importancia para evitar la contaminación en los sustratos. El autoclavado asegura que la materia prima que se va a utilizar esté libre de patógenos y elimina residuos químicos que puedan existir. Controlando la humedad de cada uno y la temperatura en cada fase se evita que exista contaminación en los tratamientos estudiados como lo menciona Cha (2005) en su estudio sobre el manejo de pestes en el cultivo

del hongo ostra. En el presente estudio, 1 funda de las 28 fundas experimentales, resulto contaminada por el exceso de humedad, tuvo una fermentación anaerobia que retaso el metabolismo de las setas (Wuu Kong, 2005).

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

El tratamiento 1 obtuvo la mayor producción de semillas con una media aritmética de $2,5 \pm 0,5\%$ que representa el peso neto de semillas, en sustrato con 75% bagazo de caña y 25% tamo de cebada. Entre los 7 tratamientos no hubo diferencia significativa, esto se debe a que el micelio del hongo necesita un contenido alto de celulosa, lignina y hemicelulosa para expandirse, los 7 tratamientos contaron con esta característica, resultando en un óptimo desarrollo de micelio del hongo.

El tratamiento 1 fue el que obtuvo un $25 \pm 2 \%$ de rendimiento con un peso de $35 \pm 2,8$ gramos en cuerpos fructíferos, perteneció al grupo tukey A que mostró ser el grupo que presentaba mayor rendimiento. La formulación del sustrato tuvo un alto contenido de celulosa y lignina lo que favoreció el crecimiento de los cuerpos fructíferos, la densidad del sustrato permitió que las setas se pudieran desarrollar de forma óptima. El bagazo de caña aporta con los componentes nutricionales necesarios para el hongo, mientras que el tamo de cebada, además de aportar nutrientes, brinda resistencia y densidad adecuada para el intercambio gaseoso, evitando el espacio inter estructural entre materias primas, convirtiéndose en el mejor tratamiento, tanto para la producción de semillas como para el rendimiento de setas.

Las 27 fundas experimentales evaluadas no presentaron problemas de contaminación, debido a que se esterilizó cada una de las materias primas y materiales utilizados lo cual permitió un cumplimiento riguroso del protocolo

(anexo 2). El tratamiento que resultó contaminado fue el 4 en su segunda repetición con un porcentaje de contaminación de 1,05%, no se perdió la cosecha, pero se obtuvo un rendimiento del 20% menos que en las otras repeticiones, esto se dio por un exceso de humedad en el sustrato lo que causó el retraso del crecimiento de los primordios en la fase de fructificación.

El bagazo de caña mezclado con otro tipo de materia prima, ya sea esta proveniente de una paja o residuo maderero, se obtiene rendimientos altos, a comparación al sustrato control que es 100% bagazo de caña, debido a que se obtiene una mejor porosidad y por consiguiente una adecuada expansión del micelio. El tratamiento 1 conformado por 75% bagazo de caña y 25% tamo de cebada en las pruebas tukey resulto ser estadísticamente diferente al tratamiento control. Por consiguiente, se obtienen mejores resultados mezclando el bagazo de caña con algún tipo de paja. Aunque la manipulación del bagazo de caña sea dificultosa, posee un alto contenido de materia orgánica que es aprovechado por el hongo ostra.

El tratamiento 1 conformado por 75% bagazo de caña y 25% tamo de cebada, fue la formulación que obtuvo menores tiempos de incubación, fructificación y cosecha. Según la media realizada, las formulaciones que contenían en algún porcentaje bagazo de caña obtuvieron tiempos menores en comparación a las formulaciones que no poseían.

El cumplimiento del protocolo de estandarización para la producción de semillas (anexo 2), facilita la obtención del hongo ostra, debido a que los procesos detallados brindan resultados óptimos, para la producción de semillas y de cuerpos fructíferos.

5.2 Recomendaciones

Para contar con un sustrato que brinde una alta producción de semillas y de rendimiento de setas, se recomienda realizar un análisis bromatológico de las materias primas a utilizar para que al momento de formular los sustratos estén basados en la composición y contenido de materia orgánica óptimos.

Se recomienda que, para formular el sustrato, se evalúe la correcta porosidad para que haya un adecuado intercambio gaseoso que permita el desarrollo de los cuerpos fructíferos, si es demasiado compacto, provoca una fermentación anaerobia que eleva la temperatura interna del sustrato volviéndolo susceptible a patógenos y finalmente inhibiendo el crecimiento de las setas.

Para poder contar con un alto porcentaje de rendimiento se recomienda que no existan espacios con demasiado oxígeno, ya que provocan que los cuerpos fructíferos crezcan en direcciones opuestas, disminuyendo su rendimiento.

La humedad es uno de los factores que se debe manejar con extremo cuidado, si no se cuenta con un higrómetro se puede realizar la prueba del puño para comprobar la humedad presente en el sustrato. Si no se controla esta condición se tiene una disminución en el rendimiento de las setas. Se debe cumplir con todas las normas de higiene y de preparación de materiales para evitar que existan hongos patógenos que dificulten el crecimiento del hongo ostra.

Se recomienda realizar un análisis microbiológico a las posibles fundas contaminadas, para determinar a qué tipo de patógeno es más susceptible el hongo ostra y en futuras producciones disminuir el índice de contaminación. Ya

que conociendo el agente problema se puede utilizar un sistema diferente de desinfección.

Se recomienda llevar un registro de los días que se demora el micelio en colonizar cada uno de los sustratos y el tiempo de desarrollo de los primordios, para controlar el óptimo rendimiento de los sustratos estudiados.

REFERENCIAS

- Annenkov, B., y Azarova, V. (2009). *Comparative Evaluation of Methods of Increasing Selectivity of Straw Substrates for Successful Growing of Oyster Mushrooms*, Recuperado el 10 de noviembre de 2016 de doi:10.3103/S1068367409060081
- Ardon, C. (2007). La producción de los hongos comestibles, Recuperado el 12 de septiembre de 2016 de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/07/07_1932.pdf
- Barbado, J. L. (2003). Hongos Comestibles, Recuperado el 14 de septiembre de 2016 de https://books.google.com.ec/books?id=qPykPt-eTTkC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Bermúdez , R. C., Donoso, C., Martínez, E., Ramos, I., y Morris, H. (2002). Efecto de la luz en la concentración de micosteroles del hongo ostra, Recuperado el 20 de septiembre de 2016 de http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol16_1_02/ali02102.pdf
- Bermudez, C., Donoso, C., Martínez, C., Morris, J., y Ramos, I. (2003). Influencia de la luz en la calidad proteíca del Hongo Ostra, Recuperado el 20 de septiembre de 2016 de <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v22n4/ibi02403.pdf>
- Bilal, S., Mushtaq, A., y Moinuddin, K. (2014). *Effect of different grains and alternate substrates on oyster mushroom production*, Recuperado el 22 de septiembre de 2016 de doi:10.5897/AJMR2014.6697
- Boa, E. (2006). Hongos Silvestres Comestibles, Recuperado el 3 de octubre de 2016 de <http://www.fao.org/3/a-y5489s.pdf>

- Cha, J. (2005). Manejo de Pestes, plagas y enfermedades, Recuperado el 3 de octubre de 2016 de <http://www.hongoscomestiblesymedicinales.com/P/P/oyster%20bien/capitulo%207%20pag.%20187-189.pdf>
- Chang, S. T. (2007). *Mushroom Production*, Recuperado el 12 de noviembre de 2016 de <https://www.eolss.net/Sample-Chapters/C17/E6-58-06-03.pdf>
- Cisterna, C. (2002). Cultivo del Champiñon Ostra, Recuperado el 20 de julio de 2016 de <http://www.biomicel.com/Interes/Tecnologia/35.pdf>
- Cruz, D., López de León, F., Pascual, L., y Battaglia, M. (2010). Guía Técnica de producción de hongos comestibles de la especie de Hongos Ostra, Recuperado el 25 de julio de 2016 de [doi:http://dx.doi.org/10.12895/jaeid.20103/4.16](http://dx.doi.org/10.12895/jaeid.20103/4.16)
- Escobedo, R. (2012). Producción del hongo seta *Pleurotus ostreatus*, Recuperado el 15 de noviembre de 2016 de <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasaapt/Producci%C3%B3n%20de%20Hongo%20Seta.pdf>
- Forero, C. L., Hoyos, O. L., y Bazante, W. (2008). Evaluación de residuos de ají como sustrato para setas de hongos comestibles, Recuperado el 2 de diciembre de 2016 de <http://revistabiotechnologia.unicauca.edu.co/revista/index.php/biotechnologia/article/viewFile/77/62>
- France, A., Cañumir, J. A., y Cortez, M. (2000). Producción de Hongos Ostra, Recuperado el 22 de noviembre de 2016 de <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/NR25631.pdf>
- Gaitán Hernandez, R., Salmones, D., Pérez, R., y Mata, G. (2006). Manual Práctica del Cultivo de Setas Aislamiento, siembra y Producción,

- Recuperado el 17 de septiembre de 2016 de
http://www1.inecol.edu.mx/inecol/libros/manual_setas.pdf
- García, N., Bermúdez, R. C., Gros, P., y Hernández, M. (2006). Cultivo de cepas de *Pleurotus* sp. sobre pulpa de café, Recuperado el 12 de junio de 2016 de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=88302315>
- Garzón, J. P., y Cuervo, J. L. (2008). Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia, Recuperado el 18 de agosto de 2016 de
http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA10_ARTORIG2_pleur.pdf
- INPOFOBOS. (1997). Manual Internacional de Fertilidad de Suelos, Recuperado el 20 de agosto de 2016 de
<https://es.scribd.com/doc/242645735/Manual-Internacional-de-Fertilidad-de-Suelos-pdf>
- Kwon, H., y Byung, S. (2005). Manual del cultivador de hongos- Cultivos en botellas, Recuperado el 2 de agosto de 2016 de
<http://hongoscomestiblesymedicinales.com/P/P/oyster%20bien/capitulo%207%20pag.%20181-186.pdf>
- Loor Alcívar, B. J. (2008). Factibilidad para la industrialización de hongos comestibles, Recuperado el 20 de agosto de 2016 de
<https://www.oas.org/dsd/publications/Unit/oea60s/ch20.htm>
- Luley, C. (2006). Identificación del tipo de pudrición de la madera y hongos, Recuperado el 5 de julio de 2016 de
<http://www.dbbe.fcen.uba.ar/contenido/objetos/Identifictipodepudric.pdf>
- Mandeeel, Q., Al-Laith, A., y Mohamed, S. (2005). *Cultivation of oyster mushrooms (Pleurotus spp.) on various lignocellulosic wastes*, Recuperado el 19 de noviembre de doi: 10.1007/s11274-004-3494-4

- Medina, H., Martínez, M., y Bonilla, J. (2007). Caracterización Bromatológica de materias primas y subproductos, Recuperado el 28 de agosto de 2016 de <http://revistas.utch.edu.co/ojs5/index.php/revinvestigacion/article/view/474/485>
- Melo de Carvalho, C., Sales-Campo, C., y Nogueira de Andrade, C. (2010). *Mushrooms of the Pleurotus genus: a review of cultivation techniques*, Recuperado el 24 de junio de doi:0378-1844/10/03/177-06
- Michel, A., Ariza, R., Otero, M., y Aristeo, B. (2015). Productos Químicos y Biológicos que incrementan la producción del hongo ostra, Recuperado el 10 de junio de 2016 de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33940176006>
- Obodai, M., Vowotor, K., y Cleland- Okine, J. (2003). *Comparative study on the growth and yield of Pleurotus ostreatus mushroom on different lignocellulosic by-products*, Recuperado el 19 de agosto de doi:10.1007/s10295-002-0021-1
- Otero, M. A., Díaz, E., Ariza , R., Aristeo , B., y Michel, A. (2010). Manual Producción de hongos comestibles Pleurotus spp, Recuperado el 10 de agosto de 2016 de <http://myslide.es/documents/manual-hongos-55a0bec0cd013.html>
- Parra, A. B. (2016). *Encuestas - Vinculación Nono-Udla*. Quito.
- Patil, S., Ahmed, S., y Telang, S. (2010). *The nutritional value of pleurotus ostreatus kumm cultivated on different lignocellulosic agro wastes*, Recuperado el 17 de septiembre de 2016 de <http://www.bioaliment.ugal.ro/revista/7/paper%2079.pdf>

- Pereira, G., Herrera, J., Machuca, A., y Sánchez, M. (2007). Efecto de pH sobre el crecimiento de hongo, Recuperado el 30 de noviembre de <http://www.scielo.cl/pdf/bosque/v28n3/art05.pdf>
- Pineda, J., Soto, C., Guzmán, R., Vispo, N., Huaca, J., y Duarte, E. (2016). Producción del hongo ostra en bagazo de caña, Recuperada el 12 de diciembre de 2016 de <http://www.redalyc.org/pdf/2231/223148420009.pdf>
- Quimio, T. (2005). Manual del cultivador de hongos, Recuperado el 23 de mayo de 2016 de <http://media.onvos.com/cds/hosting/uani-bonfire/data/ITvTrpbCultivo-de-hongos-PDF.pdf>
- Ríos, M. P., Hoyos, J. L., y Mosquera, S. (2010). Evaluación de los parámetros productivos de la semilla de *Pleurotus ostreatus* propagada en diferentes medios de cultivo, Recuperado el 12 de octubre de 2016 de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612010000200012
- Rivera, R., Martínez, C., y Morales, S. (2013). Evaluación de residuos agrícolas como sustrato para la producción de *Pleurotus ostreatus*, Recuperado el 20 de octubre de <http://www.scielo.org.co/pdf/luaz/n37/n37a08.pdf>
- Roncero, I. (2015). Propiedades nutricionales y saludables de los Hongos, Recuperado el 10 de mayo de 2016 de <http://www.adenyd.es/wp-content/uploads/2015/02/Informe-sobre-champi%C3%B1%C3%B3n-y-setas.pdf>
- Royse, D., y Sánchez, J. E. (2001). La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp, Recuperado el 3 de junio de 2016 de https://books.google.com.ec/books/about/La_biolog%C3%ADa_y_el_cultivo_de_Pleurotus_s.html?id=AXdoPQAACAAJ&redir_esc=y

- Sánchez. (2006). *Modern aspects of mushroom culture technology*, Recuperado el 2 de junio de 2016 de doi:10.1007/s00253-004-1569-7
- Sánchez, C. (2010). *Cultivation of Pleurotus ostreatus and other edible mushroom*, Recuperado el 10 de junio de 2016 de doi:10.1007/s00253-009-2343-7
- Sánchez, J., Martínez, D., Mata, G., y Leal, H. (2007). El cultivo de setas *Pleurotus spp* en México, Recuperado el 12 de octubre de 2016 de <https://issuu.com/ecosur/docs/42661>
- Sharma, S., Yadav, R., y Pokhrel, C. (2013). *Growth and Yield of Oyster mushroom (Pleurotus ostreatus) on different substrates*, Recuperado el 23 de noviembre de 2016 de <http://www.scielo.br/pdf/pab/v48n2/48n02a10.pdf>
- Tisdale, T., Miyasaka, S., y Hemmes, S. (2006). *Cultivation of the oyster mushroom (Pleurotus ostreatus) on wood substrates in Hawaii*, Recuperado el 14 de junio de 2016 de doi:10.1007/s11274-005-9020-5
- Tomaso, J. C., y Gimenez, F. (2006). Evaluación de cultivares de cebada cervecera en Balcarce, Recuperado el 5 de agosto de 2016 de http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-6__evaluacion_cebada_cervecera.pdf
- Vargas, P., Hoyos, J., y Mosquera, S. (2012). Uso de hojarasca de roble y bgazo de caña para la producción de hongo ostra, Recuperado el 12 de julio de 2016 de <http://revistabiotechnologia.unicauca.edu.co/revista/index.php/biotechnologia/article/viewFile/211/172>
- Varnero, M., Quiroz, M., y Álvarez, C. (2010). Utilización de Residuos Forestales Lignocelulósicos para Producción del Hongo Ostra

- (*Pleurotus ostreatus*), Recuperado el 14 de octubre de 2016 de
doi:10.1612/inf.tecnol.4154it.09
- Vedder, P. C. (1996). Cultivo moderno del champiñón, Recuperado el 3 de agosto de 2016 de
https://books.google.com.ec/books/about/Cultivo_moderno_del_champi%C3%B1%C3%B3n.html?id=igWSb9D7fckC
- Velez, N., Garcés, A., Ruíz, S., Serna de León, J., y Suarez, E. (2006). Evaluación de algunos residuos orgánicos como sustrato para el cultivo de hongos comestibles, Recuperado el 29 de agosto de 2016 de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69520204>
- Villacís, C. (2010). Hongos pueden desarrollarse en el Ecuador, Recuperado el 12 de julio de
http://lahora.com.ec/index.php/noticias/show/1000207437/-1/Hongo_ostra_puede_desarrollarse_en_Ecuador.html#.WLkUMYGPIU
- Vivero, E., Ticante, J., Gómez, S., Linares, G., y Gonzáles, F. (2008). El uso y manejo integral del hongo (*Pleurotus* spp.), Recuperado el 19 de noviembre de
http://web.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Extenso/CB/EO/CBO-19.pdf
- Woo Kang, S. (2005). Introducción al hongo Ostra, Recuperado el 17 de octubre de 2016 de
<http://www.hongoscomestiblesymedicinales.com/P/P/oyster%20bien/capitulo3%20pag%2053-56.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. Tablas del promedio y desviación estándar de las variables estudiadas (índice de producción de semillas y rendimiento de setas)

Tratamiento	IP1	IP2	IP3	IP4	Promedio± DE
1	3,17	2,13	2,64	2,13	2,5 ± 0,5
2	2,15	2,11	2,71	1,57	2,1 ± 0,5
3	1,58	2,05	1,57	2,12	1,8 ± 0,3
4	2,11	2,15	1,57	1,57	1,9 ± 0,3
5	1,55	2,13	2,08	2,1	2,0 ± 0,3
6	1,06	1,59	2,65	2,11	1,9 ± 0,7
7	2,66	2,11	1,6	1,61	2,0 ± 0,5

Tratamiento	R1	R2	R3	R4	Promedio± DE
1	23,6	27,9	23,6	25,0	25,0 ± 2
2	19,2	20,7	21,4	20	20,3 ± 0,9
3	10,7	12,8	12,1	8,5	11,0 ± 1,9
4	12,1	14,2	18,5	17,8	15,7 ± 3
5	15,7	16,4	22,8	17,1	18,0 ± 3,3
6	17,1	15	14	14	15,0 ± 1,5
7	21,4	20	24,2	22,8	22,1 ± 1,8

Anexo 2. Protocolo estandarizado para la producción de semillas de hongo ostra adaptado a las condiciones de laboratorio UDLA 2016

Introducción

La producción de hongos ostra, es un proceso fácil de realizar, pero debe ser controlado para que el rendimiento de los hongos no se vea afectado ya que depende del tipo de sustrato y las condiciones ambientales que se manejen.

Objetivo

Generar un protocolo estandarizado, para la obtención de semillas de hongos ostra en las condiciones de laboratorio de la Universidad de las Américas.

Materiales

- Semilla pura obtenida de grano
- Plástico negro
- Plástico transparente
- Bisturí
- Humidificador
- Balanza
- Fundas de Polyfan
- Bagazo de caña
- Tamo de cebada

Adaptaciones

Si no se cuenta con un cuarto de incubación, es decir que se encuentre en total oscuridad, se puede utilizar un estante plástico o adaptaciones del mismo y se lo cubre con plástico negro para dar el ambiente de oscuridad se puede realizar

pequeños agujeros al plástico para que haya ventilación, transcurridos los 23 días este plástico negro es cambiado por uno transparente para brindar iluminación al hongo y se pueda controlar la humedad necesaria.

Procedimiento

1. Las materias primas deben ser cortadas hasta conseguir fragmentos de 5-7 cm.
2. Se debe remojar las materias primas en agua pura con una solución de 2% del peso del sustrato de cal agrícola, si el sustrato contiene un alto contenido de azúcares como es el caso del bagazo de caña, se debe remojar 48 horas realizando un cambio de agua cada 12 horas, si el sustrato es derivado de una madera o de paja de cereales se lo remoja 48 horas sin cambio de agua.
3. Se debe realizar la esterilización de las materias primas a utilizar, se puede realizar un auto clavado a 121°C por dos horas, o realizar una pasteurización a 80°C durante una hora. Si se realiza el auto clavado se puede formular el sustrato en las fundas de polyfan sellarlas e ingresarlas en la auto clave, ya que estas fundas resisten este proceso.
4. Concluida la esterilización se debe esperar que el sustrato se encuentre a temperatura ambiente para realizar la inoculación y la humedad debe encontrarse alrededor de 70%, si no se cuenta con un higrómetro, se puede realizar la prueba de puño que consiste en coger una porción de sustrato con la mano y exprimirlo si gotea la humedad es mayor al rango aceptable si la mano se queda mojada la humedad es ideal para empezar la inoculación.
5. La inoculación debe realizarse en una mesa esterilizada previamente con una solución de cloro a una concentración de 0,5% y luego con alcohol al 70%, o se la puede realizar en una cámara de flujo laminar. El cloro comercial viene en una concentración de 5-6%, se debe realizar una dilución de 1:10 para obtener la concentración deseada.

6. Para conocer el peso de semillas que se debe inocular se recomienda utilizar una tasa de inoculación de 30% del peso húmedo del sustrato. Es decir, si mi sustrato húmedo pesa 1000 gramos se lo multiplica por la tasa de inoculación, obteniendo que se debe usar 300 gramos de semilla.

7. En las fundas de polyfan se coloca el peso del sustrato ya esterilizado, y las semillas, tratando de que las semillas se esparzan por todo el sustrato. También se puede colocar una capa de sustrato una capa de semilla, así hasta que la funda se haya llenado.

8. Se puede colocar sobre una mesa desinfectada el sustrato antes pesado, y colocar las semillas del hongo y mezclar, y de ahí realizar el formado de fundas, para que el tiempo sea menor, pero tomando en cuenta que la persona que lo realice debe desinfectarse las manos periódicamente y de igual forma la mesa en donde se lo realice debe estar desinfectada correctamente y el lugar en donde se lo haga debe ser cerrado evitando así el ingreso de cualquier contaminante.

9. Se cierran las fundas, y se las coloca en un ambiente oscuro durante un periodo de 23 días con un rango de temperatura de 21-26°C. Asegurando que haya ventilación sin humedad.

10. Transcurridos los 23 días de incubación se observa una capa blanca, el micelio, que cubre el sustrato. En esta etapa lo que se obtiene es semilla del hongo por lo que se puede abrir la funda y obtener 3 fundas más de 1000 gramos cada una con 30 gramos de semilla, esta nueva funda será de segunda generación.

11. A los 23 días se realizan cortes verticales a las fundas por donde saldrán los primordios, en esta etapa se debe mantener una humedad de 85%, se la puede obtener con un humidificador o con un atomizador regando agua cada 6 horas sobre las paredes y piso, nunca directo sobre los cortes. Los primordios

saldrán en un periodo de 5-6 días, y las setas estarán listas para cosechar de 6-7 días después de la aparición de los primordios.

12. Para cosechar las setas se debe desinfectar el bisturí o tijera con la que se vaya a realizar el corte, y se debe cortar desde la base del hongo. Y la funda debe volver a etapa fructificación, la segunda oleada saldrá en un periodo de 12-13 días. Una funda es capaz de llegar hasta 3 oleadas con un índice de producción alto.

Anexo 3. Fotos del cultivo del hongo ostra



Lámina 1. Corte del sustrato



Lámina 2. Humectación



Lámina 3. Auto clave



Lámina 4. Inoculación



Lámina 5. Expansión del micelio



Lámina 6. Fructificación



Lámina 7. Aparición de primordios



Lámina 8. Cosecha

Figura 3. Fases del cultivo del hongo ostra

