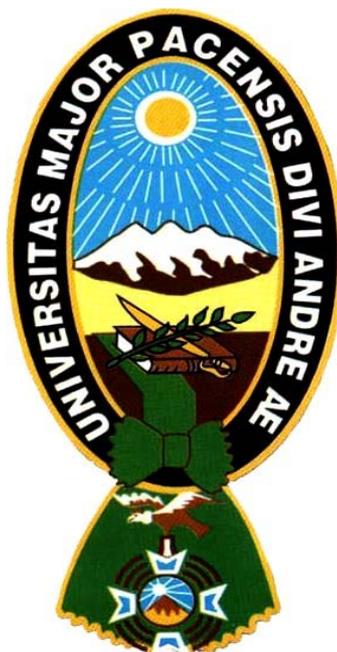


**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICA**



**TESIS DE GRADO**

**EVALUACION DEL CRECIMIENTO MICELIAR DE HONGOS  
COMESTIBLES (*Agaricus blazei*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus sp*)  
EN TRES CEREALES COMO SUSTRATO**

**PAOLA XIMENA ALAVE VALENZUELA**

**LA PAZ – BOLIVIA**

**2008**

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**EVALUACION DEL CRECIMIENTO MICELIAR DE HONGOS  
COMESTIBLES (*Agaricus blazei*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus sp*)  
EN TRES CEREALES COMO SUSTRATO**

*Tesis de grado presentada como requisito  
parcial para optar el Título de  
Ingeniero Agrónomo*

**Paola Ximena Alave Valenzuela**

**Tutor:**

Ing. Ph. D. Raúl Portillo Prieto .....

**Asesores:**

Ing. Ph. D. Victor Mendoza Condori .....

Ing. Agr. Edgar Gómez Villalba .....

**Tribunal Examinador:**

Lic. Cinthya Lara Pizarroso .....

Ing. Agr. Eduardo Oviedo Farfán .....

Ing. Agr. Moises Quiroga Sossa .....

**APROBADA**

Presidente Tribunal Examinador .....

**2008**

**Dedicado a:**

*Dios ☆☆y mi familia*

## **AGRADECIMIENTOS**

*A la Facultad de Agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés por ser la casa de estudios en la cual realicé mi Carrera universitaria*

*A los docentes de la Facultad de Agronomía por los conocimientos impartidos.*

*Al Ing. Ph. D. Raúl Portillo tutor del presente trabajo por la enseñanza, paciencia y la orientación constante y segura.*

*A los Ing. Ph. D. Victor Mendoza, Ing. Edgar Gómez asesores del trabajo por sus enseñanzas, colaboración e incentivo.*

*A los revisores, Lic. Cinthya Lara, Ing. Eduardo Oviedo, e Ing. Moises Quiroga, por la colaboración, apoyo, paciencia, y sugerencias, emitidas en la revisión del trabajo.*

*A la Ing. Glenda Mansilla por su colaboración constante en la realización y revisión del trabajo.*

*A mis amigos y compañeros siempre presentes, en especial a: Katty, David, Nelly, Yris, Itamar, Glenda, Judy, José, Eliseo, Ernesto y Guisela por su amistad, incentivo, apoyo a lo largo de estos años, y su constante colaboración en la realización del trabajo,*

*A mis padres y mi familia por su colaboración y constante apoyo incondicional.*

*Y principalmente a Dios por haberme dado la oportunidad de llegar a una meta más en la vida.*

## INDICE GENERAL

CONTENIDO .....	i
INDICE DE CUADROS .....	iv
INDICE DE FIGURAS .....	v
RESUMEN .....	vi
CAPITULO I .....	1
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Objetivos .....	3
1.1.1 Objetivo general .....	3
1.1.2 Objetivos específicos .....	3
CAPITULO II .....	4
2. REVISIÓN DE LITERATURA .....	4
2.1 Historia del cultivo de hongos comestibles .....	4
2.2 Importancia y potencial económico .....	5
2.3 Producción mundial de hongos comestibles .....	5
2.4 Reino Fungi .....	6
2.5 Definición de hongo .....	6
2.6 Clasificación de los hongos superiores .....	7
2.7 Caracterización de los hongos superiores .....	7
2.8 Basidiomicetes .....	8
2.9 <i>Lentinula edodes</i> .....	9
2.9.1 Clasificación sistemática .....	10
2.9.2 Importancia del Cultivo .....	10
2.10 <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	10
2.10.1 Clasificación Sistemática .....	11
2.10.2 Importancia del Cultivo .....	11
2.11 <i>Agaricus blazei</i> .....	11
2.11.1 Clasificación Sistemática .....	12
2.11.2 Importancia del Cultivo .....	12
2.12 Cultivo de hongos .....	12
2.12.1 Producción de inoculantes .....	13
2.12.2 Producción de matriz primaria .....	13
2.12.3 Producción de matriz secundaria .....	13
2.12.4 Producción de inóculo .....	15
2.13 Crecimiento micelial .....	16
2.14 Sustrato .....	18
2.14.1 Cebada .....	18
2.14.2 Sorgo .....	19
2.14.3 Preparación del sustrato .....	20
2.15 Cultivo en campo .....	20
2.16 Análisis de costos .....	21

<b>CAPITULO III</b> .....	22
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	22
<b>3.1 Localización</b> .....	22
<b>3.2. Materiales</b> .....	22
3.2.1 Material de estudio .....	22
<b>3.3 Métodos</b> .....	22
3.3.1 Preparación del sustrato .....	23
3.3.2 Inoculación e incubación .....	24
3.3.3 Crecimiento miceliar .....	24
3.3.4 Maduración del micelio .....	24
3.3.5 Porcentaje de viabilidad del inóculo .....	25
3.3.6 Análisis de costos a nivel de factores .....	25
3.3.7 Análisis estadístico .....	26
<b>CAPITULO IV</b> .....	28
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	28
<b>4.1 Crecimiento miceliar</b> .....	28
4.1.1 Crecimiento miceliar de <i>Agaricus blazei</i> .....	28
4.1.2 Crecimiento miceliar de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	30
4.1.3 Crecimiento miceliar de <i>Lentinula edodes</i> .....	32
4.1.4 Análisis de varianza crecimiento miceliar <i>Agaricus blazei</i> , <i>Pleurotus</i> <i>ostreatus</i> y <i>Lentinula edodes</i> .....	34
4.1.5 Prueba Duncan crecimiento miceliar <i>Agaricus blazei</i> , <i>Pleurotus ostreatus</i> y <i>Lentinula edodes</i> .....	36
<b>4.2 Maduración del micelio y porcentaje de viabilidad</b> .....	39
4.2.1 Maduración del micelio .....	39
4.2.2 Porcentaje de viabilidad del micelio .....	42
4.2.3 Viabilidad del micelio de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	47
4.2.4 Viabilidad del micelio de <i>Lentinula edodes</i> .....	51
<b>4.3 Análisis de costos de producción de inóculo</b> .....	57
<b>CAPITULO V</b> .....	59
<b>5. CONCLUSIÓN</b> .....	59
<b>CAPITULO VI</b> .....	61
<b>6. RECOMENDACIONES</b> .....	61
<b>CAPITULO VII</b> .....	62
<b>7. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA</b> .....	62
<b>ANEXOS</b> .....	66
<b>ANEXO 1.</b> Producción mundial de hongos comestibles .....	67
<b>ANEXO 2.</b> Partes del grano de sorgo .....	68
<b>ANEXO 3.</b> Partes de un grano de cebada .....	69
<b>ANEXO 4.</b> Indicadores de crecimiento miceliar .....	70

<b>ANEXO 5.</b> Costos de producción para semilla de <i>Agaricus blazei</i> en sustrato cebada sin cáscara .....	71
<b>ANEXO 6.</b> Costos de producción para semilla de <i>Agaricus blazei</i> en sustrato sorgo. ....	72
<b>ANEXO 7.</b> Costos de producción para semilla de <i>Agaricus blazei</i> en sustrato cebada con cáscara.....	73
<b>ANEXO 8.</b> Costos de producción para semilla de <i>Lentinula edodes</i> en sustrato cebada sin cáscara .....	74
<b>ANEXO 9.</b> Costos de producción para semilla de <i>Lentinula edodes</i> en sustrato sorgo .....	75
<b>ANEXO 10.</b> Costos de producción para semilla de <i>Lentinula edodes</i> en sustrato cebada con cáscara .....	76
<b>ANEXO 11.</b> Costos de producción para semilla de <i>Pleurotus ostreatus</i> en sustrato cebada sin cáscara .....	77
<b>ANEXO 12.</b> Costos de producción para semilla de <i>Pleurotus ostreatus</i> en sustrato sorgo .....	78
<b>ANEXO 13.</b> Costos de producción para semilla de <i>Pleurotus ostreatus</i> en sustrato cebada con cáscara .....	79

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Análisis de varianza crecimiento micelar.....	34
<b>Cuadro 2.</b> Prueba Duncan al 1% para crecimiento micelar.....	36
<b>Cuadro 3.</b> Composición promedio del grano de cebada y sorgo .....	38
<b>Cuadro 4.</b> Análisis de varianza viabilidad del micelio de <i>Agaricus blazei</i> .....	45
<b>Cuadro 5.</b> Categorización de tratamientos según la Prueba Duncan al 1% para viabilidad del micelio de <i>Agaricus blazei</i> .....	46
<b>Cuadro 6.</b> Análisis de varianza viabilidad del micelio de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	49
<b>Cuadro 7.</b> Categorización de tratamientos según la Prueba Duncan al 1% para viabilidad del micelio de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	51
<b>Cuadro 8.</b> Análisis de varianza viabilidad del micelio de <i>Lentinula edodes</i> .....	55
<b>Cuadro 9.</b> Categorización de tratamientos según la Prueba Duncan al 1% para viabilidad del micelio de <i>Lentinula edodes</i> .....	56

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Partes de un hongo superior. ....	7
<b>Figura 2.</b> Partes de un basidiocarpo.....	9
<b>Figura 3.</b> Carpóforos de <i>Lentinula edodes</i> . ....	10
<b>Figura 4.</b> Carpóforos de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	11
<b>Figura 5.</b> Carpóforos de <i>Agaricus blazei</i> . ....	12
<b>Figura 6.</b> Micelio en matriz primaria.....	13
<b>Figura 7.</b> Micelio en matriz secundaria. ....	14
<b>Figura 8.</b> Crecimiento miceliar de <i>Agaricus blazei</i> en cada sustrato propuesto.....	28
<b>Figura 9.</b> Crecimiento miceliar de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	30
<b>Figura 10.</b> Crecimiento miceliar de <i>Lentinula edodes</i> .....	32
<b>Figura 11.</b> Velocidad de crecimiento en los diferentes tratamientos.....	35
<b>Figura 12.</b> Etapas de maduración <i>Lentinula edodes</i> .....	40
<b>Figura 13.</b> Viabilidad del micelio de <i>Agaricus blazei</i> de acuerdo a las etapas de maduración.....	42
<b>Figura 14.</b> Viabilidad del micelio de <i>Agaricus blazei</i> de acuerdo a los sustratos.....	44
<b>Figura 15.</b> Viabilidad del micelio de <i>Agaricus blazei</i> .....	45
<b>Figura 16.</b> Porcentaje de viabilidad del micelio de <i>Pleurotus ostreatus</i> en cada sustrato.....	47
<b>Figura 17.</b> Porcentaje de viabilidad del micelio de <i>Pleurotus ostreatus</i> en cada etapa de maduración.....	48
<b>Figura 18.</b> Viabilidad del micelio de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	50
<b>Figura 19.</b> Porcentaje de viabilidad del micelio de <i>Lentinula edodes</i> en cada etapa de maduración.....	52
<b>Figura 20.</b> Porcentaje de viabilidad del micelio de <i>Lentinula edodes</i> en cada sustrato .....	54
<b>Figura 21.</b> Viabilidad del micelio de <i>Lentinula edodes</i> .....	55
<b>Figura 22.</b> Costo de producción de inóculo .....	57

## RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó el crecimiento micelial de los hongos comestibles *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus*, para determinar el mejor sustrato o sustratos en la obtención de inóculo.

Los sustratos empleados fueron granos de sorgo, cebada con cáscara y cebada sin cáscara previamente rehidratados y esterilizados.

Se estudió el crecimiento micelial, la maduración del micelio, y el porcentaje de viabilidad que presenta el inóculo en cada etapa de maduración.

Para el crecimiento micelial de *Agaricus blazei* el sustrato con mejores resultados fue cebada sin cáscara completando la colonización del medio de cultivo en 11 días, en el caso de *Lentinula edodes* se identificó como mejor sustrato al sorgo, porque el tiempo de crecimiento se reduce a 8 días, para *Pleurotus ostreatus* los sustratos con mejor respuesta fueron cebada sin cáscara y sorgo, completando el sustrato en 9 días, no se encontró diferencias significativas entre ambos.

Durante el periodo de maduración, se verificaron claramente cuatro cambios en la coloración del micelio; las dos primeras variaciones de color fueron las más convenientes para el repique por presentar porcentajes de viabilidad entre 95 a 98 % para los tres micelios en estudio.

De acuerdo con el análisis de costos de producción de inóculo, el sustrato más conveniente para *Agaricus blazei* es cebada sin cáscara y, en el caso de *Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus* el sorgo es lo más recomendable.

Se concluye que existen diferencias significativas en el uso de diferentes sustratos para el crecimiento micelial. La etapa de maduración tiene influencia en la viabilidad del micelio. El costo de producción varía en función al sustrato y etapa de maduración.

## **CAPITULO I**

### **1. INTRODUCCIÓN**

Los hongos, por sus características han sido separados del reino animal y vegetal formando el reino fungi, dentro de esta clasificación se encuentran los hongos comestibles, conocidos desde hace siglos por el hombre. A lo largo del tiempo, estos hongos se han empleado como parte de la alimentación por sus características organolépticas, y por su composición en la medicina.

El cultivo de hongos comestibles es considerado de interés a nivel mundial, tanto por las características mencionadas, como por ser una alternativa de aprovechamiento de residuos agroindustriales; es por ello que su producción y estudio se ampliaron en los últimos años, enfocándose principalmente a las especies de mayor demanda mundial como *Agaricus bisporus* cultivado ampliamente por sus características organolépticas, *Lentinula edodes* y *Pleurotus sp.* de amplio consumo por sus características medicinales como también organolépticas, y en los últimos años se incluye *Agaricus blazei*, por sus características medicinales.

La producción de hongos ha llegado a constituir grandes empresas consiguiendo importantes avances tecnológicos, a pesar de ello aun la información y datos que se generan son considerados como “secretos” por algunas personas. Actualmente Holanda es el primer país en producción y transferencia de tecnología a diferentes países.

En Bolivia existe muy poco conocimiento sobre las especies, su cultivo, y los potenciales que representa, por ello, los bajos niveles de producción existentes hacen necesario la implementación de técnicas y tecnología adecuadas a nuestra realidad.

El cultivo de hongos comprende dos etapas: la primera tiene la finalidad de la obtención de semilla, término con el cual es conocido el material de multiplicación o inóculo obtenido del micelio del hongo, la segunda etapa, propiamente de producción, es destinada a la obtención de carpóforos o frutos, cultivados en troncos de árboles, paja de cereales, compost y residuos agroindustriales.

En el presente trabajo se estudia el crecimiento, maduración y porcentaje de viabilidad del micelio en respuesta a diferentes medios de cultivo, de esta forma se identifican los sustratos de mayor eficiencia para la obtención de inóculo de *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, y la etapa de maduración favorable para el repique. Posteriormente se analizan los costos de producción de inóculo para determinar el tratamiento que representa los menores costos.

## **1.1. OBJETIVOS**

### **1.1.1 Objetivo general**

- Identificar el mejor sustrato o sustratos para el crecimiento miceliar de *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* en la producción de inóculo.

### **1.1.2 Objetivos específicos**

- Determinar el tiempo de crecimiento miceliar en los sustratos propuestos.
- Analizar la influencia de la maduración del inóculo en la viabilidad del micelio.
- Realizar el análisis de costos de producción de inóculo de *Lentinula edodes*, *Agaricus blazei*, y *Pleurotus ostreatus*, en los tres sustratos en estudio.

## **CAPITULO II**

### **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

#### **2.1 Historia del cultivo de hongos comestibles**

El cultivo de hongos comestibles es una actividad desarrollada hace más de doscientos años en Europa con el cultivo del Champiñón (*Agaricus sp.*), y en Asia con el cultivo de Shiitake (*Lentinula sp.*). Estos sistemas productivos eran considerados extensivos, dado que en el caso del Champiñón se recolectaba del estiércol de caballo (sustrato natural de la especie) y se lo acondicionaba en graneros, dejando su ciclo productivo a las condiciones climáticas reinantes. En tanto, *Lentinula* era recolectado de troncos en los bosques. Con el correr del tiempo, la demanda provocó que se generaran sistemas productivos más eficientes y por ende rentables (Rodríguez, 2005).

El cultivo de los hongos en América, inició en México central en 1933, por medio de una tecnología simple, seguido por Argentina en 1941, Colombia en 1950, Brasil 1951, Chile 1959, Guatemala 1960, Perú 1960 Ecuador 1967, Venezuela 1968, Costa Rica 1969 y Bolivia 1989. En los Estados Unidos, los cultivos de hongos comestibles distan desde 1880 y en Canadá desde 1912. En Asia, se cultiva *Auricularia* y *Lentinula* desde la última centuria, y Europa, en especial Francia, donde se desarrolló el género *Agaricus* en el siglo XVIII (Torres, 2004).

La actual tecnología de cultivo de hongos llegó al Nuevo Mundo entre finales del siglo XIX y mitad del XX, periodo en que se desarrollaron emprendimientos productivos y se establecieron los primeros centros de Investigación con relación a la biología y la producción del Champiñón principalmente. No fue sino hacia la mitad del pasado siglo, que este sistema productivo se consolidó en varios países hispanoamericanos, con tecnología importada desde Estados Unidos y Europa (Rodríguez, 2005).

## 2.2 Importancia y potencial económico

Los hongos son considerados como alimento de lujo, destacando sus características sensoriales omitiéndose por ejemplo su valor nutritivo que es bastante alto, principalmente en proteínas, vitaminas y aminoácidos. Comparando el valor nutritivo del hongo con los vegetales, se concluye que su tenor de proteína es superior que la mayoría de las frutas y legumbres, el tenor de grasa es bajo (Ferreira, 1997).

Es demostrada la factibilidad del cultivo de hongos comestibles de interés comercial utilizando desechos industriales ricos en celulosa y lignocelulosa lo cual puede permitir su aprovechamiento en la alimentación humana y animal (Grodzinskaya, 2002).

## 2.3 Producción mundial de hongos comestibles

En el ámbito mundial se han domesticado aproximadamente 22 especies fúngicas, la mayoría de regiones tropicales y subtropicales. Sin embargo, de éstas sólo 10 presentan una producción a escala industrial, con un volumen de producción del orden de 2 millones de toneladas (Martínez-Carrera, 1998).

Para comprender la evolución del cultivo, vale destacar que en los últimos 40 años la producción mundial de hongos comestibles se incrementó más de 35 veces, con un cambio en la especie cultivada. En los comienzos de la década de 1980, el champiñón representaba más del 70% de la oferta mundial. Solamente el 2,8% de dicha producción correspondía a *Pleurotus ostreatus* (gírgola) y el 14,3% a Shiitake. En tanto, las proyecciones actuales sitúan a la producción de gírgolas en segundo lugar, representando el 20% de la producción mundial de hongos comestibles. (Rodríguez, 2005).

Las tendencias de producción del mercado mundial giran en torno a especies que conjugan valor por sus propiedades medicinales vinculadas con la tecnología de producción. El *Lentinula* y *Pleurotus* son dos especies que lograron un buen

posicionamiento en el mercado, por reunir ambas propiedades. En cuanto a los países latinoamericanos, la producción se centra en el cultivo de Champiñón, Gírgolas, Shiitake y recientemente *Agaricus blazei*, especie comercializada por sus propiedades medicinales (Rodríguez, 2005).

El cultivo de *Pleurotus*, a pesar de haber sido practicado comercialmente por menos de treinta años a nivel mundial, se ha destacado por una rápida aceptación del consumidor, lo que es atribuible a su calidad organoléptica, por crecer sobre una gran diversidad de sustratos (paja de cereal, cáscara de maní, cascarilla de arroz, aserrín de diferentes especies, etc.), por no requerir de un complejo composteo como el champiñón, o porque tampoco necesita de una fase de inmersión como el Shiitake, factores que hacen que su cultivo sea tal vez uno de los más sencillos de todos los conocidos (Rodríguez, 2005).

## **2.4 Reino Fungi**

El reino fungi incluye organismos celulares heterótrofos, que se alimentan con sustancias orgánicas sintetizadas por organismos autótrofos o heterótrofos a su vez, poseen paredes celulares engrosadas mediante quitina y células con especialización funcional (Pellizari, 2005).

Constituyen uno de los grupos de organismos más importantes, ya que son los responsables de gran parte de la descomposición de la materia orgánica aumentando su disponibilidad en el suelo; pueden ser comestibles, venenosos o psicotrópicos, muchos son patógenos; otros, producen ciertas sustancias beneficiosas o intervienen en procesos de elaboración de algunos productos comestibles (Popoff, 2007).

## **2.5 Definición de hongo**

Los hongos, en sentido amplio, son eucariotas, normalmente multinucleados, que se reproducen por medio de esporas, sexuales o asexuales, heterótrofos por que carecen de clorofila, incorporan nutrientes del medio externo por absorción, en

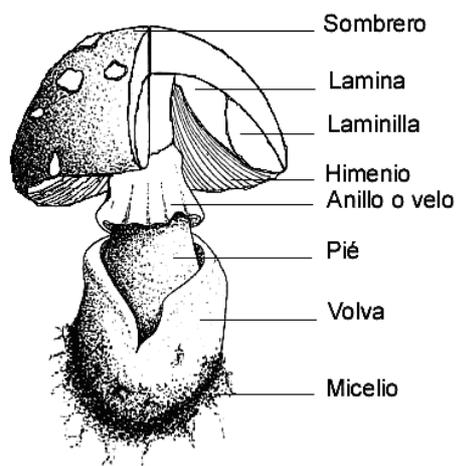
general son filamentosos y multicelulares, poseen paredes celulares engrosadas mediante quitina y células con especialización funcional. El cuerpo o soma del hongo esta en general, constituido por un conjunto de filamentos microscópicos, que se ramifican en todas direcciones (Abbayes, 1989).

## 2.6 Clasificación de los hongos superiores

La clasificación primaria de los hongos superiores pertenecientes al reino fungi los divide en *Ascomycetes* y *Basidiomycetes*. Esta división radica en la forma que tienen de producir esporas unos mediante “ascas” (*Ascomycetes*) y otros mediante “basidios” (*Basidiomycetes*) (Jimánes, 2007).

## 2.7 Caracterización de los hongos superiores

Principalmente en hongos superiores (*Ascomycota* y *Basidiomycota*) la parte recolectada del hongo no es más que el órgano de reproducción llamado carpóforo. El verdadero cuerpo del hongo, o cuerpo vegetativo, está escondido, formado por una red de filamentos microscópicos inmersa en el substrato, llamado micelio. (Popoff, 2007)



**Figura 1.** Partes de un hongo superior.

Fuente: Abbayes, (1989)

Los hongos tienen en sus células, verdaderos núcleos típicos, que se reproducen por medio de esporas y que carecen de clorofila. Significa que la

mayoría de los hongos poseen algún tipo de mecanismo sexual, que tiene un cuerpo constituido por filamentos, generalmente ramificados, y que estos filamentos tubulares poseen paredes celulares que contienen celulosa o quitina, o ambas sustancias (Abbayes,1989).

Los hongos poseen filamentos vegetativos que son denominados hifas y el conjunto de hifas se llama micelio. Generalmente todo el cuerpo de un hongo está basado en filamentos uni seriados, ramificados. En la mayoría de los casos, ese cuerpo se diferencia en una parte vegetativa que absorbe nutrientes, y una parte reproductiva (Popoff, 2006).

A la masa de hifas que constituye el talo de un hongo se da el nombre de micelio. El micelio de los hongos superiores forma cordones rizomorfos, las hifas unidas pierden individualidad y forman tejidos complejos que exhiben una división de trabajo (Sánchez, 2001).

El micelio o la parte vegetativa del hongo es la porción con la capacidad de extraer los nutrientes necesarios, crece y se desarrolla nutriéndose de sustancias orgánicas, por carecer de clorofila no puede cumplir funciones de fotosíntesis o asimilación de carbono y por esa capacidad se vuelve dependiente (Barbado, 2003).

## **2.8 Basidiomicetes**

Abbayes, (1989) menciona: Los basidiomicetos se reproducen gracias a basidiosporas, engendradas por células especiales los basidios. Bajo el “sombrecillo” de los Agáricos, las laminillas radiales están cubiertas de una capa fértil o himenio, formado por basidios. Cada uno con cuatro cuernos o esterigmas; el extremo de cada uno se hincha y se transforma en una basidiospora, que se libera, es inerte y desprovista de toda motilidad.



**Figura 2.** Partes de un basidiocarpo.

Fuente: Abbayes, (1989)

El micelio de la mayoría de los basidiomicetes pasa por tres etapas distintas de desarrollo: germinación de la basidiospora y formación de tabiques, micelio primario formado de la fusión de protoplastos de dos células uninucleadas, sin cariogamia y la formación de esporóforos representados por tejido especializado (Abbayes, 1989).

## **2.9 *Lentinula edodes***

Para describir el *Lentinula edodes* podemos comenzar mencionando que el sombrero de 5-12 cm de diámetro posee en ocasiones, un pequeño anillo central; de coloración castaño claro u oscuro con tonos rojizos, levemente convexo a plano-convexo en la madurez. La superficie del sombrero se encuentra cubierta por escamas blanquecinas especialmente a lo largo del margen, el pie es central, corto y usualmente se encuentra cubierto por pequeñas escamas fibrillosas; posee un anillo percedero blanquecino a castaño claro. Crece en troncos de madera muerta (Albertó, 1998).



**Figura 3.** Carpóforos de *Lentinula edodes*.

Fuente: Elaboración propia.

### **2.9.1 Clasificación sistemática**

La clasificación sistemática de *Lentinula edodes* según Santana (1998) y Eira *et al* (1996); citado en Pellizari, (1998); puede ser especificada de la siguiente forma: Reino: Fungi; División: *Basidiomycota*; Clase: *Hymenomyces*; Sub-clase: *Holobasidiomycetidae*; Orden: *Agaricales*; Familia: *Tricolomataceae*; Género: *Lentinula*; Especie: *edodes*, Nombre científico: *Lentinula edodes*; Nombre común: Shiitake.

### **2.9.2 Importancia del Cultivo**

El *Lentinula edodes* a nivel mundial es actualmente el segundo hongo más importante de consumo, en función a sus características organolépticas, y medicinales (Abe, 2001).

### **2.10 *Pleurotus ostreatus***

*Pleurotus* se caracteriza por presentar un gran sombrero (pileo) carnoso, en forma de abanico semicircular, con un pie (estipe) excéntrico y de diferentes colores: blanco, gris, azulado o café; con presencia de laminillas que van desde coloraciones blancas hasta coloraciones amarillas, gruesas y descendentes por el pie (Sánchez *et al*, 2004).



**Figura 4.** Carpóforos de *Pleurotus ostreatus*

**Fuente:** Elaboración propia.

### **2.10.1 Clasificación Sistemática**

La clasificación sistemática del hongo *Pleurotus* según Ferreira, (1997) es la siguiente: División: *Basidiomycota*; Clase: *Homobasidiomycetes*; Subclase: *Hymenomicetes*; Orden: *Agaricales*; Familia: *Tricholomataceae*; Genero: *Pleurotus*; Especie: *ostreatus*; Nombre científico: *Pleurotus*; Nombre común: Hongo gigante o Hiratake.

### **2.10.2 Importancia del Cultivo**

Conocido como hongo gigante o *Pleurotus* ocupa el tercer lugar en producción de hongos en el mundo, presenta facilidad de colonización en los más diversos tipos de sustratos en función de su capacidad ligno – celulótica lo que le confiere mucha rusticidad en sus exigencias nutricionales (Rajarathnam y Bano, 1997), mencionado por Ferreira, (1997).

### **2.11 *Agaricus blazei***

Las características morfológicas de *Agaricus blazei*, según Wasser et al, (2002) son pileo o sombrero de 5 a 11 cm, de diámetro, semiglobuloso cuando esta maduro (abierto); coloración marrón claro con presencia de pequeñas escamas, estípite(pie) 6-13 cm de alto y 1-2 cm. de diámetro, coloración blanca y amarillenta cuando tiene daño mecánico, anillo blanquecino con presencia de escamas, lamelas

dispuestas próximas unas de otras no conectadas al estípite, su coloración varía de blanquecino a un blanco plomizo.



**Figura 5.** Carpóforos de *Agaricus blazei*.

Fuente: Abe, (2001)

### **2.11.1 Clasificación Sistemática**

La clasificación sistémica de *Agaricus blazei* es la siguiente: Reino: Fungi; División: *Basidiomycota*; Clase: *Homobasidiomycetes*; Orden: *Agaricales*; Familia *Agaricaceae*; Genero: *Agaricus*; Especie: *Blazei*; Nombre científico: *Agaricus blazei*; Nombre común: Hongo del sol o Himematsutake (Ferreira, 1997).

### **2.11.2 Importancia del Cultivo**

El *Agaricus blazei* es parte de un grupo de basidiomicetos, se trata de un hongo saprofito, que se desenvuelve bien en climas calientes y húmedos, actualmente su utilización principal es como complemento alimentario, coadyuvante en el tratamiento de cáncer y diabetes (Abe, 2001).

### **2.12 Cultivo de hongos**

Cultivar un hongo significa aislar una determinada especie de su ambiente natural en el que es altamente competitivo, e implantarla en un medio que le ofrezca todas las ventajas sobre otros organismos competidores (Paschoa, 1996).

### 2.12.1 Producción de inoculantes

Los hongos se reproducen por intermedio de esporas (reproducción sexuada) o asexualmente (reproducción vegetativas), por multiplicación de tejido celular. La reproducción sexual se inicia cuando germinan las esporas y producen células que se organizan en filamentos llamados hifas (Paschoa, 1996).

### 2.12.2 Producción de matriz primaria

La producción de matriz primaria comienzan con la obtención de la cepa, pudiendo emplear básicamente dos métodos a partir de esporas (solamente monospórico y/o multiespórico) o fragmentos de basidiocarpo vía vegetativa (Ferreira, 1997).

El aislamiento puede realizarse en tubos de ensayo o placas petri que contienen medio sintético PDA (papa, dextrosa, agar), esterilizado.



**Figura 6.** Micelio en matriz primaria.

**Fuente:** Elaboración propia.

### 2.12.3 Producción de matriz secundaria

La matriz secundaria se obtiene por la transferencia de pequeños fragmentos de micelio de matriz primaria a frascos con sustrato previamente preparado, que pueden tener como base a cereales o fibra. Obtenidas las matrices secundarias, estas serán utilizadas como fuente de inóculo para la producción de semillas o “spawn” (Ferreira, 1997).



**Figura 7.** Micelio en matriz secundaria.

**Fuente:** Elaboración propia.

### **2.12.3.1 Siembra e incubación de matriz secundaria**

La siembra comienza una vez que el grano luego de esterilizado ha enfriado totalmente, es necesario trasladarse a la cámara de flujo laminar y allí colocar el micelio a sembrar dentro de cada recipiente preparado. Una vez finalizado el proceso se trasladan los frascos a la sala de incubación, donde la temperatura optima es de 25 °C, para la mayoría de las especies, o bien la temperatura optima de la especie que este incubando (Albertó, 2000).

El tiempo de incubación puede durar entre 20-30 días, periodo suficiente para la colonización total del sustrato (Ferreira, 1997).

Cuando el cereal está esterilizado y enfriado se procede a inocularlo con esporas o tejido seleccionado, en cabinas de flujo laminar o en una habitación donde no haya contaminación. Posteriormente se pasan los recipientes a estufas o una habitación limpia con temperatura que no sobrepase los 25° C, para el crecimiento del miceliar, una vez que se ha obtenido el primer micelio, hay que reproducirlo en grandes cantidades, sobre grano de cereal (Jiménez, 2004).

Los sustratos para el crecimiento de micelio se esterilizan, después del enfriamiento, se colocan granos de inóculo miceliar en el sustrato. Los recipientes se incuban a 25 °C de 20 a 25 días, midiendo el crecimiento del micelio cada dos días (Sánchez *et al*, 2004).

El objetivo de la etapa, de incubación, es darle las condiciones óptimas al hongo para que el micelio invada el sustrato lo más rápido posible. Estas condiciones son humedad de 70%, temperatura de 24°C (puede variar según las cepas), oscuridad y bajo intercambio gaseoso (France, 2005).

#### **2.12.4 Producción de inóculo**

Cuando las hifas de los hongos crecen en grandes cantidades de sustratos (granos material, celulósico o minerales enriquecidos) y en condiciones estériles de laboratorio reciben el nombre de inóculo, "semilla" o "spawn" (Fletcher, 1996; San Antonio, 1984, Rajarathnam y Bano, 1987; Heckman, 1989; Eira y Minhoni, 1991; Gibbons, 1991; citados en Ferreira, 1997).

Los granos colonizados son preparados en laboratorio, sobre condiciones estériles, y sobre una gran variedad de sustratos, debiéndose considerar principalmente los factores económicos, productividad y calidad de los hongos. Las dos formas más comunes para la producción de inoculantes son en granos y en compost (Keiko, 2003).

Es necesario asegurar las cualidades de la variedad o cepa madre utilizada, en especial su capacidad para colonizar determinado sustrato, las temperaturas de crecimiento y producción. Sólo en producciones intensivas y de gran tamaño es conveniente producir semilla propia, ya que la inversión a realizar es alta. (France, 2005).

El inóculo debe comenzar a crecer cuando mucho a las 72 horas de la siembra y siempre de manera uniforme (todos los granos al mismo tiempo); si no ocurre así, el inóculo puede estar defectuoso, o puede haber errores graves de pasteurización, siembra o tipo y calidad del sustrato (Setas cultivadas, 2007).

El inóculo para la producción de granos colonizados o "Spawn", proporcionara: Adaptación de la matriz a sustrato en granos que contribuye a la reducción del periodo de colonización de ese sustrato; reducción del nivel de contaminación de los

granos colonizados; aumento del rendimiento en la producción de inóculo; mayor facilidad en el proceso de inoculación, con fines de producción de granos colonizados por el hongo (Keiko, 2003).

El material de multiplicación deberá estar sustancialmente libre, al menos por observación visual, de cualquier organismo nocivo y enfermedad, o de signos o síntomas de ellos, que afecte a la calidad de forma significativa y que reduzca el valor de utilización del material de multiplicación (ácaros, bacterias, otros hongos y virus). El material de multiplicación certificado deberá tener una pureza específica del 100 por ciento (Espinoza, 2005).

#### **2.12.4.1 Maduración del micelio**

La fase de estabilidad o maduración del micelio comienza al final de la corrida del micelio y va hasta el endurecimiento o el oscurecimiento de la capa miceliar que se torna color marrón (Chang y Miles, 1989) la formación de la capa miceliar es muy importante pues forma como una barrera de pérdida de humedad, siendo también una defensa contra la contaminación (Przybylowies y Donoghue, 1990 citado en Mamede, 2001).

Una masa filamentosa tiene una corteza específica y dura en una punta de crecimiento cuya estructura se asemeja a una punta de raíz. Las rizomorfos son resistentes a condiciones adversas y permanecen durmientes hasta volver a las condiciones favorables de desenvolvimiento o crecimiento (Sánchez, 2001).

#### **2.13 Crecimiento miceliar**

Las hifas se extienden de manera ramificada para formar un sistema hifal conocido como micelio. Cuando el crecimiento de un hongo se da en un medio sólido en lugar de fase exponencial se presenta una fase más o menos lineal (Lilly y Barnett, 1951; citado en Sánchez *et al*, 2004).

La fase miceliar en el sustrato es fundamental para el cultivo de hongos, cuanto más rápido ocurra su desenvolvimiento menor es el riesgo de contaminación por

otros hongos o bacterias. Es importante escoger el medio de cultivo adecuado para la multiplicación del hongo y el crecimiento micelial satisfactorio, de modo de dar secuencia a la producción (Marino, 1997; citado en Pastorinni, 2006).

El crecimiento en función de tiempo resulta en una curva de tipo sigmoide, que puede ser dividida en varias fases, las cuales evidencian diferentes propiedades fisiológicas Sánchez, (2001):

La primera fase se denomina fase de latencia por menores tasas de crecimiento. La segunda fase o exponencial, caracterizada por una tasa de crecimiento constante y máxima. La tercera fase o de declino, algunas veces vista como fase estacionaria. La cuarta fase o fase de muerte.

La duración de la fase lag depende de la especie de inóculo, y de los nutrientes en el medio de cultivo. La fase exponencial es fuertemente influenciada por suplementos nutricionales, como fuente de nitrógeno y carbono. La fase de declino de la fase de crecimiento, ocurre debido al agotamiento de algunos nutrientes limitantes y por acumulo de metabolitos tóxicos. La fase de muerte es acompañada generalmente de autólisis (Griffin, 1994 citado en Mamede, 2001)

El crecimiento micelial puede evaluarse por diferentes métodos, algunos de ellos se mencionan a continuación.

El crecimiento micelial puede ser evaluado a través de la medida del crecimiento lineal de hifas sobre medio de cultivo sólido, en el cual el crecimiento ocurre en función del tiempo. La tasa de crecimiento puede ser comparada sobre diferentes condiciones ambientales, siendo que tales medidas proveen las bases para la determinación de factores más favorables en el crecimiento fúngico (Chang y Miles, 1989; citado en Ferreira, 1997)

El crecimiento micelial en medio sólido puede ser evaluado, a través de medidas de área, volumen o radio medio de circunferencia (Marino, 1997; Celso, 1999; citado por Mamede, 2001).

El crecimiento miceliar evaluado en placas petri puede medirse con auxilio de una regla en ocho direcciones ortogonales, cada 24 horas, durante la incubación hasta el momento en que la colonia se aproxima a los bordes de la placa (Nascimento, 2003).

El crecimiento miceliar se mide cada 48 horas, en cuatro puntos equidistantes del centro de crecimiento. Luego de nueve días se determina la velocidad de crecimiento miceliar en milímetros por día (Motato *et al*, 2006).

## **2.14 Sustrato**

Se denomina sustrato al medio de cultivo del cual los hongos, obtienen alimento para la difusión directa a través de paredes hifálicas, causando una desintegración de materia orgánica que utilizan (Sánchez *et al*, 2001).

Los granos de cereales son empleados como sustrato, permiten obtener una semilla de fácil manipuleo durante la inoculación, el micelio crece uniformemente en este tipo de sustrato. La mayoría de los hongos crece bien en granos de trigo o arroz, pero otros cereales pueden ser también utilizados. (Albertó, 2000).

### **2.14.1 Cebada**

El grano de cebada puede tener la cascarilla adherida al pericarpio (cebada cubierta) o suelta (cebada desnuda), y su color está influenciado por el intemperismo o por la coloración de la aleurona, por lo que puede variar desde amarillo hasta azul. La cáscara es la primera capa que protege al grano, y está constituida por celulosa, hemicelulosa y lignina, Se forma durante el desarrollo del grano y comprende a palea que lo cubre y la lema (es la cascarilla que envuelve al grano por su lado dorsal; la barba, la región basal, y las glumas) que lo envuelve. Constituye del 6 al 10 % del peso del grano, es gruesa en la región basal o germinal y disminuye su grosor hacia la región distal del grano. (Figuroa, 1985).

La cascarilla y la cubierta del fruto tienen función protectora, también aseguran la distribución eficaz del agua por capilaridad, sobre la superficie del grano. El agua

puede luego penetrar al embrión, en parte a través del micrópilo y en parte por vía de cualquier discontinuidad casual de la cascarilla; la cubierta de la semilla fundida a la cubierta del fruto, es selectivamente permeable, no sólo impide la salida de azúcares y aminoácidos del grano, sino también la entrada de microorganismos. Las fracturas casuales de estas capas permiten pérdidas de nutrientes y de resistencia mecánica, y el crecimiento microbiano en los tejidos (Korzona, 2006).

La composición media de un grano de cebada corresponde a: El contenido en agua puede variar entre 11-20 %, el contenido en proteína suele variar entre 10-11 %, siendo las más importantes la albúmina, globulina y prolamina, celulosa 4.8%, almidón y otros carbohidratos 60%, grasas 2.1%, ceniza 2.2% (Agroinformación, 2004)

#### **2.14.2 Sorgo**

La estructura del grano de sorgo se compone de: pericarpio o cobertura del grano, endosperma o tejido de reserva y embrión o futura planta. El pericarpio se subdivide en epicarpio, mesocarpio y endocarpio. El epicarpio es la parte externa y está compuesta por dos o tres capas de células. El mesocarpio, situado debajo del epicarpio puede variar en su espesor. La capa más interna o endocarpio consiste en células cruzadas y tubulares, que son el principal punto de ruptura cuando se remueve el pericarpio durante la molienda del grano seco. A partir del integumento interno inmediatamente debajo del endocarpio, se encuentra una capa fuertemente pigmentada denominada testa. El endosperma está compuesto por la capa de aleurona y de las porciones periférica, córnea y harinosa, constituyendo la mayor porción del grano (Domansky *et al*, 1997)

La composición promedio del grano de sorgo es la siguiente: Proteínas 7-14%, lípidos 2.4-6,5% carbohidratos 70-90%, fibra 1.2-3.5, (Domansky *et al*, 1997)

### **2.14.3 Preparación del sustrato**

El sustrato se prepara utilizando granos de sorgo, mismos que se limpian con agua. Se sumerge el grano en agua fría durante 24 horas para su hidratación (Murrieta *et al*, 2002).

Se procede a hervir 10 Kg. de cereal en 15 litros de agua por 15 minutos y en seguida permanecerán en inmersión sin cocción 15 minutos más, posteriormente el agua es escurrida y los granos colocados en una malla hasta que sequen parcialmente (Keiko, 2003).

Luego del tratamiento térmico, se procede a eliminar el exceso de agua, regular el pH y ajustar la humedad del sustrato.

La tecnología recomendada por Dúdka *et al.* (1987), citada en Grodzínskaya *et al*, (2002) menciona que el sustrato (granos de trigo, sorgo, maíz) debe ser mezclado con yeso y carbonato para equilibrar el pH a 6,0-6,5 y esterilizado en autoclave.

Si se toma como base los cereales, hay que subir el pH añadiendo carbonato cálcico, orear para darle la humedad adecuada, añadir sulfato de calcio, para evitar que se compacten (Jiménez, 2004).

El sustrato preparado se distribuye en frascos de 500 ml, ocupando la mitad de su espacio y sellados con tapas que poseen un orificio central donde se coloca un tapón de algodón para permitir el intercambio gaseoso. Los recipientes son esterilizados por dos horas a 121° C (Ferreira, 1997).

### **2.15 Cultivo en campo**

El cultivo o etapa de campo comienza con la preparación del sustrato final, comprende la pasteurización o esterilización, siembra, incubación, fructificación y cosecha.

## **2.16 Análisis de costos**

La concepción contable del coste pone el acento en los gastos directos, la depreciación y otras partidas contables (Nicholson, 1997)

La estructura de los rendimientos y costes de algunos cultivos puede ser desglosada en sus componentes más importantes, en primer lugar puede tener cierta utilidad en una primera aproximación para el valorador y en segundo lugar puede servir como ejemplo de la variabilidad de los rendimientos y costes según la variedad, el sistema de cultivo y la comarca o zona que se trate. Esta variabilidad nos demuestra que aunque existe una información general de carácter previo sobre los datos, será siempre el valorador quien debe tomar las decisiones al elegir los parámetros idóneos para cada valoración concreta (Caballero 1998).

## **CAPITULO III**

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Localización**

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Tecnología de Alimentos de la Carrera de Ingeniería Agronómica, perteneciente a la Facultad de Agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés, ubicada en la provincia Murillo, ciudad de La Paz - Bolivia.

Geográficamente se ubica a 16° 30' 23.38" latitud Sur y 68° 07' 58.54" longitud Oeste, la altitud corresponde a 3625 msnm (Google Earth, 2008).

#### **3.2. Materiales**

Los materiales de estudio empleados en la evaluación son descritos a continuación.

##### **3.2.1 Material de estudio**

Los cereales empleados como sustratos para la evaluación fueron: cebada sin cáscara, cebada con cáscara y sorgo, las cepas en estudio: *Agaricus blazei* y *Lentinula edodes* proceden del laboratorio de la empresa Guirra ubicada en Sao José dos Campos, estado de Sao Paulo Brasil. *Pleurotus ostreatus* es procedente del Laboratorio de investigación de propiedades microbiológicas perteneciente a Departamento de microbiología, genoma y bioprocesos del centro nacional de agricultura USDA.

#### **3.3 Métodos**

Las cepas se seleccionaron en función a la importancia comercial a nivel mundial (**anexo 1**) a pesar de no ser muy conocidas en nuestro país.

El inóculo es generalmente comercializado en granos de cereal como sustrato, los cereales empleados para la evaluación, fueron seleccionados por la disponibilidad en el mercado.

Para la evaluación se tomaron como variables de respuesta:

- Crecimiento miceliar.
- Maduración del micelio.
- Porcentaje de viabilidad del micelio.
- Análisis de costos a nivel de factores.

### **3.3.1 Preparación del sustrato**

Inicialmente se realizó la limpieza de los cereales seleccionando el mismo para eliminar impurezas (piedras, otras semillas, paja, arena), posteriormente se determinó la humedad y pH inicial de los mismos. La humedad inicial de los cereales correspondía a 11%, el pH del sorgo fue de 5.6, en el caso de cebada sin cáscara el pH fue de 5.4 y para cebada con cáscara el pH fue de 5.4.

La preparación del sustrato se realizó siguiendo la metodología propuesta por Ferreira, (1997), la cual se describe a continuación:

Los cereales fueron prehidratados por 12 horas, llevados luego a tratamiento térmico por 30 minutos a temperatura de 86°C, posteriormente se eliminó el agua residual de la cocción.

Se mezcló con carbonato y sulfato de calcio, para ajustar el pH a 5.8, se realizó el oreado hasta que la humedad llegó a 60%.

Los cereales fueron envasados en frascos de vidrio con capacidad de 500 ml, cubriendo dos terceras partes de su volumen.

Se esterilizaron a 121 °C por 90 minutos y fueron enfriados a temperatura ambiente.

### **3.3.2 Inoculación e incubación**

Se procedió con la desinfección de la cámara de flujo laminar aplicando soluciones de hipoclorito de sodio al 4% en volumen y alcohol etílico al 70 % en volumen.

Dentro la cámara de flujo laminar se flamearon las espátulas y frascos con la ayuda de un mechero, para completar la desinfección.

Se transfirió el micelio a la parte superior de los sustratos, cerrando el frasco herméticamente, identificando el micelio respectivo en cada frasco.

Los frascos se llevaron a un ambiente controlado con 60 % de humedad y 21 °C de temperatura ambiente para comenzar con la evaluación de las variables de respuesta, como se describe en los puntos que se presentan a continuación.

### **3.3.3 Crecimiento miceliar**

El crecimiento miceliar es una de las variables de respuesta, la cual fue evaluada realizando mediciones de la distancia recorrida por el micelio en milímetros por día, sobre la superficie perimetral de cada unidad experimental de forma vertical, las mediciones se realizaron cada 48 horas, hasta que el micelio cubrió por completo los sustratos.

### **3.3.4 Maduración del micelio**

Para la evaluación de la maduración del micelio se tomaron en cuenta los cambios de coloración que presentó el micelio luego de haber cubierto por completo los sustratos, hasta llegar a una coloración en la cual posteriormente no se presenten cambios, en base a la siguiente descripción:

La fase de estabilidad o maduración del micelio comienza al final de la corrida del micelio y va hasta el endurecimiento o el oscurecimiento de la capa miceliar que se torna color marrón (Chang y Miles, 1989 citado en Mamede, 2001).

### **3.3.5 Porcentaje de viabilidad del inóculo**

El procedimiento empleado para la determinación de la viabilidad del inóculo fue:

La preparación del sustrajo empleando la metodología propuesta por Ferreira descrita anteriormente en el punto 3.3.1

Posteriormente se realizó el repique del inóculo en nuevas unidades experimentales, para cada etapa identificada.

Los resultados fueron evaluados mediante la determinación del porcentaje de micelio que presentaba crecimiento de hifas alrededor del mismo, tomando tiempo máximo 72 horas posteriores a la inoculación.

### **3.3.6 Análisis de costos a nivel de factores**

El análisis de costos se realizó siguiendo la metodología empleada por Nicholson, (1997), quien menciona que la concepción contable del coste pone el énfasis en los gastos directos, los costos históricos, la depreciación y otras partidas contables.

Por ello se consideró los insumos necesarios durante el proceso de obtención del inóculo, estos se clasificaron en cuatro grupos: Mano de obra, materias primas, equipo de laboratorio y otros gastos. La unidad de medición fue precio promedio de mercado en moneda nacional (Bs.) durante la gestión 2006.

El periodo de análisis de los costos corresponde a un ciclo de producción cuya duración depende del sustrato y la especie de acuerdo a ello se tomaron en cuenta los factores que influyen en la obtención del inóculo, la eficiencia del micelio en el crecimiento sobre cada sustrato, para determinar cual de los sustratos en combinación con cada micelio reducía el costo de producción.

Se realizó el análisis de costos para un ciclo de producción de inóculo empleando sorgo, cebada sin cáscara y cebada con cáscara, como sustrato, a partir de cepas en medio PDA (papa, dextrosa, agar).

### 3.3.7 Análisis estadístico

Para la descripción del crecimiento miceliar, la función más representativa que refleja el comportamiento obtenido en los ensayos, es de tipo polinomial, que se ajusta al siguiente modelo:

$$y = A + B \cdot x + C \cdot x^2$$

Para analizar los efectos generados por el sustrato y el micelio en el crecimiento miceliar se empleó el arreglo factorial en diseño completamente al azar con 6 repeticiones, debido a que en laboratorio se tienen condiciones controladas, como indica Little, (1991). El diseño experimental empleado es el siguiente:

$$\chi_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\beta\alpha)_{ij} + \epsilon_{ij}$$

Donde:

$\chi_{ij}$  = Una observación

$\mu$  = Media del experimento

$\alpha_i$  = Efecto del i-esimo sustrato

$\beta_j$  = Efecto del j-esimo micelio

$(\beta\alpha)_{ij}$  = interacción entre sustrato y micelio

$\epsilon_{ij}$  = Error experimental de la interacción sustrato y micelio

**Factor A:** Sustrato :

- Cebada sin cáscara
- Sorgo
- Cebada con cáscara.

**Factor B:** Micelio:

- *Agaricus blazei*
- *Lentinula edodes*
- *Pleurotus ostreatus*.

**Tratamientos:**

T1 = Sorgo - *Lentinula edodes*

T2 = Sorgo - *Agaricus blazei*

T3 = Sorgo - *Pleurotus ostreatus*

T4 = Cebada con cáscara - *Lentinula edodes*

T5 = Cebada con cáscara - *Agaricus blazei*

T6 = Cebada con cáscara - *Pleurotus ostreatus*

T7 = Cebada sin cáscara - *Lentinula edodes*

T8 = Cebada sin cáscara - *Agaricus blazei*

T9 = Cebada sin cáscara - *Pleurotus ostreatus*

La descripción del crecimiento se realizó mediante el ajuste polinomial, el análisis de varianza y la prueba Duncan al 99% de confiabilidad, fueron realizados en el programa Statistic, StatsSoft Inc, USA versión 6.0.

La viabilidad del micelio se determinó midiendo el porcentaje de inóculo viable para cada etapa de maduración identificada realizando posteriormente el análisis de varianza y la prueba Duncan al 99 % de confiabilidad.

El análisis de costos se realizó estimando un ciclo de producción de inóculo siguiendo la metodología empleada por Nicholson, (1997).

## CAPITULO IV

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

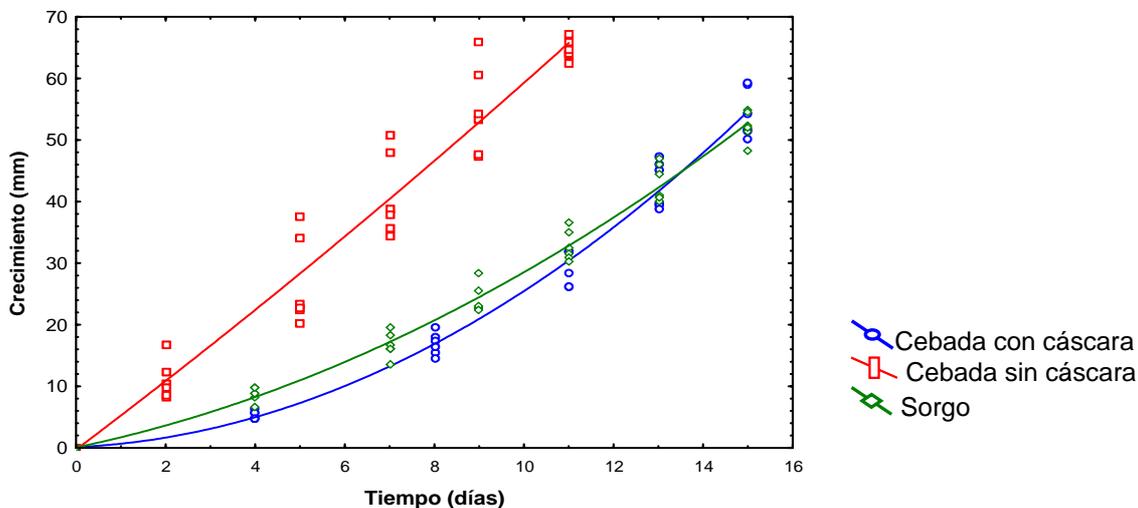
Los resultados obtenidos, de la evaluación de las variables en estudio, se presentan a continuación.

#### 4.1 Crecimiento miceliar

El crecimiento miceliar muestra diferentes comportamientos en cada sustrato, como se explica a continuación:

##### 4.1.1 Crecimiento miceliar de *Agaricus blazei*

El crecimiento miceliar de *Agaricus blazei* en sustratos de cebada sin cáscara, cebada con cáscara, y sorgo presenta comportamiento diferente; como se aprecia en la siguiente figura:



**Figura 8.** Crecimiento miceliar de *Agaricus blazei* en cada sustrato propuesto

**Fuente:** Elaboración propia.

Con relación a sustrato cebada sin cáscara la tasa promedio de crecimiento es de 5,87 y la variación de la tasa de crecimiento del micelio por unidad de tiempo tiene

un valor de 0,09 colonizando el sustrato en 11 días, esto debido probablemente a que el micelio tiene fácil acceso a los nutrientes. Presenta un coeficiente de determinación de 0,95 por lo que la variabilidad del crecimiento es explicada en 97% por el tiempo. La ecuación que caracteriza este comportamiento es la siguiente:

$$y_{\substack{\text{Agaricus blazei} \\ \text{cebada sin cáscara}}} = -0,2777 + 5,4854 \cdot x + 0,0472 \cdot x^2 \quad (\text{Ec. 1})$$

En sustrato cebada con cáscara el micelio de *Agaricus blazei* tiene un comportamiento diferente, la tasa de crecimiento es 3,62 y su variación es de 0,44 esto significa que a medida que transcurre el tiempo la velocidad se incrementa, los resultados muestran una curva de crecimiento en la cual la colonización del sustrato se completó en 15 días, probablemente debido a que el crecimiento del micelio en cebada con cáscara presenta una fase de adaptación de aproximadamente 1 día, también a que el micelio tiene cierta dificultad para absorber los nutrientes del sustrato por la presencia de la cáscara. El coeficiente de determinación corresponde a 0,83, y la relación aproximada es:

$$y_{\substack{\text{Agaricus blazei} \\ \text{cebada con cáscara}}} = 0,1225 + 0,3353 \cdot x + 0,22 \cdot x^2 \quad (\text{Ec. 2})$$

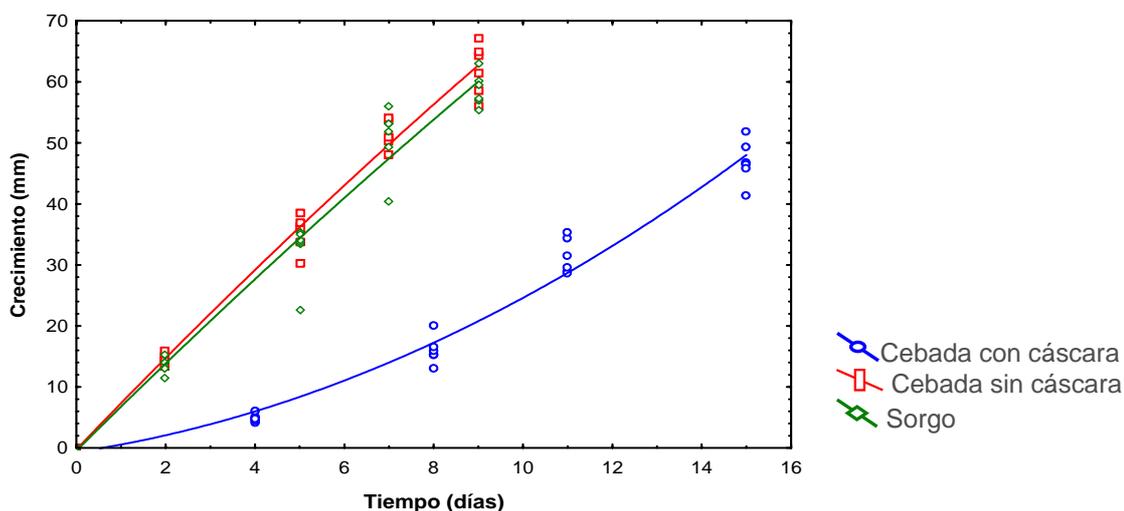
En sustrato sorgo el crecimiento de *Agaricus blazei* corresponde de igual forma a una curva, que muestra una fase de adaptación al sustrato de aproximadamente 1 día, el promedio de la tasa de crecimiento es 3,48, la variación de la tasa de crecimiento del micelio por unidad de tiempo es de 0,27, es decir que presenta un incremento constante en la tasa de crecimiento por día transcurrido, de tal forma que el micelio cubre totalmente el sustrato en 15 días. El coeficiente de determinación corresponde a 0,96 y la siguiente relación ajustada tiene alta representatividad.

$$y_{\substack{\text{Agaricus blazei} \\ \text{sorgo}}} = 0,0759 + 1,5165 \cdot x + 0,133 \cdot x^2 \quad (\text{Ec. 3})$$

El comportamiento representado por las curvas de crecimiento de *Agaricus blazei* en cada sustrato evaluado muestra ciertas diferencias y similitudes entre sustratos, sin embargo se observó que el crecimiento del micelio en sustrato cebada sin cáscara presenta mayor velocidad, lo cual puede deberse al fácil acceso del micelio a los nutrientes por no presentar cáscara.

#### 4.1.2 Crecimiento micelial de *Pleurotus ostreatus*

La **figura 9** muestra el comportamiento del micelio de *Pleurotus ostreatus* en los sustratos cebada con cáscara, cebada sin cáscara y sorgo de acuerdo a los resultados obtenidos.



**Figura 9.** Crecimiento micelial de *Pleurotus ostreatus*

**Fuente:** Elaboración propia.

El crecimiento del micelio de *Pleurotus ostreatus* muestra un comportamiento similar en sustrato cebada sin cáscara y sorgo.

El micelio de *Pleurotus ostreatus* en cebada sin cáscara tiene una tasa de crecimiento media de 6,90 y muestra variación negativa de la tasa de crecimiento por unidad de tiempo igual a -0,15, lo cual indica que la velocidad de crecimiento del micelio se reduce con el transcurso del tiempo, esta reducción puede deberse a que

el micelio en los primeros días absorbe con facilidad los nutrientes de tal forma que en el transcurso del tiempo se agota en menos tiempo, la colonización del sustrato se completa en 9 días. La ecuación 4 corresponde al crecimiento miceliar de *Pleurotus ostreatus* y presenta un coeficiente de determinación de 0,99.

$$y_{\substack{\text{Pleurotus ostreatus} \\ \text{cebada sin cáscara}}} = -0,2575 + 7,6503 \cdot x - 0,0725 \cdot x^2 \quad (\text{Ec. 4})$$

En sustrato cebada con cáscara la tasa de crecimiento promedio es 3,13, valor que es menor a los del sustrato cebada sin cáscara y sorgo, esto se debe posiblemente a que el micelio requiere mayor esfuerzo para atravesar la capa de lignina y por ello tarda en colonizar el sustrato requiriendo de un tiempo de 15 días, la variación de la tasa de crecimiento del micelio por unidad de tiempo es de 0,29, lo que nos indica que la velocidad de crecimiento va en aumento, el coeficiente de determinación corresponde a 0,94, y se representa por la ecuación 5.

$$y_{\substack{\text{Pleurotus ostreatus} \\ \text{cebada con cáscara}}} = -0,6705 + 1,0913 \cdot x + 0,1436 \cdot x^2 \quad (\text{Ec. 5})$$

En sustrato sorgo la colonización se completa en 9 días, la tasa de crecimiento medio 6,53 varía por unidad de tiempo en -0,12, lo cual indica que existe una reducción en la tasa de crecimiento, debido probablemente a que *Pleurotus* tiene alta capacidad para degradar el sustrato, por lo que la disponibilidad de los nutrientes se reduce rápidamente en el tiempo, la curva de crecimiento corresponde a la ecuación 6 de la cual el coeficiente de determinación es 0.97.

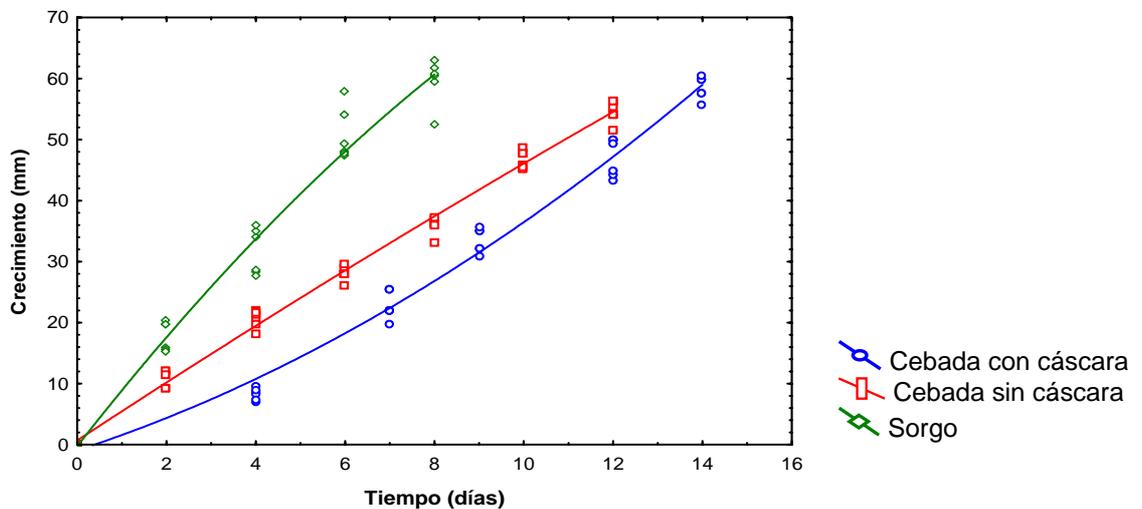
$$y_{\substack{\text{Pleurotus ostreatus} \\ \text{Sorgo}}} = -0,4517 + 7,2757 \cdot x - 0,0615 \cdot x^2 \quad (\text{Ec. 6})$$

Para el crecimiento miceliar de *Pleurotus ostreatus*, los sustratos en los que se adapta y crece con mayor rapidez son cebada sin cáscara y sorgo, la diferencia que presenta en relación a cebada con cáscara es marcada por el tiempo de crecimiento.

*Pleurotus ostreatus* es considerado uno de los hongos comestibles con mayor facilidad de adaptación a diferentes medios de cultivo. Se evidenció que en el empleo de cebada sin cáscara y sorgo el crecimiento no presenta diferencias significativas por lo que las curvas de crecimiento en ambos sustratos presentan comportamientos similares, existen diferencias en cebada con cáscara, en el cuál, el crecimiento tiene un retardo al completar el sustrato con 6 días de diferencia, lo cual puede deberse a que la fase de adaptación del micelio es mayor como se muestra en la fase inicial de la curva en la cual al segundo día el crecimiento es lento, debido probablemente a las características que presenta el grano en su estructura al contener lignina en la cáscara lo que dificulta la absorción de los otros nutrientes.

#### 4.1.3 Crecimiento miceliar de *Lentinula edodes*

El comportamiento de *Lentinula edodes* es diferente en cada sustrato, es así, que la curva de crecimiento para cada uno de ellos, presenta diferentes tendencias como se muestra en la **figura 10**.



**Figura 10.** Crecimiento miceliar de *Lentinula edodes*

Fuente: Elaboración propia.

El crecimiento del micelio en cebada sin cáscara, tiene una tasa media de 4,55, cubre por completo el sustrato en 12 días, la variación de la tasa de crecimiento por unidad de tiempo corresponde a -0,05, que señala una reducción mínima en la velocidad de crecimiento, debido probablemente a que los nutrientes disponibles se agotan más rápidamente, el coeficiente de determinación es 0,99 que indica que el 99.28% de variación del crecimiento es explicada por el tiempo, y responde a la ecuación 7.

$$y_{\substack{\text{Lentinula edodes} \\ \text{cebada sin cáscara}}} = 0,6926 + 4,8036 \cdot x - 0,0264 \cdot x^2 \quad (\text{Ec. 7})$$

*Lentinula edodes* en sustrato sorgo completa la colonización en 8 días, presenta una tasa media de crecimiento de 7,46, la variación de la tasa de crecimiento del micelio por unidad de tiempo es negativa -0.44, lo que indica reducción en la velocidad de crecimiento, que puede deberse a un temprano agotamiento de los nutrientes disponibles en el sustrato por la facilidad de colonización.

La ecuación 8 corresponde al crecimiento miceliar para sustrato sorgo, donde el coeficiente de determinación es de 0,97.

$$y_{\substack{\text{Lentinula edodes} \\ \text{Sorgo}}} = -0,2565 + 9,3684 \cdot x - 0,219 \cdot x^2 \quad (\text{Ec. 8})$$

El crecimiento de micelio de *Lentinula edodes* en cebada con cáscara tiene una tasa media de 4,18, muestra una etapa de adaptación de aproximadamente 1 día, debido probablemente a la dificultad de asimilación de nutrientes que se presenta en este sustrato por la presencia de lignina en la superficie de los granos del cereal, la variación de la tasa de crecimiento del micelio por unidad de tiempo es de 0,27, la ecuación 9 presenta un coeficiente de determinación de 0,97, lo cual explica que la variable tiempo expresa el 98 % de la variabilidad presentada en el crecimiento

$$y_{\text{Lentinula edodes}}^{\text{Cebada con cáscara}} = -0,9441 + 2,39 \cdot x + 0,1351 \cdot x^2 \quad (\text{Ec. 9})$$

*Lentinula edodes* presenta sensibilidad a las variaciones de nitrógeno, ya que el nitrógeno es un factor limitante su crecimiento micelial como es mencionado por (Boyle, 1998, citado. en Mamede, 2001). En el caso del sorgo el contenido de nitrógeno es mayor en 1.8% en relación a cebada.

Los resultados obtenidos también pueden deberse a que el contenido de lignina en sorgo (11.4 %) es mayor que en cebada (5.8 %).

*Lentinula edodes* requiere para un buen crecimiento un gran contenido de lignina (Oei, 2003 mencionado por Pedreros, 2007).

#### 4.1.4 Análisis de varianza crecimiento micelial *Agaricus blazei*, *Pleurotus ostreatus* y *Lentinula edodes*

Los resultados obtenidos se expresaron en términos de velocidad de crecimiento de los micelios en milímetros por día, sobre los sustratos cebada con cáscara, sorgo y cebada sin cáscara. El análisis de varianza del ensayo se muestra en el siguiente cuadro:

**Cuadro 1** Análisis de varianza crecimiento micelial  
*Agaricus blazei*, *Pleurotus ostreatus* y *Lentinula edodes*

Fuentes de Variación	Sumatoria de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	F <sub>c</sub>	p
Tratamientos	127,60	8	15,95	194,9560	0,0000
Sustrato	55,77	2	27,89	340,87	0,0000
Hongo	15,51	2	7,76	94,80	0,0000
Sustrato*Hongo	56,31	4	14,08	172,08	0,0000
Error	3,68	45	0,08		

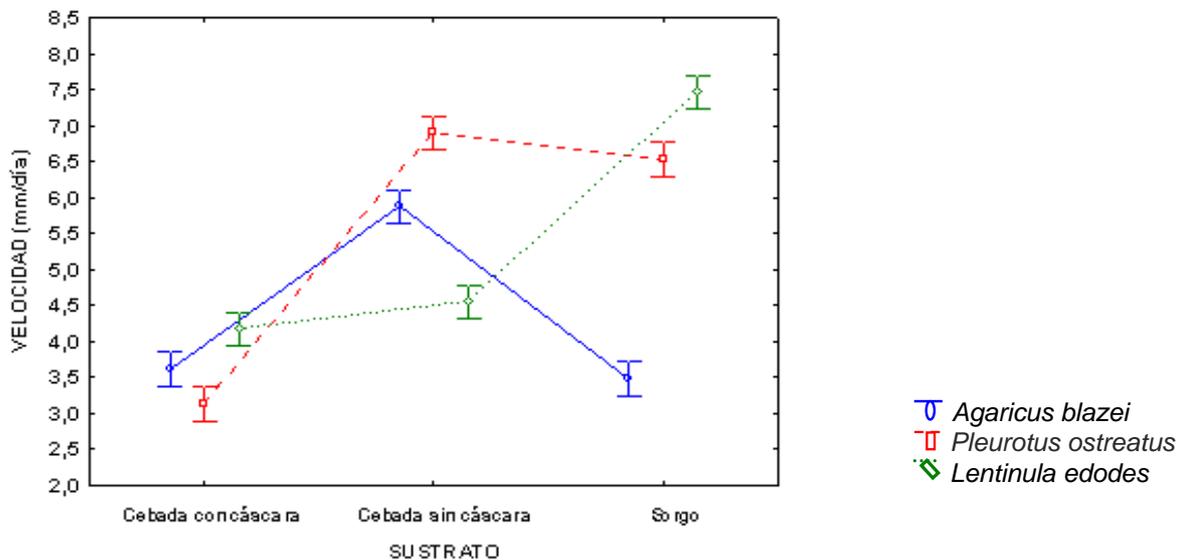
**Coefficiente de variación = 5.63%**

Fuente: Elaboración propia

En base a los resultados obtenidos podemos indicar que existen diferencias altamente significativas entre tratamientos, por tanto el crecimiento micelial es influenciado por el sustrato como puede observarse en el **anexo 4**.

Concordando con Bilay *et al*, (2000) mencionado en Donini *et al*, (2005) quienes estudiaron el crecimiento de 30 especies de hongos comestibles y medicinales en diferentes medios de cultivo concluyeron que el crecimiento micelial de estas especies estudiadas es diferente y depende del tipo de medio utilizado y del pH.

En la **figura 11**, se observa el comportamiento de los micelios de *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* en los sustratos cebada con cáscara, sorgo y cebada sin cáscara, mostrando la velocidad de crecimiento y las diferencias existentes en el crecimiento de cada micelio.



**Figura 11.** Velocidad de crecimiento en los diferentes tratamientos

**Fuente:** Elaboración propia.

Para *Agaricus blazei* se muestra un intervalo de 3,33 y 3,96 mm/día en sustrato cebada con cáscara, para sustrato cebada sin cáscara los valores oscilan

entre 5,67 y 6,12 mm/día, para sustrato sorgo los valores de velocidad están ubicados entre 3,21 y 3,67mm/día.

*Pleurotus ostreatus* presenta velocidades en sustrato cebada con cáscara que oscilan entre 2,76 y 3,29 mm/día, sustrato cebada sin cáscara tiene una velocidad mínima de 6,22 y un máximo de 7,46 mm/día, para sustrato sorgo la velocidad se encuentra entre 6.16 y 7,00 mm/día.

El crecimiento miceliar de *Lentinula edodes* en sustrato cebada con cáscara muestra valores entre 3,97 y 4,31 mm/día, para sustrato cebada sin cáscara 4,31 y 4,70 mm/día, el crecimiento en sustrato sorgo muestra valores de 6,57 y 7.88 mm/día.

#### 4.1.5 Prueba Duncan crecimiento miceliar *Agaricus blazei*, *Pleurotus ostreatus* y *Lentinula edodes*.

Realizando la prueba Duncan se obtuvieron los resultados mostrados a continuación.

**Cuadro 2** Prueba Duncan al 1% para crecimiento miceliar *Agaricus blazei*, *Pleurotus ostreatus* y *Lentinula edodes*.

Sustrato	Micelio	Velocidad	Categorías
Cebada con cáscara	<i>Pleurotus ostreatus</i>	3,13	H
Sorgo	<i>Agaricus blazei</i>	3,48	G
Cebada con cáscara	<i>Agaricus blazei</i>	3,62	G
Cebada con cáscara	<i>Lentinula edodes</i>	4,18	F
Cebada sin cáscara	<i>Lentinula edodes</i>	4,55	E
Cebada sin cáscara	<i>Agaricus blazei</i>	5,87	D
Sorgo	<i>Pleurotus ostreatus</i>	6,53	C
Cebada sin cáscara	<i>Pleurotus ostreatus</i>	6,90	B
Sorgo	<i>Lentinula edodes</i>	7,46	A

Categorías que muestran la misma letra no difieren entre si para la prueba Duncan a nivel de 1 %.

Fuente: Elaboración propia

De acuerdo con el cuadro 2 *Lentinula edodes* presenta mayor velocidad de crecimiento con un valor de 7.46 mm/día en sustrato sorgo lo cual comprueba que es

el sustrato en el cual el micelio tiene mayor eficiencia de crecimiento, mostrando diferencias significativas en relación a sustrato cebada sin cáscara, en el cual la velocidad es de 4.55 mm/día y sustrato cebada con cáscara con una velocidad de 4.18 mm/día.

Para *Pleurotus ostreatus* se verifica una velocidad de crecimiento miceliar de 6.90 mm/día en sustrato cebada sin cáscara, seguido por el valor de 6.53 mm/día, que corresponde al sustrato sorgo, por lo que se puede afirmar que no existen diferencias significativas entre ambos sustratos, pero la diferencia es significativa en relación a sustrato cebada con cáscara en el cual se registra un valor de 3.13 mm/día.

*Agaricus blazei* crece con mayor velocidad en sustrato cebada sin cáscara, registrando un valor de 5.87 mm/día, mostrando diferencia significativa con los sustratos cebada con cáscara y sorgo, en los cuales se observan valores de 3.62 y 3.48 mm/día respectivamente por el resultado obtenido en estos sustratos se puede afirmar que no existen diferencias significativas entre ambos.

El crecimiento miceliar es importante para la producción de hongos, es por ello que es necesario identificar el sustrato en el cual el crecimiento se acelere en el tiempo de acuerdo con Marino, (1997) mencionado en Pastorini, (2006) quien afirma: La fase miceliar del sustrato es fundamental para el cultivo de hongos, pues cuanto más rápido ocurre su desenvolvimiento menor es el riesgo de contaminación por otros hongos y bacterias, es importante escoger el medio de cultivo adecuado para la multiplicación del hongo y el crecimiento miceliar satisfactorio de modo de dar secuencia a las siguientes etapas de producción.

Los granos permiten obtener una semilla de fácil manipuleo durante la inoculación, el micelio crece más uniformemente en este tipo de sustrato (Chang, 1978; Rajarathnam y Bano, 1987; Bononi et al, 1995; Heckman, 1989) resolviendo los problemas de adaptación fisiológica en sustratos posteriores (Ferreira, 1997)

Las diferencias encontradas en el crecimiento micelial sobre los sustratos cebada con cáscara, cebada sin cáscara y sorgo, pueden explicarse de acuerdo a las características que muestra el grano en su estructura y composición.

El retardo en el crecimiento en el sustrato cebada con cáscara en las tres especies puede atribuirse a que la cáscara de los cereales cumple ciertas funciones como menciona Korzona, (2006) quien afirma que la cascarilla y la cubierta del fruto tienen función protectora, también aseguran la distribución eficaz del agua por capilaridad, sobre la superficie del grano, la cubierta de la semilla, fundida a la cubierta del fruto, es selectivamente permeable. No sólo impide la salida de azúcares y aminoácidos del grano, sino también la entrada de microorganismos. Las fracturas casuales de estas capas permiten pérdidas de nutrientes y de resistencia mecánica, y el crecimiento microbiano en los tejidos. Por lo cual el sustrato presenta cierta dificultad para que las hifas del micelio puedan alimentarse del grano, por que debe degradar primeramente la celulosa, hemicelulosa y lignina que contiene la cascarilla, las partes del grano y la estructura de los granos de cereal pueden observarse en los **anexos 2 y 3**.

**Cuadro 3** Composición promedio del grano de cebada y sorgo

<b>Cereal</b>	<b>Ceniza %</b>	<b>Proteína %</b>	<b>Lípidos %</b>	<b>Almidón %</b>	<b>Celulosa %</b>	<b>Lignina</b>
Cebada con cáscara	2.2	10.5	2.1	60.0	4.8	5.8
Cebada sin cáscara	2.2	10.5	2.1	60.0	-	-
Sorgo	1.7	12.3	3.6	73.8	-	11.4

Fuente: Figueroa, 1985

De acuerdo a la composición de los cereales que se muestra en el cuadro 3 comparativamente no se encuentran diferencias marcadas entre sorgo y cebada sin cáscara, lo cual coincide con los resultados obtenidos al no encontrarse diferencias significativas en el crecimiento del micelio sobre ambos sustratos.

Coincidiendo con Sánchez , (2001) quien explica que: cuando el crecimiento del micelio de un hongo se da en medio sólido en lugar de fase exponencial se presenta una fase de crecimiento mas o menos lineal (Lilly y Barnett, 1951) y si se

trata de un basidiomiceto, además puede presentarse, según las condiciones, una etapa de fructificación

En los resultados obtenidos se puede observar que la fase de latencia es más prolongada en sustrato cebada sin cáscara para los tres micelios en estudio, según Sánchez, (2001) la fase de latencia se presenta después de que el micelio del hongo ha sido inoculado en un medio apropiado para su crecimiento. Es una etapa de adaptación en la que no hay crecimiento aparente, sino síntesis de los componentes celulares necesarios para iniciar la elongación celular, sintetizar pared celular y preparar puntos de crecimiento. Esta fase es variable dependiendo el tipo y estado fisiológico del hongo, así como del tipo de sustrato y de las condiciones de cultivo.

#### **4.2 Maduración del micelio y porcentaje de viabilidad**

En los cambios de coloración de las etapas de maduración se observan diferencias para cada micelio en estudio. En el caso de *Agaricus blazei* la coloración no pasa a etapa 4, es decir, se mantiene la etapa 3 sin cambio de coloración. *Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus* muestran los cuatro cambios de coloración.

El micelio saludable tiene aroma característico similar al hongo fresco, el color del micelio es blanco y puede ir acompañado de una capa marrón en la superficie, la capa marrón es una respuesta natural a la maduración o exposición a la luz por algunas semanas (Przybylowicz y Donoghue, 1990 mencionados por Ferreira, 1997).

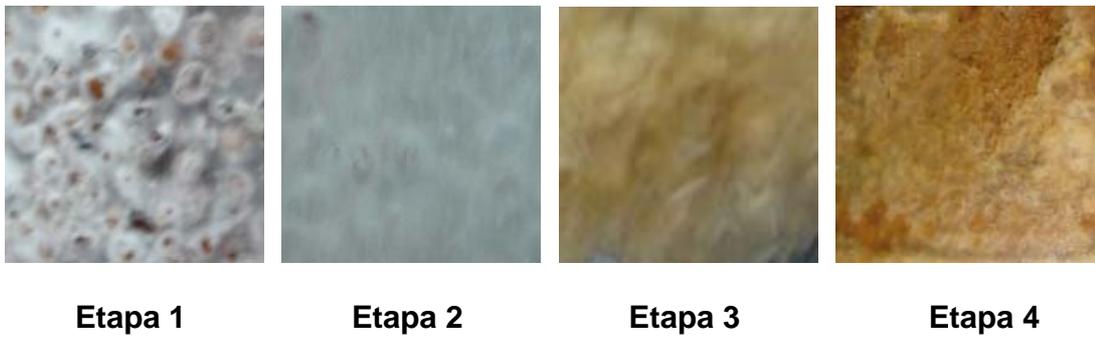
##### **4.2.1 Maduración del micelio**

La maduración del micelio presenta diferentes características visuales para cada etapa



**Figura 12.** Etapas de maduración *Agaricus blazei*

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 13.** Etapas de maduración *Pleurotus ostreatus*

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 12.** Etapas de maduración *Lentinula edodes*

**Fuente:** Elaboración propia

**Etapa 1.** Cuando el micelio del hongo llega a cubrir por completo el sustrato presenta una coloración blanca, que permite observar los granos de cereal, mostrando a simple vista la red de hifas formada, que sujeta ligeramente al cereal, al remover el inóculo con la ayuda de una espátula los granos cubiertos con micelio son fácilmente disgregados. Esta etapa se identificó a los 11 días posteriores a la inoculación.

**Etapa 2** El micelio ha invadido por completo el sustrato comienza a desarrollar hifas secundarias, aprovechando de manera más eficiente los nutrientes disponibles, el crecimiento aun no ha concluido, el micelio cubre con mayor intensidad cada grano de cereal, por lo que la coloración cambia a un tono blanco intenso, en *Agaricus blazei* la intensidad del color cambia levemente la masa miceliar formada, permite distinguir con cierta dificultad el sustrato, en el caso de *Pleurotus ostreatus* y *Lentinula edodes* el sustrato deja distinguirse totalmente y el micelio sujeta fuertemente los granos de cereal, la masa compacta puede disgregarse pero no con tanta facilidad, el cereal aun conserva sus características de forma y dureza. Por dichas características se identifica una etapa diferente de maduración. Esta etapa se presento aproximadamente a los 20 días luego de la inoculación

**Etapa 3.** Se presenta cuando el micelio pasa de coloración blanca a crema, comienza a formarse una capa de micelio gruesa pero flexible alrededor del sustrato, que al intentar disgregar presenta resistencia, por lo que se tiene grupos grandes de inóculo, el cereal no presenta la misma firmeza, por lo que puede ser fragmentado. Estos cambios fueron observados aproximadamente a los 40 días

**Etapa 4.** Cuando el micelio cambia a coloración marrón, las características son diferentes, se ha encostrado totalmente, se separa de las paredes del recipiente que lo contiene, los granos de cereal toman una consistencia pastosa en el caso de la cebada por lo que se disgregan al removerlo. Estos cambios se presentaron aproximadamente a los 60 días posteriores a la inoculación.

Estas características fueron identificadas en las observaciones posteriores a la colonización del sustrato, de acuerdo a literatura: La fase de estabilidad o maduración del micelio comienza al final de la “corrida del micelio” y va hasta el

endurecimiento y oscurecimiento de la capa miceliar que se torna color marrón (Chang y Miles, 1989), la formación de la capa es muy importante pues actúa como una barrera de pérdida de humedad siendo también una defensa contra contaminantes (Przybylowies y Donoghue, 1990; mencionados en Mamede, 2001).

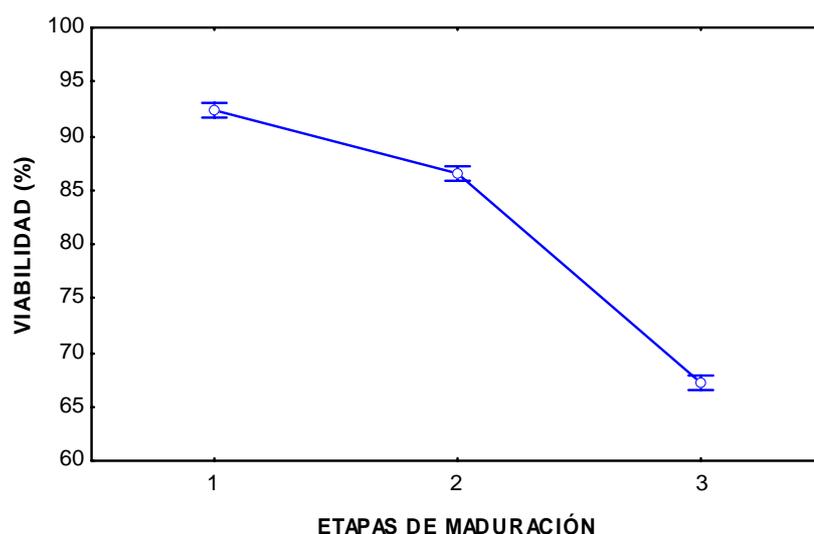
Se observó que si bien el encostramiento de la capa miceliar evita la pérdida de humedad y forma una defensa contra contaminantes como se menciona en Mamede, (2001), también los resultados registrados muestran que la viabilidad del micelio presenta porcentajes bajos en la tercera y cuarta etapa, en relación a etapa uno y dos.

#### 4.2.2 Porcentaje de viabilidad del micelio

La viabilidad del micelio fue evaluada para cada sustrato y micelio en estudio de los cuales se presentan los siguientes resultados:

##### 4.2.2.1 Viabilidad del micelio de *Agaricus blazei*

El cambio de coloración del micelio en *Agaricus blazei* pasa por las tres primeras etapas sin presentar coloración marrón.



**Figura 13**, Viabilidad del micelio de *Agaricus blazei* de acuerdo a las etapas de maduración.

**Fuente:** Elaboración propia.

En cada etapa de maduración la viabilidad del micelio varia notoriamente, se observó que en la etapa 1 existe un elevado porcentaje de viabilidad del micelio, lo cual indica que la mayor parte está activo. Cuando el micelio llega a etapa de maduración 2, el porcentaje de viabilidad disminuye, debido a que una parte del micelio esta en fase de declino. En etapa 3 el porcentaje de micelio muerto ha incrementado, lo cual incide en el porcentaje de viabilidad como se observa en la **figura 13**.

#### **4.2.2.1.1 Etapa 1 de maduración *Agaricus blazei***

El porcentaje de viabilidad en sustrato cebada sin cáscara se mantiene dentro un rango de 97 a 99 %, lo cual muestra un elevado porcentaje de inóculo viable. En sustrato sorgo la viabilidad corresponde a 96 a 98 %, que indica un alto porcentaje de viabilidad de inóculo. Para el sustrato cebada con cáscara el porcentaje varia entre 79 a 86%, representa un porcentaje aceptable, pero se muestra como el porcentaje mas bajo en comparación con los otros sustratos propuestos.

#### **4.2.2.1.2 Etapa 2 de maduración *Agaricus blazei***

El inóculo en sustrato cebada sin cáscara se encuentra entre 95 a 97% de viabilidad, maduración 2 en sustrato sorgo presenta un porcentaje de 95 a 96%, que indica de igual manera un porcentaje elevado de micelio viable. La viabilidad del micelio en sustrato cebada con cáscara es de 65 a 70%, que muestra un valor por debajo de los presentados en comparación a los otros sustratos pero aun esta dentro de un rango aceptable. la etapa 2.

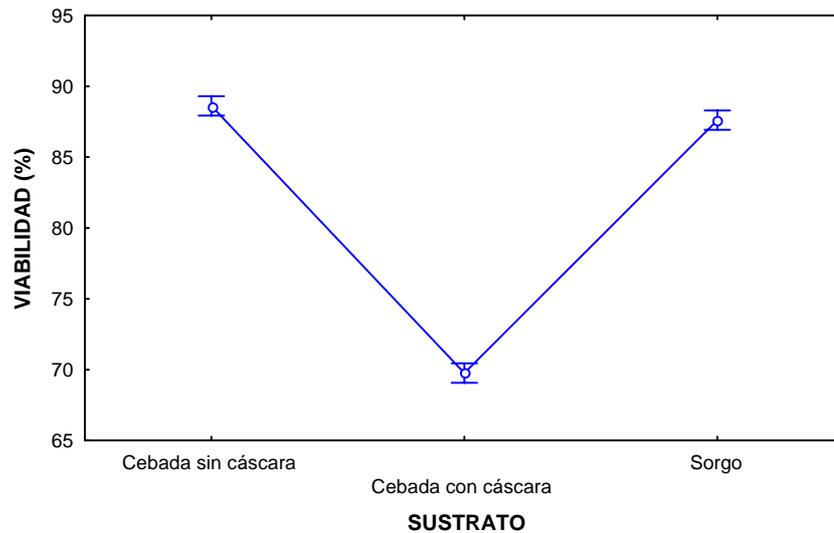
#### **4.2.2.1.3 Etapa 3 de maduración *Agaricus blazei***

El micelio al ser repicado cuando se encuentra en etapa 3 de maduración mostró de igual forma porcentajes diferentes en la viabilidad del micelio.

Para sustrato cebada sin cáscara la viabilidad del micelio esta dentro de los valores de 70 a 74 %. El porcentaje de 68 a 72% corresponde al sustrato sorgo valor

intermedio, en la viabilidad del micelio. En cebada con cáscara el porcentaje es más bajo y se mantiene dentro el rango de 55 a 62 % de viabilidad.

En la **figura 14** se observa que la viabilidad del micelio de *Agaricus blazei* también es influenciada por los sustratos.



**Figura 14.** Viabilidad del micelio de *Agaricus blazei* de acuerdo a los sustratos.

**Fuente:** Elaboración propia.

Se puede verificar, que el porcentaje de viabilidad menor se encuentra entre 69 a 70% para sustrato cebada con cáscara, seguido por sustrato sorgo con 86 a 87 % y sustrato cebada sin cáscara es aquel que presenta mejores resultados con 88 a 89 % de viabilidad

#### 4.2.2.1.4 Análisis de varianza viabilidad del micelio de *Agaricus blazei*

De acuerdo a los datos obtenidos se realizó el análisis de varianza para la viabilidad del micelio de *Agaricus blazei*, del cual se muestran los resultados.

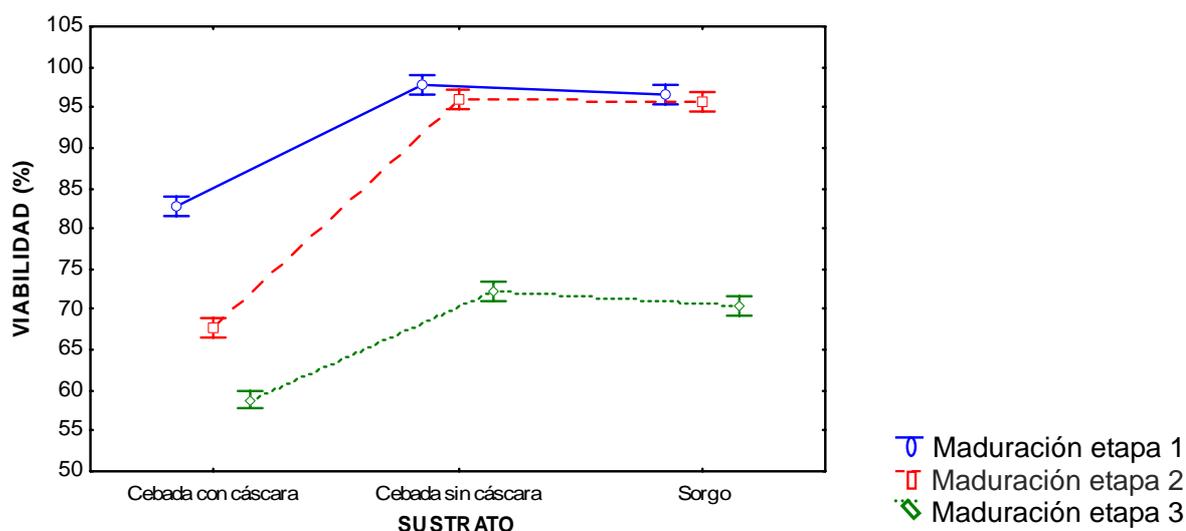
**Cuadro 4** Análisis de varianza viabilidad del micelio de *Agaricus blazei*

Fuentes de Variación	Sumatoria de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F <sub>c</sub>	P
Tratamientos	12731,43	8	1591,429	648,23	0,0000
Sustrato	4728,3	2	2364,1	963,00	0,0000
Maduración	7319,2	2	3659,6	1490,70	0,0000
Sustrato*Maduración	683,9	4	171,0	69,60	0,0000
Error	132,6	54	2,5		

**Coefficiente de variación = 1.91%**

Fuente: Elaboración propia.

En los resultados presentados en el cuadro anterior se muestra que existe diferencias altamente significativas en la viabilidad del micelio, diferencias halladas entre tratamientos, entre sustratos, y entre etapas de maduración con un coeficiente de variación de 1.91%.



**Figura 15.** Viabilidad del micelio de *Agaricus blazei*

Fuente: Elaboración propia.

En la **figura 15** se muestra el porcentaje de viabilidad del micelio en cada etapa de maduración, observando la influencia del sustrato empleado, por los datos obtenidos, los sustratos cebada sin cáscara y sorgo, son aquellos que responden con

mejores resultados de viabilidad del micelio de *Agaricus blazei* en comparación con el sustrato cebada con cáscara, en el cual se registraron los menores porcentajes de viabilidad del micelio, por las diferencias observadas se descarta a cebada con cáscara como sustrato para la obtención de inóculo de *Agaricus blazei*.

#### 4.2.2.1.5 Prueba Duncan viabilidad del micelio de *Agaricus blazei*

Para la validación de las diferencias halladas se sometieron los datos al análisis de la prueba Duncan obteniendo los resultados que se presentan en el cuadro a continuación.

**Cuadro 5** Categorización de tratamientos según la Prueba Duncan al 1% para viabilidad del micelio de *Agaricus blazei*

Sustrato	Maduración	Viabilidad	Categorías
Cebada con cáscara	Etapa3	58,86	G
Cebada con cáscara	Etapa2	67,71	F
Sorgo	Etapa 3	70,43	E
Cebada sin cáscara	Etapa 3	72,14	D
Cebada con cáscara	Etapa 1	82,71	C
Sorgo	Etapa 2	95,71	B
Cebada sin cáscara	Etapa 2	96,00	B A
Sorgo	Etapa 1	96,71	B A
Cebada sin cáscara	Etapa 1	97,71	A

Categorías que muestran la misma letra no difieren entre si para la prueba Duncan a nivel de 1 %

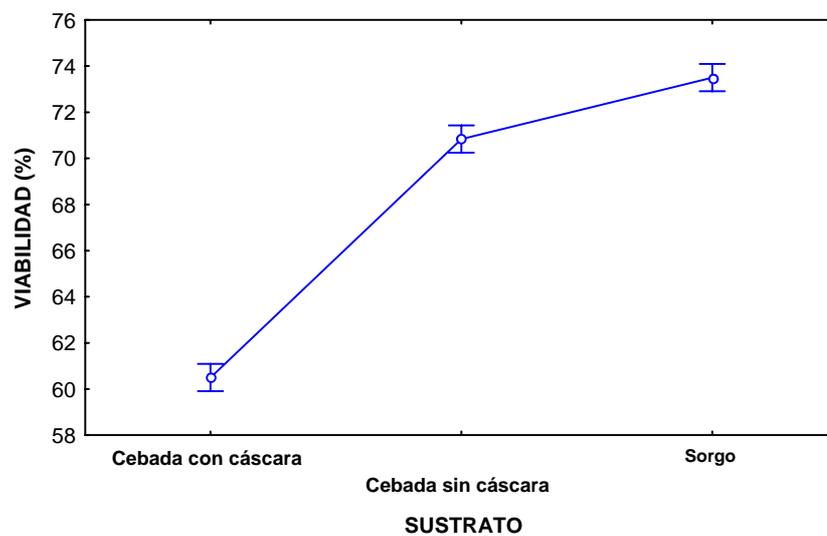
**Fuente:** Elaboración propia.

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede evidenciar que existen diferencias altamente significativas en la viabilidad del micelio comparativamente entre etapas de maduración y sustratos empleados, formando 7 categorías, entre las cuales pertenecen a la clasificación “A” etapa 1 y 2 de maduración para sustrato cebada sin cáscara, etapa 1 de maduración para sustrato sorgo. Al grupo B pertenece sorgo en etapa 1 y 2 de maduración y cebada sin cáscara en etapa 1 de maduración. Conformando de esta manera los grupos más importantes por presentar los porcentajes más altos de viabilidad del micelio para *Agaricus blazei*.

En consecuencia de acuerdo a los datos obtenidos se tienen los mayores porcentajes de viabilidad en sustrato cebada sin cáscara y sorgo en etapa de maduración 1 y 2.

#### 4.2.3 Viabilidad del micelio de *Pleurotus ostreatus*

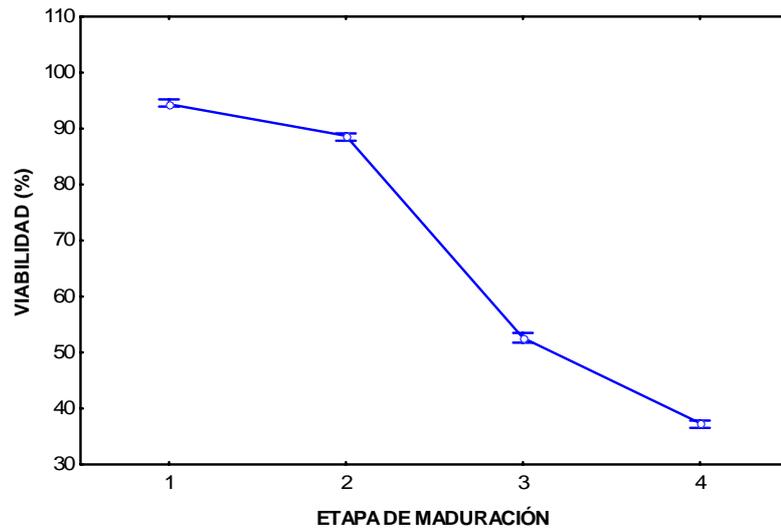
El porcentaje de viabilidad de *Pleurotus ostreatus* varía en cada sustrato, como se puede observar en la **figura 16**.



**Figura 16.** Porcentaje de viabilidad del micelio de *Pleurotus ostreatus* en cada sustrato.

**Fuente:** Elaboración propia.

El porcentaje de viabilidad también depende del sustrato en el cual se encuentra el micelio, se pudo observar que el micelio de *Pleurotus ostreatus* tiene un elevado porcentaje de viabilidad de 72 a 74 % en sustrato sorgo, cebada sin cáscara presenta de igual manera un elevado porcentaje de viabilidad con un valor de 70 a 71 %, cebada con cáscara presenta 59 a 61 % de viabilidad, presentándose como un valor bajo en relación a los otros sustratos en estudio,



**Figura 17.** Porcentaje de viabilidad del micelio de *Pleurotus ostreatus* en cada etapa de maduración.

**Fuente:** Elaboración propia.

Como se muestra en la **figura 17** el micelio de *Pleurotus ostreatus* también se ve influenciado por la maduración, tiene un elevado porcentaje de viabilidad en las etapas 1 y 2 reduciendo notoriamente en las etapas tres y cuatro.

#### **4.2.3.1 Etapa 1 maduración *Pleurotus ostreatus***

Para el sustrato cebada sin cáscara el porcentaje de viabilidad es de 97 a 99% mostrando el porcentaje más alto. El sustrato cebada con cáscara presenta 87 a 90 % de viabilidad, siendo el porcentaje más bajo en comparación de los otros sustratos. La viabilidad en sustrato sorgo es de 95 a 98 % presentándose como uno de los valores altos.

#### **4.2.3.2 Etapa 2 maduración *Pleurotus ostreatus***

El porcentaje de viabilidad en etapa 2 de maduración esta dentro de valores relativamente elevados.

La viabilidad en sustrato cebada sin cáscara corresponde a 94 a 97%. Para el sustrato cebada con cáscara se obtuvieron valores entre 74 a 77 %, siendo los menores valores obtenidos. El resultado del porcentaje de viabilidad es de 95 a 97 % en el sustrato sorgo.

#### 4.2.3.3 Etapa 3 de maduración *Pleurotus ostreatus*

El porcentaje de viabilidad en etapa de maduración 3 presenta valores relativamente bajos.

El sustrato cebada sin cáscara muestra un porcentaje de viabilidad de 53 a 56 %, cebada con cáscara como sustrato muestra porcentajes entre 32 a 37 %, para el sustrato sorgo la viabilidad presenta valores comprendidos entre 53 a 55 %.

#### 4.2.3.4 Etapa 4 de maduración *Pleurotus ostreatus*

Etapa 4 de maduración presenta los valores más bajos de viabilidad los cuales se encuentran entre 32 a 37 %.

#### 4.2.3.5 Análisis de varianza viabilidad del micelio de *Pleurotus ostreatus*

Los datos obtenidos para la viabilidad del micelio de *Pleurotus ostreatus* muestran los siguientes resultados en el análisis de varianza.

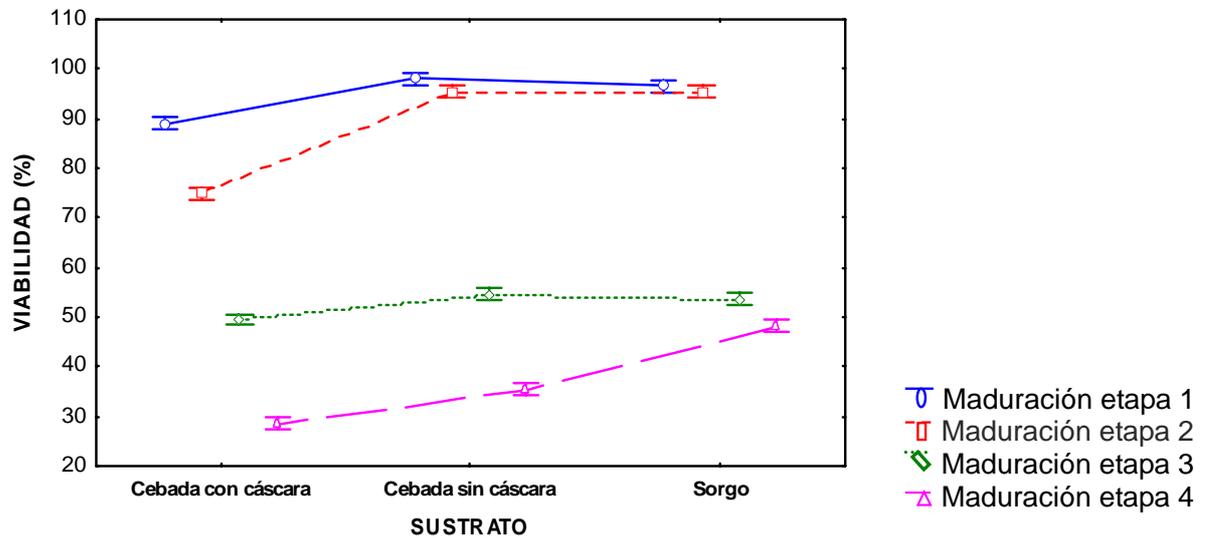
**Cuadro 6** Análisis de varianza viabilidad del micelio de *Pleurotus ostreatus*

Fuentes de Variación	Sumatoria de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F <sub>c</sub>	P
Tratamientos	44762,44	11	4069,30	1937,8	0,0000
Sustrato	2263,10	2	1131,60	538,8	0,0000
Maduración	41525,40	3	13841,80	6591,3	0,0000
Sustrato*Maduración	973,90	6	162,30	77,3	0,0000
Error	126,00	60	2,10		
<b>Coefficiente de variación = 2.12%</b>					

Fuente: Elaboración propia.

En función a los resultados del análisis de varianza se puede afirmar que existen diferencias altamente significativas entre los sustratos y etapas de

maduración del micelio de *Pleurotus ostreatus*, es decir, que los sustratos y las etapas de maduración tienen influencia en la viabilidad del micelio.



**Figura 18.** Viabilidad del micelio de *Pleurotus ostreatus*

Fuente: Elaboración propia.

En la **figura 18** se puede observar comparativamente la influencia del grado de maduración en viabilidad del micelio, para cada sustrato en las 4 etapas de maduración que se presenta.

#### 4.2.3.6 Prueba Duncan Viabilidad del micelio de *Pleurotus ostreatus*

Los datos de viabilidad del micelio de *Pleurotus ostreatus* se sometieron a la prueba Duncan con los resultados que se muestran en el cuadro 7.

**Cuadro 7** Categorización de tratamientos según la Prueba Duncan al 1% para viabilidad del micelio de *Pleurotus ostreatus*

Sustrato	Maduración	Viabilidad (%)	Categorías
Cebada con cáscara	Etapa 4	28,50	H
Cebada sin cáscara	Etapa 4	35,33	G
Sorgo	Etapa 4	48,17	F
Cebada con cáscara	Etapa 3	49,50	F
Sorgo	Etapa 3	53,67	E
Cebada sin cáscara	Etapa 3	54,67	E
Cebada con cáscara	Etapa 2	75,00	D
Cebada con cáscara	Etapa 1	89,00	C
Cebada sin cáscara	Etapa 2	95,33	B
Sorgo	Etapa 2	95,50	B
Sorgo	Etapa 1	96,67	B A
Cebada sin cáscara	Etapa 1	98,00	A

Categorías que muestran la misma letra no difieren entre si para la prueba Duncan a nivel de 1 %

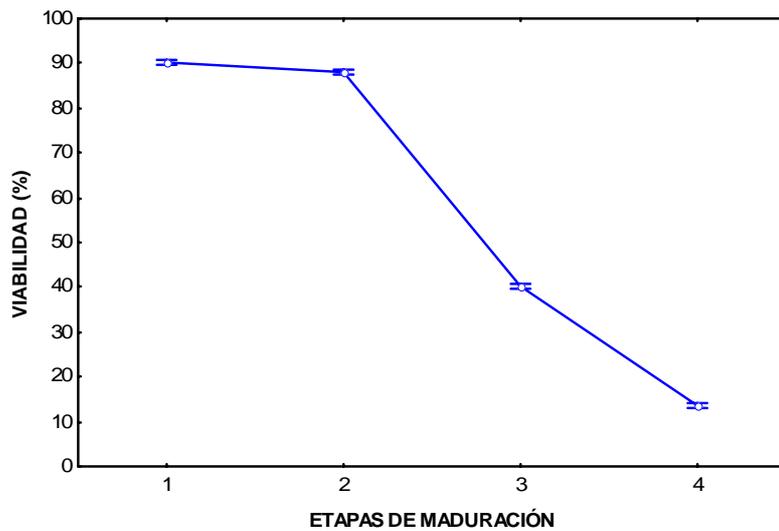
**Fuente:** Elaboración propia.

La Prueba Duncan demostró que para *Pleurotus ostreatus* se forman 8 categorías, de los cuales se tienen 2 grupos que representan los valores más elevados para viabilidad, que corresponden a cebada sin cáscara y sorgo en etapa 1 y 2 de maduración, con valores de 98.00 % y 96.67% para el octavo grupo, y 96.67%, 95.50%, 95.33% para el séptimo grupo.

Por los resultados obtenidos se puede afirmar que para la obtención de inóculo de *Pleurotus ostreatus* puede emplearse cebada sin cáscara o sorgo en etapa 1 de maduración, con buenos resultados en ambos casos.

#### 4.2.4 Viabilidad del micelio de *Lentinula edodes*

El micelio de *Lentinula edodes* pasa por cuatro etapas de maduración las cuales se describen en los siguientes puntos.



**Figura 19.** Porcentaje de viabilidad del micelio de *Lentinula edodes* en cada etapa de maduración.

**Fuente:** Elaboración propia.

Como se observa en la **figura 19**, la viabilidad del micelio de *Lentinula edodes* se ve influenciada por la etapa de maduración, mostrando un declino marcado al llegar a la última etapa de maduración identificada.

#### **4.2.4.1 Etapa 1 de maduración *Lentinula edodes***

La etapa 1 de maduración del inóculo de *Lentinula edodes* presenta los porcentajes más elevados. El sustrato cebada sin cáscara muestra el porcentaje más alto de viabilidad con valores de 96 a 99%. La viabilidad del micelio en sustrato sorgo presentó resultados de 97 a 98 %, siendo uno de los valores altos. El sustrato cebada con cáscara presenta 85 a 87 % de viabilidad, mostrando el porcentaje menor en esta etapa en comparación con los sustratos cebada sin cáscara y sorgo.

#### **4.2.4.2 Etapa 2 de maduración *Lentinula edodes***

El porcentaje de viabilidad del micelio de *Lentinula edodes* en etapa 2 de maduración muestra los siguientes resultados

La viabilidad del micelio en sustrato cebada sin cáscara corresponde a 94 a 97%. El resultado del porcentaje de viabilidad es de 90 a 97 % en el sustrato sorgo. Para el sustrato cebada con cáscara se obtuvieron valores entre 74 a 77 %, siendo los menores valores obtenidos.

#### **4.2.4.3 Etapa 3 de maduración *Lentinula edodes***

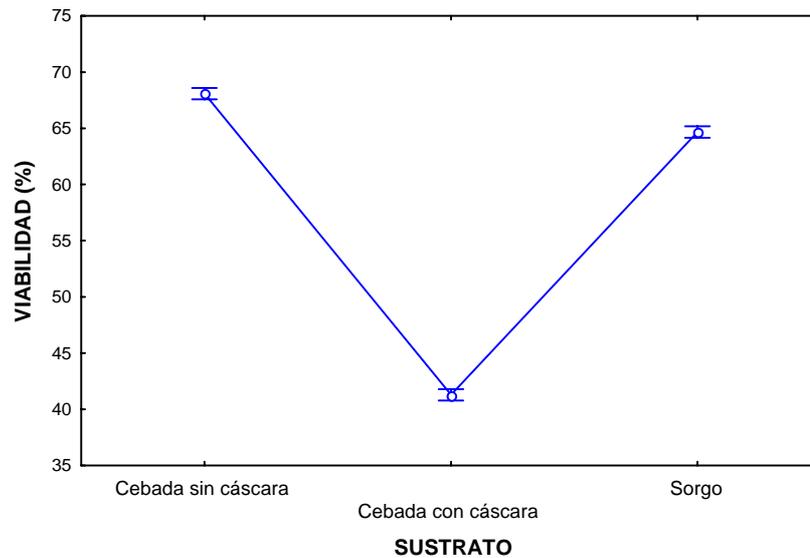
La viabilidad del micelio de *Lentinula edodes* en etapa de maduración 3 presenta valores bajos en relación a etapa 1 y 2.

El sustrato cebada sin cáscara muestra un porcentaje de viabilidad de 53 a 57 %. Para el sustrato sorgo la viabilidad presenta valores comprendidos entre 54 a 56%. Cebada con cáscara como sustrato muestra porcentajes de viabilidad entre 10 a 18 %.

#### **4.2.4.4 Etapa 4 de maduración *Lentinula edodes***

Para cebada sin cáscara la etapa 4 de maduración se presenta entre 23 a 25 %. En el caso de sustrato sorgo el porcentaje de viabilidad es de 20 a 25 %, valor intermedio viabilidad. En cebada con cáscara el porcentaje de viabilidad del micelio esta entre los valores 7 a 12%, siendo los porcentajes más bajos.

El porcentaje de viabilidad también se ve influenciado por el sustrato en el que se encuentra el micelio, como se muestra en la **figura 20**.



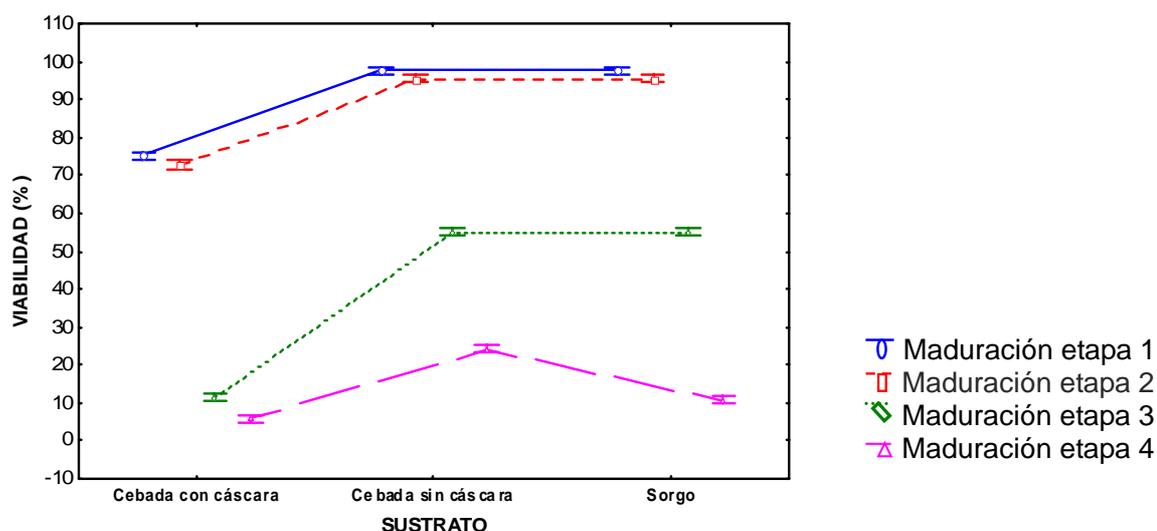
**Figura 20.** Porcentaje de viabilidad del micelio de *Lentinula edodes* en cada sustrato

**Fuente:** Elaboración propia.

La viabilidad que presenta el micelio de *Lentinula edodes* es mayor en sustrato cebada sin cáscara con un porcentaje que oscila entre 68 a 69 %, en sustrato sorgo la viabilidad del micelio se encuentra entre 65 a 66 % y en sustrato cebada con cáscara la viabilidad es de 41 a 42 %.

#### 4.2.4.5 Análisis de varianza viabilidad del micelio de *Lentinula edodes*

En la **figura 21** se muestra el porcentaje de viabilidad del micelio de *Lentinula edodes* en los sustratos cebada sin cáscara, cebada con cáscara, y sorgo.



**Figura 21.** Viabilidad del micelio de *Lentinula edodes*

**Fuente:** Elaboración propia.

Se puede apreciar las diferencias existentes en el porcentaje de viabilidad del micelio en las 4 etapas de maduración de *Lentinula edodes* para cada sustrato en evaluación.

**Cuadro 8** Análisis de varianza viabilidad del micelio de *Lentinula edodes*

Fuentes de Variación	Sumatoria de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F <sub>c</sub>	P
<b>Tratamientos</b>	88432,49	11	8039,3	5329,9	0,0000
<b>Sustrato</b>	10206,9	2	5103,4	3383,5	0,0000
<b>Maduración</b>	75650,4	3	25216,8	16718,3	0,0000
<b>Sustrato*Maduración</b>	2575,3	6	429,2	284,6	0,0000
<b>Error</b>	90,5	60	1,5		

**Coefficiente de variación = 2.11%**

**Fuente:** Elaboración propia.

El análisis de varianza muestra los datos obtenidos para viabilidad del micelio de *Lentinula edodes*, indicando diferencias altamente significativas entre tratamientos, entre sustratos y entre etapas de maduración, con un coeficiente de variación de 2.11 %.

#### 4.2.4.6 Prueba Duncan viabilidad del micelio de *Lentinula edodes*

Como se muestra en el cuadro 8, la viabilidad del micelio de *Lentinula edodes* se ve influenciada por la etapa de maduración en la que se encuentra, de acuerdo a los resultados se identifican 8 categorías.

**Cuadro 9** Categorización de tratamientos según la Prueba Duncan al 1% para viabilidad del micelio de *Lentinula edodes*

Sustrato	Maduración	Viabilidad (%)	Categoría
Cebada con cáscara	Etapa 4	5,83	H
Sorgo	Etapa 4	10,67	G
Cebada con cáscara	Etapa 3	11,33	G
Cebada sin cáscara	Etapa 4	24,33	F
Sorgo	Etapa 3	55,00	E
Cebada sin cáscara	Etapa 3	55,00	E
Cebada con cáscara	Etapa 2	72,83	D
Cebada con cáscara	Etapa 1	75,17	C
Sorgo	Etapa 2	95,50	B
Cebada sin cáscara	Etapa 2	95,50	B
Sorgo	Etapa 1	97,50	A
Cebada sin cáscara	Etapa 1	97,50	A

Categorías que muestran la misma letra no difieren entre si para la prueba Duncan a nivel de 1 %

**Fuente:** Elaboración propia.

De las 8 categorías, se identifican 2 grupos importantes presentando los valores más altos de viabilidad del micelio entre 97.5 y 95.5 % para las categorías 7 y 8, que corresponden a los sustratos cebada sin cáscara y sorgo en etapa de maduración 1 y 2, por lo que se puede afirmar que preferentemente se selecciona el micelio de *Lentinula edodes* en etapa 1 o 2 empleando como sustrato cebada sin cáscara o sorgo indiferentemente.

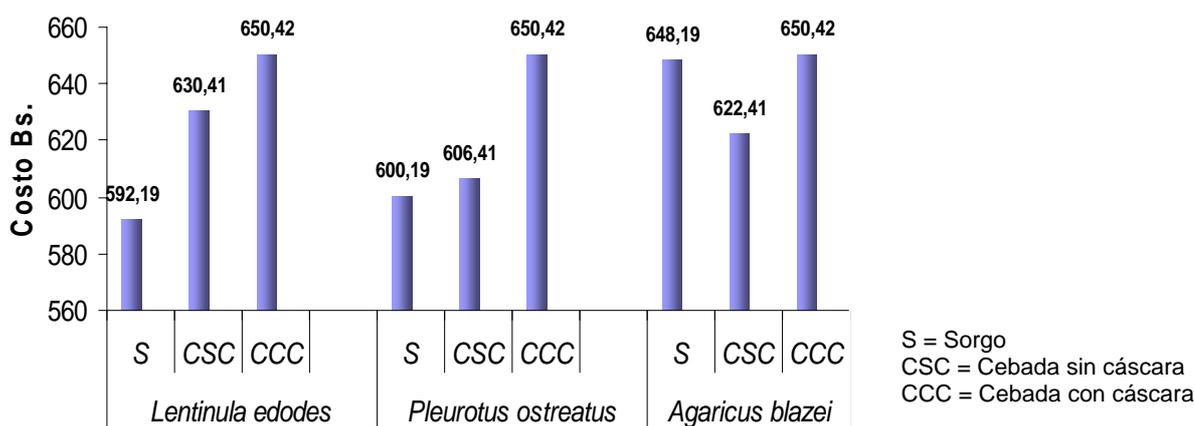
De acuerdo con literatura el micelio debe comenzar a crecer cuando mucho a las 72 horas de la siembra y siempre de manera uniforme (todos los granos al mismo tiempo); si no ocurre así, puede estar defectuoso (Setas cultivadas, 2007). Los

resultados obtenidos de porcentaje de viabilidad mostraron que existe diferencia en el empleo del inóculo en las diferentes etapas de maduración identificadas.

La importancia de un inóculo de buena calidad es muchas veces poco valorizado a pesar de ser un factor crítico en la producción y el cultivo, muchas deficiencias son causadas por micelios de baja calidad, problema que es identificado luego de haber invertido tiempo y material (Ferreira, 1997)

### 4.3 Análisis de costos de producción de inóculo

El análisis realizado sobre costo de producción, se representa en la siguiente figura:



**Figura 22.** Costo de producción de inóculo

**Fuente:** Elaboración propia.

De acuerdo a la **figura 22** *Lentinula edodes* en sustrato sorgo es el tratamiento con menor costo de producción llegando a 592.19 Bs/30 Kg de producción. Para *Pleurotus ostreatus* de igual manera la producción de inóculo más económica se da en el sustrato sorgo con un costo de 600.19Bs/30Kg de inóculo. El costo de producir inóculo de *Agaricus blazei* es menor cuando se trabaja con cebada sin cáscara como sustrato, con un resultado de 622.41Bs/30Kg de inóculo.

Los resultados obtenidos son influenciados por el costo del sustrato y el tiempo que transcurre en el crecimiento miceliar, lo cual incrementa el costo de mano de obra, como puede apreciarse en los **anexos 5 al 13**, para cada tratamiento en experimentación.

Los granos de centeno y trigo vienen siendo usados tradicionalmente, para la producción de inóculo, pero el sorgo es una semilla pequeña que presenta una mayor productividad (partículas de inóculo/ gramo de sustrato) comparando con el centeno. En promedio el centeno presenta 20 partículas por gramo y sorgo presenta 100 partículas, lo que eleva las ventajas de inóculo en base a sorgo con una tasa de colonización mayor y más uniforme pudiendo reducir el ciclo total de producción y el costo cuando se compara con otros tipos de sustrato (Gibbons *et al*, 1991 mencionado en Ferreira, 1997).

Los resultados obtenidos concuerdan con lo mencionado en Ferreira, 1997; si bien cebada sin cáscara para *Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus* muestra resultados óptimos respecto a crecimiento de micelio, el precio del cereal eleva los costos, en lo cual difiere la producción de inóculo empleando sorgo como sustrato ya que el cereal reduce los costos de producción y tiene de igual forma resultados óptimos en el crecimiento del micelio.

El empleo de cebada sin cáscara como sustrato se mantiene como favorable en la producción de inóculo de *Agaricus blazei* debido a que el micelio tiene un crecimiento acelerado en relación a los otros sustratos por lo cual el tiempo de permanencia en laboratorio reduce el costo de producción.

## CAPITULO V

### 5. CONCLUSIÓN

El crecimiento micelial varía en cada sustrato evaluado, mostrando diferentes comportamientos que se representaron en las curvas de crecimiento de *Agaricus blazei*, *Pleurotus ostreatus* y *Lentinula edodes*.

En el caso de *Agaricus blazei* tiene mayor ventaja el empleo de cebada sin cáscara, por ser el crecimiento micelial con mayor velocidad registrado (5.87 mm/día), a diferencia de los sustratos sorgo y cebada con cáscara que presentaron velocidades de crecimiento de 3.48 y 3.62 mm/día respectivamente.

*Pleurotus ostreatus* no presentó diferencias significativas en el tiempo de crecimiento en los sustratos cebada sin cáscara (6.90 mm/día) y sorgo (6.53 mm/día), pero si en sustrato cebada con cáscara donde la velocidad de crecimiento es menor (3.13 mm/día) por lo que el empleo de cebada sin cáscara o sorgo tiene mejores resultados con una mínima diferencia en la velocidad de crecimiento.

*Lentinula edodes* muestra comportamiento diferente en los distintos medios de cultivo, como se representa en las curvas de crecimiento, manifiesta tendencias crecientes en la velocidad de crecimiento en el caso de cebada con cáscara (0.27) y decrecientes en sustrato sorgo (-0.44) y cebada sin cáscara (-0.05), aun con estas variaciones en las tasas de crecimiento el micelio avanza con mayor velocidad en sustrato sorgo (7,46 mm/día) por lo que se ve por conveniente el empleo del mismo.

La influencia de la maduración del inóculo en la viabilidad del micelio, permite identificar cuatro etapas de maduración que se distinguen por el cambio marcado en la coloración.

Para el micelio de *Agaricus blazei* se identificaron tres cambios en la coloración, etapa 1, etapa 2 y etapa 3, de los cuales aquellos que presentaron porcentajes de viabilidad elevados fueron etapa 1 en sustrato cebada sin cáscara y

sorgo con 97,7 %, 96,7% respectivamente y etapa 2 en sustrato cebada sin cáscara con 96.0% y sorgo con 95,7%.

El micelio de *Pleurotus ostreatus* al igual que *Lentinula edodes* mostró cuatro cambios en la coloración.

Para *Pleurotus ostreatus* se identificaron etapa 1 en sustrato cebada sin cáscara y sorgo con porcentajes de 98,0 y 96,7% respectivamente y etapa 2 en sustrato cebada sin cáscara y sorgo con 95,3 y 95,5 % como las etapas con mayores porcentajes de viabilidad.

Respecto a *Lentinula edodes* se pudo evidenciar que la etapa 1 en sustrato cebada sin cáscara y sorgo presenta 97,5 % de viabilidad para ambos sustratos y etapa 2 con 95,5% de viabilidad para sustrato cebada sin cáscara y sorgo.

Las etapas más convenientes de repique de inóculo son 1 y 2 por presentar porcentajes elevados de viabilidad que se encuentran entre 95 a 98 %, no siendo convenientes las etapa 3 y 4, por presentar porcentajes de viabilidad bajos en los tres micelios en estudio (*Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus*).

En el análisis de costos de producción de inóculo, se determinó que el sustrato económicamente más rentable para la producción de inóculo de *Agaricus blazei*, es cebada sin cáscara por reducir el tiempo de permanencia en etapa de incubación; para *Pleurotus ostreatus* el sustrato de producción de inóculo más conveniente es sorgo; respecto a *Lentinula edodes* se identifica también al sorgo como el sustrato de mayor conveniencia. Estos resultados cobran importancia en cuanto la producción se la realice en escala industrial.

## **CAPITULO VI**

### **6. RECOMENDACIONES**

Se recomienda encontrar otros métodos de evaluación de crecimiento micelial en medios sólidos naturales.

Para el caso de la producción de inóculo se recomienda investigar el uso de otros cereales como sustrato.

Promover la investigación en las diferentes etapas que comprende el cultivo de hongos comestibles. Ampliar la presente investigación a la etapa de campo, para identificar los sustratos de mayor conveniencia en todo el ciclo de producción.

## CAPITULO VII

### 7. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Abbayes, 1989. Botánica de Vegetales Inferiores Ed. Reverté S. A. Barcelona España p. 325- 330.
- Abe, 2001. Curso de Hongos *Agaricus* Jun 17 Guirra Rural net Brasil. Consultado 1 junio 2007 Disponible en [http:// www/ guirra.com.br](http://www/guirra.com.br)
- Agroinformación, 2004 El cultivo de Cebada. Consultado agosto 2007 Disponible [http: // www/ agroinformación. com.](http://www/agroinformación.com)
- Albertó, 1998. Cultivo de Hongos Comestibles. Instituto de Investigaciones Biotecnológicas Universidad Nacional General San Martín Buenos Aires Argentina. Consultado 12 agosto 2007. Disponible en [www.iib.unsam.edu.ar](http://www.iib.unsam.edu.ar)
- Albertó, 2000. Manual Práctico para el Cultivo Intensivo del Hongo Comestible *Pleurotus ostreatus*. Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola Buenos Aires Argentina 150p.
- Caballero, 1998 Valoración Agraria Teoría y Practicas. Ed. Mundiprensa 4ª edición España 600 p.
- Crespo, 1997. Cultivo Comercial del Champiñón Ed. Albatros Republica Argentina. 222 p.
- Domanski, Giorda, y Feresin, 1997. Composición y Calidad del Grano de Sorgo. Ed. EEA INTA Manfredi, Argentina. 96 p.
- Espinoza, 2005. Real decreto 1313/2005, de 4 de noviembre, Reglamento técnico de control y certificación de material de Multiplicación de hongos cultivados. España Boletín oficial del estado núm. 278, de 21 de noviembre de 2005. 21p.

- Ferreira, 1997. Manual teórico –practico del cultivo de hongos comestibles UNESP 2 Ed. Sao Paulo p 125.
- Figueroa, 1985. Métodos para evaluar la calidad maltera en cebada INIA. Didáctico No. 17 México, D.F. 21p.
- France, 2005. El cultivo del hongo ostra revista tarttersal INIA Quilamapu Ministerio de agricultura Chile. Consultado 8 de septiembre 2007. Disponible en [www.inia.cl/quilamapu/pubbycom](http://www.inia.cl/quilamapu/pubbycom).
- Grodzínskaya, et al 2002. Cultivo de hongos comestibles utilizando desechos agrícolas e industriales, Agronomía Tropical v.52 n.4 Maracay Venezuela. p 46.
- Jacinto et al, 2002. Comparación de dos inóculos comerciales de *Pleurotus ostreatus* en el estado de México. Centro de Investigación en Recursos Bióticos UAMex. México. 71 p.
- Jimánes, 2007. Guía micológica html Asociación micológica el royo España. Consultado en septiembre 2007. Consultado 15 de julio 2007. Disponibilidad y acceso [amanitacesarea.com](http://amanitacesarea.com).
- Jiménez, 2004. Sociedad micológica de Madrid Conferencia sobre *Pleurotus eryngii*. Madrid España Consultado 7 de diciembre 2007. Disponible en [www.socmicolmadrid.org](http://www.socmicolmadrid.org).
- Keiko, 2003. Cultivo y análisis de composición química del hongo del sol (*Agaricus blazei murrii*).
- Korzona, 2006. Cebada malteada. Argentina Consultado 8 julio 2007. Disponible en [www.cervezadeargentina.com.ar](http://www.cervezadeargentina.com.ar).
- Little, 1991. Métodos estadísticos para la investigación en agricultura 2 Ed. México Ed. Trillas. p 53-57.

- Mamede, 2001. Efecto de linajes y sustratos en el crecimiento micelial y productividad en el cultivo del hongo Shiitake (*Lentinula edodes* (BERK.) PEGLER). Facultad de Ciencias Agronómicas UNESP, Botucatu - SP Brasil. 73 p.
- Martínez – Carrera, 1998. La producción de *Pleurotus* en México. In: Memorias del Primer Simposio Nacional de Hongos Comestibles. (Pachuca, Hgo. SEP). INIFAP/UAEH. p 33-38.
- Motato *et al*, 2006. Evaluación de residuos agroindustriales de plátano (*Musa paradisíaca*) y aserrín abarco (*Cariniana piriformes*) como sustratos para el cultivo del hongo *Pleurotus djamor*. Disponible en [www.scielo.org.co/scielo](http://www.scielo.org.co/scielo).
- Murrieta *et al*, 2002. Cambios en la producción de lacasa por el hongo *Pleurotus pulmonarius* (FR.) Quel cultivado en pulpa de café en confrontación con trichoderma viride pers, un moho contaminante. Universidad Veracruzana, Xalapa México, p 47-52.
- Nascimento, 2003. Etiología, controle e demanda de energia na prevenção da falsa trufa em cultivos de *Agaricus blazei*. Tesis (Doctorado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu 111p.
- Nicholson, 1997. Teoría microeconómica principios básicos y aplicaciones Ed. Mc Graw – Hill 6ª edición España. 223 p.
- Ortega *et al*, 2003. Caracterización de dos especies de hongos comestibles. *Lentinula edodes* (Shiitake), *Agaricus blazei* (Hongo del sol). Centro de Ciencias Biológicas de la Universidad Estadual de Maringa Colégio Gastão Vidigal Consultado 08 agosto .2006. Disponible en [www.dbi.uem.br/FUNGO.htm](http://www.dbi.uem.br/FUNGO.htm).
- Páschoa, 1996. Manual del cultivo de hongos Shiitake en troncos de eucalipto Brasil pp 57.

- Pastorini, 2006. Desenvolvimiento invitro de *Agaricus brasiliensis* en medios suplementados con diferentes pajas. Universidad Federal de Pelotas. Brasil. p 23
- Pellizari, 2005. Biología. República Argentina Consultado 10 enero 2007. Disponible en [www.biologia.edu.ar](http://www.biologia.edu.ar).
- Pedreros, 2007. Evaluación del crecimiento y producción de *Lentinula edodes* (Shiitake) en residuos agroindustriales. Trabajo de grado Bogota Colombia Pontificia Universidad Javeriana. 146 p.
- Popoff, 2007. Reino fungi (en línea) Universidad Nacional del Nordeste Argentina Corrientes. República Argentina. Consultado julio 2006. Disponible en [www.biologia.edu.ar](http://www.biologia.edu.ar).
- Rodríguez, 2005. Cultivo de hongos comestibles, Fruticultura y diversificación N° 52 Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Comahue <http://www.inta.gov.ar/altovalle>.
- Sanchez, *et al.* 2004. Mushroom. Biology and Mushroom. Colegio de la frontera del sur editorial UTEHA .p105.
- Sánchez, 2001. La biología y el cultivo de *Pleurotus spp* Colegio de la frontera del sur editorial UTEHA. p 290.
- Setas cultivadas.\_ Semilla inóculo. México. Consultado 8 marzo 2008. Disponible en <http://setas.cultivadas.com>.
- Torres, 2004. Potencial de la micobiota nativa comestible y medicinal en el municipio de Quibdo. Consultado 12 octubre 2007. Disponible en <http://reuna.unalmed.edu.co>.

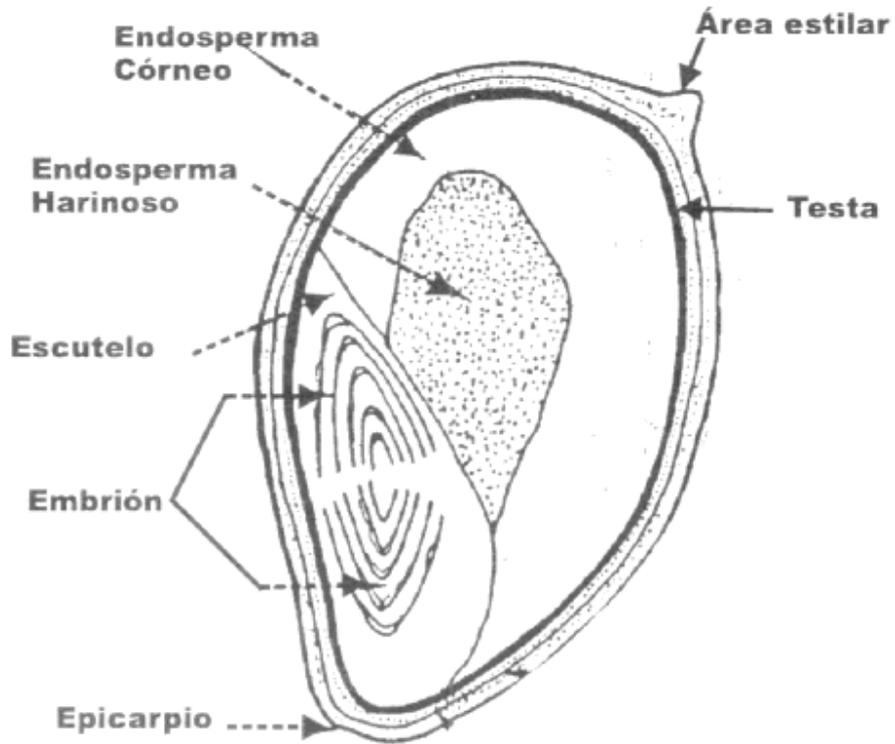
# ANEXOS

**ANEXO 1.** Producción mundial de hongos comestibles cultivados 1986 y 1994 Peso fresco

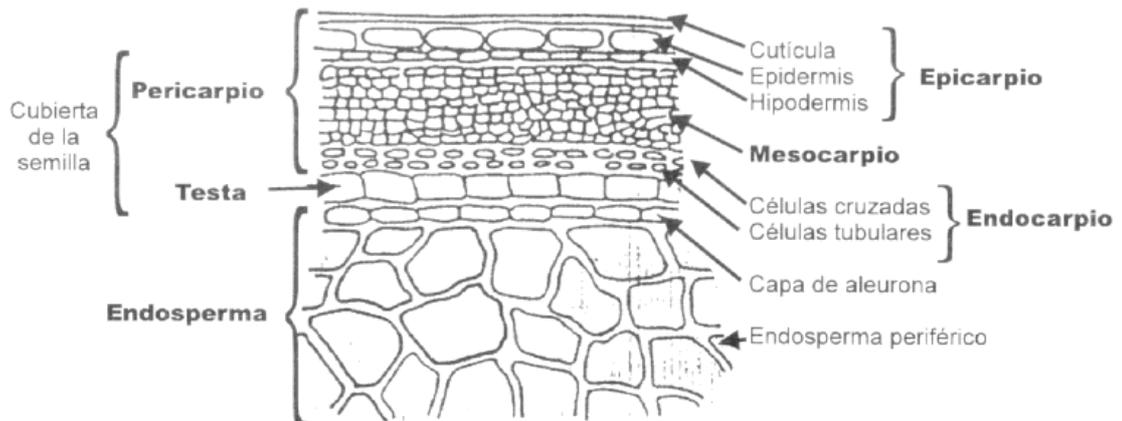
Nombre	1986		1994		Incremento (%)
	1000 ton	%	1000 ton	%	
<i>Agaricus bisporus</i>	1,215	55.8	1,846	37.6	51.9
<i>Lentinula edodes</i>	320	14.7	826	16.8	158.1
<i>Pleurotus</i> spp.	169	7.8	797	16.3	371.6
<i>Auricularia</i> spp.	119	5.5	420	8.5	301.0
<i>Volvariella volvacea</i>	178	8.2	299	6.1	68.0
<i>Flammulina velutipes</i>	100	4.6	230	4.7	130.0
<i>Tremella fuciformis</i>	40	1.8	156	3.2	290.0
<i>Hypsizygus marmoreus</i>	—	—	55	1.1	—
<i>Pholiota nameko</i>	25	1.1	27	0.6	8.0
<i>Grifola frondosa</i>	—	—	14	0.3	—
Otros	10	0.5	239	4.8	2,290.0
<b>Total</b>	<b>2,176</b>	<b>100.0</b>	<b>4,909</b>	<b>100.0</b>	<b>125.6</b>

**Fuente:** Rodríguez, (2005)

**ANEXO 2. Partes del grano de sorgo**

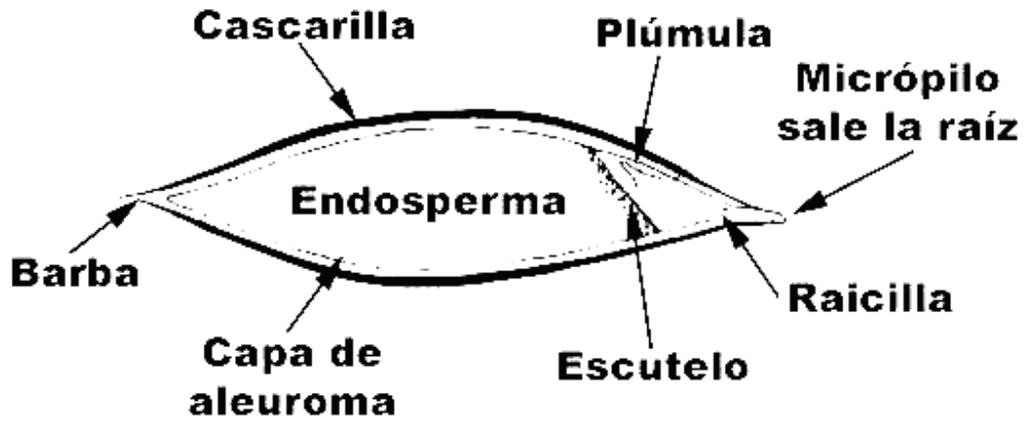


Estructura del grano de Sorgo. Sección longitudinal (Frederiksen, 1986)

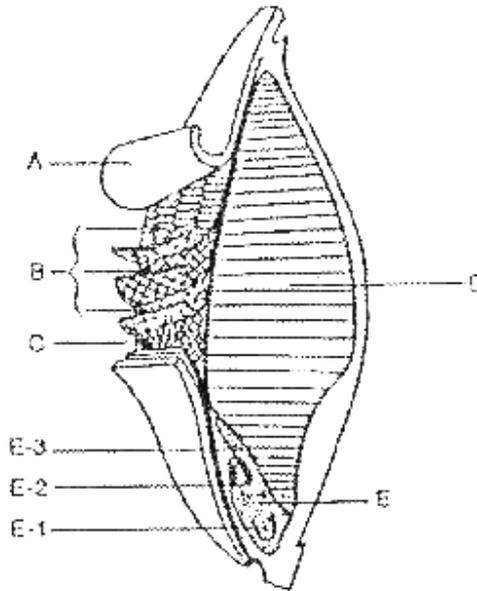


**Fuente:** Frederiksen, (1986) citado en Domansky, (1997)

**ANEXO 3. Partes de un grano de cebada**



**Estructura del grano de Cebada**



. A.- Cascara; B.- Capa del fruto (pericarpio). Capa de semilla con superficie cutinizada interior y exterior (Testa). - Pericarpio; C.- Capa de aleuronas. Fuente de enzimas; D.- Endospermo; E.- Embrión: E1.- Raicillas; E2.- Plúmula; E3.- Escudillo.

Fuente: Figueroa, (1985)

#### ANEXO 4 Indicadores de crecimiento miceliar

<b>Micelio</b>	<b>Sustrato</b>	<b>Tiempo de Colonización</b>	<b>Tasa de Crecimiento</b>	<b>Variación en la tasa de crecimiento</b>
<i>Agaricus blazei</i>	Cebada sin cáscara	11	5,27	0,09
<i>Agaricus blazei</i>	Cebada con cáscara	15	3,62	0,44
<i>Agaricus blazei</i>	Sorgo	15	3,48	0,27
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Cebada sin cáscara	9	6,9	-0,15
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Cebada con cáscara	15	3,13	0,29
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Sorgo	9	6,53	-0,12
<i>Lentinula edodes</i>	Cebada sin cáscara	12	4,55	-0,05
<i>Lentinula edodes</i>	Cebada con cáscara	14	4,18	0,27
<i>Lentinula edodes</i>	Sorgo	8	7,46	-0,44

Fuente: Elaboración propia

**ANEXO 5. Costos de producción para semilla de *Agaricus blazei* en sustrato cebada sin cáscara**

DETALLE	CANTIDAD	UNIDAD	PRECIO UNITARIO Bs.	COSTO Bs.
<b>Mano de obra</b>				
Preparación de sustrato	8	Horas	8	64
Inoculación	16	Horas	8	128
Seguimiento y control	13	Horas	8	104
<b>Materias primas</b>				
Cebada sin cáscara	15,5	Kilogramos	2,1	32,55
Sulfato de calcio	0,8	Kilogramos	1	0,8
Carbonato de calcio	0,2	Kilogramos	2	0,4
Cepa de <i>Agaricus blazei</i>	3	Placas	60	180
Papel madera	4	Hojas	0,6	2,4
Algodón	0,2	Kilogramos	50	10
Alcohol	1	Litros	5	5
<b>Equipo de laboratorio</b>				
Frascos de vidrio	10	cf/día	0,86	8,63
Phmetro	10	cf/día	0,61	6,15
Autoclave (cap 30 kilos)	10	cf/día	1,36	13,66
Cámara de flujo laminar	10	cf/día	1,37	13,66
Estufa	10	cf/día	0,08	0,82
Higrómetro	10	cf/día	0,06	0,61
Termómetro	10	cf/día	0,01	0,17
<b>Otros gastos</b>				
Agua	0,1	m <sup>3</sup>	3	0,3
GLP	0,5	Garrafa	22,5	11,25
Energía eléctrica			40	40
<b>COSTO DE PRODUCCIÓN</b>				<b>622,41</b>

Cf = Costo fijo por día

Fuente: Elaboración propia

**ANEXO 6.** Costos de producción para semilla de *Agaricus blazei* en sustrato sorgo

DETALLE	CANTIDAD	UNIDAD	PRECIO UNITARIO Bs.	COSTO Bs.
<b>Mano de obra</b>				
Preparación de sustrato	8	Horas	8	64
Inoculación	16	Horas	8	128
Seguimiento y control	17	Horas	8	136
<b>Materias primas</b>				
Sorgo	20	Kilogramos	1,44	28,8
Sulfato de calcio	0,8	Kilogramos	1	0,8
Carbonato de calcio	0,2	Kilogramos	2	0,4
Cepa de <i>Agaricus blazei</i>	3	Placas	60	180
Papel madera	4	Hojas	0,6	2,4
Algodón	0,2	Kilogramos	50	10
Alcohol	1	Litros	5	5
<b>Equipo de laboratorio</b>				
Frascos de vidrio	10	cf/día	0,62	6,16
Phmetro	10	cf/día	0,61	6,15
Autoclave (cap 30 kilos)	10	cf/día	1,37	13,66
Cámara de flujo laminar	10	cf/día	1,37	13,66
Estufa	10	cf/día	0,08	0,82
Higrómetro	10	cf/día	0,06	0,61
Termómetro	10	cf/día	0,02	0,17
<b>Otros gastos</b>				
Agua	0,1	m <sup>3</sup>	3	0,3
GLP	0,5	Garrafa	22,5	11,25
Energía eléctrica			40	40
<b>COSTO DE PRODUCCIÓN</b>				<b>648,19</b>

Cf = Costo fijo por día

Fuente: Elaboración propia

**ANEXO 7.** Costos de producción para semilla de *Agaricus blazei* en sustrato cebada con cáscara

DETALLE	CANTIDAD	UNIDAD	PRECIO UNITARIO Bs.	COSTO Bs.
<b>Mano de obra</b>				
Preparación de sustrato	8	Horas	8	64
Inoculación	16	Horas	8	128
Seguimiento y control	17	Horas	8	136
<b>Materias primas</b>				
Cebada con cáscara	16,8	Kilogramos	1,7	28,56
Sulfato de calcio	0,8	Kilogramos	1	0,8
Carbonato de calcio	0,2	Kilogramos	2	0,4
Cepa de <i>Agaricus blazei</i>	3	Placas	60	180
Papel madera	4	Hojas	0,6	2,4
Algodón	0,2	Kilogramos	50	10
Alcohol	1	Litros	5	5
<b>Equipo de laboratorio</b>				
Frascos de vidrio	10	cf/día	0,86	8,63
Phmetro	10	cf/día	0,61	6,15
Autoclave (cap 30 kilos)	10	cf/día	1,37	13,66
Cámara de flujo laminar	10	cf/día	1,37	13,66
Estufa	10	cf/día	0,08	0,82
Higrómetro	10	cf/día	0,06	0,61
Termómetro	10	cf/día	0,01	0,17
<b>Otros gastos</b>				
Agua	0,1	m <sup>3</sup>	3	0,3
GLP	0,5	Garrafa	22,5	11,25
Energía eléctrica			40	40
<b>COSTO DE PRODUCCIÓN</b>				<b>650,42</b>

Cf = Costo fijo por día

Fuente: Elaboración propia

**ANEXO 8.** Costos de producción para semilla de *Lentinula edodes* en sustrato cebada sin cáscara

DETALLE	CANTIDAD	UNIDAD	PRECIO UNITARIO Bs	COSTO Bs
<b>Mano de obra</b>				
Preparación de sustrato	8	Horas	8	64
Inoculación	16	Horas	8	128
Seguimiento y control	14	Horas	8	112
<b>Materias primas</b>				
Cebada sin cáscara	15,5	kilogramos	2,1	32,55
Sulfato de calcio	0,8	kilogramos	1	0,8
Carbonato de calcio	0,2	kilogramos	2	0,4
Cepa de <i>Lentinula edodes</i>	3	Placas	60	180
Papel madera	4	Hojas	0,6	2,4
Algodón	0,2	kilogramos	50	10
Alcohol	1	Litros	5	5
<b>Equipo de laboratorio</b>				
Frascos de vidrio	10	cf/día	0,86	8,63
Phmetro	10	cf/día	0,61	6,15
Autoclave (cap 30 kilos)	10	cf/día	1,37	13,66
Cámara de flujo laminar	10	cf/día	1,37	13,66
Estufa	10	cf/día	0,08	0,82
Higrómetro	10	cf/día	0,06	0,61
Termómetro	10	cf/día	0,02	0,17
<b>Otros gastos</b>				
Agua	0,1	m <sup>3</sup>	3	0,3
GLP	0,5	Garrafa	22,5	11,25
Energía eléctrica			40	40
<b>COSTO DE PRODUCCIÓN</b>				<b>630,41</b>

Cf = Costo fijo por día

Fuente: Elaboración propia

**ANEXO 9.** Costos de producción para semilla de *Lentinula edodes* en sustrato sorgo

DETALLE	CANTIDAD	UNIDAD	PRECIO UNITARIO Bs	COSTO Bs
<b>Mano de obra</b>				
Preparación de sustrato	8	Horas	8	64
Inoculación	16	Horas	8	128
Seguimiento y control	10	Horas	8	80
<b>Materias primas</b>				
Sorgo	20	Kilogramos	1,44	28,8
Sulfato de calcio	0,8	Kilogramos	1	0,8
Carbonato de calcio	0,2	Kilogramos	2	0,4
Cepa de <i>Lentinula edodes</i>	3	Placas	60	180
Papel madera	4	Hojas	0,6	2,4
Algodón	0,2	Kilogramos	50	10
Alcohol	1	Litros	5	5
<b>Equipo de laboratorio</b>				
Frascos de vidrio	10	cf/día	0,62	6,16
Phmetro	10	cf/día	0,61	6,15
Autoclave (cap 30 kilos)	10	cf/día	1,37	13,66
Cámara de flujo laminar	10	cf/día	1,37	13,66
Estufa	10	cf/día	0,08	0,82
Higrómetro	10	cf/día	0,06	0,61
Termómetro	10	cf/día	0,02	0,17
<b>Otros gastos</b>				
Agua	0,1	m <sup>3</sup>	3	0,3
GLP	0,5	Garrafa	22,5	11,25
Energía eléctrica			40	40
<b>COSTO DE PRODUCCIÓN</b>				<b>592,19</b>

Cf = Costo fijo por día

Fuente: Elaboración propia

**ANEXO 10.** Costos de producción para semilla de *Lentinula edodes* en sustrato cebada con cáscara

DETALLE	CANTIDAD	UNIDAD	PRECIO UNITARIO Bs	COSTO Bs
<b>Mano de obra</b>				
Preparación de sustrato	8	Horas	8	64
Inoculación	16	Horas	8	128
Seguimiento y control	17	Horas	8	136
<b>Materias primas</b>				
cebada con cáscara	16,8	Kilogramos	1,7	28,56
Sulfato de calcio	0,8	Kilogramos	1	0,8
Carbonato de calcio	0,2	Kilogramos	2	0,4
Cepa de <i>Lentinula edodes</i>	3	Placas	60	180
Papel madera	4	Hojas	0,6	2,4
Algodón	0,2	Kilogramos	50	10
Alcohol	1	Litros	5	5
<b>Equipo de laboratorio</b>				
Frascos de vidrio	10	cf/día	0,86	8,63
Phmetro	10	cf/día	0,61	6,15
Autoclave (cap 30 kilos)	10	cf/día	1,37	13,66
Cámara de flujo laminar	10	cf/día	1,37	13,66
Estufa	10	cf/día	0,08	0,82
Higrómetro	10	cf/día	0,06	0,61
Termómetro	10	cf/día	0,02	0,17
<b>Otros gastos</b>				
Agua	0,1	m <sup>3</sup>	3	0,3
GLP	0,5	Garrafa	22,5	11,25
Energía eléctrica			40	40
<b>COSTO DE PRODUCCIÓN</b>				<b>650,42</b>

Cf = Costo fijo por día

Fuente: Elaboración propia

**ANEXO 11.** Costos de producción para semilla de *Pleurotus ostreatus* en sustrato cebada sin cáscara

DETALLE	CANTIDAD	UNIDAD	PRECIO UNITARIO Bs	COSTO Bs
<b>Mano de obra</b>				
Preparación de sustrato	8	Horas	8	64
Inoculación	16	Horas	8	128
Seguimiento y control	11	Horas	8	88
<b>Materias primas</b>				
Cebada sin cáscara	15,5	Kilogramos	2,1	32,55
Sulfato de calcio	0,8	kilogramos	1	0,8
Carbonato de calcio	0,2	Kilogramos	2	0,4
Cepa de <i>Pleurotus ostreatus</i>	3	Placas	60	180
Papel madera	4	Hojas	0,6	2,4
Algodón	0,2	Kilogramos	50	10
Alcohol	1	Litros	5	5
<b>Equipo de laboratorio</b>				
Frascos de vidrio	10	cf/día	0,86	8,63
Phmetro	10	cf/día	0,61	6,15
Autoclave (cap 30 kilos)	10	cf/día	1,37	13,66
Cámara de flujo laminar	10	cf/día	1,37	13,66
Estufa	10	cf/día	0,08	0,82
Higrómetro	10	cf/día	0,06	0,61
Termómetro	10	cf/día	0,02	0,17
<b>Otros gastos</b>				
Agua	0,1	m <sup>3</sup>	3	0,3
GLP	0,5	Garrafa	22,5	11,25
Energía eléctrica			40	40
<b>COSTO DE PRODUCCIÓN</b>				<b>606,41</b>

Cf = Costo fijo por día

Fuente: Elaboración propia

**ANEXO 12.** Costos de producción para semilla de *Pleurotus ostreatus* en sustrato sorgo

DETALLE	CANTIDAD	UNIDAD	PRECIO UNITARIO Bs	COSTO Bs
<b>Mano de obra</b>				
Preparación de sustrato	8	Horas	8	64
Inoculación	16	Horas	8	128
Seguimiento y control	11	Horas	8	88
<b>Materias primas</b>				
Sorgo	20	Kilogramos	1,44	28,8
Sulfato de calcio	0,8	Kilogramos	1	0,8
Carbonato de calcio	0,2	Kilogramos	2	0,4
Cepa de <i>Pleurotus ostreatus</i>	3	Placas	60	180
Papel madera	4	Hojas	0,6	2,4
Algodón	0,2	Kilogramos	50	10
Alcohol	1	Litros	5	5
<b>Equipo de laboratorio</b>				
Frascos de vidrio	10	cf/día	0,62	6,16
Phmetro	10	cf/día	0,61	6,15
Autoclave (cap 30 kilos)	10	cf/día	1,37	13,66
Cámara de flujo laminar	10	cf/día	1,37	13,66
Estufa	10	cf/día	0,08	0,82
Higrómetro	10	cf/día	0,06	0,61
Termómetro	10	cf/día	0,02	0,17
<b>Otros gastos</b>				
Agua	0,1	m <sup>3</sup>	3	0,3
GLP	0,5	Garrafa	22,5	11,25
Energía eléctrica			40	40
<b>COSTO DE PRODUCCIÓN</b>				<b>600,19</b>

Cf = Costo fijo por día

Fuente: Elaboración propia

**ANEXO 13.** Costos de producción para semilla de *Pleurotus ostreatus* en sustrato cebada con cáscara

DETALLE	CANTIDAD	UNIDAD	PRECIO UNITARIO Bs	COSTO Bs
<b>Mano de obra</b>				
Preparación de sustrato	8	Horas	8	64
Inoculación	16	Horas	8	128
Seguimiento y control	17	Horas	8	136
<b>Materias primas</b>				
Cebada con cáscara	16,8	Kilogramos	1,7	28,56
Sulfato de calcio	0,8	Kilogramos	1	0,8
Carbonato de calcio	0,2	Kilogramos	2	0,4
Cepa de <i>Pleurotus ostreatus</i>	3	Placas	60	180
Papel madera	4	Hojas	0,6	2,4
Algodón	0,2	Kilogramos	50	10
Alcohol	1	Litros	5	5
<b>Equipo de laboratorio</b>				
Frascos de vidrio	10	cf/día	0,86	8,63
Phmetro	10	cf/día	0,61	6,15
Autoclave (cap 30 kilos)	10	cf/día	1,37	13,66
Cámara de flujo laminar	10	cf/día	1,37	13,66
Estufa	10	cf/día	0,08	0,82
Higrómetro	10	cf/día	0,06	0,61
Termómetro	10	cf/día	0,02	0,17
<b>Otros gastos</b>				
Agua	0,1	m <sup>3</sup>	3	0,3
GLP	0,5	Garrafa	22,5	11,25
Energía eléctrica			40	40
<b>COSTO DE PRODUCCIÓN</b>				<b>650,42</b>

Cf = Costo fijo por día

Fuente: Elaboración propia