



Instituto Politécnico Nacional

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL UNIDAD OAXACA

Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales

EVALUACIÓN DE SUBPRODUCTOS VEGETALES SEMI COMPOSTADOS PARA EL CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus*.

TESIS

Que para obtener el grado de:

Maestra en Ciencias

Presenta:

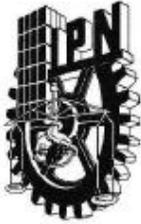
Estefanía Cruz García

Director: Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez

Director: Dr. José Ernesto Sánchez Vázquez

Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca.

Julio 2015



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez siendo las 13:00 horas del día 22 del mes de Julio del 2015 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Oaxaca para examinar la tesis titulada:

Evaluación de subproductos vegetales semi-compostados para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*

Presentada por el alumno:

Cruz
Apellido paterno

García
Apellido materno

Estefanía
Nombre(s)

Con registro:

A	1	3	0	1	3	4
---	---	---	---	---	---	---

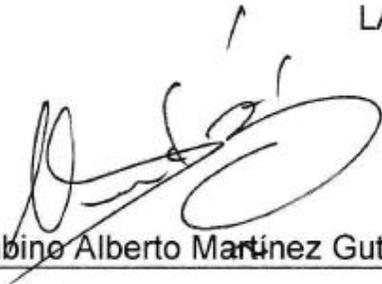
aspirante de:

Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

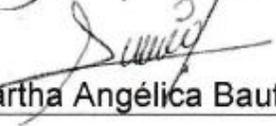
LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis


Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez

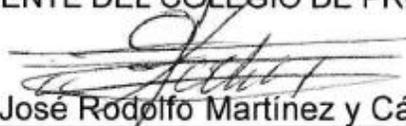

Dr. José Ernesto Sánchez Vázquez


Dra. Yolanda Donaji Ortiz Hernández


Dra. Martha Angélica Bautista Cruz

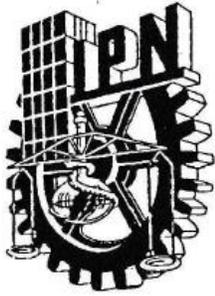

Dr. Teodulfo Aquino Bolaños

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES


Dr. José Rodolfo Martínez y Cárdenas



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
I.P.N.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez el día 22 del mes de julio del año 2015, el (la) que suscribe: Cruz García Estefanía alumno (a) del Programa de **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES** con número de registro A130134, adscrito al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de los Drs. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez y José Ernesto Sánchez Vázquez cede los derechos del trabajo titulado, **“Evaluación de subproductos vegetales semi-compostados para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*”** al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección **Calle Hornos 1003, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca**, e-mail: posgradoox@ipn.mx ó stefania.cruz@hotmail.com se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Cruz García Estefanía



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACION PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
I.P.N.

RESUMEN

El cultivo del hongo seta *Pleurotus ostreatus* puede considerarse como una actividad que conlleva beneficios ecológicos, económicos y sociales, ya que se basa en el aprovechamiento de subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales que no han adquirido alguna utilidad potencial. Para reducir la mayoría de los organismos contaminantes que vinieran en tales y compitan con el hongo por espacio y nutrientes estos usualmente son sometidos a un proceso térmico. Con la finalidad de cumplir esta función sin requerir energías convencionales ni desperdiciar agua se ha desarrollado un método de Semi-composteo denominado pasteurización por autocalentamiento, debido a que el origen y aumento de temperatura sobre este es generado por la acción de microorganismos y su metabolismo. En este trabajo se evaluó la capacidad productiva de tres subproductos vegetales y se modificó, mediante el diseño conceptual, un contenedor de madera para el semi composteo, donde se compararon dos técnicas: Sin remoción y con remoción del material.

Se analizaron parámetros fisicoquímicos del Acahual *Simsia* sp., Bagazo de Maguey *Agave Angustifolia* Haw y Olote de Maíz *Zea Mays*, y se determinó su efecto, de forma individual y mezclados, sobre el crecimiento micelial y producción de cuerpos fructíferos de la cepa *P. ostreatus* ECS-0152. El crecimiento y características morfológicas de los micelios desarrollados se evaluaron *in vitro* durante 8 días. Los resultados no mostraron influencia significativa ($\alpha < 0.05$) entre los sustratos utilizados, y las características morfológicas miceliales concordaron con lo señalado para esta especie. Los cuerpos fructíferos obtenidos se evaluaron mediante parámetros de productividad. La eficiencia biológica (EB) fluctuó de 52 a 91%, la tasa de producción (TP) de 0.80 a 1.75, el peso promedio (PP) de 8.22 a 14.69 g y el rendimiento (R) de 6 a 19.3%. Las más altas EB, TP, PP y R se consiguieron en la mezcla Acahual-Bagazo de Maguey. En base a estas inferencias, dicha mezcla fue elegida para ser preparada mediante el semi composteo para su pasteurización por autocalentamiento. Durante el proceso se

determinó el pH, Humedad, temperatura, humedad relativa y temperatura ambiente. No se observó contaminación después del tratamiento, y en la comparación entre técnicas sobre la producción de *P. ostreatus* no se encontraron diferencias estadísticas sobre EB=86%, PP=14.93 g y R=11%, EB=88%, PP=14.20y R=10.7, pero si en la TP=1.91%,1.26% y en el tiempo del proceso.

Palabras clave: Subproductos vegetales, Semi-composteo, pasteurización por autocalentamiento, *Pleurotus ostreatus*.

ABSTRACT

The cultivation of mushroom *Pleurotus ostreatus* can be seen as an activity that involves ecological, economic and social benefits, which are based on the use of agricultural, agroindustrial and forest waste that have not acquired any use. To reduce most pollutants such microorganisms come in and compete with the mushroom for space and nutrients there usually given a thermal process. To fulfill this function without requiring conventional energies or waste water has developed a method of Semi-composting called pasteurization by self-heating, because the origin and temperature rise for this is generated by the action of microorganisms and their metabolism. In this work are evaluated the production capacity of three plant subproducts and modified by the conceptual design a wooden container for semi composting, where two techniques were compared: No removal and removal of material. Physicochemical parameters were analyzed for Acahual *Simsia* sp., Bagasse Maguey *Agave angustifolia* Haw and Corn Cob *Zea Mays*, and effect was determined individually and mixed on mycelial growth and production of fruiting bodies of *P. ostreatus* strain ECS- 0152. Growth and morphological characteristics of developed mycelia were evaluated *in vitro* for 8 days. The results showed no significant influence ($\alpha < 0.05$) between the substrates used and morphological characteristics mycelial agreed with those reported for this species. The fruiting bodies obtained were evaluated by productivity parameters. Biological efficiency (BE) ranged from 52 to 91%, Production Rate (PR) of 0.80 to 1.75, Average Weight (AW) of 8.22 to 14.69 g and Yield (Y) of 6 to 19.3 %. Higher BE, PR, AW and Y, were obtained in Acahual-Bagasse Maguey mixture. Based on these inferences mixture was chosen to be prepared by the semi composting for pasteurization by self-heating. During the process; pH, humidity, temperature, relative humidity and ambient temperature it was determined. No contamination was observed after treatment, and the comparison between techniques for the production of *P. ostreatus* no statistical differences on BE =86 %, AW =14.93 g, Y =11 %; EB = 88 %, AW= 14.20 g and Y = 10.7, however in PR = 1.91 %, 1.26 % and in the process time there was difference.

AGRADECIMIENTOS

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca y a la Secretaría de Investigación y Posgrado (SIP) del IPN por el financiamiento otorgado.

Durante el desarrollo de esta tesis, tuve la inmensa fortuna de contar con Profesores/Investigadores, Trabajadores, Productores, Familia y Amigos, quienes sin duda, son los *MEJORES*. A todos y cada uno, les agradezco infinitamente todo su apoyo profesional, intelectual, económico, físico y moral, sin ustedes no hubiera sido posible. Este trabajo también es suyo.

- Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez
- Dr. José Ernesto Sánchez Vázquez

- Dr. Teodulfo Aquino Bolaños
- Dra. Yolanda Donají Sánchez Ortiz
- Dra. Martha Angélica Bautista Cruz

- Dr. Celerino Robles, Dr. Pastor Matadamas, M. en I. José Navarro, Arq. Cristian Bermúdez.
- Emilio García, Víctor Castañeda, Rebecca Rinke, Don Gonzalo “Chalo”.

- Mis papás y hermana: Lulú, Milo y Donají ♥ por siempre creer en mi.
- Ross Conde, M. en C. Alicia Alonso, M. en C. Elia Jirón, M. en C. Edwin Ojeda, M. en C. Miguel Silva, Biól. Yazmin Sosa, Ing. Tania Leyva.

CONTENIDO

RESUMEN.....	ii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	1
ÍNDICE DE CUADROS.....	2
1 INTRODUCCIÓN.....	3
2 OBJETIVOS.....	6
2.1 Objetivo General.....	6
2.2 Objetivos Específicos	6
3 MARCO TEÓRICO	7
3.1 El Cultivo de Hongos Comestibles.....	7
3.1 El Cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	8
3.2.1 El género <i>P. ostreatus</i>	8
3.3 Proceso de Producción de <i>P. ostreatus</i>	10
3.3.1 Obtención de la cepa	11
3.3.2 Elaboración del inóculo	11
3.3.3 Selección del sustrato	12
3.4 Características de los sustratos.....	13
3.5 Preparación del sustrato.....	14
3.5.1 Inmersión agua caliente	15
3.5.2 Pasteurización con vapor	15
3.5.3 Inmersión alcalina	16
3.5.4 Composteo	16
3.6 Semi Composteo.....	21
3.7 Siembra.....	23
3.8 Incubación.....	23
3.9 Fructificación	24
3.9 Cosecha	25
4 METODOLOGÍA.....	26
4.1 Localización	26
4.2 Materiales.....	26
4.3 Caracterización fisicoquímica de los sustratos	28
4.4 Diseño de tratamientos y análisis estadístico	31

4.5 Pruebas <i>IN VITRO</i>	32
4.6 Evaluación de producción de carpóforos	33
4.7 Semi composteo para la Pasteurización por autocalentamiento	35
5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
6 CONCLUSIONES	69
7 REFERENCIAS	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema General de un cuerpo fructífero de <i>P. ostreatus</i>	9
Figura 2. Esquema general del proceso de cultivo de <i>P. ostreatus</i>	10
Figura 3. Contenedor de madera utilizado para el proceso de semi composteo... 22	
Figura 4. Diseño del Contenedor de Madera. I: Corte transversal. II: Vista lateral. III: Vista frontal. IV: Vista en planta.	36
Figura 5. Características morfológicas de <i>P. ostreatus</i> creciendo <i>in vitro</i> en los sustratos I: Acahual, II: Bagazo de Maguey, III: Olote.....	44
Figura 6. Características morfológicas de <i>P. ostreatus</i> creciendo <i>in vitro</i> en las mezclas de los sustratos IV: AB, V: BO, VI: AO, VII: ABO.	44
Figura 7. Eficiencia biológica de <i>P. ostreatus</i> utilizando como sustratos Acahual, Bagazo de Maguey y Olote en diferentes proporciones.	48
Figura 8. Crecimiento de carpóforos de <i>P. ostreatus</i> . 1: Primordios creciendo en Bagazo de Maguey. 2: Ramillete en la mezcla Acahual-Bagazo. 3: Cuerpos fructíferos desarrollados en el Acahual. 4: Peso de los hongos cosechados.	50
Figura 9. Tasa de producción de <i>P. ostreatus</i> utilizando como sustratos Acahual, Bagazo de Maguey y Olote en diferentes proporciones.	51
Figura 10. Peso promedio de los carpóforos de <i>P. ostreatus</i> cultivados en los sustratos Acahual, Bagazo de Maguey y Olote en diferentes proporciones.	53
Figura 11. Rendimiento de <i>P. ostreatus</i> utilizando como sustratos Acahual, Bagazo de Maguey y Olote en diferentes proporciones.	55
Figura 13. Evolución de la humedad en el sustrato durante el semi composteo con remoción del material (T2).....	59
Figura 14. Evolución de la humedad en el sustrato durante el semi composteo sin remoción del material (T2).....	59
Figura 15. Evolución de la humedad en el sustrato durante el semi composteo con remoción del material (T1).....	59
Figura 16. Comportamiento de la temperatura durante el semi composteo sin remoción del material (T1).....	60

Figura 17. Comportamiento de la temperatura durante el semi composteo con remoción del material (T2).....	61
Figura 18. Carpóforos de <i>P. ostreatus</i> creciendo en sustratos semi compostados. 1:Nivel 2 del tratamiento sin remoción del material, 2: Nivel 1 del tratamiento con remoción del material.	67

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Materiales evaluados como sustratos para <i>P. ostreatus</i> y su eficiencia biológica.	12
Cuadro 2. Relación de las proporciones de los materiales utilizados como sustratos para el cultivo de <i>P. ostreatus</i>	31
Cuadro 3. Caracterización fisicoquímica de tres subproductos vegetales para ser utilizados como sustratos en el cultivo de <i>P. ostreatus</i>	39
Cuadro 4. Medias del crecimiento y Tasa de Extensión Radial (mm) de la cepa <i>P. ostreatus</i> cultivada en Acahual (A), Bagazo (B), Olote (O), AB, AO, ABO y BO durante diez días.....	42
Cuadro 5. Características morfológicas coloniales de la cepa <i>P. ostreatus</i> sembrada en Acahual (A), Bagazo (B), Olote (O), AB, AO, ABO y BO.....	44
Cuadro 6. Eficiencia biológica, tasa de producción y rendimiento promedio de los tres niveles en el semi composteo sin remoción del material (T1).	64
Cuadro 7. Eficiencia biológica, tasa de producción y rendimiento promedio de los tres niveles en el semi composteo con remoción del material (T2).	65
Cuadro 8. Comparación de Eficiencia Biológica, Tasa de Producción y Rendimiento de los tratamientos de semi composteo con y sin remoción del material.....	66

1 INTRODUCCIÓN

En los últimos 10 años la producción de hongos comestibles ha tenido una creciente demanda en el mercado nacional, ya que de generar 27,825 t en 1995 aumentó a 38,708 en 2006 (Huerta *et al.*, 2009). El hongo “seta” *Pleurotus ostreatus*, es una de las especies más producidas por sus características organolépticas, facilidad de cultivo, alto valor nutricional, y poseer propiedades medicinales anti tumorales, diabéticas e inflamatorias (Chang y Miles, 2004).

La producción mundial de *Pleurotus* hasta el 2006 se estimó en 1×10^6 t año⁻¹, mientras que en México ascendió a más de 5,000 t año⁻¹ colocándolo como el mayor productor de Latinoamérica, con ganancias superiores a los 200 millones de dólares y generando alrededor de 25 mil empleos directos e indirectos (Gaitán-Hernández *et al.*, 2007).

Tradicionalmente *Pleurotus* se cultiva sobre pajas de cereales, pero estas no siempre están disponibles en todas las regiones (Pérez-Merlo y Mata, 2005) por lo que se buscan alternativas de uso de nuevos sustratos y mezclas (Uhart *et al.*, 2008) que puedan mejorar los rendimientos, optimizando la estructura del sustrato (granulometría, porosidad), disponibilidad y accesibilidad de los nutrientes (Sánchez y Mata, 2012).

En el estado de Oaxaca, la actividad agrícola de temporal más importante es el cultivo de Maíz *Zea Mays* (INEGI, 2007) que en 2009 tuvo una producción de 1×10^9 t año⁻¹, (SAGARPA, 2010). Se estima que por cada tonelada de maíz, después de ser desgranado para su consumo, se generan 170 kg de un subproducto conocido como “olote” (Córdoba *et al.*, 2013) que ocasionalmente es usado como combustible o para la alimentación animal. Otra actividad de importancia es la producción de mezcal a partir del Maguey *Agave Angustifolia* Haw, de la cual se obtiene un subproducto de desecho tradicionalmente llamado “bagazo”, que tan solo en 2011 (Martínez *et al.*, 2012) generó 131 764 t, y al formarse grandes volúmenes se vuelven fuente de fauna nociva y pueden ser vehículo de problemas

de salud pública. Por otro lado, en diversos cultivos o terrenos agrícolas abandonados crecen comúnmente subproductos o malezas no deseados, como el Acahual *Simsia* sp., siendo su corte e incineración la manera utilizada para su eliminación (CONABIO, 2009). Debido a que estos tres subproductos no han adquirido alguna utilidad potencial, pueden considerarse para su aprovechamiento por medio de procesos para generar alimento humano, como las setas, con beneficios ecológicos, económicos y sociales.

Si bien la selección de sustratos es de suma importancia, aplicarles el tratamiento adecuado para disminuir la cantidad de organismos nocivos que pudieran venir en el material y compitan con el hongo por espacio y nutrientes, es crítico. Los sustratos son sometidos a un tratamiento térmico, que comercialmente se realiza mediante la pasteurización por aplicación de vapor a 60 a 80°C, por 6 y 12 h, o también de 100°C por 1 h, esto proporciona una mejor protección a contaminantes, pero su costo es elevado. La pasteurización por inmersión en agua caliente a 75 a 80°C durante 1 h es otro procedimiento utilizado, pero por un efecto de lixiviación se pierden nutrientes aprovechables para *Pleurotus*; ambos métodos utilizan gas o leña como combustible. Otro, sencillo y, de bajo costo es la pasteurización por inmersión alcalina, que consiste en sumergir el sustrato por 12 a 48 h en agua con cal ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) sin embargo otorga una baja efectividad en la eliminación de contaminantes bacterianos y no impide la proliferación de los huevos y pupas de moscas (Barrios-Espinoza *et al.*, 2009).

Debido a esto, (Villa *et al.*, 1999) desarrollaron un método “ecológico” de pasteurización por autocalentamiento, dirigido a la producción rústica y que consistía en un composteo tradicional incompleto (Apilar, cubrir con plástico y remover manualmente) que no desperdiciaba agua, ni necesitó de energías convencionales ya que el calor requerido se generaba por acción de microorganismos y su metabolismo sobre el sustrato, obteniendo resultados satisfactorios, sin embargo presentó como inconveniente no poder controlar factores bióticos, físicos y ambientales, su tiempo era prolongado y no era

uniforme, lo que no aseguró un tratamiento adecuado. Por tanto, Hernández, et al., (2003) determinaron que era necesario el uso de un contenedor para controlar tales factores, y construyeron un cajón de madera de 1m³, mejorando considerablemente los resultados obtenidos anteriormente, Barrios-Espinoza *et al.*, (2009) y Sánchez *et al.*, (2011) replicaron este método, no obstante, para la remoción y aireación había que sacar todo el material del contenedor con una pala, posteriormente llevarlo a una mezcladora y nuevamente regresarlo al contenedor, lo que resultaba tedioso, requería mucho esfuerzo físico dada la cantidad de material que se utilizaba (100 kg) y el manipular el sustrato tantas veces podía ocasionar un cruce de contaminantes, Avendaño y Hernández (2013) en condiciones rurales no lograron alcanzar las temperaturas necesarias, así que agregaron una capa de 2 cm de poliuretano al contenedor de madera, por lo que probar otros tipos de sustratos, otras condiciones ambientales y determinar si la remoción era necesaria resultó preciso y recomendable para hacer más inferencias sobre este método.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Determinar parámetros fisicoquímicos, morfológicos, productivos, y de semi-composteo en subproductos vegetales utilizados como sustratos en el cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

2.2 Objetivos Específicos

Determinar características fisicoquímicas de tres subproductos vegetales para su uso como sustratos de *P. ostreatus* y su comparación con los valores de referencia.

Utilizar *in vitro* tres subproductos vegetales como medios de cultivo para conocer su efecto sobre el crecimiento y las características morfológicas miceliales de *P. ostreatus*.

Evaluar y seleccionar el tratamiento más eficiente en la producción de carpóforos de *P. ostreatus* utilizando tres subproductos vegetales como sustratos.

Modificar el contenedor para el semi composteo y analizar su influencia en la evolución de parámetros durante el proceso de pasteurización por autocalentamiento.

Determinar la incidencia de contaminantes y producción de cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* en el sustrato semi compostado.

3 MARCO TEÓRICO

3.1 El Cultivo de Hongos Comestibles

El cultivo de hongos comestibles es una actividad que se ha desarrollado desde hace más de 200 años en Europa con el cultivo del champiñón *Agaricus bisporus* y en Asia con el cultivo de especies como *Lentinula edodes* y *Auricularia* (Sánchez y Royse, 2001). En el 2007, la producción mundial superó los 7 millones de toneladas de hongos comestibles cultivados frescos por año, cuyo valor económico aproximado supera los 30 billones de dólares, dentro de los países productores destacan China, Holanda y Estados Unidos (Sánchez *et al.*, 2007).

En Latinoamérica, México es el país con mayor producción de hongos, ya que genera alrededor del 60% de la producción total de la región, lo que lo ubica como el 16o. productor a nivel mundial. El monto anual de las operaciones comerciales supera los 200 millones de dólares, generando alrededor de 25 mil empleos directos e indirectos, además la importancia ecológica de esta actividad económica radica en la utilización y reciclaje de más de 474,000 t anuales de subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales. La mayor proporción de producción, 95.35% corresponde a *Agaricus* (blanco: 44,931.5 t año⁻¹ ; café: 328.5 t año⁻¹), seguido por *Pleurotus* con 4.62% (blanca, gris, café: 2,190 t año⁻¹), y *Lentinula edodes* con 0.038% (18.2 t año⁻¹) (Sánchez *et al.*, 2007).

Comparativamente, en 2004, el volumen de producción de hongos comestibles en México fue superior al de cacao (43,974 t año⁻¹), equivalente al de ajo (47,917 t año⁻¹), y poco inferior al del chícharo (53,717 t año⁻¹), del tomate cherry (54,592 t año⁻¹), y de las hortalizas (62,487 t año⁻¹), también es relevante la comparación con los equivalentes orgánicos de estos productos, tales como el café cereza orgánico (31,571 t año⁻¹). La producción orgánica de hongos comestibles cultivados es cada día mayor, se desarrolla a un nivel más acelerado, y representa una importante ventaja competitiva del producto a corto plazo (Sánchez *et al.*, 2007).

Pleurotus se ha destacado por una rápida aceptación en el mercado y un crecimiento igualmente rápido en la agroindustria más que cualquier otro de los géneros cultivados hasta ahora debido a la diversidad de sustratos sobre los que es capaz de crecer, además de permitir apreciar de manera directa el impacto benéfico de cultivar hongos para el aprovechamiento de desechos agrícolas (Sánchez y Royse, 2001)

México es pionero en el cultivo de este género en América Latina, a pesar de haber sido cultivado comercialmente por menos de 30 años, en la última década los niveles de producción aumentaron alrededor de 400 por ciento. En 2007 se produjeron en el país cerca de 4 mil t de *Pleurotus* (Sánchez *et al.*, 2007).

3.1 El Cultivo de *Pleurotus ostreatus*

3.2.1 El género *P. ostreatus*

P. ostreatus, conocido popularmente como “seta” en México y algunos países Latinoamericanos (a diferencia de España, donde se denomina seta a cualquier hongo) u orejas blancas, orejas de palo, orejas de patancán, orejas de cazahuate y orejas de izote, es un hongo basidiomiceto del orden de los Agaricales y familia de las *Tricholomataceae*. Cada hongo está formado por una serie de finos filamentos llamados hifas, que en conjunto forman lo que se denomina micelio, bajo condiciones favorables de humedad y temperatura, este micelio extendido sobre un sustrato adecuado, se transforma en pequeños grumos que van aumentando de tamaño hasta formar la típica seta, carpóforo o cuerpo fructífero (Figura 1) formado por el estípite (pie) que generalmente es corto, o lateral, engrosado gradualmente hacia el lado del sombrero o píleo, y algunas veces no se presenta. Generalmente mide alrededor de 2 cm de largo, 1 a 2 cm de grosor, y es blanquecino. El píleo (sombrero) puede medir entre 5 y 12 cm de diámetro, es

liso convexo, raramente redondo, casi siempre en forma de ostra o concha, puede presentar escamas hacia el centro o en la base y los cuerpos fructíferos son por lo general concrecentes. El himenio (láminas) son muy decurrentes, anastomosadas en la base, anchas, blancas y algunas veces amarillas. La fructificación tiene la función de producir las estructuras de reproducción llamadas esporas cuya misión es perpetuar la especie (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006).

De manera natural, las setas crecen en troncos en descomposición, es decir se alimentan de materia orgánica degradando las sustancias con enzimas que liberan al medio húmedo que les rodea. Artificialmente *P. ostreatus* se ha cultivado en una gran cantidad de materiales obtenidos como subproductos, y pueden ser producidos en un corto periodo de tiempo, a bajo costo y en áreas reducidas, sin embargo es importante que se suministren los más adecuados para que los nutrientes puedan ser aprovechados por las hifas del micelio, además de contar con la temperatura y humedad correctas, así como aire que aporte oxígeno y cierta cantidad de luz (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006).



Figura 1. Esquema General de un cuerpo fructífero de *P. ostreatus*.

3.3 Proceso de Producción de *P. ostreatus*

El proceso de producción de *P. ostreatus* se ha determinado en dos fases: Laboratorio y producción. La primera involucra la obtención de la cepa y preparación de inóculo, mientras que en la otra se lleva a cabo la preparación del sustrato, siembra, incubación, fructificación y cosechas.

Ambas fases se esquematizan de manera general en la Figura 2 y se describen a continuación de acuerdo a lo establecido por Gaitán-Hernández *et al.* (2006).

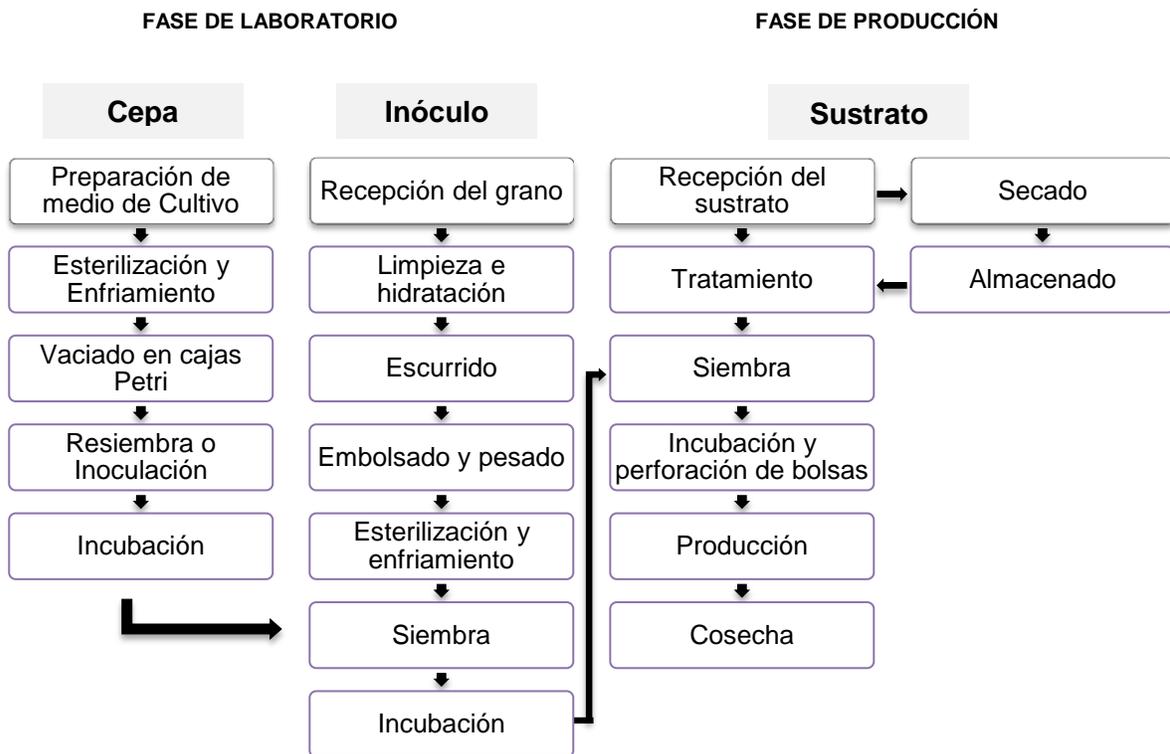


Figura 2. Esquema general del proceso de cultivo de *P. ostreatus* (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006).

3.3.1 Obtención de la cepa

El proceso para el cultivo de hongos inicia con la obtención del micelio (forma algodonosa) al cual se le llama cepa, a partir de hongos seleccionados por germinación de esporas o haciendo crecer un fragmento del tejido interno de un hongo en un medio de cultivo sólido que le proporcione los nutrimentos necesarios para su desarrollo (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006). La mejor velocidad de crecimiento para *Pleurotus* se presenta en el medio agar extracto de malta (MEA) (Barrios-Espinoza, 2007).

3.3.2 Elaboración del inóculo

La preparación de inóculo o semilla se refiere a la propagación o desarrollo masivo del hongo en granos y se realiza en dos etapas de acuerdo a Gaitán-Hernández *et al.*, (2006):

Inóculo primario: Es la propagación del micelio en semillas a partir de una cepa crecida en medio de cultivo.

Inóculo secundario: Es la propagación del micelio en semillas a partir del inóculo primario, es decir, es la multiplicación del micelio para disponer de una mayor cantidad para su siembra en el sustrato elegido para la producción de hongos.

La elección de los granos o semillas para la producción de inóculo dependerá de su disponibilidad, bajo costo y calidad. Se pueden emplear semillas de sorgo, trigo, centeno, cebada, avena, mijo y arroz, entre otros (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006).

3.3.3 Selección del sustrato

P. ostreatus es capaz de crecer en materiales lignocelulósicos debido a que ha desarrollado las enzimas necesarias para romper la lignina mediante las reacciones mediadas por la ligninasa (LPI) y manganeso peroxidasa extracelular (Kirk y Farrel, 1987).

Debido a que los residuos lignocelulósicos que generan las actividades agrícolas, agroindustriales y forestales basadas en el sistema de producción continua pueden llegar a acumularse y convertirse en un riesgo para el equilibrio ecológico, (ya que los procesos de biodegradación natural no funcionan a la misma velocidad con la que se estos se generan) se han estudiado más de 200 de estos materiales posibles para el cultivo de *P. ostreatus* (Ardon, 2007), estos se han clasificado en: Esquilmos agrícolas, subproductos agroindustriales, residuos forestales y desechos lignocelulósicos urbanos. En el cuadro 1 se muestran diferentes Eficiencias Biológicas (EB) obtenidas para *P. ostreatus* sobre distintos sustratos.

Cuadro 1. Materiales evaluados como sustratos para *P. ostreatus* y su eficiencia biológica.

Material (Sustrato)	Eficiencia Biológica (%)*
Bagazo de caña de azúcar	142.7
Bagazo de maguey tequilero	113.6
Hojarasca de parques y jardines	66.9
Olote de maíz	50.5
Paja de cebada	106.4
Paja de trigo	142.6
Pulpa de café	159
Rastrojo de maíz	150
Rastrojo de frijol	137.6
Viruta de pino	44.3

(Sánchez *et al.*, 2007) * Relación entre la cantidad de hongos frescos obtenidos y el sustrato utilizado en base seca.

Es indispensable conocer la disponibilidad, abundancia, buen precio de adquisición y facilidad de transporte del material en la región en donde se piensa cultivar *Pleurotus*, además de tomar en cuenta los siguientes factores para el sustrato:

3.4 Características de los sustratos

3.3.4.1 Tamaño de partícula

El tamaño de partícula afecta el crecimiento y fructificación porque se relaciona con la accesibilidad a los nutrientes, al agua y al aire por parte de las hifas del hongo. Los tamaños de partícula muy pequeños dificultan la aireación necesaria para la respiración y los tamaños muy grandes son inadecuados porque dificultan la compactación del sustrato y el acceso del hongo a los nutrientes. Un tamaño de partícula de 2 a 5 cm son los valores más citados y los que proporcionan la mejor estabilidad (Muez y Pardo, 2001).

3.3.4.2 pH

El potencial de hidrógeno del medio donde crece un hongo influye directamente sobre éste porque incide sobre el carácter iónico del medio, las proteínas de la membrana y la actividad de las enzimas ligadas a la pared celular; es decir, su metabolismo. Para el crecimiento de *Pleurotus* se han citado rangos de crecimiento entre 4 y 7 de pH con un óptimo entre 5 y 6. Este valor sin embargo suele variar entre cepas y especies (Sánchez y Royse, 2001).

3.3.4.3 Humedad

El contenido de humedad en los sustratos influye directamente sobre el desarrollo de los hongos porque afecta la disponibilidad de nutrientes. Los hongos tendrán un crecimiento óptimo en sustratos que tengan 70-80% de humedad, debajo de estos porcentajes el micelio crecerá de manera irregular, con poco vigor y se ve más fácilmente afectado por organismos competidores, y con una humedad superior al 80%, el micelio disminuirá su crecimiento ya que se encuentra en condiciones anaerobias debido al exceso de agua (Guzmán *et al.*, 1993).

3.5 Preparación del sustrato

Es una actividad que acondiciona al sustrato para disminuir la flora microbiana nociva que está presente en ellos y de esta manera evitar que existan pérdidas de material por contaminación y la baja o escasa colonización del sustrato por organismos competidores de espacio y nutrientes (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006).

Existen más de seis técnicas de preparación de sustratos para *P. ostreatus* con la función de disminuir la contaminación, como la esterilización, la pasteurización o la aplicación de un tratamiento químico, y se aplican de acuerdo al tipo de tecnología que se realice: una de tipo industrial y otra rústica (Guzmán *et al.*, 1993) sin embargo al efectuar esto también pueden haber cambios bioquímicos en el sustrato que lo afecten positiva o negativamente, Fracchia *et al.*, (2009) mencionan que después de la pasteurización de distintos sustratos se han encontrado los géneros que más compiten con *Pleurotus* spp. son *Penicillium* y *Trichoderma*, esto probablemente porque la ruptura parcial de la celulosa y la hemicelulosa, las pone a mayor disposición de los competidores.

Las técnicas más utilizadas son: Pasteurizado por vapor, inmersión en agua caliente e inmersión alcalina.

3.5.1 Pasteurización por inmersión en agua caliente

El sustrato se sumerge en agua caliente (75 a 80°C) durante 1 h. (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006). El sumergir el sustrato en agua puede tener diferentes consecuencias, según el material utilizado, existe un efecto de lixiviado durante la inmersión que puede resultar en pérdida de nutrientes aprovechables para *Pleurotus* además de ser ineficiente desde el punto de vista energético (lo que la hace operable sólo cuando se trabaja a muy pequeña escala) y produce aguas residuales altamente contaminantes.

3.5.2 Pasteurización con vapor

Consiste en colocar el sustrato en un área cerrada, y se le aplica vapor generado por una caldera eléctrica, de diesel o gasolina, por medio de tubos de cobre o mangueras resistentes al calor. Se recomienda que la temperatura alcance entre de 70 a 80°C y que el sustrato se mantenga de 2 a 4 h en esa condición. Al cabo de este tiempo se suprime el vapor y se deja la ventilación para que el sustrato se enfríe. La pasteurización por vapor es un método que requiere más inversión que la inmersión en agua porque necesita al menos de un generador de vapor (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006).

Es importante que la temperatura de pasteurización se mantenga estable, ya que si se eleva demasiado puede ocasionar cambios en la composición química del sustrato provocando la solubilización de azúcares simples, con lo que predispone al sustrato a una mayor invasión de hongos contaminantes que impiden el buen desarrollo del hongo seta. De manera contraria, al pasteurizar a temperaturas inferiores de 55 °C se evita destruir organismos competidores presentes en el sustrato (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006).

3.5.3 Pasteurización por inmersión alcalina

Es un método sencillo y de bajo costo, que consiste en sumergir el sustrato por 12 a 48 h en agua con cal hidratada y que funciona bien a baja escala; pero que tiene como inconveniente importante el otorgar una baja efectividad en la eliminación de ciertos contaminantes bacterianos y porque no impide la proliferación de los huevos y pupas de moscas que pudieran venir en el sustrato. La inmersión alcalina es efectuada normalmente a temperatura ambiente y no suministra calor por lo que su selectividad se basa únicamente en proporcionar alcalinidad a la materia prima (Barrios-Espinoza *et al.*, 2009).

3.5.4 Composteo

El composteo como tratamiento para el sustrato se ha usado con éxito en el cultivo del champiñón y se basa en la transformación biológica y controlada de diversas sustancias orgánicas a través de un proceso aerobio por parte de microorganismos para convertirlo en un producto estable sin patógenos.

El composteo es un ecosistema con calor propio generado; la temperatura dentro de la composta se incrementa debido al calor liberado por la actividad metabólica, que se acumula y disipa en el ambiente. Este proceso consiste en proporcionar humedad al sustrato, haciendo que los microorganismos presentes en el material se activen, comiencen a atacar la capa cerosa y ayuden al correcto desarrollo del micelio, así como la reducción de compuestos no deseados, como los taninos, fenoles, ácidos y resinas (Guzmán *et al.*, 1993). Lo notable de este método es que la preparación del sustrato no requiere un uso de energía convencional (leña, gas, etcétera) y la probabilidad de contaminaciones queda reducida.

Aspectos que influyen en el composteo

El proceso de composteo eficiente ocurrirá si las siguientes variables están en su valor óptimo, teniendo en cuenta que estas están influenciadas por las condiciones ambientales, el tipo de sustrato, la técnica y la manera en que se desarrolla la operación y la interacción entre ellas.

3.5.4.1. Relación C/N

Para la descomposición microbiana, el carbono y el nitrógeno son los elementos más importantes, el carbono porque proporciona energía y el nitrógeno por ser un componente de las proteínas, ácidos nucleicos, aminoácidos, enzimas y coenzima necesarias para crecimiento y función de la célula. La proporción de C/N recomendada para una composta es alrededor de 30, proporciones más bajas producen pérdidas de nitrógeno en forma amoniacal, causando olores indeseables y en proporciones más elevadas existen insuficiencias de nitrógeno, lo que origina un crecimiento débil de las poblaciones microbianas por tanto, la composta permanecerá relativamente fría y la degradación será lenta.

3.5.4.2 Temperatura

La temperatura determina la velocidad y el tipo de microorganismos que degradan el material, el proceso puede dividirse en tres períodos, de acuerdo al avance de la temperatura:

- Mesofílica o fase temperatura-moderada
- Termofílica o de alta temperatura
- Enfriamiento

La descomposición inicial es realizada por los microorganismos mesofílicos presentes que abaten los compuestos solubles (fácilmente degradables), se produce calor en la composta y la temperatura se eleva rápidamente, alrededor de 40°C estos microorganismos llegan a ser menos competitivos y son sustituidos por los termofílicos (Trautmann *et al.* 2007).

Durante la fase termofílica, las temperaturas aceleran la ruptura de proteínas, grasas, y carbohidratos las moléculas estructurales principales de las plantas (Hernández *et al.*, 2003). En las temperaturas arriba de los 55°C, se destruyen muchos microorganismos patógenos. Las temperaturas por encima de los 65°C matan muchas formas de microbios y limitan la tasa de descomposición

Como el suministro de estos compuestos de alta energía se agotan, la temperatura de la composta disminuye gradualmente y los microorganismos mesofílicos se presentan nuevamente para la última fase de maduración de la materia orgánica restante (Martin y Gershuny, 1992).

La diversidad de microorganismos es un requisito indispensable para un adecuado composteo, donde se han estudiado poblaciones de bacterias, hongos y, actinomicetos.

3.5.4.6 Bacterias

Las bacterias constituyen la mayor parte de los microorganismos en el composteo (80 a 90 %) y son responsables de la mayoría de la descomposición y generación de calor, usando un rango químicamente amplio de enzimas para degradar una variedad de materiales orgánicos. Al principio del proceso de composteo (0 a 40°C), las bacterias mesofílicas prevalecen, las bacterias en forma de *Bacillus* dominan las poblaciones microbianas durante esta fase. La diversidad de especie de bacilos es bastante elevada a temperaturas de 50-55°C pero disminuye considerablemente a 60°C o más (Boulther *et al.*, 2000).

En general cuanto más larga sea la fase de maduración, más diversa será la comunidad microbiana que exista.

3.5.4.7 Actinomicetos

Los organismos de este grupo se asemejan a los hongos, pero son bacterias filamentosas. Son más comúnmente vistos cerca del final del proceso, de 10 a 15 centímetros en el exterior del material. En el composteo desempeñan un papel importante en degradar complejos orgánicos tales como celulosa, lignina, quitina y proteínas. Estos microorganismos aparecen en condiciones aerobias, humedad y pH ligeramente alcalino durante la fase termofílica (Trautmann *et al.* 2007).

3.5.4.8 Hongos

La mayoría de los hongos se clasifican como saprófitos porque viven sobre el material muerto y obtienen energía degradando la materia orgánica, dentro de ellos se encuentran los mohos y levaduras, que son responsables de la descomposición de muchos compuestos complejos. Se separan y crecen vigorosamente produciendo células y filamentos, pueden atacar los residuos orgánicos que son demasiado secos, ácidos y bajos en nitrógeno para la descomposición bacteriana. Los hongos tienen un rol limitado durante el proceso de composteo, debido a que son eliminados a temperaturas cercanas a 50°C, y sólo algunos pocos han podido desarrollarse arriba de los 62°C (Miller, 1991).

3.5.4.9 Protozoarios

Los protozoarios obtienen su alimento de la materia orgánica de la misma manera que las bacterias, pero también actúan como consumidores secundarios que ingieren bacterias y hongos (Richard *et al.*, 1999).

3.5.4.3 Humedad

El agua es requerida por los microorganismos para desarrollar sus funciones metabólicas, además, es utilizada como vehículo de transporte de nutrientes y productos de desecho. El contenido de humedad del material para un desarrollo óptimo del composteo debe estar entre 50 a 65%. Un contenido de humedad debajo del 45% o arriba de 65% hace que el proceso sea más lento. Si el material está cerca de condiciones de saturación (arriba del 70%) el proceso se detiene y comienza una fermentación anaerobia que producirá ácidos o compuestos tóxicos, olores desagradables y lixiviación de nutrientes lo cual, inhibiría el crecimiento de los hongos (Richard *et al.*, 1999).

3.5.4.4 Aireación

La eficiencia de la descomposición del material está estrechamente relacionada con la aireación. En ausencia de aireación la velocidad de descomposición se ve reducida, el proceso se vuelve anaerobio y produce olores indeseables además de que los microorganismos consumirían grandes cantidades de azúcares que darían lugar a metabolitos secundarios, los cuales a su vez podrían resultar tóxicos para *Pleurotus*. Para mantener el composteo aerobio se consideran concentraciones de oxígeno mayor que 10% y comunmente se utilizan métodos de aireación natural, aireación pasiva, aireación forzada y mezcla mecánica (remoción) (Hernández, 2003).

3.5.4.5 pH

Durante el proceso de composteo se incrementa el pH y este induce el crecimiento de hongos y la ruptura de la lignina y celulosa. El pH óptimo para los microorganismos de la composta oscila entre 5.5 y 9.0, y el de las bacterias que participan en la fermentación aeróbica crecen entre 6.0 y 7.5, mientras que para los hongos se necesitan de 5.5 a 8.0 (de Bertoldi *et al.*, 1983)

3.6 Semi Composteo para la Pasteurización por autocalentamiento

Por analogía al proceso de composteo de los sustratos para producir champiñón, se ha intentado preparar sustratos para el cultivo de *Pleurotus* utilizando un método similar, sin embargo, este tratamiento no puede ser llamado compostaje debido a que los objetivos de estos dos procesos son muy diferentes: El compostaje es un proceso largo que implica la mineralización y humificación parcial de la materia orgánica, conduciendo a un producto final estabilizado, libre de sustancias fitotóxicas, y con ciertas características húmicas (de Bertoldi *et al.*, 1983) y el que se prepara para *Pleurotus*, denominado pasteurización por autocalentamiento (Sánchez *et al.*, 2011) se produce mediante un “Semi composteo” que consiste en el apilamiento del sustrato durante período de tiempo corto (dos días) y su objetivo es originar y mantener un aumento de la temperatura, generado por la acción de microorganismos y su metabolismo para reducir la mayoría de los organismos contaminantes.

Las condiciones de temperatura-tiempo, pH y humedad que se buscaron reunir para este proceso fueron temperaturas medias, debido a que son mejores que las altas para disminuir la incidencia de organismos contaminantes. Se requieren 5 h a 55°C para destruir la mayoría de moscas y nemátodos y 6 h a 60°C para destruir la mayoría de mohos verdes que puedan estar presentes en la materia prima (Hernández *et al.*, 2003).

Villa *et al.*, (1999) lograron obtener eficiencias biológicas del 68 a 72% al preparar una mezcla 1:1 de olote de maíz y pulpa de café, a la cual adicionaron 2% de cal ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) y sometieron a un composteo de siete días. Una mezcla adicional preparada por composteo también durante siete días y que ha dado mejores resultados (EB=125%) es la de paja 70% y pulpa de café 30%. En ambos casos se ajustó la humedad del sustrato a 70% al inicio del tratamiento.

Posteriormente Hernández *et al.*, (2003) desarrollaron el mismo método, pero con pasto Pangola (*Digitaria decumbens*) e introduciendo el sustrato en un cajón de madera de Temepixtle (*Ocotea sp.*) de 1 m³ con cuarenta y ocho orificios de 0,5 cm de diámetro en su base, y un diámetro de 20 cm, y 15 cm de largo chimenea central en la parte superior para permitir la aireación (Figura 3). Demostraron que la aplicación de este método era factible, y obtuvieron una eficiencia biológica del 93%, pero utilizando el sustrato del centro de la masa, ya que el tratamiento correcto no se consiguió en la capa inferior, lo cual indica que la variabilidad en un mismo lote puede conducir a que los carpóforos no crezcan en partes donde el sustrato no alcanzó la suficiente temperatura.

Barrios-Espinoza *et al.*, (2009) y Sánchez *et al.*, (2011) aumentaron la masa y el volumen de sustrato y utilizaron el mismo contenedor de madera en condiciones experimentales, obteniendo eficiencias biológicas de 102.9 y 111.9% en dos días.

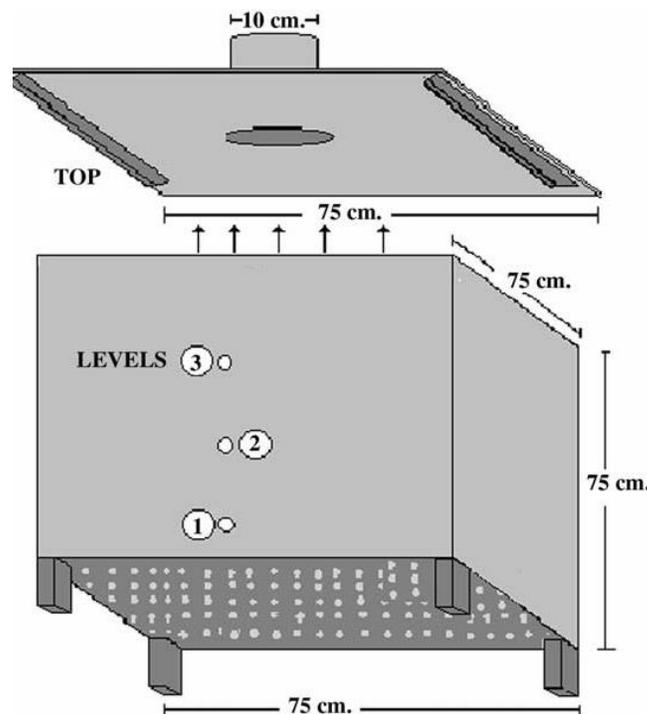


Figura 3. Contenedor de madera utilizado para el proceso de semi composteo.

Avendaño y Sánchez (2013) llevaron el método a condiciones rurales, pero no se lograba alcanzar la temperatura requerida, por tanto, añadieron una capa de 2 cm de poliuretano alrededor del contenedor para mejorar y mantener la temperatura generada con lo que obtuvieron eficiencias biológicas de 53.5 -111.9%.

Debido a que en el proceso se consideró necesaria la remoción del material para mejorar la aireación, el sustrato era sacado del cajón de madera, llevado a una mezcladora, y posteriormente regresado, lo que resultó tedioso debido a la cantidad de material que se evaluaba, y por la constante manipulación del sustrato podía existir un cruce de contaminación.

3.7 Siembra

La siembra es la mezcla del inóculo con el sustrato, y se realiza en bolsas de plástico transparente. La cantidad de semilla que se utilice está en función a la cantidad de sustrato que se pretende inocular. Para *Pleurotus* se han utilizado de 0.8 a 15%, mientras más baja sea la tasa de inoculación, el tiempo requerido para que el hongo colonice el sustrato será mayor, lo que a su vez incrementa el riesgo de contaminación (Sánchez y Royse, 2001). Aproximadamente de 150 g de inóculo (3%) se requieren para sembrar 5 kg (peso húmedo) de sustrato (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006).

3.8 Incubación

La incubación consiste en proporcionar a las bolsas inoculadas las condiciones para que el sustrato sea colonizado por el hongo, llevándolas a un área limpia, oscura y con temperatura ambiental de 30°C (Sanchez y Royse, 2001). Al día siguiente de la siembra, a las bolsas se les hacen pequeñas perforaciones (20 a 40) distribuidas con un objeto punzocortante estéril para favorecer la oxigenación del hongo. Las bolsas se deben mantener en el área de incubación hasta que el micelio cubra todo el sustrato, lo que sucede en aproximadamente dos o tres semanas (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006)

3.9 Fructificación

Las bolsas completamente colonizadas serán trasladadas al área de fructificación, donde de dos a tres semanas se formarán los primordios, seguidos por el desarrollo de fructificaciones. Esta área debe ser limpia y exclusiva y las condiciones que deben mantenerse son temperatura, humedad, riego, ventilación, e iluminación (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006).

3.9.1 Temperatura

Una temperatura adecuada para el desarrollo del hongo incide directamente en el rendimiento obtenido. La temperatura óptima de fructificación de *P. ostreatus* varía entre los 20-28°C (Sánchez y Royse, 2001).

3.9.2. Humedad relativa

La humedad relativa es un factor sumamente importante en el desarrollo de un hongo. Para *P. ostreatus* la humedad entre los 80-90% es más adecuada para evitar que, tanto el sustrato como los cuerpos fructíferos se deshidraten (Sánchez y Royse, 2001).

3.9.3. Riego

Según Guzmán *et al.*, (1993) el riego es una actividad en la cual el cultivador debe saber cuándo, cuánto y de qué manera aplicarlo. Esta actividad es dirigida en cierta forma por el conocimiento, la experiencia y la sensibilidad del operario, y es tan importante y tan delicada, que de acuerdo al mismo autor, el agua y el riego son los que definen a un cultivador excelente de uno promedio. Generalmente es necesario aplicar riegos en el cuarto de fructificación en algunas horas del día para aumentar la humedad y evitar que el sustrato se reseque.

3.9.4. Ventilación

La renovación de aire debe ser constante por que el incremento de concentración de CO₂ afecta el desarrollo de *Pleurotus*; concentraciones superiores a 700 ppm, pueden producir un alargamiento del estípite o la no formación del píleo, y niveles superiores a 1,000 ppm pueden inhibir la fructificación, por lo tanto, es necesario encontrar un equilibrio que permita un desarrollo adecuado de los cuerpos fructíferos (Sánchez y Royse, 2001).

3.9.5. Luz

Es suministro luz es necesario para promover la fructificación de *Pleurotus*, este género requiere luz de longitud de onda corta. Cuando la iluminación es demasiado fuerte o muy prolongada afecta el desarrollo de las fructificaciones. 30 minutos al día de luz indirecta son suficientes para *P. ostreatus* (Sánchez y Royse, 2001).

3.9.6 Asepsia

Es importante mantener el lugar en constante revisión, ya que es común que los hongos comestibles sean atacados por insectos, pero principalmente por algunas moscas, como la de la fruta (*Drosophila melanogaster*) y ácaros (*Tarsomenus myceliphagus*), debido a que los hongos son cuerpos protéicos y por tanto estos se alimentan de ellos (Gea, 2001).

3.9 Cosecha

La cosecha se realiza cuando el hongo alcanza su mayor tamaño, sin que el borde del píleo se voltee hacia arriba. Se cortan con un objeto filoso justo en la base donde el tallo se une con el sustrato. La producción se da por oleadas, lo que significa que los hongos emergen abundantemente de tres a ocho días, después hay una fase estacionaria de diez a veinte días, y posteriormente vuelven a emerger. Se pueden obtener hasta 5 cosechas, pero para considerar los datos con 3 cosechas es suficiente, debido a que la mayor producción se da entre las primeras dos oleadas (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006).

4 METODOLOGÍA

4.1 Localización

El trabajo se llevó a cabo en el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) Unidad Oaxaca. Instituto Politécnico Nacional (17° 01'31.45" de latitud norte, 96° 43' 12.07" longitud oeste; altitud de 1526 msnm) Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca.

4.2 Materiales

Material Biológico

Cepa

Se utilizó la cepa *Pleurotus ostreatus* ECS-0152 proveniente de la colección micológica del Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR) Tapachula, elegida por ser una cepa con calidad comercial probada. Para su propagación y almacenamiento se resembró en agar extracto de malta (EMA) y se incubó a 25±3°C durante 7 días (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006).

Inóculo (Micelio)

El inóculo se obtuvo a partir de la propagación de la cepa ECS-0152 en granos de sorgo forrajero (*Sorghum vulgare*) previamente lavados y remojados en agua por 18 h. Se pesaron 300 g de sorgo en bolsas de polipapel transparentes de 18x25cm y se esterilizaron a 121°C (1.05 Kg/cm²) por 30 minutos. Posteriormente se incubaron a 25°C hasta que el micelio invadió por completo la semilla, aproximadamente por 15 días (Chang y Miles, 2004).

Material lignocelulósico

Acahual (*Simsia* sp.): Las plantas completas de acahual se cortaron en estado seco, cuando finalizó el cultivo de maíz de temporal establecido en el campo agrícola del CIIDIR-Oaxaca. También se colectó acahual de terrenos sin cultivo de maíz, del mismo campo experimental.

Bagazo de Maguey (*Agave Angustifolia* Haw): Se obtuvo del desecho del proceso de la obtención de mezcal proveniente del Palenque artesanal “Platas de Reyes” de San Juan Guelavía, Oaxaca y se secó al sol durante 3 días.

Usualmente los bagazos al ser utilizados para el cultivo de *Pleurotus* se han sometido a un proceso previo de fermentación aerobia para tener un sustrato más estable, sin embargo esto también genera mayor uso de recursos, costos, mano de obra y tiempo (Moda *et al.*, 2005), por lo tanto en este trabajo, el Bagazo de Maguey no fue sometido a este proceso, y se evaluó de forma como venía procedente del Palenque de producción de mezcal.

Olote de maíz (*Zea Mays*): Se obtuvo de la comunidad Río Jalapilla, Municipio de San Pablo Cuatro Venados y fue el material de desecho del desgrane del maíz que estos habitantes tradicionalmente consumen.

Los tres materiales se trituraron en un molino de martillos para homogenizar el tamaño de partícula de 3 a 5 cm (Sánchez *et al.*, 2011).

4.3 Caracterización fisicoquímica de los tres materiales

La caracterización fisicoquímica de los tres materiales se realizó mediante tres repeticiones, y se determinaron:

pH

Se tomaron 10 g de muestra de cada material y se disolvieron en 90 ml de agua destilada. Se dejaron reposar por 15 minutos (Sánchez *et al.*, 2011) y se midió la lectura con un potenciómetro HANNA ®.

Determinación de N

El Nitrógeno total (NTK) se determinó por el método microKjeldahl (AOAC, 1984). Los resultados se reportaron en base seca.

Determinación de cenizas, materia orgánica y carbono orgánico total

Se secaron 10 g de cada material durante 24 h a 105°C, posteriormente se pre incineraron e introdujeron en una mufla a 550°C por 1 h.

El material volátil se consideró materia orgánica (AOAC, 1984).

El carbono orgánico total (COT) se calculó a partir de los datos obtenidos en la determinación de cenizas aplicados a la siguiente fórmula: (Íñiguez *et al.*, 2011).

$$\%COT = (100 - \text{cenizas})/1.8$$

Relación C/N

La relación C/N se obtuvo con el Carbono y Nitrógeno total previamente calculados. Los resultados obtenidos se reportaron en base seca (Íñiguez *et al.*, 2011).

Densidad Real (DR)

Se determinó haciendo uso de los resultados dados por la calcinación de los tres materiales aplicados a la siguiente fórmula, considerando que estos tienen componentes orgánicos (materia orgánica (mo)) y minerales (cenizas (mm)) cuyas densidades reales son 1.5 y 2.65 g/cm³ respectivamente (Martínez *et al.*, 2002):

$$DR(g/cm^3) = \left(\frac{100}{\% \frac{mo}{1.45} + \% \frac{mm}{2.65}} \right)$$

Densidad Aparente (DA)

Se pesaron 100 g de cada material y se saturaron en dos anillas superpuestas sometidas a una tensión de 10 cm de columna de agua durante 48 h. Posteriormente estas fueron separadas y se pesó la anilla inferior con la muestra que esta ocupaba hasta el ras, se llevaron a peso constante y nuevamente se registró el peso. (Martínez *et al.*, 2002)

Los cálculos se realizaron con la fórmula:

$$DA(g/cm^3) = (B - A) \frac{100 - X}{100 V}$$

A= Peso de la anilla vacía, en gramos.

V= Volumen de la anilla, en cm³.

B= Peso de la anilla con material en g tras saturar y someter a tensión.

C= Peso de la anilla con sustrato seco.

X= Humedad del sustrato en %.

Con estos datos, fue posible calcular: **Capacidad de retención de agua (CRA)** (Martínez *et al.*, 2002):

$$\text{CRA (g agua/g sustrato seco)} = \left(\frac{B - C}{C - A} \right) \times 100$$

Espacio poroso total (EPT)

Se determinó tomando los valores de la DA y DR según la fórmula (Martínez *et al.*, 2002):

$$EPT = \left(1 - \frac{DA}{DR} \right) \times 100$$

4.4 Diseño de tratamientos y análisis estadístico

Se realizaron siete tratamientos con diferentes proporciones de los materiales, los cuales se describen en el cuadro 2. Cada tratamiento contó con cinco repeticiones, lo que generó un total de 35 unidades experimentales.

Cuadro 2. Relación de las proporciones de los materiales utilizados como sustratos para *P. ostreatus*.

Tratamientos	Materiales lignocelulósicos		
	Bagazo de Maguey	Olote de Maíz	Achual
1	0.333	0.333	0.333
2	0	1	0
3	0.5	0.5	0
4	0	0.5	0.5
5	0.5	0	0.5
6	1	0	0
7	0	0	1

Los tratamientos se representarán con letras mayúsculas de la siguiente forma:

Achual: A, Bagazo: B, Olote: O

Achual-Bagazo de Maguey: AB

Achual-Olote de Maíz: AO

Achual-Bagazo de Maguey-Olote de Maíz: ABO

Bagazo de Maguey-Olote de Maíz: BO

El análisis se realizó con el paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc. Cary, NC, EE.UU., 1998) y a los valores obtenidos se les aplicó un ANOVA. A las diferencias entre las medias de los tratamientos se aplicó la prueba de rangos múltiples de Tukey ($\alpha = 0.05$).

4.5 Pruebas *IN VITRO*

Determinación de tasa de extensión radial

Los tres materiales fueron nuevamente procesados en un molino Mini 100 Pulvex® y se homogeneizaron con un tamiz número 18 para obtener un tamaño de partícula fina, se hidrataron al 65% y se les agregó 2% de cal (Ca(OH)₂).

En cajas Petri de 90 mm de diámetro se colocaron 20g de cada tratamiento y se esterilizaron a 1.05 kg/cm³ (121°C) durante 30 minutos. Posteriormente se sembró un fragmento de 0.5 mm de la cepa al centro de cada caja y se incubaron a 25°C. A partir de las 48 horas de incubación se observó bajo un estereoscopio el crecimiento de las colonias miceliales, y se midieron al cuarto, sexto, y octavo día con un vernier Truper® marcando dos ejes cartesianos sobre la tapa de la caja, tomando como intersección el centro del fragmento sembrado. Los datos se sumaron y dividieron entre dos, con lo cual se obtuvo el diámetro promedio (mm) (Gaitán-Hernandez, 2005).

Los resultados se determinaron mediante la Tasa de Extensión Radial (Sánchez *et al.*, 2007):

$$TER = \frac{\sum_{i=1}^n (x_1 - \bar{x})(y_1 - \bar{y})}{\sum_{i=1}^n (x_1 - \bar{x})^2}$$

TER=Tasa de Extensión Radial; x=tiempo (h); y= radio de la colonia (mm) en el tiempo.

Determinación de las características macroscópicas miceliales

Las colonias miceliales se caracterizaron macroscópicamente cuando habían cubierto completamente la superficie de cada caja Petri. Las características tomadas para determinar su morfología fueron: color, textura, y densidad, de acuerdo a las categorías descritas por Gaitán-Hernández (2000) y Sobal *et al.*, (2007).

La determinación de la tasa de extensión radial y características morfológicas coadyuvaron a conocer la influencia y potencial de los sustratos sobre el crecimiento micelial de *P. ostreatus*, pero ya que los requerimientos varían según las etapas del cultivo, se evaluaron los mismos tratamientos para conocer su incidencia en la producción de cuerpos fructíferos.

4.6 Evaluación de producción de carpóforos

Se preparó 1 kg de sustrato (base seca) previamente hidratado al 65% con 2% de Ca(OH)_2 en bolsas de polipapel de 40x60 cm y se esterilizaron a 1.05 Kg/cm^3 (121°C) por 1 h (Gaitán-Hernández, 2005) de acuerdo a los tratamientos establecidos. Se inocularon al 3% e incubaron en condiciones de oscuridad a una temperatura de $25\pm 4^\circ\text{C}$ y una HR de 70 a 80%, a los dos días se realizaron perforaciones en las bolsas para permitir el intercambio gaseoso y se mantuvieron ahí hasta que el micelio cubrió el sustrato (20 días).

Al iniciar la aparición de primordios se trasladaron al área de fructificación, donde no se retiraron las cubiertas de plástico para evitar la pérdida de humedad, en condiciones semi controladas, con luz natural indirecta y riegos tres veces al día, la temperatura se mantuvo en $20\pm 5^\circ\text{C}$ y la HR 60 a 90%.

Se realizaron los cortes de los cuerpos fructíferos y la productividad de cada tratamiento se determinó pesando la cantidad de carpóforos obtenidos en tres cosechas, con lo cual se obtuvieron:

Eficiencia Biológica

La eficiencia biológica (EB) se determinó mediante la relación del peso fresco de los hongos cosechados respecto al peso seco del sustrato empleado, expresado en porcentaje de acuerdo a Barrios-Espinoza *et al.*, (2009):

$$EB = \frac{\text{Peso de cuerpos fructíferos frescos}}{\text{Peso del sustrato (Base seca)}} \times 100$$

Tasa de Producción

Se calculó mediante la relación que existe entre la EB y el tiempo de producción transcurrido entre la siembra y la tercer cosecha de cuerpos fructíferos (Barrios-Espinoza *et al.*, 2009).

$$TP = \frac{\text{Eficiencia Biológica}}{\text{Tiempo de producción}}$$

Peso promedio de los carpóforos

Se determinó el peso promedio de los carpóforos al dividir el peso (g) de los hongos frescos cosechados entre el número total de carpóforos (Barrios-Espinoza *et al.*, 2009).

Rendimiento

El rendimiento se obtuvo mediante la relación: (Barrios-Espinoza *et al.*, 2009)

$$R = \frac{\text{Peso en gramos de cuerpos fructíferos (base seca)}}{\text{gramos de sustrato (base seca)}}$$

4.7 Semi composteo para la Pasteurización por autocalentamiento

Los valores de productividad en la producción de carpóforos fueron indicadores para elegir al mejor tratamiento y ser evaluado mediante la pasteurización por autocalentamiento por el método de semi composteo.

Características del contenedor de madera

La propuesta de este trabajo fue hacer uso de la metodología de diseño conceptual para optimizar el Cajón de madera utilizado por Barrios-Espinoza *et al.*, (2009) y Sánchez *et al.*, (2011) mejorando el cumplimiento de las funciones, como la aireación, remoción y manipulación del material. Avendaño y Sánchez (2013) propusieron añadir una capa de poliuretano al cajón de madera para mejorar la retención del calor generado, sin embargo, en este caso se optó no incluirlo para evaluar el comportamiento del proceso en las condiciones ambientales del lugar.

El diseño preliminar se realizó con el software Autocad ® versión 2010 siendo el contenedor (Figura 4) de forma semi circular y teniendo como principales dimensiones 1.53x1.50 m y 1.30 m altura, donde 0.80 m fueron la base de fierro para el soporte. La puerta de entrada del material fue de 0.48 m en la parte superior y la puerta de descarga de 1.26 m en la parte inferior. Su capacidad de carga fue calculada para 200kg/lote, la remoción fue mecánica (manual) con una manivela que mueve ocho aspas internas de acero inoxidable distribuidas en el equipo. La aireación estuvo dada por 50 orificios de 0.5 cm de diámetro distribuidos en la parte inferior, además de 3 orificios del mismo diámetro a 10 cm de distancia entre ellos en la parte frontal para la medición la temperatura y toma de muestras. A partir de tal, en este trabajo se denominará “Contenedor de madera” a este equipo.

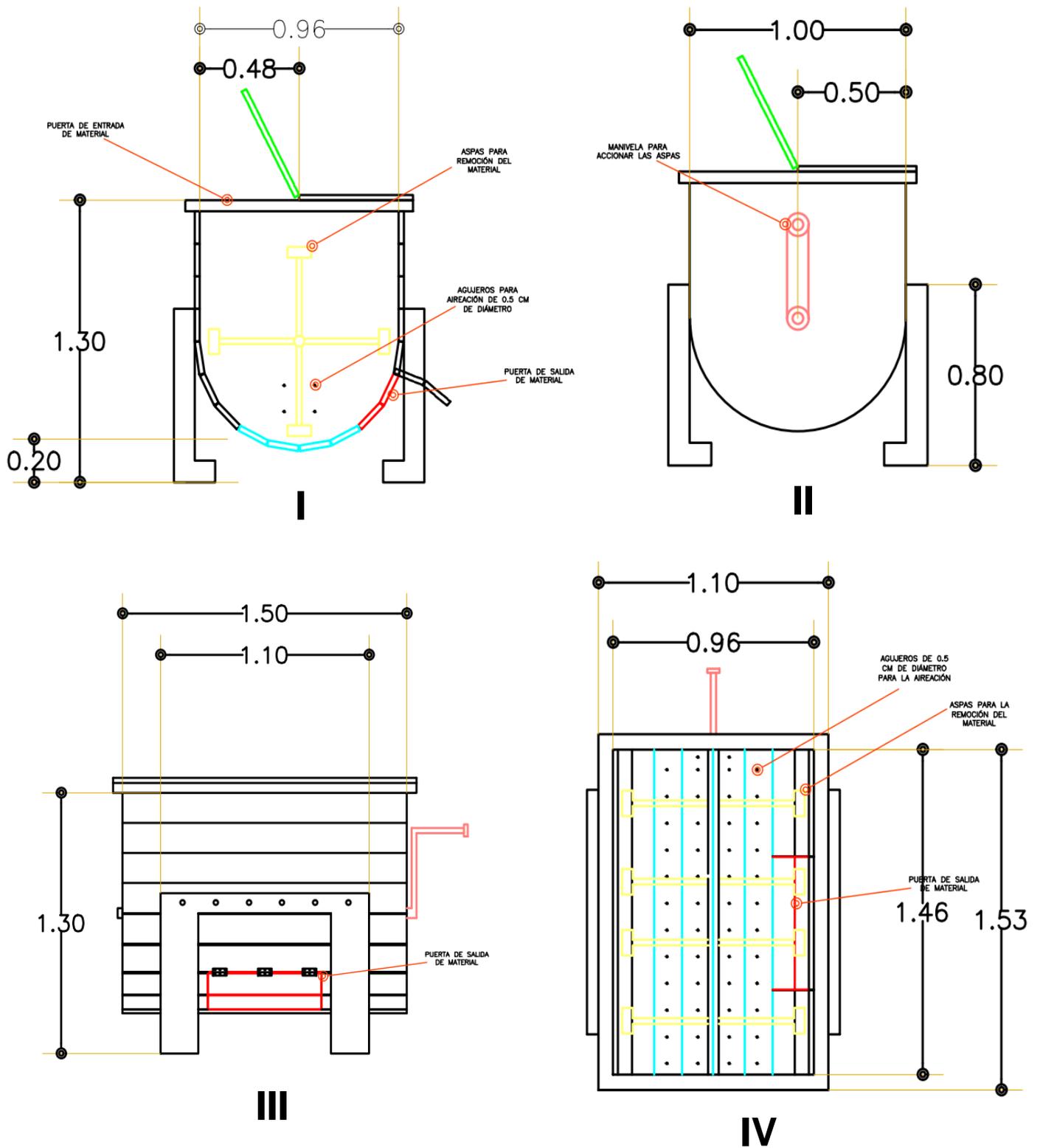


Figura 4. Diseño del Contenedor de Madera. I: Corte transversal. II: Vista lateral. III: Vista frontal. IV: Vista en planta.

Una vez construido el Contenedor de madera, se llevó a cabo el proceso de semi composteo, dividiendo en tres niveles el contenido: **Nivel 1:** 1/3 del material que está en la parte superior, **Nivel 2:** al centro y **Nivel 3:** 1/3 del material que está en la parte inferior del equipo (Avendaño y Sánchez, 2013) el cual consistió en dos experimentos de 150 kg de la mezcla Acahual-Bagazo hidratada al 65% con el 2% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, en dos modalidades:

T1) Contenedor estático (Sin remoción del material)

T2) Contenedor con remoción del material ¹

Evaluación de parámetros en el semi composteo

Durante el proceso de semi composteo se midieron: *pH, humedad y temperatura del material.*

Para determinar el pH y la humedad se tomaron muestras por triplicado en tres momentos del proceso:

- a) Material húmedo antes del tratamiento
- b) A las 24 h (T1), después de la remoción (T2) en los tres niveles
- c) Finalizando el semi composteo (antes de la siembra del hongo)

La temperatura del material en proceso se midió cada 3 h con termómetros de sonda que permanecieron dentro durante los días del proceso a una profundidad de 30 cm en los tres orificios acondicionados.

La humedad y temperatura relativa se midió con la ayuda de un termo-higrómetro digital marca HOBO U23 Pro v2 durante todo el tiempo del semi composteo.

¹ Durante la remoción hubo un problema de facilidad de mover el sustrato, por lo que fue necesario ir abriendo espacio con ayuda de un rastrillo para manipular correctamente la manivela interna.

El tratamiento finalizó cuando en ambas modalidades el material alcanzó una temperatura superior a 55°C por al menos 10 h, como indican Barrios-Espinoza *et al.* (2009) y Avendaño y Sánchez (2013). El sustrato se dejó enfriar a temperatura ambiente y cada nivel del sustrato (1, 2 y 3) fue sembrado por separado, llenando bolsas de 50x60 cm con 5kg de sustrato inoculadas al 3%.

Después del tiempo de incubación, y fructificación, los carpóforos de *P. ostreatus* producidos en el sustrato semi compostado fueron evaluados nuevamente mediante la EB, TP, y Rendimiento.

Contaminación

Una vez que el micelio colonizó el sustrato (15-20 días después de la siembra) se contaron las bolsas contaminadas por cada nivel/tratamiento y se observó el porcentaje del área contaminada en relación a la superficie total colonizada (Avendaño y Sánchez, 2013).

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización Físicoquímica

Los valores del pH (Cuadro 3) del Bagazo de Maguey (5.91) y Olote (5.85) presentaron una diferencia significativa ($p=0.0159$) respecto al Acahual (6.48), a pesar de la diferencia, estos valores se encuentran dentro del rango óptimo para el crecimiento de *P. ostreatus* que es de 5.5 a 6.5 según Stamets (2000).

Cuadro 3. Caracterización físicoquímica de tres subproductos vegetales para ser utilizados como sustratos en el cultivo de *P. ostreatus*.

	Acahual	Bagazo de Maguey	Olote	Valores de referencia
pH	6.48±0.27 a	5.91±0.17 b	5.85±0.31 b	5.5-6.5 ¹
COT %	53.42±0.96 a	45.03±0.34 a	54.36±0.37 a	93.4 ²
N % (b.s)	0.59±0.17 a	0.47±0.15 ab	0.69±0.08 a	0.7-1.2% ³
C/N	70.54±0.16 b	41.31±0.64 c	78.78±0.80 a	>50 ³
EPT (% v/v)	92.80±0.24 a	72±0.81 b	93.60±0.12 a	---
CRA (ml L⁻¹)	74.39±0.49 a	60.44±0.54 b	76.52±0.31 a	70-80% ⁴

Letras diferentes entre filas indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba Tukey ($\alpha=0.05$).

¹Stamets (2000)

²Muez y Pardo (2001) en paja de trigo.

³Dundar *et al.*, (2009)

⁴Guzmán *et al.*, (1993)

El carbono que es la fuente directa de energía para el metabolismo del hongo, fue estadísticamente igual para los tres materiales ($p=0.0473$), obteniendo 53.42% en el Acahual, 45.03% en el Bagazo y 54.36 sobre el Olote, estos valores se encuentran por debajo de lo reportado para la paja de trigo (93.4%) que es el sustrato más utilizado a nivel comercial para *Pleurotus* (Muez y Pardo, 2001), sin embargo

Respecto al contenido de Nitrógeno, el análisis estadístico mostró que el Olote (0.69%) y Acahual (0.59%) fueron diferentes ($p=0.4352$) del Bagazo de Maguey (0.47), Iñiguez *et al.*, (2011) mencionan que es común que los bagazos, como el de agave contengan poco contenido de nitrógeno, aún así este último valor es menor a lo encontrado por Heredia-Solís *et al.*, (2014) quienes reportan contenidos de 0.54% y 0.73% en bagazo de *Agave Salmiana* y *Agave weberi* utilizados para el cultivo de *Pleurotus*. Así mismo, los tres materiales están ligeramente por debajo del rango óptimo (0.7-1.2%) (Dundar *et al.*, 2009) para obtener los mayores rendimientos en el cultivo de este hongo.

La relación C/N en los tres materiales fue estadísticamente diferente ($p=0.0001$), el Olote tuvo la relación mayor (78.78), consecutivamente el Acahual (70.54), y en el Bagazo (41.31) se encontró la menor. Las relaciones C/N de las mezclas se estimaron a partir de los valores individuales, y se obtuvieron: AB: 55.92, AO: 74.66, BO: 60.05 y ABO: 95.32. Dündar *et al.*, (2009) mencionan que la relación C/N dependerá de la fase en la que se encuentre el hongo, altas relaciones C/N serán favorables en los periodos de colonización, mientras que niveles bajos son requeridos durante el desarrollo de cuerpos fructíferos. Rajarathnam (1986) sugiere que la relación C/N debe mantenerse al menos mayor o igual a 50.

El espacio poroso total (EPT) y la capacidad de retención de agua (CRA) se determinaron a partir de los valores de densidad real (DR) y aparente (DA), los datos obtenidos del EPT fueron estadísticamente igual entre el Acahual y Olote

(92.8 y 93.6%), diferenciándose del Bagazo, donde se obtuvo el 72% ($p=0.0001$). Pardo *et al.*, (1999) y Chiejina y Olufokunbi (2010) indican que un sustrato con porosidad alta es preferente ya que este parámetro favorece a un mejor peso del hongo por el hecho de presentar menor compactación y permitir el intercambio gaseoso.

La CRA de un sustrato que sea del 70 al 80% ayuda al crecimiento óptimo de *Pleurotus*, ya que contribuye a la disponibilidad de nutrientes, mientras que contenidos inferiores al 50% o mayores al 80% tienen un efecto negativo al crecimiento, esto último debido a limitar la respiración del hongo Guzmán *et al.*, (1993), el análisis estadístico no mostró una diferencia significativa ($p=0.0004$), entre el Acahual (74.39%) y Olote (76.52%), pero si respecto al Bagazo (60.44%) siendo este último el único que estuvo por debajo de lo óptimo.

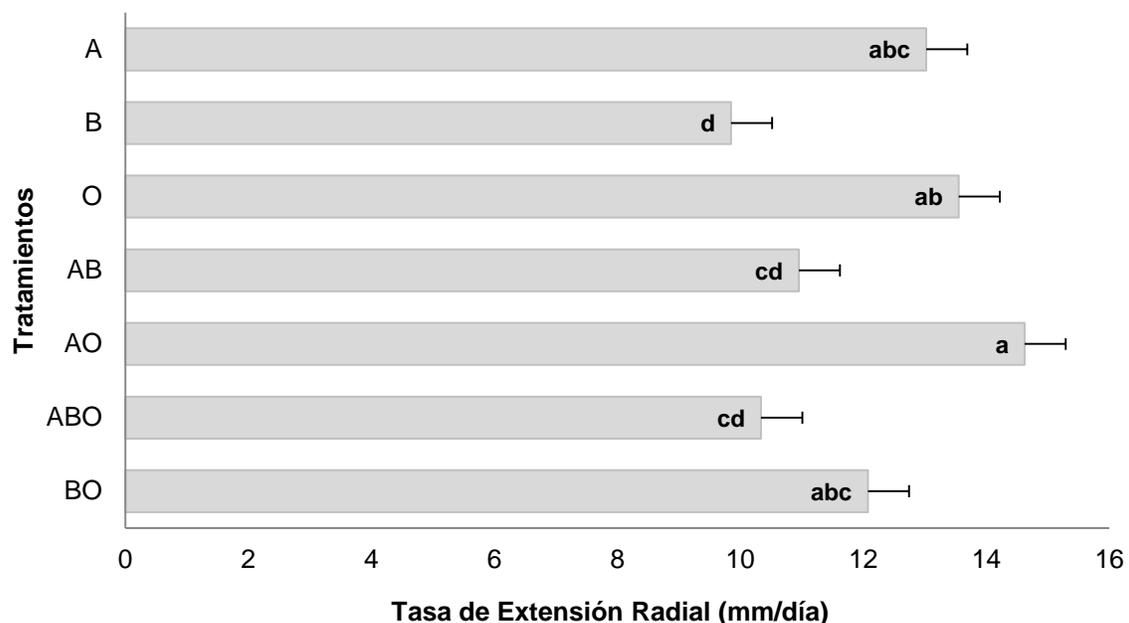
Ensayos *in vitro*

Al preparar los materiales para el ensayo *in vitro* (65% humedad + 2% de cal) el pH inicial se modificó, y se obtuvieron valores superiores al neutro. El Acahual alcanzó el 8.01, el Bagazo 7.21 y el Olote 7.64, de acuerdo a Sánchez (1994) esto resulta beneficioso ya que no afecta el crecimiento de *Pleurotus*, pero sí de sus principales contaminantes (*Trichoderma* y *Verticillium*) ya que estos se ven reducidos en un pH 7 y se inhiben a 8.5, por lo que actualmente al preparar los sustratos se prefiere que tengan valores más alcalinos que los recomendados.

Determinación de tasa de extensión radial

Los resultados del crecimiento micelial *in vitro* de *P. ostreatus* utilizando los subproductos vegetales como sustratos fueron evaluados mediante una comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) donde las diferencias significativas de la tasa de extensión radial (TER) en cada tratamiento se muestran en el Cuadro 4.

Figura 5. Tasa de Extensión Radial media (TER) (mm) de la cepa *P. ostreatus* sembrada en Acahual (A), Bagazo (B), Olote (O), AB, AO, ABO y BO durante ocho días.



Letras diferentes entre barras indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba Tukey ($\alpha=0.05$).

La prueba estadística demostró que existió diferencia significativa ($p=0.0001$) entre las TER desarrolladas, separándolas en 5 grupos. La TER más alta (a) se obtuvo sobre AO (14.62 ± 0.87 mm/día), seguida por el Olote (ab) (13.53 ± 0.49 mm/día). En un tercer grupo (abc) estuvieron el Acahual y BO (13.02 ± 0.51 , 12.07 ± 0.10 mm/día), AB y ABO se situaron en el cuarto grupo (cd) (10.95 ± 0.24 y 10.33 ± 0.31 mm/día) y finalmente en el Bagazo (d) se registró el menor crecimiento (9.85 ± 0.27 mm/día).

Para *P. ostreatus* se han observado TER de 10.67 y 10.97 mm/día sobre medios naturales como pulpa de café y viruta de cedro (Bermúdez *et al.*, 2007) y en medios sintéticos (PDA) se tiene un registro de 11 mm/día (Sánchez y Royse, 2001), esto indica que los valores de TER en los sustratos aquí estudiados son óptimos, ya que son similares e incluso mayores.

Características morfológicas miceliales

La morfología de los micelios observada en los tratamientos en general fue similar. La cepa de *P. ostreatus* formó micelio blanco, algodonoso y con densidad regular, características concordantes para esta especie, según Stamets (1993).

Algunas diferencias observadas en el desarrollo del micelio fueron principalmente en los tratamientos de los sustratos individuales (Figura 5, Cuadro 5) ya que en el Acahual la textura fue compacta y de densidad baja al punto de ser casi imperceptible a simple vista, en el Bagazo en cambio, la textura fue aterciopelada y se observó un crecimiento muy denso, mientras que en el Olote el micelio fue compacto, pegado al sustrato, pero denso.

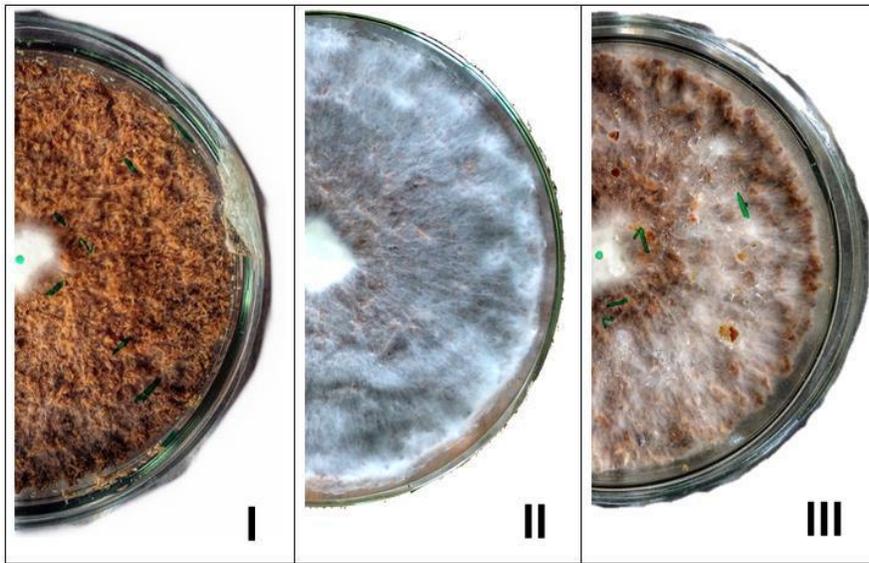


Figura 6. Características morfológicas de *P. ostreatus* creciendo *in vitro* en los sustratos I: Acahual, II: Bagazo de Maguey, III: Olote.

En los tratamientos donde los sustratos estaban mezclados (Figura 8, Cuadro 5) no se observaron diferencias considerables; en AB, BO y ABO se formó un micelio algodonoso y muy denso, al igual que en AO, sólo que en este último la densidad fue menor.

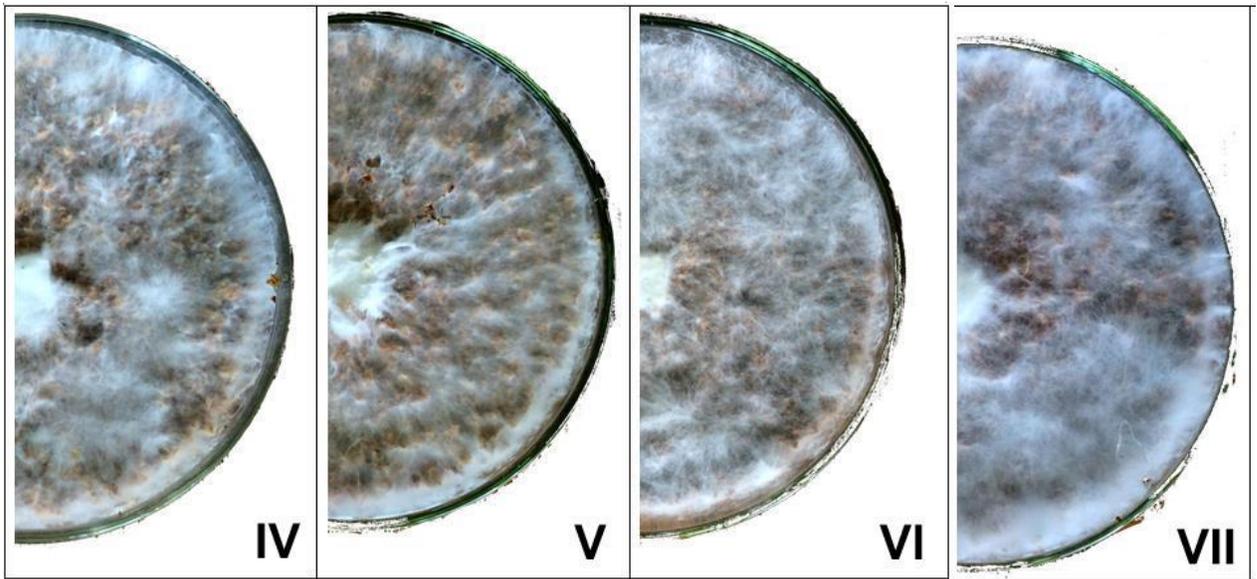


Figura 7. Características morfológicas de *P. ostreatus* creciendo *in vitro* en las mezclas de los sustratos IV: AB, V: BO, VI: AO, VII: ABO.

Cuadro 4. Características morfológicas coloniales de la cepa *P. ostreatus* sembrada en Acahual (A), Bagazo (B), Olote (O), AB, AO, ABO y BO.

	A	B	O	AB	AO	ABO	BO
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco
Textura	I	II	I	III	III	III	III
Densidad	+	+++	++	+++	++	+++	+++

I: Compacta, II: Aterciopelada, III: Algodonosa.

+ Poco denso, ++ Denso, +++ Muy denso.

Esto indica que los valores obtenidos en la cinética de crecimiento no necesariamente tienen que ver con el comportamiento morfológico colonial de *P. ostreatus*, puesto que, a pesar de que el tratamiento Acahual tuvo una densidad micelial baja, su tasa de extensión radial es intermedia, respecto a las demás, contrario al Bagazo, donde el micelio fue muy denso, sin embargo su crecimiento fue el más lento.

Producción de carpóforos

Días a producción

A partir del día que fueron inoculadas, las bolsas fueron colonizadas por completo de 15 a 20 días, que es el tiempo adecuado para que el sustrato no corra el riesgo de ser contaminado (Bermúdez *et al.*, 2007) y por tanto, que los hongos crezcan favorablemente. En cuanto a la aparición de primordios, las diferencias estadísticas ($p=0.0001$) los dividieron en tres grupos de acuerdo al tiempo en que emergieron. Primero el Acahual (a) (16 días), posteriormente AB (b) (18 días), a continuación en B, AO, ABO y BO (c) (21 días) y por último en el Olote (d) (25 días).

Cuadro 5. Tiempo (días) de aparición de los primordios utilizando como sustratos Acahual, Bagazo de Maguey y Olote en diferentes proporciones.

	Acahual (A)	Bagazo (B)	Olote (O)	AB	AO	ABO	BO
Tiempo (DÍAS)	16±0.81 a	21±0.81 c	25±0.80 d	18±0.81 b	21±0.80 c	21±0.82 c	21±0.50 c

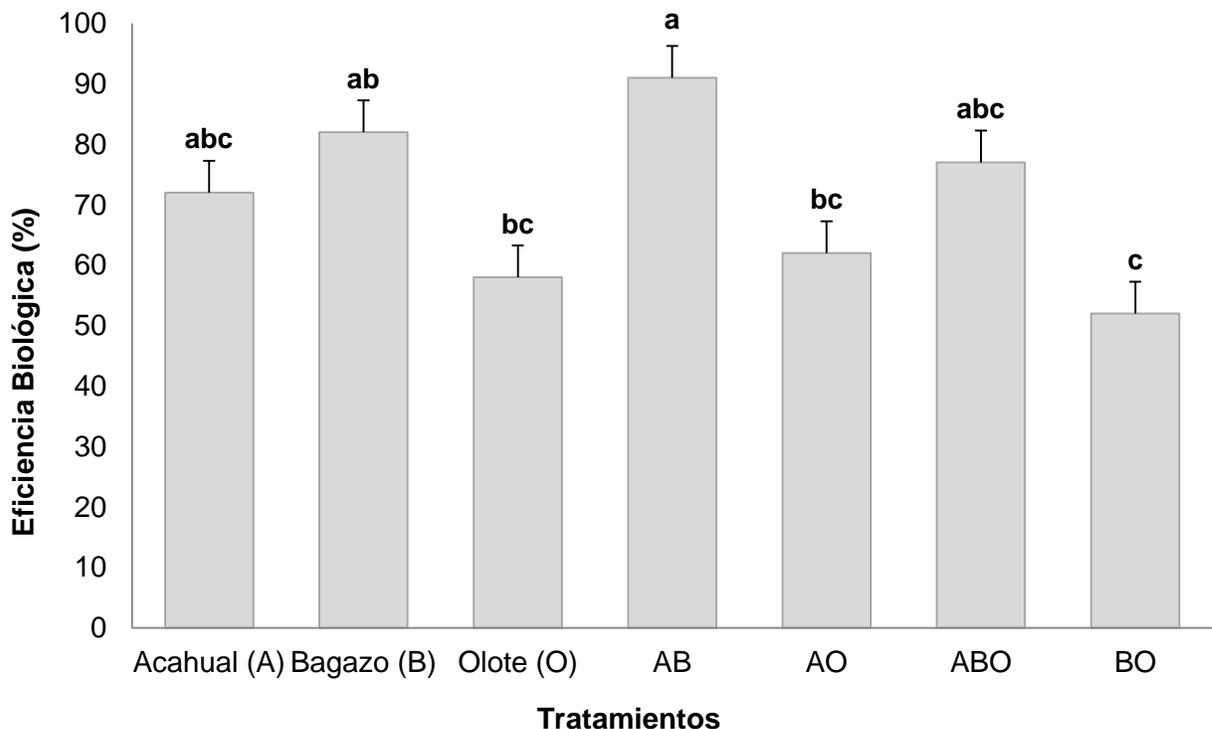
Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba Tukey ($\alpha=0.05$).

Algunos autores indican que el menor tiempo de aparición de los primordios no está relacionado con la velocidad de crecimiento micelial (Jacinto-Esteban y Burrola, 2007, Voguel y Salmones, 2000). Esto coincide con lo obtenido en este trabajo, debido a que en AO la cepa tuvo la mayor velocidad de crecimiento micelial, sin embargo fue en el Acahual y AB donde surgieron con mayor precocidad. Voguel y Salmones (2000) también indican que una mayor cantidad de N disponible, induce a la pronta fructificación de *Pleurotus*, sin embargo, aunque el Olote tuvo el mayor contenido de N, fue en este donde los primordios emergieron al último.

Aún así, los días de emergencia de los primordios fueron menores (excepto en el Olote) que los encontrados por Salmones *et al.*, (1997) sobre paja de trigo y pulpa de café (25 días), paja de trigo suplementada (23 días) (Voguel y Salmones, 2000) y pulpa de café (23 días) Martínez-Carrera *et al.*, (2001); esto indica que la precocidad utilizando Acahual, Olote y Bagazo solos o mezclados es sobresaliente.

Eficiencia Biológica

La eficiencia biológica evaluada para los siete tratamientos utilizando el Acahual, Bagazo de Maguey y Olote en diferentes proporciones como sustratos para el cultivo de hongos se muestra en la figura 7. El análisis estadístico mostró que existieron diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0.0009$), identificando cinco grupos. En el primero (a) se encontró el tratamiento AB (91%) que tuvo el valor más alto, el segundo (ab) el Bagazo (82%), en un tercer grupo (abc) se ubicaron ABO (77%) y Acahual (72%), el cuarto grupo (bc) correspondió a AO (62%) y Olote (58%). La menor EB se registró en BO (52%) (c). A pesar de que en la fase de incubación en el Bagazo la colonización del micelio visualmente fue de baja densidad, esto no afectó la generación de biomasa.



Letras diferentes entre barras indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba Tukey ($\alpha=0.05$).

Figura 8. Eficiencia biológica de *P. ostreatus* utilizando como sustratos Acahual, Bagazo de Maguey y Olote en diferentes proporciones.

A pesar que el menor tiempo de aparición de los primordios fue en el Acahual, se observó que esto no tuvo relación con una mayor EB; particularmente para este sustrato Marín *et al.*, (2010) reportan una EB de 64-87%, los valores obtenidos en este trabajo se encuentran dentro de este rango (70%). En el Olote la EB obtenida (58%) fue ligeramente superior a lo inscrito por Sánchez *et al.*, (2007) (50.5 %), y significativamente mayor al 15.94% que señalaron Vega y Franco (2012) sobre *P. pulmonaris*. El Bagazo de Maguey, que obtuvo la segunda mejor EB (82%) está dentro de los rangos obtenidos por Soto Velasco *et al.* (1989), Baena (2005), Nevárez (2012) y Heredia-Solis *et al* (2014): 60.2%, 97.36%, 113%, 70 y 40%, sin embargo, hay que tomar en cuenta que la variabilidad puede deberse a que han sido bagazos de *Agave tequilana* Weber, *Agave salmiana*, *Agave duranguensis* y *Agave weberi* respectivamente, por lo que las características de cada especie podrían influir en lo que esta proporcione al hongo para su crecimiento.

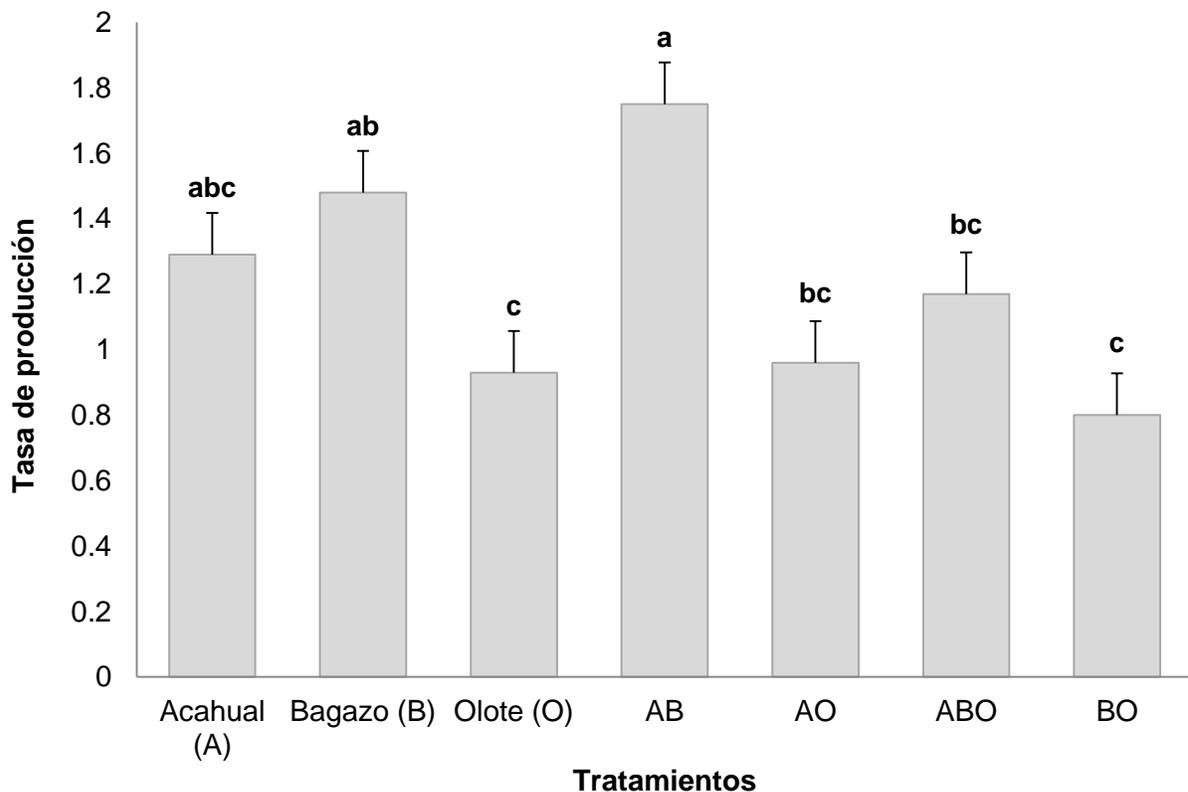
Las EB conseguidas en los sustratos solos, pueden ser comparables a las reportadas por Curvetto *et al.*, (2002), quienes obtuvieron una EB de 73.6% en cáscara de semilla de girasol, Omarini *et al.*, (2009) 80% en laurel (*L. nobilis*) y 30% en eucalipto (*E. cinnerea*), Cayetano-Catarino y Bernabé-González (2008) 81.7% sobre tallos secos de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), Romero *et al.* (2010) 82.9% utilizando pajilla de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y Mejia y Albertó (2012) en el bagazo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) 95.85%, sin embargo Forero *et al.*, (2008) mencionan que cuando se realizan mezclas, se mejoran las características nutricionales para producir fructificaciones, además como se mencionó en el apartado de la caracterización fisicoquímica, las relaciones C/N bajas (no menores a 50) se prefieren para la producción de carpóforos. Esto explica que la mezcla AB (C/N: 55.92) haya sido donde se obtuvo mayor producción de carpóforos. Las eficiencias biológicas aceptables para considerar a un sustrato como viable para cultivar *P. ostreatus* deben ser mayores al 50% (Sánchez y Royse, 2001) debido a que a partir de este valor, el cultivo de hongos comienza a ser económicamente rentable, lo que demuestra que los materiales aquí evaluados (solos y mezclados) son susceptibles de ser utilizados como potenciales como sustratos para el cultivo de *P. ostreatus*.



Figura 9. Crecimiento de carpóforos de *P. ostreatus*. 1: Primordios creciendo en Bagazo de Maguey. 2: Ramillete en la mezcla Acahual-Bagazo. 3: Cuerpos fructíferos desarrollados en el Acahual. 4: Peso de los hongos cosechados.

Tasa de producción

La Tasa de producción (TP) acumulada para los siete tratamientos se muestra en la figura 9. El análisis estadístico clasificó en cinco las diferencias presentadas ($p=0.0001$), en donde en el grupo (a) AB (1.75 ± 0.17) se obtuvo la mayor TP, seguida por el Bagazo (ab) (1.48 ± 0.21), consecuentemente en el Acahual (1.29 ± 0.14) (abc), el cuarto grupo (bc) estuvo conformado por AO (1.17 ± 0.0) y ABO (0.96 ± 0.10), y las menores TP obtenidas (c) fueron en el Olote (0.93 ± 0.02) y BO (0.80 ± 0.30).



Letras diferentes entre barras indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba Tukey ($\alpha=0.05$).

Figura 10. Tasa de producción de *P. ostreatus* utilizando como sustratos Acahual, Bagazo de Maguey y Olote en diferentes proporciones.

Las TP en general pueden ser comparables con las obtenidas por diferentes autores sobre diversos sustratos, Romero *et al.*, (2010) en hoja de plátano deshidratada y rastrojo de maíz reportaron una TP de 1.71 y 0.99 respectivamente, Pérez-Merlo y Mata (2005) citan una TP entre 0.63 y 1.13 en viruta de pino y paja de cebada, mientras que García *et al.*, (2006) lograron una TP de 0.62-4.50 en pulpa de café, y Flores (2012) en bagazo de yuca 0.79-1.31, lo que corrobora que las TP obtenidas se encuentran dentro de los parámetros de productividad aceptables para el cultivo de *Pleurotus*.

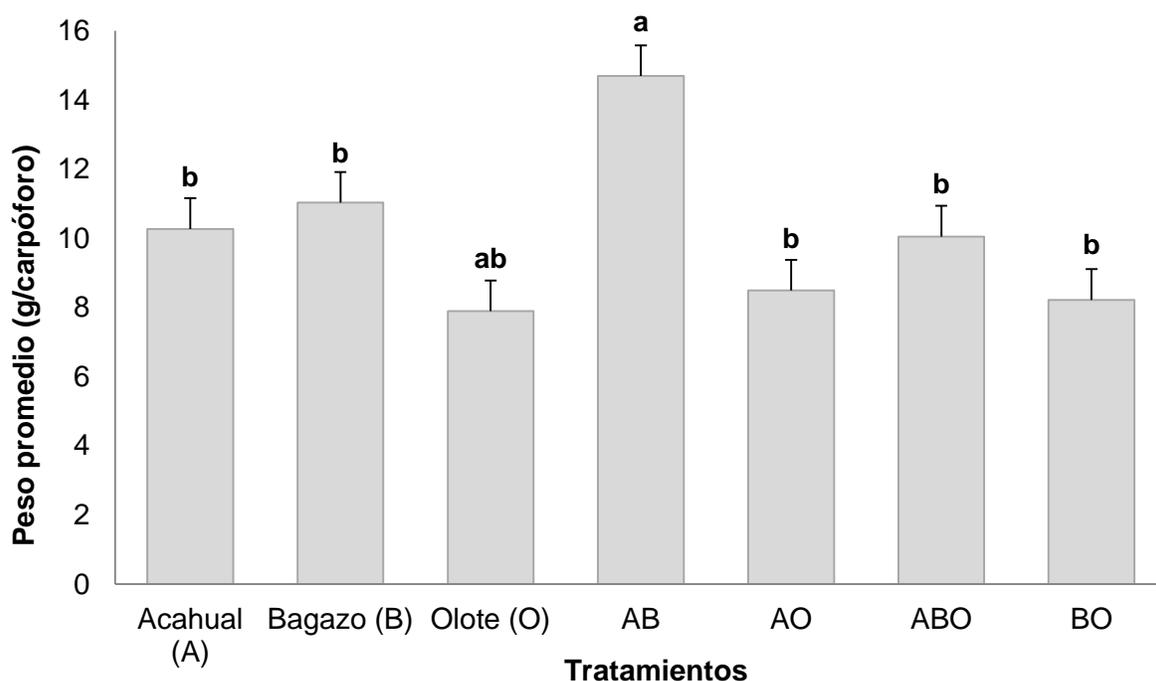
Debido a que los valores de TP se relacionan con la rentabilidad del cultivo, ya que una mayor producción en un tiempo más corto disminuye costos y espacio utilizable, se determinó el ciclo de producción de cada tratamiento, donde el Aachual tuvo 56.5 días, el Bagazo de Maguey 56, el Olote 63, la mezcla AB 52 días, AO 64, ABO 65.7 y BO 65.2. Salmones *et al.*, (1997) mencionan ciclos de cultivo comunes de 38 a 65 días sobre paja de cebada, por tanto, se puede inferir que la mezcla Aachual-Bagazo es la mejor para la producción de cuerpos fructíferos en un menor tiempo de cultivo y que BO es el menos recomendable, a partir de los resultados obtenidos.

La TP, a la vez, tiene una estrecha relación con la EB, como se observa en las figuras 9 y 10, los valores de ambas obtenidos en los tratamientos, estuvieron agrupadas de manera similar.

Peso promedio

La producción de hongos no solamente debe tener una productividad aceptable, sino también procurar la calidad del producto debido a que pesos bajos son de menor calidad y aceptación para el consumidor, el peso promedio (PP) de los carpóforos que se refiere al peso fresco de los hongos cosechados entre el número total de estos obtenidos en cada bolsa se muestran en la figura 10.

Los datos obtenidos del PP en tres cosechas se establecieron en cuatro grupos estadísticos diferentes ($p=0.0003$). El tratamiento AB (a) fue el donde se presentó el mayor peso promedio de los carpóforos (14.69 ± 0.49 g), en el segundo grupo (b) se concentraron los tratamientos Bagazo (11.03 ± 1.03 g), AO (10.58 ± 1.30 g), Acahual (10.27 ± 1.40 g), ABO (9.36 ± 0.64 g) y BO (8.62 ± 0.27 g), y el menor tamaño fue reportado en el tratamiento Olote (ab) (8.22 ± 2.66 g).



Letras diferentes entre barras indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba Tukey ($\alpha=0.05$).

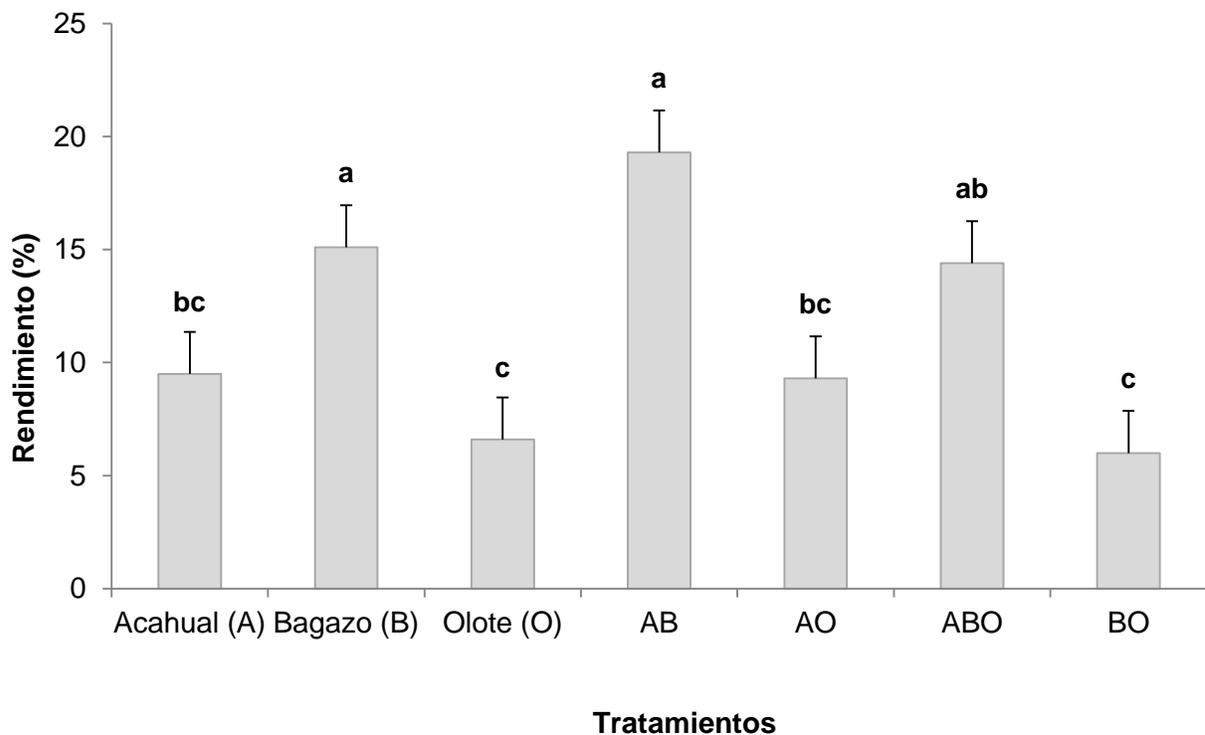
Figura 11. Peso promedio de los carpóforos de *P. ostreatus* cultivados en los sustratos Acahual, Bagazo de Maguey y Olote en diferentes proporciones.

Respecto a este parámetro, para *P. ostreatus*, Flores (2012) reporta un peso de 8.8g-12.5g en bagazo de yuca con paja de trigo, Garzón y Cuervo (2008) en café, aserrín, rastrojo de maíz y bagazo de caña de azúcar 1g-15g, lo que indica que el peso promedio de los carpóforos cosechados en este trabajo es similar e incluso superior a los anteriormente citados.

Sánchez y Royse (2001) señalan que, aunque el sustrato es un factor significativo para el peso de los hongos, este también puede darse por factores genéticos de cada cepa, ya que esta condición incide en la fructificación.

Rendimiento

El rendimiento en general proporciona un panorama más homogéneo y comparable entre los tratamientos (Flores, 2012) y se muestra en la figura 11. El análisis estadístico separó cuatro grupos considerándolos diferentes ($p=0.0001$). El grupo (a) indicó que el tratamiento AB fue donde se obtuvo el mayor rendimiento ($19.3\pm 0.30\%$) pero no presentó diferencia significativa con el Bagazo de Maguey (15.1 ± 0.60) en un segundo grupo (ab) estuvo ABO con 14.4 ± 0.80 , el tercer grupo (bc) lo constituyeron el Acahual y AO (9.5 ± 0.40 y $9.3\pm 0.18\%$), finalmente en el grupo (c) se establecieron el Olote y BO (6.6 ± 0.60 y $6\pm 0.80\%$) presentando los menores rendimientos.



Letras diferentes entre barras indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba Tukey ($\alpha=0.05$).

Figura 12. Rendimiento de *P. ostreatus* utilizando como sustratos Acahual, Bagazo de Maguey y Olote en diferentes proporciones

Los rendimientos obtenidos, 6-19.3%, son más altos que lo reportado al cultivar *P. ostreatus* en diferentes mezclas de madera de vid y orujo de uva (3.3-5.7%), y comparables con el uso de rastrojo de tomate y paja de trigo (7.6-8.3%), tallos secos de Jamaica, paja de arroz y pseudotallos de hojas frescas de plátano de (15.15-21.3%) (Sánchez, 2001; Sánchez *et al.*, 2008 y Cayetano-Catarino y Bernabé-González, 2008).

Con base a los parámetros medidos (EB, TP, PP y R) se observó la tendencia de valores más altos en la mezcla Acahual-Bagazo, por lo tanto, se eligió a tal como el mejor sustrato para ser evaluado en el semi composteo.

Semi composteo para la Pasteurización por autocalentamiento

pH

El valor del pH durante el proceso de semi composteo de la mezcla Acahual-Bagazo de Maguey donde no se realizó la remoción (T1), se muestra en la figura 12. El valor inicial fue de 8.64 en el nivel 1 y disminuyó a 8.4, en el nivel 2 fue de 8.6 hasta 8, y en el nivel 3 de 8.6 a 7.7, siendo en este último donde hubo mayor declive. En el segundo tratamiento, donde se removió el material (T2), el comportamiento del pH conforme avanzaba el tiempo también disminuyó en los tres niveles, en el nivel 1 inició con 8.1 y finalizó en 7.3, en el nivel 2 fue de 8.6 a 7 y el nivel 3 de 8.3 a 7, como se observa en la figura 13.

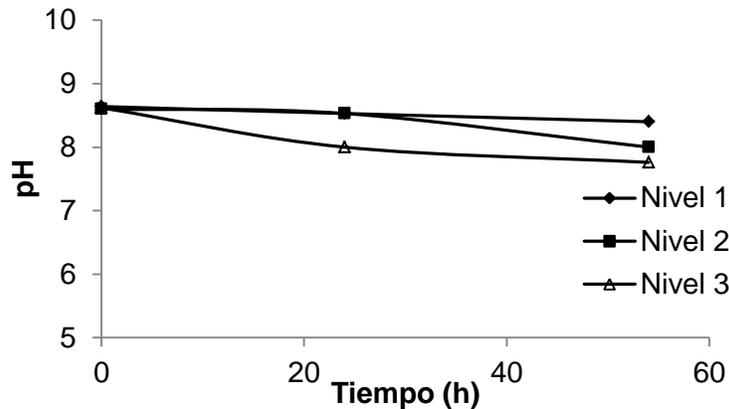


Figura 12. Evolución del pH durante el semi composteo sin remoción del material (T1)

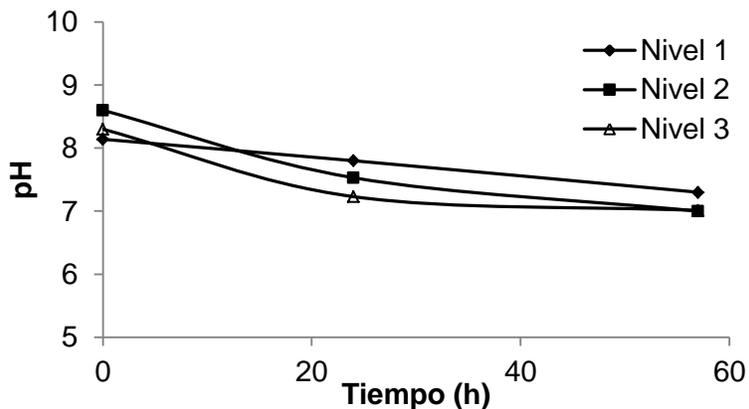


Figura 13. Evolución del pH durante el semi composteo con remoción del material (T2)

Hernández *et al.*, (2003) señalaron que al inicio del proceso, el pH disminuía ligeramente y después tendía a elevarse, por el contrario Barrios-Espinoza *et al.*, (2009), Sánchez *et al.*, (2011) y Avendaño y Sánchez (2013) obtuvieron únicamente un descenso (9.3 a 7.4; 9.5 a 7.5 y 8.7 a 8 respectivamente), similar a lo ocurrido en este estudio. Roca *et al.* (2009) explican que en el composteo es común que inicialmente el pH disminuya y conforme al tiempo se incremente, la diferencia entonces entre Hernández *et al.*, (2003) y este estudio, además de los anteriormente citados, reside en la diferencia de días de proceso.

En general los valores finales del pH se mantuvieron de 8.4-7, que son ligeramente alcalinos, los cuales no solamente están en lo recomendado para el desarrollo de *P. ostreatus* (7 a 8.5), sino también adecuan al sustrato para inhibir el crecimiento de posibles contaminantes como *Trichoderma* (Sánchez *et al.*, 2011).

Humedad

La humedad en el sustrato está relacionada con el aumento de temperatura en el semi composteo, de acuerdo a lo aludido por Sánchez, *et al.*, (2011). La humedad promedio del sustrato en el T1 se muestra en la figura 14 donde en el nivel 1 inicialmente fue de 68% y se redujo a 60%, en el nivel 2 de 67% a 64% y en el nivel 3 de 67% a 63%, lo que indica que en la parte superior hubo una mayor pérdida de humedad en el sustrato. En el T2 (Figura 15) el promedio de humedad inicialmente fue de 65% y disminuyó con el tiempo a 61% en el nivel 1, en el nivel 2 de 66% a 62% y en el nivel 3 de 66% a 62%.

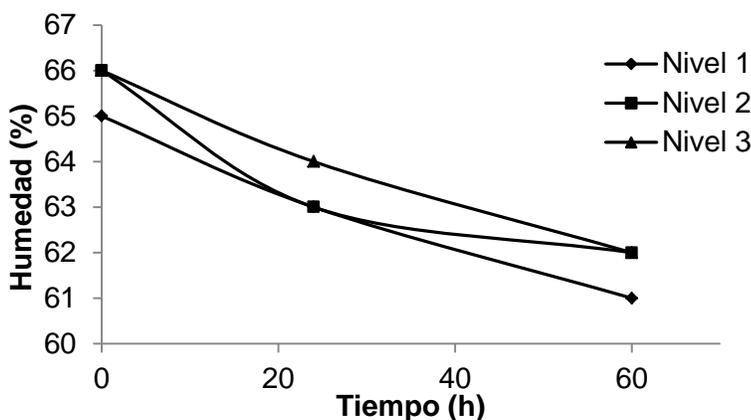


Figura 14. Evolución de la humedad en el sustrato durante el semi composteo sin remoción del material (T1)

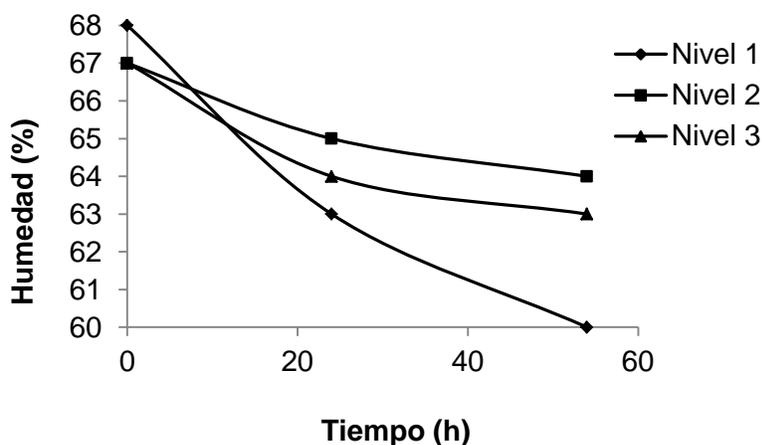


Figura 15. Evolución de la humedad en el sustrato durante el semi composteo con remoción del material (T2)

La aireación natural y forzada arrastró cierta cantidad de agua durante el proceso dando como resultado la pérdida de la humedad, esto es similar a lo expuesto por Hernández *et al.*, (2003) donde inició con un 70% de humedad y descendió al 58-61%, al igual que Barrios-Espinoza *et al.*, (2009) donde se redujo de 56 a 55%.

Sánchez *et al.*, (2011) determinaron que la humedad inicial en el sustrato que proporciona mayor estabilidad para que se lleve a cabo la pasteurización por autocalentamiento es cuando se tiene el 65%. Esta cantidad permite que se genere suficiente calor para inhibir microorganismos contaminantes, ya que valores de humedad inferiores o superiores no generan las temperaturas requeridas en los tres niveles, además prepara al sustrato para el adecuado desarrollo que requiere *P. ostreatus*.

Temperatura

La eficiencia del semi composteo para que se de la pasteurización por autocalentamiento depende primordialmente de las temperaturas que se alcancen en el proceso, en la figura 16 se muestra el comportamiento de la temperatura en el tratamiento sin remoción del material (T1) y en los tres niveles en los que fue dividido el sustrato. De manera general el aumento de temperatura se dio gradualmente en todos los niveles, sin embargo en el nivel 3 este aumentó ligeramente más rápido que en los demás, alcanzando los 50.2°C a las 39 h, posteriormente el nivel 2 llegó a 50.9°C a las 41 h y finalmente a las 45 h el nivel 3 consiguió los 50.9°C. Una vez que el sustrato alcanzaba los 50°C comenzó a estabilizarse. La temperatura más alta registrada en el tratamiento fue de 54.8°C (Nivel 3).

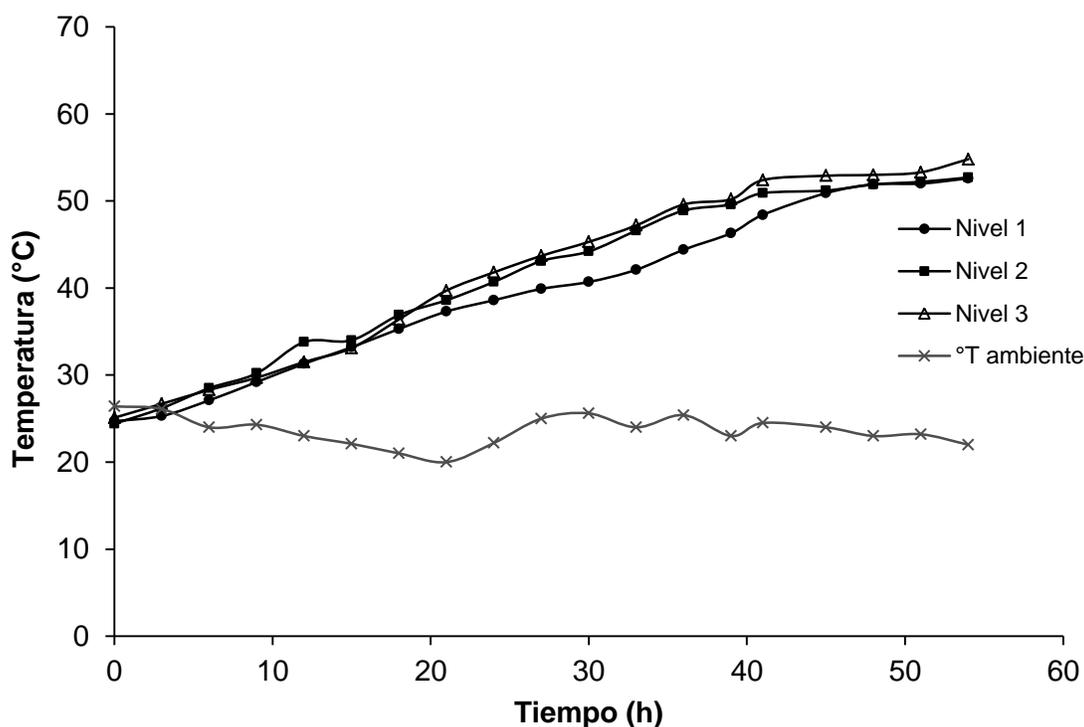


Figura 16. Comportamiento de la temperatura durante el semi composteo sin remoción del material (T1).

En el tratamiento donde se removió el material (T2) (Figura 17) el nivel 3 alcanzó los 50°C a las 33 h, posteriormente los niveles 1 y 2 a las 36 h (50.8 y 50.3°C respectivamente), en ese momento se realizó la remoción del material.

Debido a la remoción las temperaturas disminuyeron a 36.8°C en el nivel 1, 36.6°C en el nivel 2 y 37°C en el nivel 3, volviéndose equiparables en los tres niveles. El material, al no ser sacado del contenedor, comenzó a incrementar su temperatura nuevamente, y a las 51 h se alcanzaron los 50.9°C en el nivel 2, 50.3°C en el nivel 3 y a las 54 h 50.4°C en el nivel 1. Para este tratamiento, el proceso se detuvo a las 63 h. Temperaturas de 45-60°C son indicadores de un buen sistema de composteo (Trutmann *et al.*, 2007).

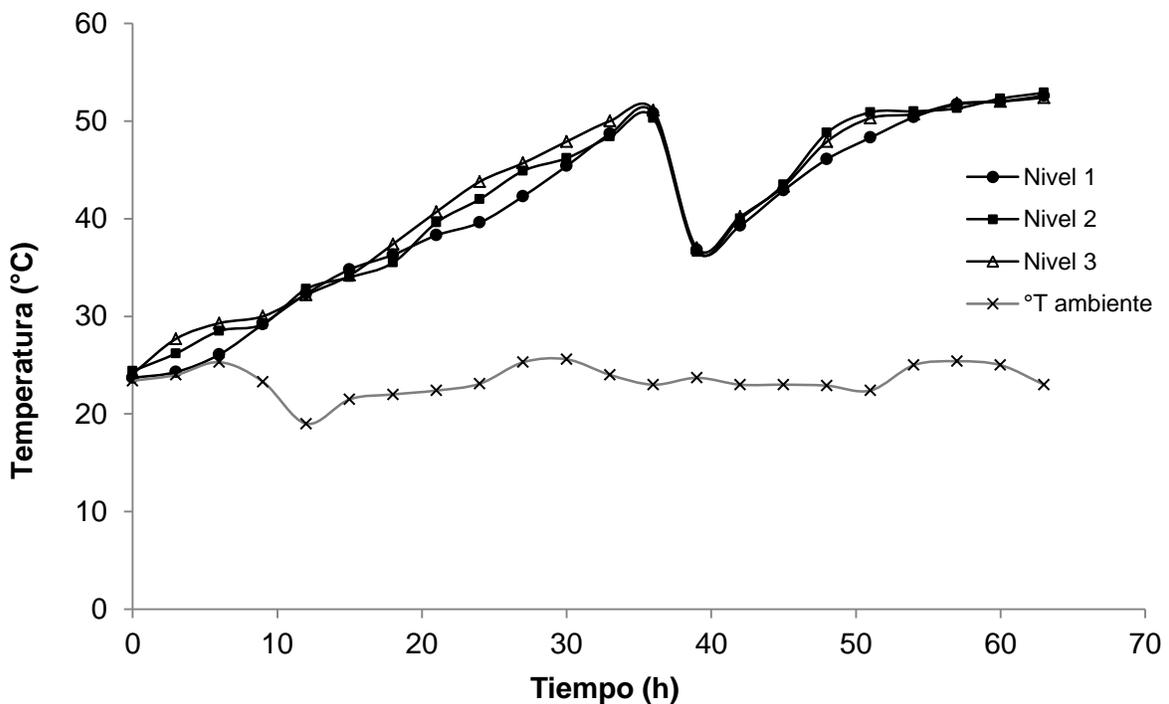


Figura 17. Comportamiento de la temperatura durante el semi composteo con remoción del material (T2).

Las condiciones del entorno del experimento son importantes para el desarrollo del método, en este caso la temperatura ambiente fue de 20 a 25°C y la humedad relativa del 70-80% de humedad.

Barrios-Espinoza *et al.*, (2009) y Sánchez *et al.*, (2011) señalan el alcance de 50°C en pasto pangola, a las 18 h de iniciado el proceso en condiciones controladas (temperatura y humedad relativa de 26°C y 80-90%), en tanto Avendaño y Sánchez (2013) registraron en promedio 21°C y 76-96% en condiciones “al aire libre”, éstos últimos mencionan que debido la importante variación de la temperatura ambiental (la mínima que registraron fue de 5°C) la temperatura dentro del cajón de madera no superaba los 40°C, por lo tanto, añadieron una capa de 2 cm de poliuretano como aislante para retener el calor generado.

Específicamente en este trabajo la temperatura ambiental cuando se llevó a cabo el T1 fue en promedio de 21°C y 70-80% HR, condiciones similares a las de Avendaño y Sánchez (2013) sin embargo, la temperatura ambiental mínima registrada fue de 19°C, por lo que, sin necesidad de agregar un aislante, los 50°C si fueron alcanzados, aunque un tiempo más prolongado (a las 45 h) que lo reportado por Barrios-Espinoza (2009). En el T2, la temperatura ambiental promedio registrada fue de 25°C y 75-80% de humedad, y a las 36 h se consiguió que en todos los niveles se registraran los 50°C.

Esto indica que, tal y como lo mencionan Avendaño y Sánchez (2013) la temperatura ambiental afecta directamente al aumento de temperatura del material en el contenedor de madera debido al intercambio de calor entre este, la temperatura ambiental y el aire que entra en los orificios para que no existan condiciones anaeróbicas. Estos mismos autores hacen referencia a que para reducir los organismos contaminantes en los sustratos son más recomendables las temperaturas medias que las altas, y que para la producción de *P. ostreatus* puede ser suficiente con que este haya alcanzado una temperatura no menor a 50°C por 10 h.

Contaminantes

No se presentaron contaminantes en ambos tratamientos, coincidiendo con lo expuesto por Villa (1999), esto puede ser atribuible a la generación adecuada de las temperaturas, humedad/pH y tiempo de incubación, ya que como mencionan Bermúdez *et al.*, (2007) si la etapa de incubación es de 15-20 días y el micelio cubre completamente las bolsas en este periodo, también se reduce el riesgo de contaminación.

Hernández *et al.*, (2003), Barrios-Espinoza *et al.*, (2009) y Sánchez *et al.*, reportaron una incidencia de *Fusarium* y *Trichoderma*, sin embargo no adjudicaron esto a que la pasterización por autocalentamiento no se haya realizado correctamente, si no a condiciones de excesiva humedad y acumulación de agua en las bolsas incubadas, lo que probablemente facilitó a la proliferación de estos microorganismos.

Comparación de Eficiencia Biológica, Tasa de Producción y Rendimiento entre niveles

Los valores de EB, TP y R obtenidos el tratamiento sin remoción del material se muestran en el cuadro 7. La comparación de la EB entre los tres niveles no mostró diferencia estadística, de igual forma, el análisis demostró que la TP fue igual para los tres. En el Rendimiento, el análisis definió dos grupos: (a) donde estuvieron el nivel superior e inferior con el 11.2% y (b) del nivel medio (10.4%). No hubo diferencia significativa entre peso de los carpóforos en los tres niveles.

Cuadro 6. Eficiencia biológica, tasa de producción y rendimiento promedio de los tres niveles en el semi composteo sin remoción del material (T1).

Nivel	Eficiencia Biológica (%)	StDev	Tasa de Producción	Rendimiento (%)	Peso promedio (g/ carpóforos)
1 (Superior)	86 a	5.41	1.982 a	11.2 a	15.346 a
2 (Medio)	89 a	3.05	1.840 a	10.4 b	14.901 a
3 (Inferior)	85 a	2.38	1.982 a	11.2 a	14.554 a

Letras diferentes entre filas indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba Tukey ($\alpha=0.05$).

En el tratamiento donde se removió el material (T2) (Cuadro 7) la EB obtenida en el nivel inferior fue la mayor (90%), sin embargo estadísticamente fue igual respecto al nivel 1 y 2 (88 y 87%). Para la TP el análisis estadístico definió tres grupos: (a) en el cual estuvo el nivel inferior con el valor más alto (2.69), (ab) con un valor intermedio (2.01) y (b) que correspondió al nivel medio y que reportó el valor más bajo. El Rendimiento conseguido mostró ser estadísticamente igual (a) en el nivel 1 y 2 (11 y 10.8%), pero no así en el nivel 3 (10.4) (b). El Peso de los carpóforos se mantuvo estadísticamente sin diferencias entre los tres niveles.

Cuadro 7. Eficiencia biológica, tasa de producción y rendimiento promedio de los tres niveles en el semi composteo con remoción del material (T2).

Nivel	Eficiencia Biológica (%)	StDev	Tasa de Producción	Rendimiento (%)	Peso promedio (g/ carpóforos)
1 (Superior)	88 a	6.43	2.01 ab	11 a	14.27 a
2 (Medio)	87 a	4.73	1.69 b	10.8 a	14.58 a
3 (Inferior)	90 a	4.15	2.69 a	10.4 b	13.02 a

Letras diferentes entre filas indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba Tukey ($\alpha=0.05$).

Esto indica que no existe variación entre los tres niveles, respecto a la EB obtenida, afín a lo demostrado por Barrios-Espinoza *et al.*, (2009) y Avendaño y Sánchez (2011), sin embargo, mientras en el T1 la única diferencia fue conforme al Rendimiento, en T2 las diferencias se observaron en la TP y R, lo que infiere que el no realizar la remoción del material da como consecuencia resultados más homogéneos entre niveles.

Comparación de Eficiencia Biológica, Tasa de Producción y Rendimiento entre técnicas

El cuadro 9 muestra los valores promedio obtenidos de la Eficiencia Biológica, Tasa de Producción y Rendimiento obtenidos en las dos técnicas evaluadas (T1 y T2).

El análisis estadístico no mostró que existiera diferencia significativa para la EB entre tratamientos, T1 obtuvo 86% y T2 88%. En la Tasa de Producción el análisis separó dos grupos, siendo el T2 el que tuvo una mayor TP (2.19) (a) comparado con T1 (1.91) (b). La evaluación del rendimiento nuevamente los colocó en el mismo grupo estadístico (a), demostrando que no hubo diferencia en este parámetro. El peso de los carpóforos no mostró diferencias significativas entre ambos (14.93 y 14.20 g).

Cuadro 8. Comparación de Eficiencia Biológica, Tasa de Producción y Rendimiento de los tratamientos de semi composteo con y sin remoción del material.

Tratamientos	Eficiencia Biológica (%)	Tasa de Producción	Rendimiento (%)	Peso promedio (g/carpóforos)
Sin remoción (T1)	86 % a	1.91 b	10.90 a	14.93 a
Con remoción (T2)	88 % a	2.19 a	10.72 a	14.20 a

Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba Tukey ($\alpha=0.05$).

Para la misma cepa utilizada (ECS-0152) aplicando la pasteurización por el semi composteo, Hernández *et al.*, (2003) en Pasto pangola y pulpa de café, y Barrios-Espinoza *et al.*, (2009) únicamente en Pasto pangola reportan una EB mayor a lo obtenido en este trabajo; 93% y 112% respectivamente, pero como se mencionó con anterioridad, realizaron este proceso bajo condiciones controladas, lo que hizo un tratamiento más rápido y probablemente una menor modificación en la composición y características de los sustratos, Sánchez *et al.*, (2011)², también en

² Utilizaron la cepa ECS-1123

Pasto pangola reportaron una menor EB (70.5-88.1%), y aunque hacen mención a que sólo tomaron en cuenta datos de dos cosechas, estos agregaron suplementos al sustrato. Avendaño y Sánchez (2013), también obtuvieron una mayor EB (102%), sin embargo, ellos necesitaron agregar una capa de poliuretano al cajón de madera porque el sustrato no alcanzaba la temperatura requerida.

La TP alcanzada 1.91 y 2.19, es comparable y se encuentra dentro del rango de los valores obtenidos por Barrios-Espinoza *et al.*, (2009) 1.87 y Avendaño y Sánchez 2.85. A pesar de que el R (10.9% en ambos tratamientos) fue menor que el indicado por Barrios-Espinoza *et al.*, (2009) y Avendaño y Sánchez (2013): 16 y 12.4%, aún se encuentra dentro de los intervalos considerados como viables para diferentes sustratos. Comparativamente el peso promedio de los carpóforos si fue superior a lo reportado por Barrios-Espinoza *et al.*, (2009) (5-9 g), consiguiendo casi duplicarlo (14.93-14.20 g).



Figura 18. Carpóforos de *P. ostreatus* creciendo en sustratos semi compostados. 1:Nivel 2 del tratamiento sin remoción del material, 2: Nivel 1 del tratamiento con remoción del material.

Estadísticamente, la única diferencia conforme a los parámetros de productividad entre T1 y T2 fue la tasa de producción, sin embargo, es importante hacer énfasis en que el tiempo del proceso señaló una importante desigualdad, ya que cuando hubo remoción este se prolongó 18 h más. Esto sugiere los orificios de la parte inferior del contenedor logran la aireación adecuada, y permiten que el metabolismo microbiano sea eventualmente más oxidativo y generador de calor resultando en condiciones apropiadamente. para que la pasteurización por autocalentamiento se realice.

De este modo, y debido a que parte de la optimización de un proceso es reducir los tiempos, T1 se consideraría la mejor técnica, concordando con lo conseguido por Hernández *et al.*, (2003) donde eligieron como el mejor tratamiento para la pasteurización por autocalentamiento al procedimiento donde no se removió el material durante todo el proceso pero estaba provista de la aireación necesaria, permite un mejor manejo y no requiere mano de obra para remover el material.

Los resultados conseguidos además, se pueden comparar con lo obtenido en la mezcla AB esterilizada EB=91%, TP=1.75, PP=14.96 g y R=19.3% (Figuras 7, 9 10 y 11), ya que son numéricamente similares e indican que la pasteurización mediante el proceso de semi composteo funciona tan bien como la esterilización. De este modo, se demuestra la posibilidad de sustituir las técnicas habituales que se utilizan para preparar los sustratos, por la pasteurización por autocalentamiento mediante el semi composteo, sin necesidad de una fuente de energía externa, reduciendo la cantidad de agua utilizada y teniendo valores de EB comercialmente aceptables.

6 CONCLUSIONES

Las características fisicoquímicas de los tres subproductos vegetales presentaron diferencias significativas en la mayoría de los parámetros, sin embargo se mantuvieron dentro de los valores de referencia admisibles para ser utilizados como sustratos para el cultivo de *P. ostreatus*.

El desarrollo micelial *in vitro* de *P. ostreatus* demostró que su crecimiento sobre los sustratos no solamente fue mayor a lo reportado sobre medios sintéticos, sino que otorgaron las características morfológicas apropiadas para esta especie.

La mezcla Acahual-Bagazo presentó los mayores indicadores de productividad en el cultivo de *P. ostreatus* en relación a los demás sustratos evaluados, logrando eficiencias biológicas del 91%.

La pasteurización por autocalentamiento en el método de semi-composteo utilizando el contenedor de madera está influida directamente por las condiciones ambientales para alcanzar la temperatura requerida y los valores de pH y humedad, que en conjunto consiguen inhibir microorganismos competidores de *P. ostreatus*.

La remoción del material prolonga el tiempo del proceso, y no es precisa si se otorga la aireación necesaria, estadísticamente no existió diferencia entre realizar esta acción o no, respecto a la Eficiencia Biológica, tamaño de los carpóforos y rendimiento.

La preparación del sustrato mediante la pasteurización por autocalentamiento es comparable a la esterilización con base a los resultados conseguidos de eficiencia biológica obtenida entre ambos en este trabajo (91 y 88-86% respectivamente).

7 REFERENCIAS

1. Avendaño-Hernandez R. and Sánchez J.E. 2013. Self-pasteurised substrate for growing oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) African Journal of Microbiology Research. 7(3):220-226.
2. Baena A. 2005. Aprovechamiento del Bagazo de Maguey Verde (*Agave Salmiana*) de la Agroindustria del Mezcal en San Luis Potosí para la producción del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*). Tesis de Maestría. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C. San Luis Potosí, S.L.P. México. Págs. 110.
3. Barrios B., Ruíz L. y Sánchez J.E. 2009. Composteo en cajones de madera como pretratamiento del sustrato para cultivar *Pleurotus ostreatus*. Rev. Mex. Mic. 29:51-59.
4. Bazante W. 2007. Evaluación de residuos de ají (*Capsicum spp.*) como sustrato en la producción de setas comestibles (*Pleurotus ostreatus*). Tesis de Licenciatura. Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Popayán. Págs. 68.
5. Bernabé T., Cayetano-Catarino M., Díaz-Adán A. y Torres-Pastrana M. 2004. Cultivo de *Pleurotus pulmonarius* sobre diversos subproductos agrícolas de Guerrero, México. Rev. Mex. Mic. 18:4.
6. Bermúdez R. C., García N. y Murlot A. 2007. Fermentación sólida para la producción de *Pleurotus* sp. sobre mezclas de pulpa de café y viruta de cedro. Tecnología Química 27(2):55-62.
7. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Malezas de México: *Simsia amplexicaulis*. Fecha de consulta: Julio 2014.

<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/simsia-amplexicaulis/fichas/ficha.htm>

8. Cayetano-Catarino M. y Bernabe-Gonzalez, T. 2008. Cultivo de *Pleurotus* sobre residuos de las cosechas de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*) y Plátano (*Musa Paradisiaca*). Rev. Mex. Mic. 26:57-60.
9. Chang S.T. and Miles P.G., 2004. Mushrooms. Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact (2nd ed.). CRC Press, Boca Raton (FL), USA. Págs. 451.
10. Chiejina N. V. and Olufokunbi J. O. 2010. Effects of different substrates on the yield and protein content of *Pleurotus tuberregium*. African Journal of Biotechnology. 9(11):1573-1577.
11. Contreras E.P., Sokolov M., Mejía G. and Sánchez J.E. 2004. Soaking of substrate in alkaline water as a pretreatment for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. Journal of Horticultural Science & Biotechnology. 79(2):234-240.
12. Córdoba J., Salcedo E., Rodríguez R., Zamora J., Manríquez R., Contreras H., Robledo J. y Delgado E. (2013). Caracterización y valoración química del olote: degradación hidrotérmica bajo condiciones subcríticas. *Revista latinoamericana de química*. 41(3):171-184.
13. Curvetto N.R., Figlas D., Devalis R. and Delmastro S. (2002) Growth and productivity of different *Pleurotus ostreatus* strains on sunflower seed hulls supplemented with N-NH₄⁺ and/or Mn(II). *Biores. Technol.* 84:171–176.
14. De Bertoldi M., Vallini G. and Pera A. 1993. The biology of composting: a review, Waste Manag. Págs.157–176.

15. De León–Monzón, J.H., Sánchez J.E. y Nahed–Toral J. 2004. El cultivo de *Pleurotus ostreatus* en los Altos de Chiapas, México. Rev. Mex. Mic. 8:31-38.
16. De Siqueira F., Maciel W., Martos E. and Duarte G. 2012. Cultivation of *Pleurotus mushrooms* in substrates obtained by short composting and steam pasteurization. African Journal of Biotechnology. 11(53):6.
17. Dündar A. and Yildiz A. 2009. A Comparative Study on *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P.Kumm. Cultivated on Different Agricultural Lignocellulosic Wastes. Turkish Journal of Biology. 33:171-179.
18. Dündar A., Acay H. and Yildiz A. 2009. Effect of using different lignocellulosic wastes for cultivation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. On mushroom yield, chemical composition and nutritional value. African Journal of Biotechnology. 8(4):662-666.
19. Escoto-García T., Vivanco-Castellanos E.M., Lomelí-Ramírez M.G. y Arias-García, A. 2006. Tratamiento fermentativo-químico-mecánico del bagazo de maguey (Agave Tequilaza Weber) para su aplicación en papel hecho a mano. Revista Mexicana de Ingeniería Química. Págs.23-27.
20. Figueiró G. y Gracioli L. 2011. Influência da composição química do substrato no cultivo de *Pleurotus florida*. Ciênc. agrotec. 35(5):924-930.
21. Flores-Ramírez, G. 2012. Aprovechamiento del bagazo residual de *Yucca* spp. como sustrato para la producción de *Pleurotus* spp. Tesis de Maestría. Unidad Profesional Intesrdisciplinaria de Biotecnología. IPN. México, D.F. Págs. 120.

22. Forero C.L., Hoyos O.L. y Bazante W.E. 2008. Evaluación de residuos de ají (*Capsicum* spp.) como sustrato en la producción de setas comestibles (*Pleurotus ostreatus*). Facultad de Ciencias Agropecuarias. 6(1):42-53.
23. Fracchia S., ArandaRickert A. y Terrizzano E. 2009. Cultivo de una cepa comercial de *Pleurotus ostreatus* en desechos de *Simmondsia chinensis* y *Jatropha macrocarpa*. Revista Mexicana de Micología. 29:37-42.
24. Gaitán-Hernández R., 2000. Obtención de cepas de *Neolentinus suffrutescens* por entrecruzamiento, su caracterización *in vitro* y producción de cuerpos fructíferos a nivel planta piloto. Revista Iberoamericana de Micología 17:20-24.
25. Gaitán-Hernández R., Salmones D., Pérez R. y Mata G. 2006. Manual práctico del cultivo de setas: Aislamiento, siembra y producción. Xalapa, Veracruz. México.: Instituto de Ecología A.C. Págs. 36.
26. Gaitán-Hernández R., Salmones D., Pérez R. y Mata G. 2009. Evaluación de la eficiencia biológica de cepas de *Pleurotus pulmonarius* en paja de cebada fermentada. *Rev. Mex. Mic.* 30:63-71.
27. García N., Bermúdez R., Gross P. y Hernández M. 2006. Cultivo de cepas de *Pleurotus* sp sobre pulpa de café. *Rev. Mex. Mic.* 23:99-101.
28. Garzón J. y Cuervo J. 2008. Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. CIENCIAS BIOMÉDICAS. 6(10):101-236.
29. Gea F. El cultivo de setas *Pleurotus* en España. En Sánchez y Mata (2012) Hongos Comestibles y Medicinales en Iberoamérica, investigación y

desarrollo en un entorno multicultural. Tapachula, Chiapas. México. ECOSUR-INECOL. Págs. 145-154.

30. Guzmán-Dávalos L., Martínez-Carrera D., Morales P. y Soto C. 1987. El cultivo de hongos comestibles (*Pleurotus*) sobre el bagazo de maguey de la industria tequilera. *Rev. Mex. Mic.* 3:47-49.
31. Guzmán G., Mata G., Salmones D., Soto-Velazco C., y Guzmán-Dávalos L. 1993. El Cultivo de los Hongos Comestibles. Con especial atención a especies tropicales subtropicales en esquilmos agrícolas y residuos agroindustriales. Instituto Politécnico Nacional, México, D. F. Págs. 42-140
32. Guzmán-Dávalos L., Soto-Velazco C. y Martínez-Carrera D. 1987. El bagazo de caña de azúcar como sustrato para la producción de *Pleurotus* en Jalisco. *Rev. Mex. Mic.* 3:79-82.
33. Heredia-Solis A., Esparza-Ibarra E., Romero-Bautista L., Cabral-Arellano F. y Bañuelos V. 2014. Bagazos de *Agave salmiana* y *Agave weberi* utilizados como sustrato para producir *Pleurotus ostreatus*. *Revista Iberoamericana de Ciencias*.
34. Hernández D., Sánchez J.E. and Yamasaki K. 2003. A simple procedure for preparing substrate for *Pleurotus ostreatus* cultivation. *Bioresource Technology* 90:145-150.
35. Haug R. 1993. *The practical handbook of compost engineering*. Lewis Publishers, Págs.752
36. Horneck D.A. and Miller R.O. 1998. Determination of total nitrogen in plant tissue. *In* Kalra, Y.P. *Handbook of references methods for plant analysis*.

Soil and Plant Analysis Council. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. Págs. 75-83.

37. Ingale A. and Ramteke A. 2010. Studies on cultivation and biological efficiency of mushrooms grown on different agro-residues. *Innovative Romanian Food Biotechnology*. 6:25-28.
38. Instituto Nacional de Geografía Estadística e Informática (INEGI). 2007. Unidades de producción con cultivos en el ciclo primavera - verano 2007 según superficie sembrada, cosechada y producción obtenida por cultivo y entidad y municipio (Oaxaca). Censo Agrícola, Ganadero y Forestal. http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/metodologias/censo_agrope/2007/metodo_2007/SinMetCAGyF.pdf
39. Íñiguez G., Martínez G., Flores P. y Virgen G. 2011. Utilización de subproductos de la industria tequilera. Parte 9. Monitoreo de la evolución del compostaje de dos fuentes distintas de bagazo de agave para la obtención de un sustrato para jitomate. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 27(1):47-59.
40. Jaramillo S. y Albertó E. (2012) El despunte de caña de azúcar, sustrato altamente eficiente para la producción de *Pleurotus ostreatus*. En Sánchez y Mata (2012) Hongos Comestibles y Medicinales en Iberoamérica, investigación y desarrollo en un entorno multicultural. Tapachula, Chiapas. México. ECOSUR-INECOL. Págs. 155-160.
41. Kirk T. and Farrel R. 1987. Enzymatic combustion: The microbial degradation of lignin. *Annu Rev. Microbiol.* 41:465-505
42. López A., Huerta Palacios G. and Sánchez J.E. 1996. Contamination encountered during various phases of cultivation of *Pleurotus ostreatus* in Tropical Mexico. In: Royse D. (ed.), *Proceed. II. Int. Conf. on Mushroom*

Biology and Mushroom Products. Pennsylvania State University, Penn. Págs. 495-502.

43. López X. 2011. Caracterización de compostas derivadas de Centro Interdisciplinario para el Desarrollo Regional Integral Unidad Oaxaca. residuos orgánicos enfocadas a su uso como sustratos. Tesis de Maestría. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. Págs. 15-30.
44. Marín M., Silva V., Fleites G., Ticante J. y Gonzáles F. Uso de sustratos alternativos para la producción sustentable del hongo *Pleurotus* spp. en comunidades rurales. VII Congreso Internacional de Ciencias Ambientales.
45. Martínez D., Quirarte M., Soto-Velazco C., Salmones D. y Guzmán G. 1984. Perspectivas sobre el cultivo de hongos comestibles en residuos agroindustriales en México. Bol. Soc. Mex. Mic. 19:207-219.
46. Martínez G., Ortiz Y.D., Gavilán U., Salas M., Escamirosa M. y Tinoco, C. 2009. La Rotación de cultivos y las propiedades de la cáscara de Almendra como sustrato. Revista Fitotecnia Mexicana, 32(2):135-142
47. Martínez-Carrera D., Guzmán G. and Soto-Velazco C. 1985. The effect of the fermentation of coffee pulp in the cultivation of *Pleurotus ostreatus* in México. Mushroom Journal for the Tropics 6(1):21-28.
48. Martínez Carrera, D., *et al.*, (2001) "Commercial Production and Marketing of Edible Mushrooms Cultivated on Coffee Pulp in Mexico", Chapter 45 in Coffee Biotechnology and Quality; Sera T., Soccol C. R. Pandey A.; Roussos S. (eds) Kluwer Dordrecht. Págs. 471-488

49. Martínez-Carrera D., Larqué A., Aliphath M., Bonilla M. y Martínez W. 2000. La biotecnología de hongos comestibles en la seguridad y soberanía alimentaria de México. México D.F., México. II Foro Nacional sobre Seguridad y Soberanía Alimentaria. Academia Mexicana de Ciencias-CONACYT. Págs. 193-207.
50. Martínez P.F. y Roca D. 2011. Sustratos para el cultivo sin suelo. Materiales, propiedades y manejo. En: Flórez R., V.J. Sustratos, manejo del clima, automatización y control en sistemas de cultivo sin suelo. Bogotá: Editorial Universidad Nacional de Colombia. Págs. 37-77.
51. Miller F. 1991. Biodegradation of solid wastes by composting. Elsevier Appl. Págs.1-30.
52. Nevárez D. 2012. Aprovechamiento de residuos agroforestales para el cultivo de hongos comestibles (*Pleurotus* sp.). Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango. Victoria de Durango, Durango. Págs. 50.
53. Omarini A., Lechner B.E. and Albertó E. (2009) *Polyporus tenuiculus*: a new naturally occurring mushroom that can be industrially cultivated on agricultural waste. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 36:635–642.
54. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 1993. El maíz en la nutrición humana. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. <http://www.fao.org/docrep/t0395s/t0395s00.htm>
55. Pérez B. 2006. Descripción de las características macroscópicas, de cultivo *in vitro* de cepas de *Pleurotus* aisladas en Guatemala. Tesis de Licenciatura. Universidad San Carlos de Guatemala. Págs. 29-37.

56. Pérez-Merlo R. y Mata G. 2005. Cultivo y Selección de cepas de *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus pulmonaris* en viruta de pino: Obtención de nuevas cepas y evaluación de su producción. Rev. Mex. Mic. 20:53-59.
57. Romero O., Huerta M., Damián M.A., Macías A., Tapia A.M., Parraguirre J.F. y Juárez J. (2010) Evaluación de la capacidad productiva de *Pleurotus ostreatus* con el uso de hoja de plátano (*Musa paradisiaca* L., Cv. Roatan) deshidratada, en relación con otros sustratos Agrícolas. Agronomía Costarricense 34(1):53-63.
58. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca (SAGARPA).2010. Consultado en abril 2014. <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasaapt/Aprovechamiento%20de%20esquilmos.pdf>
59. Salmenes D., Gaitán-Hernández R., Pérez R. y Guzmán G. 1997. Estudios sobre el género *Pleurotus*. VIII. Interacción entre crecimiento micelial y productividad. Revista Iberoamericana de Micología. 14:173-176.
60. Salmenes D., Mata G. and Waliszewski K.N. (2005) Comparative culturing of *Pleurotus* spp. on coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate biodegradation. Biores. Technol. 96:537–544.
61. Sánchez J.A. 2001. Cultivo del hongo comestible *Pleurotus* sobre residuos vitivinícolas y su manejo poscosecha. Tesis de Maestría. Universidad de Sonora, Hermosillo. Págs. 68.
62. Sánchez A., Esqueda M., Gaitán-Hernández R., Córdova A. y Coronado M. 2008. Uso potencial del rastrojo de tomate como sustrato para el cultivo de *Pleurotus* spp. Rev. Mex. Mic. 28:17-24.

63. Sánchez J.E. 1993. Producción de hongos comestibles. Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste. Págs.37-57.
64. Sánchez J.E. 2012. El Mundo de los Hongos Silvestres Comestibles. San Cristóbal de Las Casas, Chiapas. México. ECOFRONTERAS 44:9-10.
65. Sánchez J.E. y Mata G. 2012. Hongos Comestibles y Medicinales en Iberoamérica, investigación y desarrollo en un entorno multicultural. Tapachula, Chiapas. México. ECOSUR-INECOL. Págs. 191.
66. Sánchez J.E. y Royse D. 2001. La Biología y el Cultivo de *Pleurotus* spp. San Cristóbal de Las Casas, Chiapas. México. ECOSUR. Págs. 393.
67. Sánchez J.E., Martínez-Carrera D., Mata G. y Leal H. 2007. El Cultivo de setas *Pleurotus* spp. en México. Tapachula, Chiapas. México. ECOSUR. Págs. 234.
68. Sánchez J.E., Moreno L. and Andrade-Gallegos R. 2011. Pasteurization of substrate for growing *Pleurotus ostreatus* by self-heating. Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP7). Arcachon, France. Págs. 398-405.
69. Soto-Velazco C., Guzmán-Dávalos L. y Rodríguez O. 1989. Cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* en bagazo de maguey tequilero fermentado y mezclado con paja de trigo. Rev. Mex. Mic. 5:97-101.
70. Soto-Velazco, C., Guzmán-Dávalos L. and Téllez C. 1991. Substrates for cultivation *Pleurotus* in Mexico. II sugarcane bagasse and corn stover. Mushroom J. Tropics 11:34-37.

71. Stamets P. 1993. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Ten Speed Press. Berkley, CA. Págs.586.
72. Trautmann M., Ton Richar and Maarianne, E. 2007. Monitoring compost temperature. Cornell composting. Science & Engineering. <http://www.css.cornell.edu/compost/science.html>
73. Varnero M., Quiróz M. y Álvarez C. 2010. Utilización de residuos forestales lignocelulósicos para producción del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*). Información Tecnológica. 21(2):13-20.
74. Vega A., Caballero R., Renán J. and Noboru M. 2005. Bioconversion of agroindustrial residues by *Pleurotus ostreatus* cultivation. Rev. Mex. Mic. 20:33-38.
75. Villa-Cruz V., Huerta-Palacios G., and Sanchez J.E. 1999. Fermentation of a mixture of corn-cobs and coffee pulp for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. Tapachula 30700, Chiapas, Mexico. Micol. Neotrop. Apl. 12:6 70-74.
76. Zadrazil F. 1974. The ecology and industrial production of *P. ostreatus*, *P. florida*, *P. cornucopiae* and *P. eryngii*. Mush. 9:621-65.

|

