



**Aprovechamiento de la ascícula media-baja del mantillo de las
plantaciones de *Pinus patula* para la producción del hongo
comestible *Pleurotus ostreatus***

Tesis que presenta

Fabián Guillén Larrea

Previo la obtención del título de

Magíster en Gestión Ambiental

Director

Dr. Gustavo Chacón Vintimilla Ph.D.

Cuenca, febrero de 2013

Agradecimientos

Al Dr. Gustavo Chacón por todo el apoyo y dirección para la realización del presente trabajo.

Al Dr. Juan Calderón por compartir sus conocimientos y experiencia, de gran utilidad en el desarrollo de esta tesis.

A la Universidad del Azuay y en particular la Facultad de Ciencia y Tecnología por la posibilidad de utilizar sus instalaciones y equipos durante la presente investigación.

Tabla de contenidos:

Resumen	1
Palabras Clave	1
Abstract	2
Key words	2
Introducción	3
a) Generalidades de las plantaciones de pino	3
Importancia de las plantaciones de pino	4
Desventajas de las plantaciones de pino	4
Morfología de <i>Pinus patula</i>	5
Requerimientos de clima y suelo para <i>Pinus patula</i>	5
b) Generalidades del hongo ostra <i>Pleurotus ostreatus</i>	5
Morfología de <i>Pleurotus ostreatus</i>	6
c) Cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	6
Fase de Laboratorio	6
Aislamiento y mantenimiento de cepas	6
Obtención de micelio en grandes cantidades	7
Fase en locales o al aire libre	8
Preparación del sustrato donde crecerá el hongo	8
Siembra del micelio en el sustrato	10
Incubación	10
Inducción de producción	11
Recolección de las setas	11
d) Rendimiento y Eficiencia Biológica (EB)	12
Objetivos	12
a) Objetivo general	12
b) Objetivos específicos	12
Hipótesis	12
Capítulo 1. Materiales y métodos	13
1.1. Descripción general del sitio de la investigación	13

1.2.Procedimiento experimental	14
1.2.1. Fase de laboratorio. Reproducción del micelio (semilla) de <i>Pleurotus ostreatus</i>	14
1.2.2. Fase de cultivo	15
1.2.2.1. Preparación de los sustratos	15
1.2.2.2. Esterilización de los sustratos	17
1.2.2.3. Siembra del micelio	17
1.2.2.4. Fase de incubación	18
1.2.2.5. Fase de producción	18
1.3.Diseño experimental	19
1.3.1. Tratamientos	19
1.3.2. Aplicación de los tratamientos	20
Capítulo 2. Resultados	22
2.1. Ciclo de incubación y de producción de <i>Pleurotus ostreatus</i>	22
2.1.1. Tiempo de incubación de <i>Pleurotus ostreatus</i>	22
2.1.2. Días desde siembra hasta inicio de cosecha de <i>Pleurotus ostreatus</i>	25
2.1.3. Días desde siembra hasta fin de cosecha de <i>Pleurotus ostreatus</i>	26
2.2. Rendimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i>	29
2.3. Eficiencia biológica de <i>Pleurotus ostreatus</i>	31
Capítulo 3. Discusión	34
3.1. Discusión de resultados	34
3.2. Conclusiones y recomendaciones	41
Referencias bibliográficas	44
Anexos	47
Anexo 1. Análisis químico de los materiales base de los sustratos	48
Anexo 2. Días para la incubación de <i>Pleurotus ostreatus</i>	49
Anexo 3. Días desde siembra a inicio de cosecha de <i>Pleurotus ostreatus</i>	50
Anexo 4. Días desde siembra a fin de cosecha de <i>Pleurotus ostreatus</i>	50
Anexo 5. Rendimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i>	51
Anexo 6. Eficiencia biológica de <i>Pleurotus ostreatus</i>	52

Lista de Figuras:

Figura 1. Temperatura y humedad relativa en la fase de producción de <i>Pleurotus ostreatus</i>	13
Figuras 2 y 3. Sustrato para reproducción de micelio	14
Figuras 4 y 5. Esterilización de sustrato para reproducción de micelio	15
Figura 6. Materiales para siembra de micelio	15
Figura 7. Micelio desarrollado sobre maíz	15
Figuras 8 y 9. Obtención de la ascícula media – baja de la plantación de pino	15
Figura 10. Picadora de material vegetal	16
Figura 11. Secado al sol de sustratos	16
Figura 12. Mezcla de materiales para los sustratos de cada tratamiento	16
Figura 13. Fundas con los sustratos para cada tratamiento	16
Figuras 14 y 15. Esterilización de los sustratos	17
Figuras 16 y 17. Siembra del micelio de <i>Pleurotus ostreatus</i>	17
Figuras 18 y 19. Fase de incubación de <i>Pleurotus ostreatus</i>	18
Figuras 20, 21 y 22 Fase de producción de <i>Pleurotus ostreatus</i>	18
Figura 23. Velocidad de invasión de <i>Pleurotus ostreatus</i> en cada tratamiento	22
Figura 24. Gráfico de cajas para días de incubación de <i>Pleurotus ostreatus</i>	23
Figura 25. Gráfico de cajas para días a inicio de cosecha de <i>Pleurotus ostreatus</i>	25
Figura 26. Gráfico de cajas para días a fin de cosecha de <i>Pleurotus ostreatus</i>	27
Figura 27. Gráfico de cajas para rendimiento total de <i>Pleurotus ostreatus</i>	30
Figura 28. Gráfico de cajas para eficiencia biológica total de <i>Pleurotus ostreatus</i>	32
Figura 29. Comparación del rendimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i> en varios sustratos	36
Figura 30. Comparación de la eficiencia biológica de <i>Pleurotus ostreatus</i> en varios sustratos	40

Lista de Cuadros

Cuadro 1. Tratamientos utilizados para la producción de <i>Pleurotus ostreatus</i>	19
Cuadro 2. Aporte de materiales secos para los sustratos de cada tratamiento	20
Cuadro 3. Aporte de humedad para los sustratos de cada tratamiento	20
Cuadro 4. Características de los sustratos de cada tratamiento	21
Cuadro 5. Velocidad de invasión de <i>Pleurotus ostreatus</i> en cada tratamiento	22
Cuadro 6. Días de incubación de <i>Pleurotus ostreatus</i>	23
Cuadro 7. ANDEVA de los días de incubación de <i>Pleurotus ostreatus</i>	24
Cuadro 8. Prueba de Duncan al 5 % para días de incubación de <i>Pleurotus ostreatus</i>	24
Cuadro 9. Prueba de t-student al 5 % para días de incubación de <i>Pleurotus ostreatus</i>	24
Cuadro 10. Días a inicio de cosecha de <i>Pleurotus ostreatus</i>	25
Cuadro 11. ANDEVA para días a inicio de cosecha de <i>Pleurotus ostreatus</i>	26
Cuadro 12. Prueba de t-student al 5 % para días a inicio de cosecha de <i>Pleurotus ostreatus</i>	26
Cuadro 13. Días a fin de cosecha de <i>Pleurotus ostreatus</i>	27
Cuadro 14. ANDEVA para días a fin de cosecha de <i>Pleurotus ostreatus</i>	28
Cuadro 15. Prueba de t-student al 5 % para días a fin de cosecha de <i>Pleurotus ostreatus</i>	28
Cuadro 16. Rendimiento medio durante tres cosechas expresado en porcentaje	29
Cuadro 17. Rendimiento total de <i>Pleurotus ostreatus</i> expresado en porcentaje	29
Cuadro 18. ANDEVA para rendimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i>	30
Cuadro 19. Prueba de Duncan al 5 % para rendimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i>	30
Cuadro 20. Prueba de t-student al 5 % para rendimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i>	31
Cuadro 21. Eficiencia biológica media durante tres cosechas expresada en porcentaje	31
Cuadro 22. Eficiencia biológica total de <i>Pleurotus ostreatus</i> expresada en porcentaje	32
Cuadro 23. ANDEVA para eficiencia biológica de <i>Pleurotus ostreatus</i>	33
Cuadro 24. Prueba de Duncan al 5 % para eficiencia biológica de <i>Pleurotus ostreatus</i>	33
Cuadro 25. Prueba de t-student al 5 % para eficiencia biológica de <i>Pleurotus ostreatus</i>	33
Cuadro 26. Comparación del rendimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i> en varios sustratos	35
Cuadro 27. Comparación de la eficiencia biológica de <i>Pleurotus ostreatus</i> en varios sustratos	37

Aprovechamiento de la ascícula media-baja del mantillo de las plantaciones de *Pinus patula* para la producción del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*

Fabián Guillén Larrea, Juan Calderón Machuca, Gustavo Chacón Vintimilla

Escuela de Biología, Ecología y Gestión, Universidad del Azuay

Av. 24 de Mayo 7-77

Cuenca, Ecuador

Correo: fabianguillenlarrea888@hotmail.com

Resumen:

El uso de los recursos naturales debe realizarse enmarcado en los principios de sustentabilidad; el pino es una especie que tiene la capacidad de producir grandes cantidades de ascículas que caen al suelo y se acumulan debido a su lenta descomposición, el presente trabajo pretende generar una opción de uso sustentable para un recurso que no está siendo utilizado, como es la ascícula de pino, para convertirlo en un alimento útil para el ser humano, como es el hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar, con tres mezclas de ascícula de pino y un testigo compuesto por bagazos de caña de azúcar y de maíz, todos ellos a dos niveles de pH. El mejor rendimiento y eficiencia biológica la presentó el sustrato formado por 50 % de ascícula de pino más 50 % de bagazo de maíz con pH 7,5. En base a los resultados de esta investigación se acepta la hipótesis planteada de que “la ascícula media-baja del mantillo de las plantaciones de *Pinus patula* es un sustrato viable para la producción de *Pleurotus ostreatus* en comparación con la combinación de bagazos de caña y maíz”.

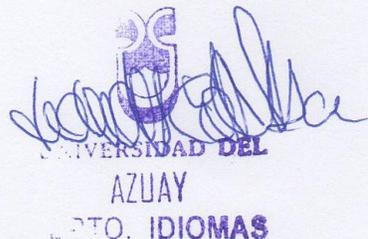
Palabras Clave: *Pleurotus ostreatus*, hongo ostra, hongo comestible, sustratos, ascícula de pino, mantillo de pino, eficiencia biológica, sustentabilidad.

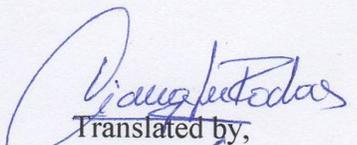
Utilization of the middle-low acicula from the mulch in *Pinus patula* plantations for the production of *Pleurotus ostreatus* edible mushrooms

ABSTRACT

The use of natural resources must be based on the principles of sustainability. Pine is a species that has the capability of producing great amounts of acicula that fall to the ground and accumulate due to its slow decomposition. The present work intends to generate an option for the sustainable use of a resource that is not being exploited such as the pine acicula in order to convert it into useful food for the human being, which is the edible mushroom *Pleurotus ostreatus*. An experimental design of randomized complete blocks was employed with three types of pine acicula blends plus a control made up of sugar cane and corn bagasse, all with two pH levels. The substrate made of 50% pine acicula plus 50% corn bagasse with a 7, 5 pH level presented the best performance and biological efficiency. Based on the results of this investigation the proposed hypothesis, “middle-low acicula from the mulch in *Pinus patula* plantations is a viable substrate for the production of *Pleurotus ostreatus* compared to the combination of sugar cane and corn bagasse” is accepted.

Key Words: *Pleurotus ostreatus*, oyster mushroom, edible mushroom, substrates, pine acicula, pine mulch, biological efficiency, sustainability.




Translated by,
Diana Lee Rodas

Introducción:

El uso de los recursos naturales debe realizarse dentro de los principios de desarrollo sustentable referidos en el documento de las Naciones Unidas “Our Common Future” de 1987 y ratificados en la “Declaración de Río sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo” de 1992 en la que se proclamaron los 27 principios relacionados con la sustentabilidad y se destaca la necesidad de que los temas ambientales sean considerados en forma integrada con los aspectos sociales y económicos. En este sentido, la presente investigación pretende generar una opción de uso sustentable para un recurso que no está siendo utilizado, como es la ascícula de pino, para convertirlo en un alimento útil para el ser humano, como es el hongo comestible *Pleurotus ostreatus* (hongo ostra).

En los Andes ecuatorianos existen importantes áreas con plantaciones de pino en las que se acumulan grandes cantidades de ascículas que no son de utilidad inmediata para el suelo, debido a su lento proceso de descomposición que es consecuencia de sus altos contenidos de lignina, celulosa y compuestos fenólicos. Son precisamente la lignina y celulosa las sustancias que el hongo comestible *Pleurotus ostreatus* necesita para su alimentación (García 2008).

Este hongo presenta un importante valor alimenticio y bajo contenido de calorías (García 2008); además estudios como el del Llauradó et al (2009), dan cuenta de las propiedades bioestimulantes de sus extractos y sus aplicaciones potenciales en el campo de la nutrición farmacológica.

El presente trabajo tomó como referencia las investigaciones de Calderón (2002) y Córdova (2009) y les incorporó nuevos aspectos como son el manejo del pH en el sustrato y la utilización de la ascícula media-baja del mantillo de las plantaciones en lugar de la superficial.

a) Generalidades de las plantaciones de pino:

Las dos especies de pino más cultivadas en Ecuador son *Pinus patula* y *Pinus radiata*, el primero originario de México y el segundo de California (Ansaloni y Chacón 2003). El pino fue introducido en el país por Luciano Andrade Marín en el año de 1925 y desde entonces su cultivo se ha ido incrementando de manera que en la Sierra ecuatoriana es después del eucalipto la especie forestal más utilizada (MAGAP 2012). En las provincias de Azuay y Cañar se lo encuentra generalmente en elevaciones superiores a los 3.000 metros sobre el nivel del mar, en plantaciones con tamaños de entre 1 y 500 ha (Ansaloni y Chacón 2003).

Importancia de las plantaciones de pino:

Para que los procesos de reforestación sean sustentables, son necesarios réditos monetarios para el inversionista, las especies de pino han sido altamente difundidas debido a su rápido crecimiento y capacidad para adaptarse a condiciones de clima y suelo relativamente adversas, lo que les convierten en una alternativa económicamente interesante para la producción de madera (MAGAP 2012).

Su capacidad de crecer en condiciones de clima y suelo donde prácticamente no se encuentra ninguna otra especie arbórea (Cabanillas 2010, Vives 2011) lo vuelven en una alternativas importante desde el punto de vista ambiental, pues respecto a los suelos desprovistos de vegetación, presenta una serie de ventajas, la más destacable es el control de la erosión a través de mecanismos como la reducción del impacto de las gotas de lluvia por intercepción, reducción de la velocidad de esorrentía y aumento de la sujeción del suelo, como lo demuestran los estudios de Rodríguez et al (2009). Entre otros beneficios se pueden mencionar la mejora del paisaje y obtención de setas (Cabanillas 2010).

“Las plantaciones de pino son pues, en muchos de los casos, una respuesta a la necesidad de hacer algo útil con el suelo degradado” (Chacón 2002).

Desventajas de las plantaciones de pino:

Las plantaciones de pino pueden tener consecuencias perjudiciales en función de la pérdida de vegetación nativa, su fauna asociada y producir degradación de los suelos a través del depósito de grandes cantidades de ascúculas y otros restos vegetales de difícil descomposición (altos contenidos de lignina y compuestos polifenólicos) y lo poco que se descompone produce ácidos húmicos y fúlvicos que acidifican el suelo hasta el punto de no permitir el crecimiento de otras especies (Ansaloni y Chacón 2003). La cantidad de hojarasca que se acumula, según la investigación de Chacón (2002) en las provincias de Azuay y Cañar, está alrededor de 40,5 t / ha en Histosoles y 29.3 t / ha en Andosoles, para bosques de 12 años de edad en ambos casos.

En los estudios realizados en las provincias de Azuay y Cañar se ha encontrado que los suelos bajo plantaciones de pino tienen mayor densidad, menor porosidad y menor capacidad de infiltración y de retención de agua que los suelos bajo bosques nativos (Ansaloni y Chacón 2003). La capacidad de intercambio catiónico efectiva es menor en los suelos de las plantaciones de pino que en los suelos de los bosques nativos (Chacón, et al. 2009).

Morfología de *Pinus patula*:

Entre las principales características morfológicas del pino podemos mencionar que en el país alcanza una altura de 30 m y un diámetro a la altura del pecho de 70 cm; su tronco es cónico, su copa alargada y cónica. La corteza externa es café agrietada, la interna es crema rosácea y segrega una resina transparente. Posee hojas en forma de agujas en fascículos de tres, flores masculinas con estambres peltados y flores femeninas en conos o estróbilos. Su fruto es un cono o estróbilo leñoso grande, que contiene semillas aladas (MAGAP 2012).

Requerimientos de clima y suelo para *Pinus patula*:

Las condiciones óptimas para el crecimiento de *Pinus patula* incluyen temperaturas medias anuales entre 12 y 18 °C, precipitación anual entre 1.000 y 2.000 mm y suelo ácido (Hofstede, et al. 1998).

b) Generalidades del hongo ostra *Pleurotus ostreatus*:

El cultivo de *Pleurotus ostreatus* comienza en los países centroeuropeos, en un principio consistía en colocar troncos con el hongo, recolectados en los bosques, en lugares frescos cercanos a las viviendas; en la década de los setenta empieza su cultivo en forma extensiva sobre madera o sobre paja, luego se aprende a producir micelio en plan comercial y su consumo se extiende por toda Europa. En España, para el 2002 se estimó una producción de 17.500 t; en México durante el 2006, se produjeron cerca de 4.000 t, lo cual equivale a aproximadamente el 60 % de la producción total de América Latina. (Gaitan-Hernández, et al. 2006).

Según García (2008), a medida que mejora el nivel de vida, va aumentando el consumo de setas, debido a que se trata de alimentos con componentes nutritivos muy variados y de alta calidad, pero sobre todo, a que poseen sabores y aromas que pueden satisfacer los gustos más refinados.

Su valor nutritivo, con respecto a su peso seco, presenta entre el 57 y 61 % de carbohidratos, 26 % de proteínas y un contenido de fibras del 11,9 %. Contiene además vitaminas como la niacina, tiamina, vitamina B12 y C. Su contenido en grasa está entre el 0,9 y 1,8 %. Sus proteínas contienen todos los aminoácidos esenciales (Gaitan-Hernández, et al. 2006).

Pleurotus ostreatus u hongo ostra es conocido también con nombres como orejas blancas, orejas de palo, orejas de patacán, orejas de cazahuate y orejas de izote (Gaitan-Hernández, et al. 2006).

Morfología de *Pleurotus ostreatus*:

Cada hongo está formado por una serie de finos filamentos llamados hifas, que en conjunto forman lo que se denomina micelio, este micelio se transforma en pequeños grumos que van aumentando de tamaño hasta formar la típica seta. El hongo formado con su sombrero y pie, tiene la función de producir las estructuras de reproducción llamadas esporas. Estas esporas se forman en la parte inferior del sombrero, en unas laminillas verticales que se extienden desde la parte superior del pie hasta el borde del sombrero (Gaitan-Hernández, et al. 2006).

La seta es bastante variable, su sombrerillo tiene diámetros que oscilan entre los 5 y 20 cm (dependiendo de la edad y condiciones de cultivo). Su forma al principio es redondeada y abombada pero a medida que el sombrero se va abriendo y ensanchado, se hace cada vez menos convexa y se aplanan; después el borde se va levantando y el conjunto acaba teniendo concavidad como un plato. Su color también es variable, desde el gris claro hasta el gris oscuro, y desde el color café claro hasta el pardo. En general, con el paso del tiempo, el color va palideciendo y tomando tonos amarillentos sucios. La carne del sombrero es blanca, el olor algo fuerte (García 2008).

c) Cultivo de *Pleurotus ostreatus*:

En general el cultivo de hongos requiere dos fases, la primera en laboratorio que incluye el aislamiento, mantenimiento y producción de micelio; y, la segunda fase en locales o al aire libre que se refiere a la preparación de los sustratos, siembra del micelio, incubación, inducción de producción y recolección de las setas (García 2008).

Fase de Laboratorio:

Aislamiento y mantenimiento de cepas:

Se conoce como cepa al micelio de un hongo que se desarrolla sobre un medio de cultivo. Los medios de cultivo generalmente se consiguen en el mercado, pero también es posible prepararlos en el laboratorio, entre los más comunes tenemos el agar con extracto de malta y el agar, papa, dextrosa (PDA).

El aislamiento de las cepas puede ser por medio de tejido o por medio de esporas.

- **Aislamiento por medio de tejido:** Se toman fragmentos del micelio o carne del hongo y se colocan en cajas Petri con medio de cultivo, se incuban entre 25 y 28 °C, durante 2 o 3 días, luego de lo cual se observa el crecimiento del micelio. El color debe ser blanco o blanco amarillento. Deben seleccionarse los mejores cultivos y transferirse a nuevas cajas con medio de cultivo. El resultado es una copia idéntica del hongo del cual se ha obtenido el tejido.
- **Aislamiento por medio de esporas:** Se coloca el sombrero del hongo, con las láminas hacia abajo, sobre papel estéril durante 6 a 8 horas, dentro de un recipiente también estéril. Del papel con las esporas se toma un fragmento de aproximadamente 1 cm² y se disuelve en 100 ml de agua destilada. Finalmente se toman 0,5 ml de esta dilución y se coloca en una caja Petri con medio de cultivo. Se incuba en las condiciones antes mencionadas, y luego de 5 a 8 días se observa el micelio.

En cualquiera de los dos procesos es importante mantener un ambiente de absoluta asepsia y el uso de materiales esterilizados (Gaitan-Hernández, et al. 2006).

Una vez obtenidas las cepas, es necesario preservarlas con el fin de mantener su viabilidad; esto se consigue transfiriéndolas periódicamente a nuevas cajas Petri con medio de cultivo. Una vez sembrada la cepa en la nueva caja Petri, se debe incubar entre 10 y 15 días a temperaturas entre 25 y 28 °C hasta que el micelio cubra completamente el medio de cultivo y luego se puede almacenarlas a 5 °C durante 3 a 6 meses. La preservación puede también realizarse a nivel de esporas, en bolsas de polietileno con material deshidratante y refrigeradas a 5 °C (Gaitan-Hernández, et al. 2006).

Obtención de micelio en grandes cantidades:

Es la propagación masiva del hongo en granos de gramíneas, generalmente sorgo o trigo, aunque también se puede utilizar centeno, cebada, avena, mijo y arroz (Gaitan-Hernández, et al. 2006).

Calderón (2002), reporta que a 21 °C el crecimiento del micelio de *Pleurotus ostreatus* var. *florida*, es más rápido sobre un sustrato de maíz libre de cáscara, cocinado y adicionado 10 g de azúcar de caña por litro de agua de cocción, en comparación con el trigo.

El proceso consiste en hidratar la semilla por inmersión en agua de 8 a 12 horas, esterilizarla en una olla de presión o autoclave a 15 libras durante una hora, dejarla enfriar e inocularla con la cepa, que pudo haber crecido en medio de cultivo (inoculo primario) o en semilla (inoculo secundario). Los recipientes a utilizar en este proceso pueden ser fundas de polipapel, frascos de vidrio con tapa rosca o de plástico resistentes a la esterilización; el recipiente una vez que contenga la semilla inoculada debe ser cerrado, pero manteniendo algo de aire en su interior (Gaitan-Hernández, et al. 2006).

Se incuba a temperaturas de entre 25 y 28 °C hasta que el micelio cubra completamente la semilla, lo que debe suceder entre 15 o 20 días; de esta manera el inoculo primario está listo para servir de base de la producción del inoculo secundario o para utilizarlo en el sustrato de producción de las setas (Gaitan-Hernández, et al. 2006).

Si el inoculo no se utiliza inmediatamente, puede ser almacenado en obscuridad y refrigeración, a 5 °C hasta por tres meses (Gaitan-Hernández, et al. 2006).

Fase en locales o al aire libre:

Preparación del sustrato donde crecerá el hongo:

Los hongos del género *Pleurotus* toman los nutrientes necesarios para su alimentación de cualquier medio rico en tejidos vegetales de sostén (celulosa, hemicelulosa y lignina), por lo que se pueden utilizar como sustratos una serie de subproductos agrícolas como pajas de cebada, trigo y centeno, tallos, mazorcas y restos de maíz, paja de arroz, plantas secas de girasol, henos, bagazos de caña de azúcar, maguey tequilero, pulpa de café, aserrín y viruta de diversas maderas, etc.; en ocasiones es recomendado una combinación de sustratos para incrementar la producción (García 2008 y Gaitan-Hernández, et al. 2006).

Cualquiera sea el material utilizado, debe ser picado o molido, pues si se emplean fragmentos demasiado largos, el sustrato quedará desigual y con huecos que dificultan el crecimiento del micelio del hongo y si emplean componentes muy menudos, pueden apelmazarse y dar lugar al crecimiento de indeseables microorganismos anaeróbicos (García 2008).

Una vez que se tiene el sustrato con el tamaño adecuado de sus componentes, se procede a la operación de humidificación, con el fin del que alcance un contenido de humedad de entre el 70 y 80 % (García 2008).

La operación más importante de la preparación del sustrato es la destrucción de las semillas, insectos, hongos, parásitos, etc., que generalmente se realiza mediante tratamientos por calor, el más frecuente consiste en una pasteurización para la cual se emplean cámaras con vapor de agua caliente con temperaturas que suelen estar alrededor de 60 °C con tiempos de entre 18 y 24 horas, (García 2008) aunque al respecto existen diversos criterios como Gaitan-Hernández, et al (2006) que recomiendan vapor a temperaturas de entre 70 y 80 °C durante 2 a 4 horas, o inmersión del sustrato en agua caliente (75-80 °C) durante 1 hora. Puede también emplearse la esterilización, sometiendo el sustrato a 130 °C y altas presiones durante 5 horas (García 2008). Calderón (2002) apunta buenos resultados con un proceso de esterilización del sustrato a 121°C durante 30 minutos.

Se pueden evitar los tratamientos térmicos sumergiendo el sustrato durante una noche en soluciones de: cal (1.900 g de cal en 200 l de agua), lejía o de agua oxigenada (al 3 %) (García 2008).

Córdova (2009) utilizó para la esterilización del sustrato una combinación de temperatura y agua oxigenada al 3 %.

A muchos de los materiales o sus mezclas los productores les adicionan aditivos como: azúcar de caña, harinas de maíz, soya, girasol, avena, etc., pero en realidad la efectividad de estos aditivos depende mucho de las cepas de *Pleurotus* empleadas (García 2008).

Para evitar la excesiva acidez se puede añadir carbonato cálcico pero sin exceder el 2% del peso del sustrato húmedo, pues el pH más conveniente para el cultivo de este hongo está entre 6,0 y 6,5 (García 2008). Esto es ratificado por autores como Ramos (2007) y Toledo (2008) que utilizan pH 6,6 en los sustratos y también por Garzón y Cuervo (2008) que ajustan el pH entre 6 y 7; en todos los casos el pH es regulado mediante la adición de carbonato de calcio. Sin embargo Pardo-Giménez y Pardo-González (2009) obtienen, el mayor rendimiento neto y eficiencia biológica con pH 8,15 y 7,51.

Respecto a la relación Carbono / Nitrógeno (C/N) de los sustratos, Pardo-Giménez y Pardo-González (2009) reportaron crecimiento de este hongo en relaciones C/N desde 33,3 hasta 69,9; López et al. (2008) trabajaron con relaciones desde 2 hasta 464 mientras que Varnero et al. (2010) en residuos forestales utilizaron relaciones de hasta 1277.

La densidad de los sustratos según García (2008) no debe pasar de 0,36 g / ml; esto es ratificado por Pardo-Giménez y Pardo-González (2009) quienes encuentran en su investigación que al aumentar la densidad del sustrato, éste se vuelve más compacto y dificulta la oxigenación del micelio.

Siembra del micelio en el sustrato:

La siembra o inoculación consiste en mezclar el micelio (que previamente se ha desarrollado en granos de cereales) con el sustrato preparado. La mezcla debe ser lo más uniforme posible, se realiza cuando el sustrato se ha enfriado y está entre los 25 y 28 °C con una humedad de alrededor del 70 %. La cantidad de semilla varía del 1 al 5 % del peso del sustrato húmedo (García 2008).

Incubación:

En esta etapa el micelio sembrado va invadiendo el sustrato y al cabo de 15 – 30 días el conjunto se convierte en un bloque blanquecino y más o menos compacto (García 2008).

El cultivo se realizarse en diferentes tipos de contenedores como puede ser sacos o fundas plásticas, lo importante es que no deben pasar los 50 cm en ninguna de sus dimensiones no solo para poderlos transportar con facilidad sino principalmente para evitar sobrecalentamientos del sustrato. Es conveniente colocar las fundas separadas unas de otras de manera que el aire pueda circular alrededor de ellas (García 2008).

El desarrollo del micelio produce dióxido de carbono, su acumulación mejora el crecimiento incluso hasta concentraciones de 15-20 %, solo deja de crecer cuando pasa del 30 %; por otra parte, el exceso de oxígeno puede activar microorganismos que harían subir peligrosamente la temperatura del sustrato (García 2008).

Es conveniente durante esta fase mantener el local obscuro y con humedad de entre el 80 y 90 %. La temperatura debe estar entre los 18 y 27 °C pues el micelio del hongo alcanza su óptimo

crecimiento entre los 24 y 27 °C. A menos de 5 °C no crece, a 10 °C bajo cero muere al igual que sobre los 35-40 °C (García 2008).

Inducción de producción:

Una vez que el micelio ha invadido completamente el sustrato, es necesario inducir la producción de las setas o fructificación para lo que se requiere un lugar fresco, húmedo, ventilado y con luz.

La temperatura debe mantenerse entre los 10 y 20 °C, la óptima para que se formen las setas está entre los 11 y 14 °C aunque hay variedades que fructifican hasta los 26 °C (García 2008).

La humedad del ambiente deber ser superior al 95 %; cuando es baja, no es conveniente retirar la cobertura plástica pues el sustrato puede secarse demasiado y formarse una capa superficial de micelio gruesa, tiesa y lustrosa sobre la cual el agua resbala impidiendo que se humedezca el resto. Los bloques deben mantener su humedad entre el 70-75% (García 2008).

La ventilación es fundamental, la concentración de dióxido de carbono debe ser inferior al 0,07 %, si llega al 0,2 % se produce la muerte del hongo. Es por este motivo que deben retirarse las fundas plásticas o en su defecto hacerles perforaciones (García 2008).

La luz es necesaria durante 8 a 12 h diarias, para evitar deformaciones de las setas; si el local no dispone de luz natural, basta con tubos fluorescentes de los llamados “luz de día” (García 2008).

Recolección de las setas:

La cosecha se realiza mediante un corte en el pié de hongo, lo más cerca posible del sustrato, pero sin dañar el micelio, cuando el sombrero se presenta compacto y turgente; antes de que sus orillas se enrollen hacia a arriba (Gaitan-Hernández, et al. 2006). Durante los días de cosecha conviene bajar la humedad al 80-85 % (García 2008).

La producción sucede en tandas u oleadas, las setas salen abundantemente durante 3 a 8 días, luego hay una parada de 10 a 20 días y vuelve la producción durante otra semana; la primera oleada es la que más produce y generalmente tras la tercera tanda ya no es rentable la producción; hay productores que aprovecha únicamente la primera para evitar plagas y enfermedades (García 2008). Gaitan-Hernández, et al. (2006) manifiestan que durante las dos primeras oleadas se recolecta el 90 % de la producción total.

En 7 a 9 semanas de cultivo se pueden producir entre 100 y 200 kg de setas por tonelada de sustrato húmedo, es decir el rendimiento está entre el 10 y 20 % (García 2008).

Una vez terminado el cultivo, el sustrato puede ser utilizado como abono, como parte del compost para champiñón, para producción de biogás u obtención de enzimas (celulasas, hemicelulasas, peroxidasa, etc.) (García 2008).

d) Rendimiento y Eficiencia Biológica (EB):

El rendimiento se determina por la relación entre el peso del hongo fresco y el peso del sustrato húmedo, expresado en porcentaje ($\text{Peso de los hongos frescos} / \text{peso del sustrato húmedo} \times 100$).

La eficiencia biológica es la relación entre el peso fresco del hongo y el peso seco del sustrato y expresado en porcentaje. ($\text{Peso de los hongos frescos} / \text{peso del sustrato seco} \times 100$) (Tschierpe y Hartmann 1977).

Objetivos:

a) Objetivo general:

Generar una alternativa de uso sustentable para la ascícula de pino, buscando convertirla en un recurso para la producción de alimentos del ser humano.

b) Objetivos específicos:

Evaluar el rendimiento de *Pleurotus ostreatus* en sustratos que contienen ascícula media-baja del mantillo de las plantaciones de *Pinus patula*.

Evaluar la eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* en sustratos que contienen ascícula media-baja del mantillo de las plantaciones de *Pinus patula*.

Evaluar la influencia de dos niveles de pH en el rendimiento de *Pleurotus ostreatus*.

Evaluar la influencia de dos niveles de pH en la eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus*.

Hipótesis:

La ascícula media-baja del mantillo de las plantaciones de *Pinus patula* es un sustrato viable para la producción de *Pleurotus ostreatus* en comparación con la combinación de bagazos de caña y maíz.

Capítulo 1. Materiales y métodos:

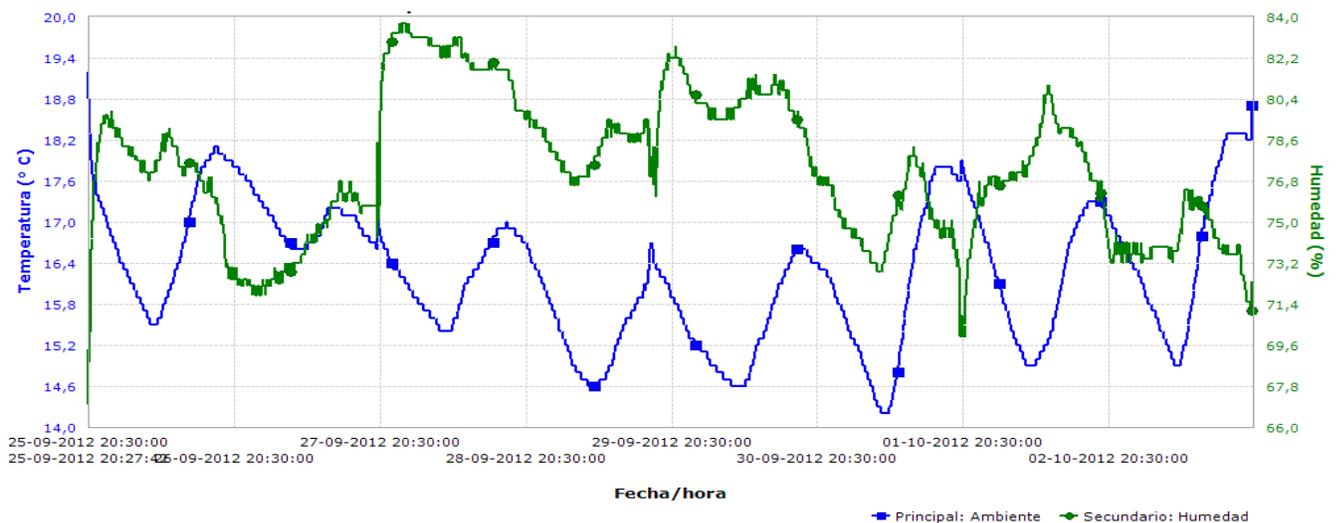
1.1.Descripción general del sitio de la investigación:

El presente trabajo se llevó a cabo en las instalaciones de la Facultad de Ciencia y Tecnología de la Universidad del Azuay, localizadas en la parroquia Huayna Cápac de la ciudad de Cuenca. La reproducción inicial del micelio se realizó en el laboratorio de micro propagación, mientras que las fases de incubación y producción fueron efectuadas en una habitación de 3,2 m de largo, 2,6 m de ancho y 2,6 m de alto, con piso de baldosa, cielo raso de estuco y paredes pintadas con esmalte.

En la fase de incubación, con la ayuda de un foco de luz infrarroja de 250 watts, se obtuvieron temperaturas mínimas de 18 °C y máximas de 23 °C con medias de 20 °C; las ventanas de la habitación fueron cubiertas con dos capas de papel periódico, con el fin de mantener condiciones de obscuridad.

Durante la fase de producción, se presentaron temperaturas mínimas de 14,2 °C y máximas de 19,2 °C con medias de 16,3 °C; la humedad relativa mínima fue 67,0 %, la máxima 83,7 % y la media 77,4 %. Con el fin de mejorar la humedad del ambiente, se mantuvo el piso mojado y recipientes con agua durante todo el tiempo. Además se dio iluminación durante 12 horas diarias con un foco ahorrador de 20 watts de luz blanca (luz de día). Las medidas registradas mediante un termohigrómetro digital se pueden observar a continuación:

Figura 1. Temperatura y humedad relativa en la fase de producción de *Pleurotus ostreatus*



En cuanto a las condiciones externas, el sitio se encuentra a 2.475 metros sobre el nivel del mar; la estación meteorológica más cercana que es la del aeropuerto de Cuenca, señala una precipitación media anual de 865 mm, temperaturas mínimas de 12,2 °C, máximas de 16,7 °C y medias de 14,9 °C.

1.2.Procedimiento experimental:

Las actividades se realizaron en dos fases: la primera de laboratorio, cuyo objetivo fue la reproducción del micelio (semilla) y la segunda de cultivo, en donde se evaluaron el rendimiento y eficiencia biológica de los diferentes tratamientos.

1.2.1. Fase de laboratorio. Reproducción del micelio (semilla) de *Pleurotus ostreatus*:

Se tomó como referencia el procedimiento descrito por Calderón (2002), se partió de maíz pelado con la ayuda de hidróxido de calcio y se lo hirvió durante tres horas en agua que contenía azúcar a dosis de 20 g / l. El maíz fue colocado en frascos de vidrio (65 g por frasco), y esterilizado durante una hora a 121 °C y 15 psi de presión en un autoclave.

Cuando el maíz ya estuvo frío, se inoculó el micelio en una cámara de flujo laminar, con el apoyo de un mechero Bunsen para evitar contaminaciones. Se incubó a 21 °C durante 14 días (entre el 14 y el 28 de junio del 2012), hasta que el micelio cubrió completamente el sustrato.

El micelio de *Pleurotus ostreatus* var *florida* con el que se realizó esta investigación fue obtenido inicialmente por Calderón (2002) mediante aislamiento de esporas a partir de setas de libre venta en el mercado.



Figuras 2 y 3. Sustrato para reproducción de micelio



Figuras 4 y 5. Esterilización de sustrato para reproducción de micelio



Figura 6. Materiales para siembra de micelio

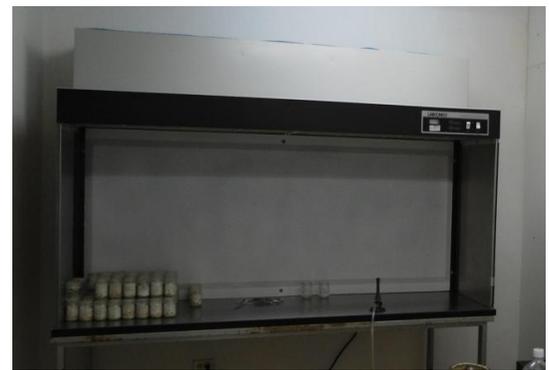


Figura 7. Micelio desarrollado sobre maíz

1.2.2. Fase de cultivo:

1.2.2.1. Preparación de los sustratos:

Los bagazos de caña de azúcar y de maíz provinieron del Cantón Santa Isabel, mientras que la ascícula media baja del mantillo de pino fue obtenida en la Hacienda El Gullán de la Universidad del Azuay ubicada en el Sector La Paz, Cantón Nabón.



Figuras 8 y 9. Obtención de la ascícula media – baja de la plantación de pino

El trabajo inició con la adecuación física de los materiales, que en el caso de los bagazos de maíz y de caña de azúcar consistió en su picado hasta alcanzar fragmentos de aproximadamente 2 cm, mientras que la ascícula media-baja del mantillo de las plantaciones de pino no necesitó este proceso. Todos los materiales fueron deshidratados al sol, para eliminar la variable de la humedad al momento realizar las mezclas.



Figura 10. Picadora de material vegetal



Figura 11. Secado al sol de sustratos

Los sustratos para cada uno de los tratamientos establecidos, se obtuvieron en función de las mezclas de los diferentes materiales considerando su peso seco.

Fundas de polietileno de alta densidad de 50 por 36 cm fueron llenadas con los diferentes sustratos que partieron de 500 g de materiales secos más 200 ml de un suplemento a base de maíz (colada con 20 g / l de harina de maíz y 20 g / l de azúcar) y la cantidad de agua correspondiente para alcanzar entre el 69 y 75 % de humedad según cada caso.



Figura 12. Mezcla de materiales para los sustratos de cada tratamiento



Figura 13. Fundas con los sustratos para cada tratamiento

Con el fin de mantener intercambio gaseoso entre el sustrato y el exterior, se colocaron en la boca de las fundas de polietileno, anillos de PVC, con corchos de gasa cubiertos de papel aluminio y fijados con ligas de caucho.

1.2.2.2. Esterilización de los sustratos:

Se realizó mediante el uso de peróxido de hidrógeno al 3 % en el agua de hidratación de los sustratos y luego se les sometió a una temperatura de 121 °C con una presión de 15 psi durante una hora, en un autoclave.



Figuras 14 y 15. Esterilización de los sustratos

1.2.2.3. Siembra del micelio:

Una vez que los sustratos se enfriaron hasta alcanzar la temperatura del ambiente, en un cuarto que previamente había sido desinfectado, y con la ayuda de una cámara de flujo laminar, se realizó la siembra de 130 g de micelio (semilla) en cada funda, lo que corresponde aproximadamente al 7 % con respecto al peso húmedo de los sustratos.



Figuras 16 y 17. Siembra del micelio de *Pleurotus ostreatus*

1.2.2.4. Fase de incubación:

Las fundas que contenían cada uno de los tratamientos se distribuyeron en bloques completos al azar sobre repisas, en donde permanecieron aproximadamente 27 días sin tener más iluminación que la de un foco de luz infrarroja utilizado para calentar la habitación.



Figuras 18 y 19. Fase de incubación de *Pleurotus ostreatus*

1.2.2.5. Fase de producción:

Una vez que el micelio invadió el sustrato, se indujo la fase reproductiva del hongo, a través del mejorando de las condiciones de oxigenación mediante cortes de aproximadamente 2 cm de largo en las fundas de polietileno; y además, se redujo de la temperatura del local, para lo cual se retiró el foco de luz infrarroja. Se dio iluminación durante 12 horas diarias con un foco ahorrador de 20 watts de luz blanca (luz de día) para evitar la deformación de las setas.



Figuras 20, 21 y 22. Fase de producción de *Pleurotus ostreatus*

La cosecha se realizó una vez que el sombrero estuvo totalmente extendido, alcanzado la forma plana, índice de madurez y se tomó el peso fresco de todos los sombreros recolectados.

1.3.Diseño experimental:

Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar (DBCA), con tres mezclas de ascícula de pino y un testigo, todas ellas a dos niveles de pH, lo que da ocho combinaciones y se realizaron seis repeticiones.

Las variables evaluadas fueron: tiempo de incubación, días desde siembra a inicio y fin de cosecha, rendimiento (peso de los hongos frescos / peso del sustrato húmedo x 100) y eficiencia biológica (peso de los hongos frescos / peso del sustrato seco x 100).

La comparación de los resultados de los tratamientos se realizó mediante un análisis de varianza (ANDEVA) y cuando éste presentó diferencias significativas se aplicó la prueba de contraste de Duncan al 5 %. Para la comparación de los dos niveles de pH se utilizó el método t-student con un nivel de significatividad del 5%.

1.3.1. Tratamientos:

Los tratamientos que corresponden a las tres mezclas de ascícula de pino y un testigo, con dos niveles de pH fueron:

Cuadro 1. Tratamientos utilizados para la producción de *Pleurotus ostreatus*

Tratamiento	Material 1	%	Material 2	%	Suplemento	pH
T1	Ascícula de Pino	100	---	---	Colada de maíz + azúcar	6,0
T2	Ascícula de Pino	100	---	---	Colada de maíz + azúcar	7,5
T3	Ascícula de Pino	80	Granos de maíz	20	Colada de maíz + azúcar	6,0
T4	Ascícula de Pino	80	Granos de maíz	20	Colada de maíz + azúcar	7,5
T5	Ascícula de Pino	50	Bagazo de Maíz	50	Colada de maíz + azúcar	6,0
T6	Ascícula de Pino	50	Bagazo de Maíz	50	Colada de maíz + azúcar	7,5
T7	Bagazo de Caña	50	Bagazo de Maíz	50	Colada de maíz + azúcar	6,0
T8	Bagazo de Caña	50	Bagazo de Maíz	50	Colada de maíz + azúcar	7,5

Los tratamientos 7 y 8 se plantean como testigos y corresponden al sustrato que presenta el mejor resultado en la investigación de Córdova (2009).

1.3.2. Aplicación de los tratamientos:

Para formar el sustrato de cada uno de los tratamientos se realizó la mezcla de los materiales secos como se detalla a continuación:

Cuadro 2. Aporte de materiales secos para los sustratos de cada tratamiento

Trat	Material 1	Peso (g)	Material 2	Peso (g)	Carbonato de Calcio (g)
T1	Ascícula de Pino	500	- - -	- - -	13,9
T2	Ascícula de Pino	500	- - -	- - -	51,5
T3	Ascícula de Pino	400	Granos de maíz	100	11,1
T4	Ascícula de Pino	400	Granos de maíz	100	41,3
T5	Ascícula de Pino	250	Bagazo de Maíz	250	7,1
T6	Ascícula de Pino	250	Bagazo de Maíz	250	32,9
T7	Bagazo de Caña	250	Bagazo de Maíz	250	- - -
T8	Bagazo de Caña	250	Bagazo de Maíz	250	22,5

Las mezclas fueron hidratadas en función de su capacidad de retención de humedad, así:

Cuadro 3. Aporte de humedad para los sustratos de cada tratamiento

Trat.	Suplemento: Colada de harina de maíz y azúcar (ml)	Agua (ml)
T1	200	1050
T2	200	1050
T3	200	990
T4	200	990
T5	200	1070
T6	200	1070
T7	200	1290
T8	200	1290

Finalmente los sustratos presentaron las siguientes características:

Cuadro 4. Características de los sustratos de cada tratamiento

Tratamiento	Peso seco (g)	Peso húmedo (g)	Humedad (%)	pH	Densidad (g / ml)
T1	513,9	1763,9	70,9	6,0	0,399
T2	551,5	1801,5	69,4	7,5	0,408
T3	511,1	1701,1	70,0	6,0	0,453
T4	541,3	1731,3	68,7	7,5	0,461
T5	507,1	1777,1	71,5	6,0	0,339
T6	532,9	1802,9	70,4	7,5	0,344
T7	500,0	1990,0	74,9	6,0	0,273
T8	522,5	2012,5	74,0	7,5	0,276

Capítulo 2. Resultados:

2.1. Ciclo de incubación y de producción de *Pleurotus ostreatus*:

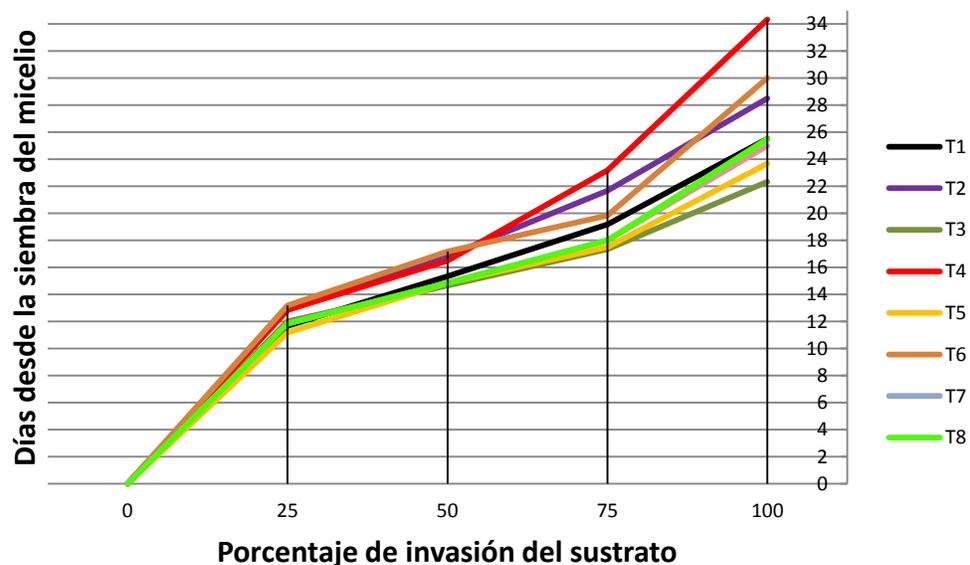
2.1.1. Tiempo de incubación de *Pleurotus ostreatus*:

El tiempo promedio de la fase de incubación fue de 26,9 días; a continuación se presentan las medias para cada tratamiento de los días desde la siembra del micelio hasta que invadió el 25, 50, 75 y 100 % del sustrato; una vez que el micelio invadió completamente el sustrato, se consideró terminada la fase de incubación y se dieron las condiciones para iniciar la fase de producción.

Cuadro 5. Velocidad de invasión de *Pleurotus ostreatus* en cada tratamiento

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Días al 25 % de invasión del sustrato	11,7	12,8	12,0	12,8	11,2	13,2	11,8	11,8
Días al 50 % de invasión del sustrato	15,3	16,8	14,7	16,5	14,8	17,2	14,8	14,8
Días al 75 % de invasión del sustrato	19,2	21,7	17,3	23,2	17,5	19,8	18,0	18,0
Días al 100 % de invasión del sustrato	25,5	28,5	22,3	34,3	23,7	30,0	25,0	25,5

Figura 23. Velocidad de invasión de *Pleurotus ostreatus* en cada tratamiento

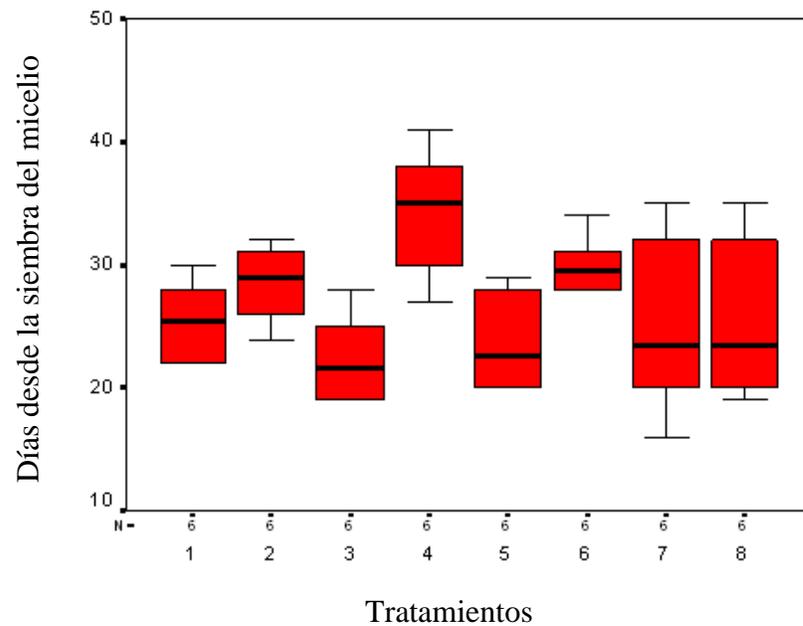


El tiempo total de incubación del micelio en cada uno de los sustratos se observa a continuación:

Cuadro 6. Días de incubación de *Pleurotus ostreatus*

Tratamiento	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
T1	25,5	3,6	22,0	30,0
T2	28,5	3,0	24,0	32,0
T3	22,3	3,6	19,0	28,0
T4	34,3	5,1	27,0	41,0
T5	23,7	3,9	20,0	29,0
T6	30,0	2,3	28,0	34,0
T7	25,0	7,4	16,0	35,0
T8	25,5	6,6	19,0	35,0
Total	26,9	5,7	16,0	41,0

Figura 24. Gráfico de cajas para días de incubación de *Pleurotus ostreatus*



El Análisis de variancia del período de incubación del micelio presentó diferencias significativas entre tratamientos:

Cuadro 7. ANDEVA de los días de incubación de *Pleurotus ostreatus*

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados Medios	F calculado	F tabulado
Entre tratamientos	7	637,5	91,1	4,063	2,249
Dentro de los tratamientos	40	896,5	22,4		
Total	47	1534,0			

La prueba de Duncan al 5 % estableció los siguientes rangos para los días de incubación de *Pleurotus ostreatus*:

Cuadro 8. Prueba de Duncan al 5 % para días de incubación de *Pleurotus ostreatus*

Tratamiento	Media	Rangos
T3	22,3	A
T5	23,7	A
T7	25,0	AB
T1	25,5	AB
T8	25,5	AB
T2	28,5	AB
T6	30,0	BC
T4	34,3	C

La media de los días de incubación de los sustratos con pH 6,0 fue de 24,1 mientras que con pH 7,5 fue de 29,6; en función de la prueba t-student al 5 % se rechaza la hipótesis nula y se acepta que existen diferencias significativas entre las medias.

Cuadro 9. Prueba de t-student al 5 % para días de incubación de *Pleurotus ostreatus*

	Media	Varianza	Varianza agrupada	Grados de libertad	t calculado	t tabulado
pH 6,0	24,1	22,3	25,6	46	3,739	1,679
pH 7,5	29,6	28,9				

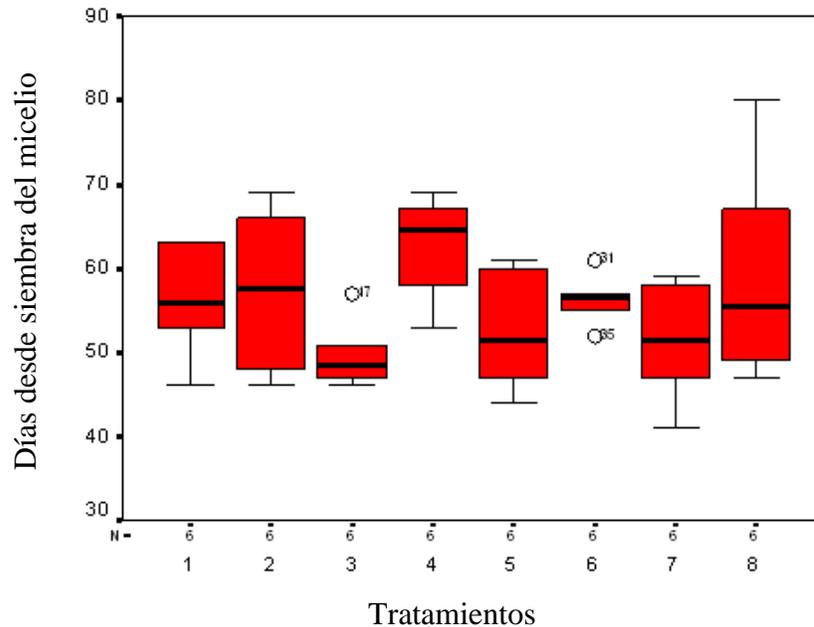
2.1.2. Días desde siembra hasta inicio de cosecha de *Pleurotus ostreatus*:

El promedio de días desde la siembra hasta que se cosecharon los primeros hongos fue de 55,6 días, a continuación el detalle para cada tratamiento:

Cuadro 10. Días a inicio de cosecha de *Pleurotus ostreatus*

Tratamiento	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
1	56,2	6,6	46,0	63,0
2	57,3	10,1	46,0	69,0
3	49,7	4,0	46,0	57,0
4	62,7	6,0	53,0	69,0
5	52,5	7,0	44,0	61,0
6	56,3	2,9	52,0	61,0
7	51,3	7,1	41,0	59,0
8	59,0	12,4	47,0	80,0
Total	55,6	8,1	41,0	80,0

Figura 25. Gráfico de cajas para días a inicio de cosecha de *Pleurotus ostreatus*



El resultado del análisis de variancia para los días desde siembra a inicio de cosecha muestra que no existen diferencias significativas ente los tratamientos:

Cuadro 11. ANDEVA para días a inicio de cosecha de *Pleurotus ostreatus*

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados Medios	F calculado	F tabulado
Entre tratamientos	7	770,3	110,0	1,911	2,249
Dentro de los tratamientos	40	2303,0	57,6		
Total	47	3073,3			

La media de los días desde siembra hasta inicio de cosecha de los tratamientos con pH 6,0 fue de 52,4 y con pH 7,5 fue de 58,8; al igual que en los días de incubación, en función de la prueba t-student al 5 % se rechaza la hipótesis nula y se acepta que si existen diferencias significativas entre las medias.

Cuadro 12. Prueba de t-student al 5 % para días a inicio de cosecha de *Pleurotus ostreatus*

	Media	Varianza	Varianza agrupada	Grados de libertad	t calculado	t tabulado
pH 6.0	52,4	40,4	56,1	46	2,969	1,679
pH 7.5	58,8	71,7				

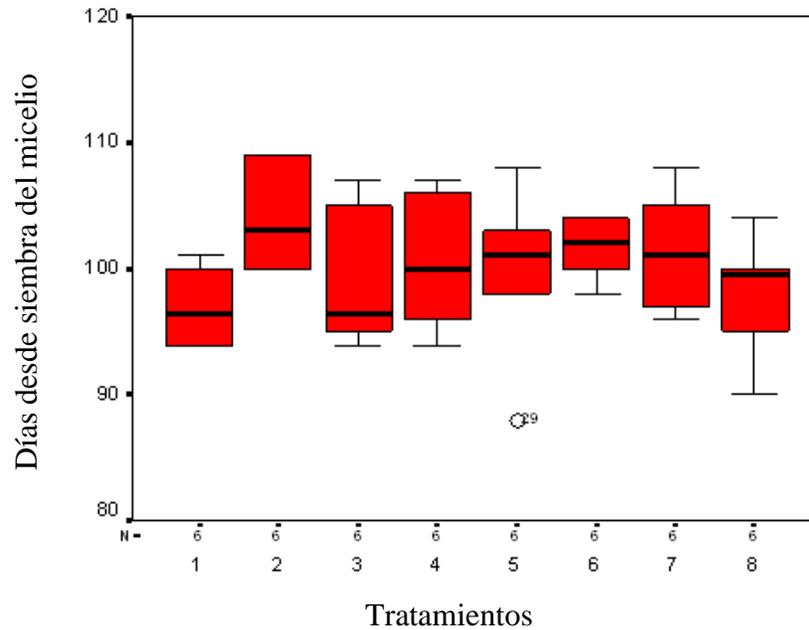
2.1.3. Días desde siembra hasta fin de cosecha de *Pleurotus ostreatus*:

Los días promedio transcurridos entre la siembra del micelio y la última cosecha fueron 100,2; a continuación se presentan los resultados para cada tratamiento:

Cuadro 13. Días a fin de cosecha de *Pleurotus ostreatus*

Tratamiento	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
1	97,0	3,1	94,0	101,0
2	104,0	4,1	100,0	109,0
3	99,0	5,5	94,0	107,0
4	100,5	5,8	94,0	107,0
5	99,8	6,8	88,0	108,0
6	101,7	2,3	98,0	104,0
7	101,3	4,6	96,0	108,0
8	98,0	4,9	90,0	104,0
Total	100,2	4,9	88,0	109,0

Figura 26. Gráfico de cajas para días a fin de cosecha de *Pleurotus ostreatus*



El resultado del análisis de variancia para días desde siembra hasta fin de cosecha no presenta diferencias significativas entre tratamientos.

Cuadro 14. ANDEVA para días a fin de cosecha de *Pleurotus ostreatus*

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados Medios	F calculado	F tabulado
Entre tratamientos	7	207,7	29,7	1,264	2,249
Dentro de los tratamientos	40	939,0	23,5		
Total	47	1146,7			

La media de los días desde siembra hasta fin de cosecha de los tratamientos con pH 6,0 fue de 99,3 y con pH 7,5 fue de 101,0; en este caso se acepta la hipótesis nula, es decir no existen diferencias significativas entre las medias:

Cuadro 15. Prueba de t-student al 5 % para días a fin de cosecha de *Pleurotus ostreatus*

	Media	Varianza	Varianza agrupada	Grados de libertad	t calculado	t tabulado
pH 6,0	99,3	26,0	24,1	46	1,234	1,679
pH 7,5	101,0	22,2				

2.2. Rendimiento de *Pleurotus ostreatus*:

El rendimiento medio de los tratamientos, calculado en función del peso de los hongos frescos dividido para el peso del sustrato húmedo y por 100, durante tres cosechas fue el siguiente:

Cuadro 16. Rendimiento medio durante tres cosechas expresado en porcentaje

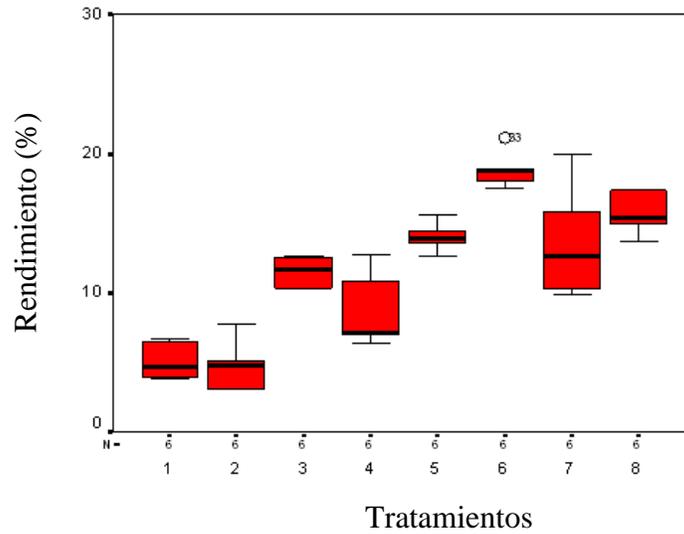
Tratamiento	Primera cosecha	Segunda cosecha	Tercera cosecha	Total tres cosechas
1	3,8	0,9	0,4	5,1
2	3,3	1,0	0,5	4,8
3	7,8	2,6	1,1	11,5
4	5,9	2,1	0,6	8,6
5	7,5	4,3	2,3	14,0
6	9,0	6,4	3,4	18,8
7	7,8	3,7	2,1	13,6
8	8,2	4,7	2,8	15,7

A continuación se presentan los resultados correspondientes al rendimiento total de las tres cosechas en cada tratamiento:

Cuadro 17. Rendimiento total de *Pleurotus ostreatus* expresado en porcentaje

Tratamiento	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
1	5,1	1,3	3,9	6,7
2	4,8	1,7	3,1	7,7
3	11,6	1,1	10,3	12,7
4	8,6	2,6	6,4	12,8
5	14,0	1,0	12,7	15,6
6	18,8	1,2	17,5	21,1
7	13,6	3,8	9,9	20
8	15,7	1,4	13,7	17,4
Total	11,5	5,1	3,1	21,1

Figura 27. Gráfico de cajas para rendimiento total de *Pleurotus ostreatus*



El análisis de variancia para el rendimiento presentó diferencias significativas entre tratamientos:

Cuadro 18. ANDEVA para rendimiento de *Pleurotus ostreatus*

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados Medios	F calculado	F tabulado
Entre tratamientos	7	1063,6	151,9	38,038	2,249
Dentro de los tratamientos	40	159,8	4,0		
Total	47	1223,4			

Duncan al 5 % determinó los siguientes rangos para el rendimiento de *Pleurotus ostreatus*:

Cuadro 19. Prueba de Duncan al 5 % para rendimiento de *Pleurotus ostreatus*

Tratamiento	Media	Rangos
T2	4,8	A
T1	5,1	A
T4	8,6	B
T3	11,5	C
T7	13,6	CD
T5	14,0	D
T8	15,7	D
T6	18,8	E

El rendimiento medio de los tratamientos con pH 6,0 fue 11,1 % y con pH 7,5 fue 12,0 %; la prueba t-student al 5 % determina que se acepta la hipótesis nula, es decir que no existen diferencias estadísticas significativas entre las medias.

Cuadro 20. Prueba de t-student al 5 % para rendimiento de *Pleurotus ostreatus*

	Media	Varianza	Varianza agrupada	Grados de libertad	t calculado	t tabulado
pH 6.0	11,1	17,3	26,4	46	0,615	1,679
pH 7.5	12,0	35,4				

2.3. Eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus*:

La eficiencia biológica media de los tratamientos, calculada en función del peso de los hongos frescos dividido para el peso del sustrato seco y por 100, durante tres cosechas fue la siguiente:

Cuadro 21. Eficiencia biológica media durante tres cosechas expresada en porcentaje

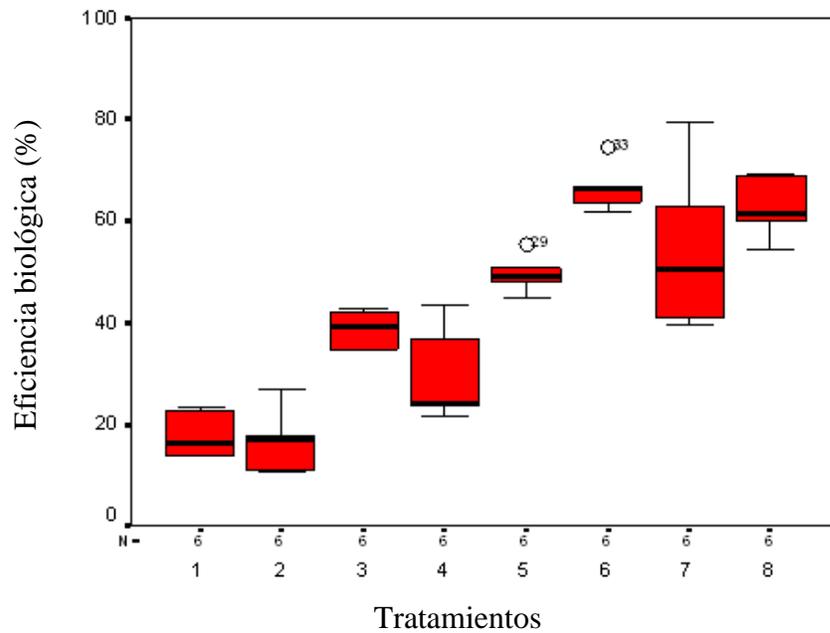
Tratamiento	Primera cosecha	Segunda cosecha	Tercera cosecha	Total tres cosechas
1	13,2	3,2	1,4	17,8
2	11,6	3,5	1,7	16,7
3	26,4	8,9	3,7	39,0
4	19,9	7,2	1,9	28,9
5	26,4	15,2	8,1	49,7
6	32,0	22,6	12,1	66,7
7	31,2	14,5	8,3	54,0
8	32,7	18,7	11,0	62,5

Los resultados totales para la eficiencia biológica de cada tratamiento fueron los siguientes:

Cuadro 22. Eficiencia biológica total de *Pleurotus ostreatus* expresada en porcentaje

Tratamiento	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
1	17,8	4,4	13,8	23,4
2	16,7	5,9	10,8	27,0
3	39,0	3,8	34,8	43,0
4	28,9	9,0	21,6	43,4
5	49,7	3,5	45,0	55,4
6	66,7	4,4	61,8	74,6
7	54,0	15,2	39,6	79,6
8	62,5	5,7	54,4	69,2
Total	41,9	19,6	10,8	79,6

Figura 28. Gráfico de cajas para eficiencia biológica total de *Pleurotus ostreatus*



El análisis de variancia para la eficiencia biológica (expresada en porcentaje), al igual que para el rendimiento, presentó diferencias significativas para los diferentes tratamientos:

Cuadro 23. ANDEVA para eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus*

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados Medios	F calculado	F tabulado
Entre tratamientos	7	15829,0	2261,3	40,641	2,249
Dentro de los tratamientos	40	2225,6	55,6		
Total	47	18054,6			

Duncan al 5 % para la eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* presentó los siguientes resultados:

Cuadro 24. Prueba de Duncan al 5 % para eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus*

Tratamiento	Media	Rangos
T2	16,7	A
T1	17,8	A
T4	28,9	B
T3	39,0	C
T5	49,7	D
T7	54,0	DE
T8	62,5	EF
T6	66,7	F

La eficiencia biológica media de los tratamientos con pH 6,0 fue de 40,1 % y con pH 7,5 fue de 43,7 %; la prueba t-student al 5 % determina que se acepta la hipótesis nula, es decir que no existen diferencias estadísticas significativas entre las medias

Cuadro 25. Prueba de t-student al 5 % para eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus*

	Media	Varianza	Varianza agrupada	Grados de libertad	t calculado	t tabulado
pH 6,0	40,1	265,0	389,1	46	0,629	1,679
pH 7,5	43,7	513,3				

Capítulo 3. Discusión

3.1. Discusión de resultados:

La fase de incubación de *Pleurotus ostreatus* presentó una duración media de 26,9 días, lo que se encuentra dentro de los parámetros normales señalados (15 – 30 días) por García (2008). El análisis de varianza presenta diferencias significativas para los tratamientos y en función de la prueba de Duncan al 5 %, T3 y T5 fueron los sustratos más rápidamente invadidos por el micelio; mientras que T6 y T4 fueron los más lentos, manteniéndose en lugares intermedios T7, T1, T8 y T2.

El tiempo medio de incubación de los sustratos con pH 6,0 (24,1 días) fue 5,5 días menor que el de los sustratos con pH 7,5 (29,6 días), lo que en función de la prueba t-student representa diferencias estadísticas significativas.

La media de los días desde siembra hasta inicio de cosecha fue de 55,6, manteniéndose T3 con 49,7 días como el tratamiento más precoz y T4 con 62,7 días como el más tardío; sin embargo, el análisis de varianza muestra que no existen diferencias significativas entre tratamientos.

La prueba t-student para la comparación de las medias de los sustratos con pH 6,0 (52,4 días) y con pH 7,5 (58,8 días) muestra que estadísticamente los sustratos con pH menor son más rápidos en iniciar la cosecha (6,4 días de diferencia).

El tiempo promedio transcurrido entre la siembra y el fin de cosecha fue de 100,2 días; en este caso el análisis de varianza no se presentó diferencias significativas entre tratamientos ni tampoco la prueba de t-student para las medias de los sustratos con pH 6,0 y 7,5

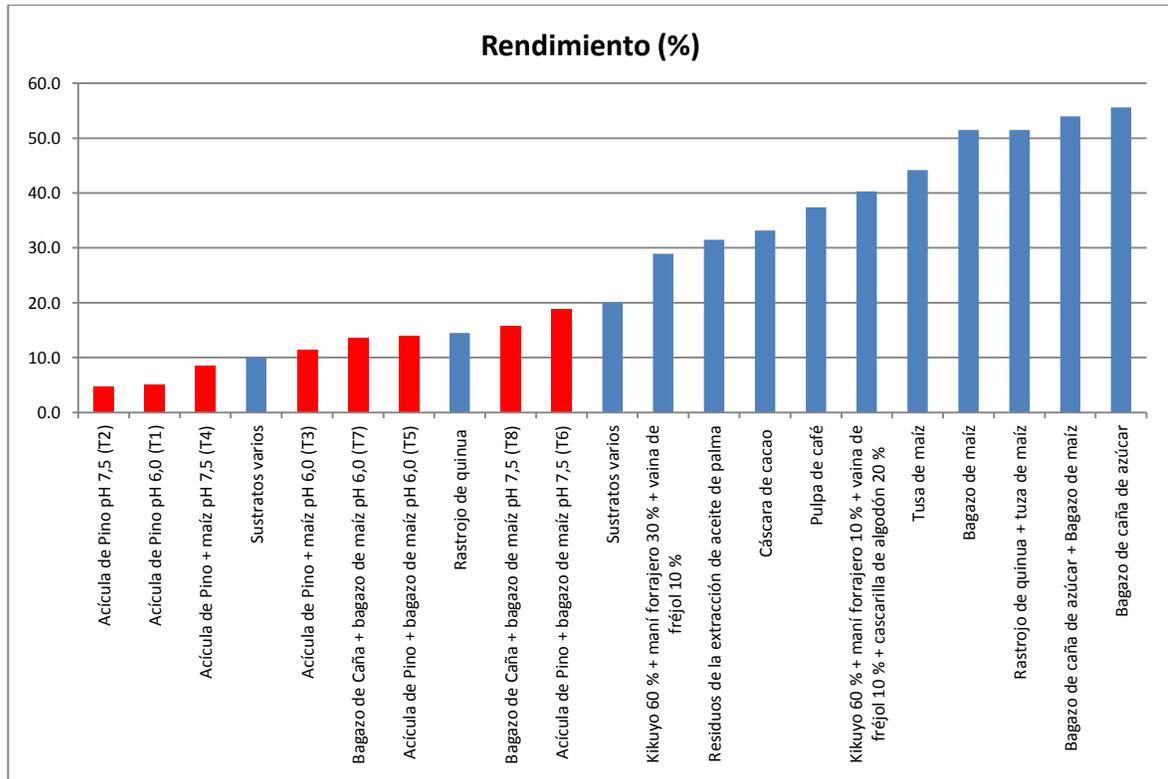
El peso fresco de los hongos utilizado para el cálculo del rendimiento y de la eficiencia biológica fue el resultado de la suma de tres cosechas, en la primera cosecha se obtuvo el 58 % de la producción total, en la segunda cosecha el 28 % y en la tercera el 14 %; esto concuerda con las afirmaciones de Gaitan-Hernández, et al. (2006) y García (2008) cuando indican que la producción sucede en tandas u oleadas, que la primera oleada es la que más produce y generalmente tras la tercera tanda ya no es rentable la producción; además que durante las dos primeras oleadas se recolecta el 90 % de la producción total.

La comparación de los rendimientos obtenidos en esta investigación con los reportados por varios autores en diferentes sustratos, los podemos observar a continuación:

Cuadro 26. Comparación del rendimiento de *Pleurotus ostreatus* en varios sustratos

Sustrato	Rendimiento (%)	Fuente
Ascícula de Pino pH 7,5 (T2)	4,8	En este estudio
Ascícula de Pino pH 6,0 (T1)	5,1	En este estudio
Ascícula de Pino + granos de maíz pH 7,5 (T4)	8,6	En este estudio
Sustratos varios	10,0	García (2008)
Ascícula de Pino + granos de maíz pH 6,0 (T3)	11,5	En este estudio
Bagazo de Caña + bagazo de maíz pH 6,0 (T7)	13,6	En este estudio
Ascícula de Pino + bagazo de maíz pH 6,0 (T5)	14,0	En este estudio
Rastrojo de quinua	14,5	Toledo (2008)
Bagazo de Caña + bagazo de maíz pH 7,5 (T8)	15,7	En este estudio
Ascícula de Pino + bagazo de maíz pH 7,5 (T6)	18,8	En este estudio
Sustratos varios	20,0	García (2008)
Kikuyo 60 % + maní 30 % + vaina de fréjol 10 %	28,9	Garcés, et al. (2009)
Residuos de la extracción de aceite de palma	31,5	Ramos (2007)
Cáscara de cacao	33,2	Bermúdez, et al. (2010)
Pulpa de café	37,4	Bermúdez, et al. (2010)
Kikuyo 60 % + maní forrajero 10 % + vaina de fréjol 10 % + cascarilla de algodón 20 %	40,3	Garcés, et al. (2009)
Tusa de maíz	44,2	Toledo (2008)
Bagazo de maíz	51,5	Calderón (2002)
Rastrojo de quinua + tuza de maíz	51,5	Toledo (2008)
Bagazo de caña de azúcar + Bagazo de maíz	54,0	Calderón (2002)
Bagazo de caña de azúcar	55,6	Calderón (2002)

Figura 29. Comparación del rendimiento de *Pleurotus ostreatus* en varios sustratos



Los rendimientos de T6 (18,5 %) y T8 (15,7 %), estuvieron dentro del rango 10 - 20 % señalado por García (2008) como aceptable para sustratos en general e incluso presentaron valores ligeramente superiores a los rastrojos de quinua (Toledo 2008). Los rendimientos de T5 (14,0 %), T7 (13,6 %) y T3 (11,5 %) también se encontraron dentro del rango del 10 – 20 % pero con valores inferiores a todo el resto de autores consultados y finalmente los rendimientos de T4 (8,6 %), T1 (5,1 %) y T2 (4,8 %) estuvieron por debajo de los límites aceptables.

Entre los motivos que podrían explicar que los rendimientos de esta investigación estén en general bordeando el límite inferior de los rangos reportados, podemos mencionar que durante este experimento no se tuvo la posibilidad de manejar la humedad del ambiente, de manera que durante la fase de producción la humedad relativa presentó valores mínimos de 67,0 %, máximos de 83,7 % y medios 77,4 %, muy por debajo de los 80 – 90 % recomendados como óptimos (García 2008). Además al ser el rendimiento el resultado de dividir el peso fresco de los hongos para el peso húmedo del sustrato y que cada uno de los autores podría estar partiendo de sustratos con diferentes porcentajes de humedad, podríamos estar tratando de relacionar valores no comparables.

El análisis de varianza para el rendimiento mostró diferencias significativas entre los tratamientos y en de acuerdo a la prueba de Duncan al 5 %, el mejor rendimiento lo presentó T6, en segundo lugar tenemos T8 y T5, en el tercer rango está T7, en el cuarto rango T3 seguido por T4 y al final se encuentran T1 y T2.

Al comparar las medias de los tratamientos con pH 6,0 (11,1 %) y las medias de los tratamientos con pH 7,5 (12,0 %) mediante la prueba t-student al 5 % se determina que no existen diferencias estadísticas significativas.

La eficiencia biológica es la variable más utilizada para comparar el comportamiento de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes sustratos; para poder relacionar los resultados de diferentes autores con los de esta investigación, se sacaron promedios por grupos de sustratos:

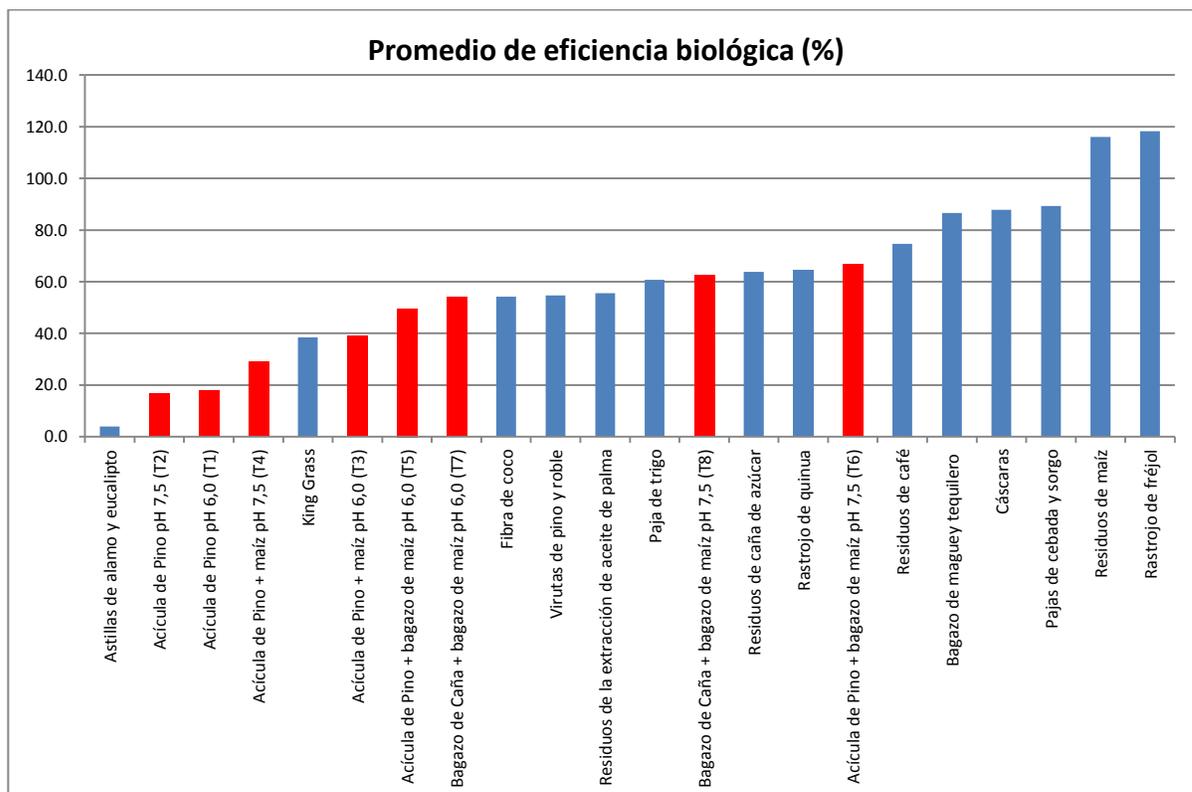
Cuadro 27. Comparación de la eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* en varios sustratos

Grupo de sustrato	Sustrato	Eficiencia biológica (%)	Fuente	Promedio de eficiencia biológica (%)
Astillas de álamo y eucalipto	Astillas de álamo	3,0	Varnero, et al. (2010)	4,0
	Astillas de eucalipto	4,2		
	Aserrín de establos de animales	4,8	Garzón y Cuervo (2008)	
Ascícula de Pino pH 7,5 (T2)		16,7	En este estudio	16,7
Ascícula de Pino pH 6,0 (T1)		17,8		17,8
Ascícula de Pino + granos de maíz pH 7,5 (T4)		28,9		28,9
King Grass	Pasto de corte King Grass	45,5	Forero, et al. (2008)	38,5
	Pasto de corte King Grass + Residuos de ají.	38,2		
	Pasto de corte King Grass + Residuos de ají.	31,7		

Ascícula de Pino + granos de maíz pH 6,0 (T3)		39.0	En este estudio	39.0	
Ascícula de Pino + bagazo de maíz pH 6,0 (T5)		49.7		49.7	
Bagazo de Caña + bagazo de maíz pH 6,0 (T7)		54.0		54.0	
Fibra de coco		27.8	Mora y Martínez (2007)	54.2	
		80.6			
Virutas de pino y roble	Viruta de pino	28,0		López, et al. (2008)	54,7
	Viruta de pino	66,0			
	Aserrín de roble	70,0			
Residuos de la extracción de aceite de palma		55.5	Ramos (2007)	55.5	
Paja de trigo	Paja de trigo	32,9	Varnero, et al. (2010)	60,7	
	Paja de trigo	23,6	Aguilar (2007)		
	Paja de trigo	33,2			
	Paja de trigo	20,6	Acosta y Medrano (2006)		
	Paja de trigo	74,2			
	Paja de trigo	138,9	Baena (2005)		
	Paja de trigo	19,9	Mora y Martínez (2007)		
	Paja de trigo	142,6			
Bagazo de Caña + bagazo de maíz pH 7,5 (T8)		62.5	En este estudio	62.5	
Residuos de caña de azúcar	Hoja de caña de azúcar	40,8	Mora y Martínez (2007)	63,8	
	Hoja de caña de azúcar	70,6			
	Bagazo de caña de azúcar	15,7	Acosta y Medrano (2006)		
	Bagazo de caña de azúcar	20,8	Garzón y Cuervo (2008)		
	Bagazo de caña de azúcar	14,5	Mora y Martínez (2007)		
	Bagazo de caña de azúcar	128,3			
	Bagazo de caña de azúcar	156,0	Calderón (2002)		
Rastrojo de quinua	Rastrojo de quinua	32,0	Toledo (2008)	64,4	
	Rastrojo de quinua + tuza de maíz	96,7			
Ascícula de Pino + bagazo de maíz pH 7,5 (T6)		66.7	En este estudio	66.7	

Residuos de café	Pulpa de café	149,5	Bermúdez, et al. (2010)	74,7
	Pulpa de café	17,5	Mora y Martínez (2007)	
	Pulpa de café	175,8		
	Residuos de café de consumo humano	27,7	Garzón y Cuervo (2008)	
	Residuos de café + aserrín + bagazo de caña de azúcar + tallos de maíz	29,1		
	Residuos de café + aserrín + bagazo de caña de azúcar + tallos de maíz	48,4		
Bagazo de maguey tequilero	Bagazo de maguey tequilero	35,0	Mora y Martínez (2007)	86,5
	Bagazo de maguey tequilero	113,6		
	Bagazo de maguey tequilero	93,7	Baena (2005)	
	Bagazo de maguey con diferentes suplementos	74,5		
	Bagazo de maguey con diferentes suplementos	115,9		
Cáscaras	Capacho de uchuva (cáliz de uvilla)	76,1	López, et al. (2008)	87,8
	Cáscara de arveja	68,6		
	Cáscara de cacao	84,5	Bermúdez, et al. (2010)	
	Cáscara de cacao	124,4		
	Cáscara de maní	85,4		
Pajas de cebada y sorgo	Paja de cebada	29,4	Mora y Martínez (2007)	89,3
	Paja de cebada	106,4		
	Paja de sorgo	132,0		
Residuos de maíz	Bagazo de maíz	144,6	Calderón (2002)	116,0
	Rastrojo de maíz	150,0	Mora y Martínez (2007)	
	Tamo de maíz	186,0	Acosta y Medrano (2006)	
	Tusa de maíz	50,5		
	Tusa de maíz	57,8	López, et al. (2008)	
	Tusa de maíz	78,3	Toledo (2008)	
	Hoja seca de maíz	144,9	Mora y Martínez (2007)	
Rastrojo de fréjol	118,2	(2007)	118,2	

Figura 30. Comparación de la eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* en varios sustratos



Los resultados de la eficiencia biológica ubicaron a T6 y T8 en un lugar intermedio de entre los valores alcanzados por los diferentes autores consultados; T7, T5 y T3 aunque con resultados un poco más pobres, también están cerca de los valores reportados; y finalmente, T4, T1 y T2 bordean el límite inferior.

El análisis de varianza para eficiencia biológica mostró diferencias significativas entre tratamientos y la prueba de Duncan al 5 % señaló el mejor resultado con T6 (66,7 %), seguido por T8 (62,5 %), T7 (54,0 %), T5 (49,7 %), T3 (39,0 %) y T4 (28,9 %) en su respectivo orden y cada uno en un rango diferente; al final tenemos a T1 (17,8 %) y T2 (16,7 %) con los más bajos resultados.

Las eficiencias biológicas medias de los tratamientos con pH 6,0 (40,1 %) y de los tratamientos con pH 7,5 (43,7 %) no presentaron diferencias significativas en función de la prueba t-student al 5 %.

3.2. Conclusiones y recomendaciones:

El ciclo total de cultivo de *Pleurotus ostreatus*, referido a días desde la siembra hasta el fin de cosecha no presentó diferencias significativas entre tratamientos pese a que en la fase de incubación (con temperatura promedio de 20 °C) T3 compuesto por ascícula de pino al 80 % y granos de maíz al 20 % con pH 6,0 y T5 formado por ascícula de pino al 50 % y bagazo de maíz al 50 % con pH 6,0 fueron los más precoces, mostrando diferencias estadísticas significativas frente a los demás. Los sustratos con pH 6,0 tuvieron mayor velocidad para la invasión del sustrato e inicio de cosecha, no así en el ciclo total, es decir en los días de siembra a fin de cosecha.

Al comparar los resultados de esta investigación con los obtenidos por otros autores, encontramos que los rendimientos y eficiencia biológica de T6 y T8 se ubicaron en un rango intermedio de entre los valores reportados para diferentes sustratos; T5, T7 y T3 aunque con resultados más bajos, también estuvieron dentro de los valores aceptables; y finalmente, T4, T1 y T2 presentaron valores inferiores a casi todos los datos consultados.

El mayor rendimiento y eficiencia biológica le correspondieron a T6, sustrato formado por 50 % de ascícula de pino más 50 % de bagazo de maíz con pH 7,5 y los peores resultados se obtuvieron en T1 y T2 ambos contienen únicamente ascícula de pino con los dos niveles de pH.

Las medias de todos los tratamientos con pH 6,0 comparadas con las medias de los sustratos con pH 7,5 no presentaron diferencias estadísticas significativas para rendimiento y tampoco para eficiencia biológica.

En base a los resultados de esta investigación se acepta la hipótesis planteada de que “la ascícula media-baja del mantillo de las plantaciones de *Pinus patula* es un sustrato viable para la producción de *Pleurotus ostreatus* en comparación con la combinación de bagazos de caña y maíz”.

Para que la ascícula de pino sea viable como sustrato de *Pleurotus ostreatus* es conveniente tener en cuenta dos aspectos:

pH del sustrato: Aunque el pH de la ascícula de pino depende del tipo de suelo, en general es ácido, en este trabajo el pH inicial fue de 4,5 (Anexo 1); se recomienda corregirlo para ubicarlo entre 6,0 y 7,5. La mayoría de los autores recomiendan un pH entre 6,0 y 6,5 aunque Pardo-Giménez y Pardo-

González (2009) obtienen los mejores resultados con pH 8,15 y 7,51; en esta investigación, no se encontraron diferencias significativas entre las medias de los tratamientos con pH 6,0 y 7,5, sin embargo el mejor rendimiento y eficiencia biológica la obtuvo T6 con pH 7,5 mientras que T5, sustrato formado por los mismos materiales pero con pH 6,0 presentó el segundo rango para rendimiento y el cuarto para eficiencia biológica. La corrección se puede realizar con la adición de carbonato cálcico.

Densidad del sustrato: Los sustratos que contienen solo ascícula de pino (T1 y T2) y ascícula de pino mezclada con granos de maíz (T3 y T4) tuvieron una densidad igual o mayor a 0,40 g / ml y son los que presentaron los peores resultados en rendimiento y eficiencia biológica, mientras que los tratamientos que tuvieron mezcla de ascícula de pino con bagazo de maíz (T5 y T6) presentaron densidades de 0,34 g / ml y ofrecieron mayores rendimientos y eficiencia biológica que los anteriores. Esto concuerda con las afirmaciones de García (2008) en que la densidad de los sustratos no debe pasar de 0,36 g / ml y con Pardo-Giménez y Pardo-González (2009) quienes encuentran en su investigación que al aumentar la densidad del sustrato, éste se vuelve más compacto y dificulta la oxigenación del micelio. La recomendación es entonces mezclar ascícula de pino con materiales que den como resultado sustratos de baja densidad.

Otras consideraciones:

A muchos de los materiales o sus mezclas los productores les adicionan aditivos como: azúcar de caña, harinas de maíz, soya, girasol, avena, etc., pero en realidad la efectividad de estos aditivos depende mucho de los sustratos y las cepas de *Pleurotus* empleadas (García 2008). La ascícula de pino de esta tesis mostró un alto contenido de Calcio (1,75 % de CaO) y de Nitrógeno (1,6 % de N) con una relación Carbono / Nitrógeno de 28,33; niveles que posiblemente son suficientes para lograr una buena producción y el uso de aditivos estaría por demás.

La obtención de semilla es decir la propagación masiva del hongo en granos de maíz y la esterilización de los sustratos se llevaron a cabo a nivel de laboratorio con todo el equipamiento necesario pero la fase de incubación y producción se realizó en una habitación adecuada para el efecto, lo que demuestra que no se necesitan instalaciones sofisticadas o costosas para este cultivo una vez que se puedan encontrar alternativas viables para la esterilización o pasteurización de los sustratos. Cabe señalar sin

embargo que durante la fase de producción la humedad relativa presentó valores muy por debajo de los recomendados como óptimos lo que pudo haber reducido la producción de setas.

Por último es importante señalar que la ascícula de pino, a diferencia de casi todos los desechos agrícolas usados como potenciales sustratos para *Pleurotus ostreatus* no tienen que competir con usos alternativos como la alimentación animal.

Referencias bibliográficas:

- Acosta Urdapilleta Ma. De Lourdes, Medrano Vega Francisco Abel. Obtención de cepas silvestres de *Pleurotus spp.* del Estado de Morelos y su cultivo sobre subproductos agroindustriales y esquilmos agrícolas. Centro de Investigaciones Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, México. 2006. www.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/.../MRO-08.pdf Consulta: 2012-10-12
- Aguilar Doroteo Leticia. Producción de inóculo líquido para el cultivo de *Pleurotus spp.* Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. Instituto Politécnico Nacional. México D. F. 2007. www.biotecnologia.upibi.ipn.mx/recursos/posgrado/.../mc_laguilar.p... Consulta: 2012-10-18
- Ansaloni Raffaella, Chacón Gustavo. Interacción suelo, vegetación y agua: el efecto de las plantaciones de pino en ecosistemas alto andinos del Azuay y Cañar. Revista Universidad Verdad de la Universidad del Azuay. Cuenca, Ecuador. 2003.
- Baena González Armando. Aprovechamiento del Bagazo del Maguey Verde (*Agave salmiana*) de la Agroindustria del Mezcal en San Luis Potosí para la Producción del Hongo Ostra (*Pleurotus ostreatus*). Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C. Posgrado en Ciencias Aplicadas. San Luis Potosí. México. 2005. <http://www.ipicyt.edu.mx/storage-sipicyt/.../030078BaenaGonzalez.pdf> Consulta: 2012-04-29
- Bermúdez Savón, Rosa Catalina; Ramos Sevilla, Ivan; Donoso Fernández, Carlos. Fermentación sólida de la cáscara de cacao por *Pleurotus sp.* Editorial Universitaria, Cuba: 2010. <http://site.ebrary.com/lib/uasuaysp/Doc?id=10365947&ppg=5> Consulta: 2012-10-11
- Cabanillas Saldaña Ana. Bases para la Gestión de Masas Naturales de *Pinus halepensis* Mill. en el Valle del Río Ebro. Departamento de Ingeniería Forestal. Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes, Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España 2010. http://oa.upm.es/4960/1/ANA_CABANILLAS_SALDANA.pdf Consulta: 2012-05-05
- Calderón Machuca Juan. Micropropagación del Hongo Comestible *Pleurotus ostreatus* para la Promoción del Cultivo Regional; Un Ensayo Preliminar. Revista Universidad Verdad de la Universidad del Azuay. No 29. Diciembre 2002. Pág. 121-132.

- Chacón Vintimilla Gustavo. Impact of Exotic Tree Plantations and Pastures on Soil Productivity in the Andean Highlands of Southern Ecuador. Tesis de Ph.D. Université du Québec a Montréal. 2002.
- Chacón G, Gagnon D, Paré D. Comparison of soil properties of native forests, *Pinus patula* plantations and adjacent pastures in the Andean highlands of southern Ecuador: land use history or recent vegetation effects?. Soil Use and Management. 2009.
- Córdova Ordoñez Mercedes Maribel. Estudio Comparativo del Crecimiento Miceliar del Hongo (*Pleurotus ostreatus*) en Ascícula de Pino, Bagazo de Caña y Bagazo de Maíz. Tesis de Ingeniero Agropecuario. Universidad del Azuay. Cuenca, Ecuador. 2009.
- Forero Clara Luz, Hoyos Olga Lucía, Bazante William E. Evaluación de residuos de ají (*Capsicum spp.*) como sustrato en la producción de setas comestibles (*Pleurotus ostreatus*). Universidad del Cauca. 2008. www.unicauca.edu.co/biotecnologia/ediciones/vol6/5.pdf Consulta: 2012-10-12
- Gaitan-Hernández Rigoberto, Salmones Dulce, Pérez Merlo Rosalía, Mata Gerardo. Manual práctico del cultivo de setas. Aislamiento, siembra y producción. Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, Veracruz, México 2006.
fagsol.com/descargas/hongos/documentos/manual_setas...ok.pdf Consulta: 2012-07-12
- Garcés Molina, Adelaida María; Velez Cardona, Natalia; Ruiz Alzate, Santiago. Evaluación de algunos residuos orgánicos como sustrato para el cultivo de hongos comestibles. Corporación Universitaria Lasallista, México. 2009.
<http://site.ebrary.com/lib/uasuaysp/Doc?id=10311873&ppg=3> Consulta: 2012-10-09
- García Rollán, Mariano. Cultivo de setas y trufas (5a. ed.). España: Mundi-Prensa, 2008. p 12.
<http://site.ebrary.com/lib/uasuaysp/Doc?id=10227931&ppg=10> Consulta: 2012-05-04
- Garzón Gómez Juan Pablo, Cuervo Andrade Jairo Leonardo. Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. Publicación Científica en Ciencias Biomédicas. Vol 6. Universidad Nacional de Colombia. 2008.
www.unicolmayor.edu.co/invest.../NOVA10_ARTORIG2_pleur.pdf Consulta: 2012-10-16
- Hofstede Robert, Lips Johanna, Jongsma Wibold. Geografía, Ecología y Forestación de la Sierra Alta del Ecuador. Ediciones Abya-Yala. Quito, Ecuador. 1998.

- Llauradó, G.; Morris, H.J.; Lebeque, Y. Acerca de la funcionalidad de setas comestibles *Pleurotus spp.*: propiedades bioestimulantes de un extracto acuoso. Revista de Ciencias Químicas, Vol. XVII, N° 1, 2005. Cuba: Editorial Universitaria, 2009. p 2.
<http://site.ebrary.com/lib/uasuaysp/Doc?id=10306570&ppg=2> Consulta: 2012-05-04
- López Rodríguez Claudia, Hernández Corredor Ricardo, Suárez Franco Christian, Borrero Marta. Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del Departamento de Cundinamarca. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá, Colombia. 2008. www.javeriana.edu.co/.../4-Lopez-Rodriguez,%20C.%20128-137.pdf... Consulta: 2012-10-15
- Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca. MAGAP. Subdirección de Producción Forestal. Ficha técnica No. 11 Pino. Ecuador Forestal. Ecuador. 2012.
www.ecuadorforestal.org/download/contenido/pino.pdf Consulta: 2012-12-4
- Mora, V. M. & D. Martínez Carrera. Investigaciones básicas, aplicadas y socioeconómicas sobre el cultivo de setas (*Pleurothus*) en México. ECOSUR-CONACT. México, D.F. 2007.
www.hongoscomestibles-latinoamerica.com/P/P/24.pdf Consulta: 2012-10-11
- Naciones Unidas. Our Common Future. Reporte de la Comisión Mundial sobre Medio Ambiente y Desarrollo. Reporte Brundtland. Oslo, Noruega. 20 de marzo de 1987.
- Naciones Unidas. Declaración de Río sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo. Rio de Janeiro, Brasil. 14 de junio de 1992.
- Pardo-Giménez A. y Pardo-González J.E. Elaboración de nuevos Sustratos para Cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm, Basados en Sustratos Degradados por el Cultivo de Hongos. España. 2009. http://www2.cita-aragon.es/citarea/bitstream/10532/.../10532-1081_1.pdf Consulta: 2012-04-30
- Ramos Ochoa Germania Isabel. *Pleurotus Ostreatus* cultivado en residuos de palma aceitera como importante fuente proteica para la dieta humana. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Riobamba, Ecuador. 2007.
dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/221/1/236T0002.pdf Consulta: 2012-10-18
- Rodríguez, A.; Arbelo, C. D.; Guerra, J. A. Erosión hídrica en andosoles de las Islas Canarias. España: Sociedad Española de la Ciencia del Suelo, 2009.
<http://site.ebrary.com/lib/uasuaysp/Doc?id=10306952&ppg=2> Consulta: 2012-10-01

- Toledo Álvarez María Fernanda. Residuos de maíz y quinua como potenciales sustratos para el cultivo de hongos comestibles *Pleurotus ostreatus*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Riobamba, Ecuador. 2008.
dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/229/1/236T0015.pdf Consulta: 2012-10-18
- Tschierpe H. J. y Hartmann K. A comparison of different growing methods, Mushroom Journal 60. 1977.
- Varnero María, Quiroz Madelaine y Álvarez Cristian. Utilización de residuos forestales lignocelulósicos para producción del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*). Universidad de Chile. Información Tecnológica Vol. 21. Santiago, Chile. 2010.
http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642010000200003 Consulta: 2012-10-15
- Vives Martínez Juan Luis. Proyecto de Repoblación Forestal en el Monte “Racó del Pi” en el Término Municipal del Benicolet (Valencia). Universidad Politécnica de Valencia. Escuela Politécnica Superior de Gandía. Ingeniería Técnica Forestal. Valencia, España 2011.
<http://www.upv.es> Consulta: 2012-05-04

ANEXOS

Anexo 1. Análisis químico de los materiales base de los sustratos



AGROBIOLAB - GRUPO CLINICA AGRICOLA

Informe de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y E.C.P.

Gonzalo Zaldumbide N49-204 y César Frank Urb. Dammer 2 (El Inca)
 Telfs: (593-2) 241-2383 / 241-2385 Fax: (593-2) 241-3312 Quito - Ecuador
 Página Web: www.clinica-agricola.com E-mail: agrobiolab@clinica-agricola.com

COMPOST

Datos del Cliente							Referencia					
Cliente	:GUILLEN FABIAN						No. Doc:	45603				
Propiedad:	GUILLEN FABIAN						Emisión:	21/09/2012				
Cultivo	:COMPOST						Impreso:	21/09/2012				
Ingreso	:14/09/2012	Ensayo:	17/09/2012				Página:	1 de 1				
No. Lab	:Desde: 2575	Hasta	: 2577									

Nombre: M1 PINO
No. Lab.: 2,575

N %	NO3 ppm	P2O5 %	K2O %	CaO %	MgO %	Na %	S ppm	Zn ppm	Cu ppm	Fe ppm	Mn ppm
1.60	6.10	0.23	0.15	1.75	0.21	0.00	20.53	25.00	5.000	1672.00	676.00
B ppm	M.O. %	C %	Humedad %	C.E. mmho	C/N	pH					
0.17	78.16	45.33	11.16	0.36	28.33	4.50					

Nombre: M2 MAIZ
No. Lab.: 2,576

N %	NO3 ppm	P2O5 %	K2O %	CaO %	MgO %	Na %	S ppm	Zn ppm	Cu ppm	Fe ppm	Mn ppm
0.76	34.60	0.46	1.35	0.88	0.42	0.00	87.77	48.00	3.000	727.00	62.00
B ppm	M.O. %	C %	Humedad %	C.E. mmho	C/N	pH					
0.01	83.74	48.57	7.18	3.30	63.91	5.90					

Nombre: M3 CANA
No. Lab.: 2,577

N %	NO3 ppm	P2O5 %	K2O %	CaO %	MgO %	Na %	S ppm	Zn ppm	Cu ppm	Fe ppm	Mn ppm
0.44	11.20	0.23	0.60	0.53	0.21	0.00	215.66	30.00	10.000	271.00	76.00
B ppm	M.O. %	C %	Humedad %	C.E. mmho	C/N	pH					
0.43	85.71	49.71	6.07	1.37	112.99	6.00					

Símbolo decimal = (.)

Métodos: Absorción Atómica, Colorimétrica y Kjeldhal.
 P (PEE/ABL/35), K (PEE/ABL/36)
 Resultados corresponden a muestras analizadas, si se va a fotocopiar hacer del documento total.
¡SU EXITO ES NUESTRO!


 Dr. Washington A. Padilla G. Ph.D.
 Director del Laboratorio

Anexo 2. Días para la incubación de *Pleurotus ostreatus*

	25 % de invasión del sustrato							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
R1	13,0	14,0	13,0	12,0	13,0	18,0	14,0	13,0
R2	12,0	15,0	12,0	13,0	11,0	13,0	12,0	12,0
R3	12,0	12,0	13,0	12,0	12,0	11,0	10,0	14,0
R4	12,0	12,0	11,0	13,0	11,0	15,0	14,0	11,0
R5	11,0	11,0	11,0	13,0	10,0	12,0	11,0	11,0
R6	10,0	13,0	12,0	14,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Media	11,7	12,8	12,0	12,8	11,2	13,2	11,8	11,8

	50 % de invasión del sustrato							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
R1	17,0	18,0	16,0	16,0	17,0	24,0	18,0	17,0
R2	16,0	19,0	15,0	16,0	17,0	17,0	15,0	15,0
R3	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	14,0	16,0
R4	16,0	15,0	14,0	15,0	14,0	18,0	17,0	15,0
R5	14,0	16,0	14,0	20,0	12,0	15,0	13,0	14,0
R6	14,0	18,0	14,0	17,0	14,0	14,0	12,0	12,0
Media	15,3	16,8	14,7	16,5	14,8	17,2	14,8	14,8

	75 % de invasión del sustrato							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
R1	20,0	21,0	19,0	20,0	20,0	28,0	23,0	22,0
R2	19,0	21,0	18,0	18,0	19,0	19,0	18,0	19,0
R3	17,0	19,0	17,0	17,0	17,0	17,0	17,0	19,0
R4	20,0	17,0	15,0	34,0	18,0	21,0	21,0	17,0
R5	22,0	24,0	17,0	25,0	14,0	17,0	15,0	17,0
R6	17,0	28,0	18,0	25,0	17,0	17,0	14,0	14,0
Media	19,2	21,7	17,3	23,2	17,5	19,8	18,0	18,0

	100 % de invasión del sustrato							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
R1	23,0	32,0	22,0	27,0	23,0	34,0	35,0	35,0
R2	22,0	29,0	21,0	35,0	29,0	30,0	21,0	32,0
R3	22,0	24,0	25,0	30,0	22,0	28,0	20,0	22,0
R4	28,0	26,0	19,0	38,0	28,0	31,0	32,0	19,0
R5	28,0	29,0	19,0	41,0	20,0	29,0	26,0	25,0
R6	30,0	31,0	28,0	35,0	20,0	28,0	16,0	20,0
Media	25,5	28,5	22,3	34,3	23,7	30,0	25,0	25,5

Anexo 3. Días desde siembra a inicio de cosecha de *Pleurotus ostreatus*

	Días a inicio de cosecha							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
R1	46,0	66,0	47,0	53,0	60,0	61,0	55,0	67,0
R2	54,0	69,0	46,0	65,0	54,0	55,0	48,0	55,0
R3	58,0	51,0	49,0	58,0	49,0	57,0	47,0	49,0
R4	63,0	48,0	48,0	67,0	47,0	57,0	58,0	56,0
R5	53,0	46,0	57,0	69,0	44,0	52,0	59,0	47,0
R6	63,0	64,0	51,0	64,0	61,0	56,0	41,0	80,0
Media	56,2	57,3	49,7	62,7	52,5	56,3	51,3	59,0

Anexo 4. Días desde siembra a fin de cosecha de *Pleurotus ostreatus*

	Días a fin de cosecha							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
R1	101,0	109,0	94,0	96,0	108,0	104,0	108,0	95,0
R2	94,0	109,0	107,0	107,0	103,0	102,0	102,0	99,0
R3	95,0	102,0	95,0	96,0	103,0	100,0	96,0	100,0
R4	94,0	100,0	96,0	106,0	98,0	102,0	100,0	100,0
R5	100,0	104,0	105,0	94,0	88,0	98,0	105,0	90,0
R6	98,0	100,0	97,0	104,0	99,0	104,0	97,0	104,0
Media	97,0	104,0	99,0	100,5	99,8	101,7	101,3	98,0

Anexo 5. Rendimiento de *Pleurotus ostreatus*

	Rendimiento primera cosecha (%)							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
R1	3,3	2,2	7,3	7,9	7,4	9,0	9,2	8,0
R2	5,0	2,1	8,6	5,0	7,1	7,3	7,2	7,1
R3	5,3	5,6	6,8	7,9	6,2	10,7	6,6	9,8
R4	2,9	3,7	6,3	4,9	7,0	10,2	8,2	8,4
R5	3,3	3,3	9,1	4,6	8,1	7,2	10,8	7,4
R6	2,9	3,0	8,8	5,0	9,0	9,8	5,0	8,6
Media	3,8	3,3	7,8	5,9	7,5	9,0	7,8	8,2

	Rendimiento segunda cosecha (%)							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
R1	0,3	0,7	2,7	4,1	4,5	6,4	3,9	3,8
R2	1,0	0,7	3,0	1,8	4,6	6,2	3,3	5,0
R3	0,9	1,2	2,6	2,2	4,9	5,9	2,6	3,9
R4	0,7	1,0	2,3	1,2	4,4	5,0	2,9	4,3
R5	1,5	1,1	2,6	1,7	4,5	7,8	5,5	5,9
R6	1,0	1,3	2,7	1,6	2,9	6,9	3,7	5,3
Media	0,9	1,0	2,6	2,1	4,3	6,4	3,7	4,7

	Rendimiento tercera cosecha (%)							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
R1	0,3	0,2	1,1	0,8	0,8	3,2	2,7	3,3
R2	0,6	0,3	0,8	0,4	2,4	4,0	2,9	3,5
R3	0,3	0,9	0,9	0,8	2,5	4,5	0,8	3,7
R4	0,3	0,3	1,7	0,2	3,0	2,9	0,8	0,9
R5	0,6	0,3	0,8	0,7	3,1	3,9	3,7	1,9
R6	0,2	0,8	1,2	0,4	1,9	2,2	1,7	3,5
Media	0,4	0,5	1,1	0,6	2,3	3,4	2,1	2,8

	Rendimiento total (%)							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
R1	4,0	3,1	11,0	12,8	12,7	18,6	15,8	15,0
R2	6,7	3,1	12,4	7,2	14,1	17,5	13,5	15,6
R3	6,5	7,7	10,4	10,9	13,6	21,1	9,9	17,4
R4	3,9	4,9	10,3	6,4	14,4	18,0	11,9	13,7
R5	5,4	4,7	12,5	7,0	15,6	18,9	20,0	15,2
R6	4,1	5,1	12,7	7,0	13,7	18,9	10,3	17,3
Media	5,1	4,8	11,5	8,6	14,0	18,8	13,6	15,7

Anexo 6. Eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus*

	Eficiencia biológica primera cosecha (%)							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
R1	11,6	7,6	24,6	26,8	26,2	32,0	36,8	31,8
R2	17,6	7,4	29,2	16,8	25,2	25,8	28,8	28,2
R3	18,4	19,6	23,0	26,6	22,0	38,0	26,2	39,0
R4	10,2	12,8	21,2	16,6	24,8	36,0	32,8	33,6
R5	11,6	11,6	30,6	15,6	28,6	25,6	42,8	29,6
R6	10,0	10,4	29,6	17,0	31,8	34,6	19,8	34,2
Media	13,2	11,6	26,4	19,9	26,4	32,0	31,2	32,7

	Eficiencia biológica segunda cosecha (%)							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
R1	1,2	2,4	9,0	13,8	15,8	22,8	15,6	15,0
R2	3,6	2,6	10,0	6,2	16,2	22,0	13,2	20,0
R3	3,0	4,2	8,8	7,6	17,2	20,8	10,2	15,6
R4	2,6	3,4	7,8	4,2	15,6	17,6	11,6	17,2
R5	5,2	3,8	8,8	5,8	16,0	27,6	22,0	23,6
R6	3,4	4,6	9,2	5,4	10,2	24,6	14,6	21,0
Media	3,2	3,5	8,9	7,2	15,2	22,6	14,5	18,7

	Eficiencia biológica tercera cosecha (%)							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
R1	1,2	0,8	3,6	2,8	3,0	11,2	10,6	13,0
R2	2,2	1,0	2,6	1,2	8,6	14,0	11,6	13,8
R3	1,2	3,2	3,2	2,8	9,0	15,8	3,2	14,6
R4	1,0	1,0	5,8	0,8	10,6	10,2	3,0	3,6
R5	2,0	1,2	2,8	2,2	10,8	13,8	14,8	7,4
R6	0,8	2,8	4,2	1,4	6,6	7,8	6,6	13,8
Media	1,4	1,7	3,7	1,9	8,1	12,1	8,3	11,0

	Eficiencia biológica total (%)							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
R1	14,0	10,8	37,2	43,4	45,0	66,0	63,0	59,8
R2	23,4	11,0	41,8	24,2	50,0	61,8	53,6	62,0
R3	22,6	27,0	35,0	37,0	48,2	74,6	39,6	69,2
R4	13,8	17,2	34,8	21,6	51,0	63,8	47,4	54,4
R5	18,8	16,6	42,2	23,6	55,4	67,0	79,6	60,6
R6	14,2	17,8	43,0	23,8	48,6	67,0	41,0	69,0
Media	17,8	16,7	39,0	28,9	49,7	66,7	54,0	62,5