

**APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS
LIGNOCELULÓSICOS PARA EL CULTIVO DE
ORELLANAS (*Pleurotus ostreatus*)**



OLGA LUCÍA BENAVIDES CALVACHE

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRARIAS
SAN JUAN DE PASTO - COLOMBIA
2013**

**APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS
LIGNOCELULÓSICOS PARA EL CULTIVO DE
ORELLANAS (*Pleurotus ostreatus*)**



OLGA LUCÍA BENAVIDES CALVACHE

**TRABAJO DE GRADO presentado como requisito parcial para optar al título
de MAGISTER EN CIENCIAS AGRARIAS – ÉNFASIS EN PRODUCCIÓN DE
CULTIVOS**

**PRESIDENTE
HUGO RUIZ ERAZO Ph.D.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRARIAS
SAN JUAN DE PASTO - COLOMBIA
2013**

**“Las ideas y conclusiones aportadas en el trabajo de grado son
responsabilidad exclusiva de sus autores”**

**Artículo Primero del Acuerdo No 324 (11 de octubre de 1.966), emanado
del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño**

Nota de aceptación:

Presidente de Trabajo de Grado

Firma del Jurado

Firma del Jurado

Firma del Jurado

San Juan de Pasto, Agosto de 2013

DEDICATORIA

*A mi FAMILIA, por su acompañamiento y apoyo incondicional,
especialmente a mi hijo GABRIEL
quien ilumina mi camino y es la razón para seguir adelante.*

*A mis PROFESORES Y COMPAÑEROS de la Maestría en Ciencias Agrarias,
por su interés y permanente colaboración.*

Olga Lucía Benavides Calvache

AGRADECIMIENTOS

Al Doctor HUGO RUIZ ERAZO, por el apoyo brindado a la realización de este Trabajo de Grado, por sus apreciables consejos y amistad.

A los Doctores CARLOS BETANCOURT; ERNESTO LUQUE Y OSWALDO OSORIO, por su revisión y valiosos aportes.

Al SENA REGIONAL NARIÑO, por el servicio prestado al desarrollo experimental preliminar del Trabajo de Grado.

Al Magister BAYARDO YEPES, por su ayuda y acompañamiento en la recolección del material lignocelulósico.

A mi Grupo de Investigación en Biotecnología Agroindustrial y Ambiental (BIOTA), en especial a los Ingenieros Agroindustriales ERIKA CABRERA y ANDRÉS VILLOTA, por su interés y asistencia en la producción de orellanas.

A la Técnica de Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño, SANDRA ESPINOZA; por su importante colaboración en el desarrollo experimental bromatológico.

A la GOBERNACIÓN DE NARIÑO y SISTEMA DE INVESTIGACIONES DE LA UNIVERSIDAD DE NARIÑO, por el apoyo financiero brindado a la investigación.

CONTENIDO

	pág
ÍNDICE DE CUADROS.....	9
ÍNDICE DE FIGURAS.....	10
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	11
ÍNDICE DE ANEXOS.....	12
RESUMEN.....	13
ABSTRACT.....	14
1. INTRODUCCIÓN.....	15
2. MARCO TEÓRICO.....	16
2.1 MARCO CONCEPTUAL.....	16
2.1.1 Las orellanas (<i>Pleurotus ostreatus</i>).....	16
2.1.1.1 Ciclo biológico.....	16
2.1.1.2 Descripción.....	17
2.1.2 Importancia nutricional y medicinal de las orellanas.....	19
2.1.3 Características de los sustratos.....	23
2.1.3.1 Composición química de residuos lignocelulósicos..	26
2.1.3.1.1 Celulosa.....	26
2.1.3.1.2 Hemicelulosa.....	27
2.1.3.1.3 Lignina.....	28
2.1.3.2 Enzimas degradadoras de materiales lignocelulósicos	29
2.1.4 Generalidades del cultivo de orellanas.....	31
2.1.4.1 Componentes de rendimiento del cultivo.....	32
2.1.4.1.1 Eficiencia biológica.....	32
2.1.4.1.2 Variables fenológicas.....	32
2.1.4.1.3 Variables morfológicas.....	33
2.2 ANTECEDENTES.....	34
2.2.1 Producción y usos de los residuos de fique y trigo en Nariño...	34
2.2.2 Producción de <i>Pleurotus sp.</i>	36
2.3 MARCO CONTEXTUAL.....	41
2.3.1 Zona de recolección de materiales lignocelulósicos.....	41
3. JUSTIFICACIÓN.....	43
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	45
4.1 ADQUISICIÓN DE MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS.....	45
4.2 PREPARACIÓN DE SUSTRATOS.....	46
4.3 INOCULACIÓN.....	48
4.4 CULTIVO.....	48
4.4.1 Invasión de micelio.....	48

4.4.2	Fructificación.....	49
4.4.3	Cosecha.....	49
4.5	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	51
4.6	DETERMINACIÓN DE COMPONENTES DE RENDIMIENTO.....	53
4.7	DETERMINACIÓN BROMATOLÓGICA.....	54
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	57
5.1	BROMATOLOGÍA DE SUSTRATOS.....	57
5.1.1	Nitrógeno (N).....	57
5.1.2	Cenizas (C).....	60
5.1.3	Lignina (L) y Celulosa (Ce).....	64
5.2	COMPONENTES DE RENDIMIENTO DEL CULTIVO.....	68
5.2.1	Eficiencia Biológica (EB).....	68
5.2.2	Variables Fenológicas.....	71
5.2.3	Variables Morfológicas.....	73
5.3	ANÁLISIS PROXIMAL DE <i>P. ostreatus</i>	75
5.3.1	Proteína cruda (PC).....	76
5.3.2	Carbohidratos totales.....	77
5.3.3	Fibra cruda.....	79
5.3.4	Lípidos totales.....	80
5.3.5	Cenizas totales.....	81
6.	CONCLUSIONES.....	83
7.	RECOMENDACIONES.....	85
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	86
9.	ANEXOS.....	100

ÍNDICE DE CUADROS

	pág
Cuadro 1	Composición centesimal de <i>P. ostreatus</i> cultivado en residuos de caña de azúcar..... 20
Cuadro 2	Composición de aminoácidos esenciales en algunos hongos comestibles y en huevo de gallina..... 20
Cuadro 3	Contenido de vitamina C y complejo B en <i>L. edodes</i> , <i>P. ostreatus</i> y <i>P. sajor-cajú</i> 21
Cuadro 4	Contenido de minerales en <i>L. edodes</i> , <i>P. ostreatus</i> y <i>P. sajor-cajú</i> 22
Cuadro 5	Funciones de elementos nutricionales en el desarrollo de <i>Pleurotus sp.</i> 25
Cuadro 6	Análisis bromatológicos de sustrato fresco y sustratos incubados en 23 días con especies de <i>Pleurotus sp.</i> 27
Cuadro 7	Porcentaje de eficiencia biológica en cultivos de <i>P. ostreatus</i> 33
Cuadro 8	Variables fenológicas en cultivos de <i>P. ostreatus</i> 33
Cuadro 9	Variables morfológicas de <i>P. ostreatus</i> cultivado..... 34
Cuadro 10	Sustratos empleados para el cultivo de hongos del género <i>Pleurotus</i> 39
Cuadro 11	Valores bromatológicos en bagazo de agave y fique..... 41
Cuadro 12	Valores bromatológicos en paja y granza de trigo..... 41
Cuadro 13	Comparación productiva de cultivos comerciales de fique y trigo en el corregimiento de San Alejandro (Guaitarilla-Nariño)..... 42
Cuadro 14	Dosificación de tratamientos para la producción de <i>Pleurotus ostreatus</i> 52
Cuadro 15	Concentración inicial de nitrógeno en sustratos..... 58
Cuadro 16	Concentración de nitrógeno en sustratos después de cosechas.... 59
Cuadro 17	Incremento de cenizas en sustratos..... 61
Cuadro 18	Consumo de lignina en sustratos..... 65
Cuadro 19	Consumo de celulosa en sustratos..... 66
Cuadro 20	Variación de eficiencia biológica del cultivo de <i>P. ostreatus</i> 69
Cuadro 21	Resultado de la variables fenológicas 72
Cuadro 22	Resultado de las variables morfológicas..... 74
Cuadro 23	Análisis proximal de orellanas..... 76

ÍNDICE DE FIGURAS

	pág
Figura 1 Ciclo sexual de los hongos superiores.....	18
Figura 2 <i>Pleurotus ostreatus</i> desarrollado en tocón de árbol.....	19
Figura 3 Estructura cristalina y amorfa de la celulosa.....	28
Figura 4 Estructura molecular de la hemicelulosa.....	28
Figura 5 Estructura molecular de la lignina.....	29
Figura 6 Recolección de bagazo de fique y granza de trigo.....	45
Figura 7 Pretratamiento de materiales lignocelulósicos.....	46
Figura 8 Elaboración de sustratos de crecimiento.....	47
Figura 9 Esterilización de sustratos.....	47
Figura 10 Inoculación de sustratos.....	48
Figura 11 Sustrato en proceso de invasión micelial.....	49
Figura 12 Formación de primordios y setas.....	50
Figura 13 Cosecha.....	50
Figura 14 Pesaje de carpóforos.....	51
Figura 15 Determinación de medidas biométricas.....	51
Figura 16 Deshidratación y molienda de setas.....	54

ÍNDICE DE GRÁFICAS

		pág
Gráfica 1	Variación de nitrógeno en sustratos.....	59
Gráfica 2	Contenido de cenizas en sustratos.....	62
Gráfica 3	Concentración de lignina en sustratos.....	65
Gráfica 4	Concentración de celulosa en sustratos.....	67
Gráfica 5	Eficiencia biológica de <i>Pleurotus ostreatus</i>	69
Gráfica 6	Precocidad y tiempo a cosechas en el cultivo de <i>P. ostreatus</i>	72
Gráfica 7	Comportamiento de las variables morfológicas de orellanas.....	74
Gráfica 8	Concentración de proteína cruda en <i>P. ostreatus</i>	77
Gráfica 9	Valor de carbohidratos totales en <i>P. ostreatus</i>	79
Gráfica 10	Contenido de fibra cruda en <i>P. ostreatus</i>	80
Gráfica 11	Concentración de lípidos totales en <i>P. ostreatus</i>	81
Gráfica 12	Contenido de cenizas totales en <i>P. ostreatus</i>	82

ÍNDICE DE ANEXOS

	pág
Anexo 1	Procedimiento para determinación de ceniza..... 100
Anexo 2	Procedimiento para determinación de extracto etéreo..... 100
Anexo 3	Procedimiento para determinación de fibra cruda..... 101
Anexo 4	Procedimiento para determinación de nitrógeno y proteína cruda.. 101
Anexo 5	Procedimiento para determinación de carbohidratos totales..... 102
Anexo 6	Procedimiento para determinación de lignina y celulosa..... 103
Anexo 7	Análisis de varianza bromatología de sustratos..... 104
Anexo 8	Análisis de varianza componentes de rendimiento..... 107
Anexo 9	Análisis de varianza análisis proximal de hongos..... 110

RESUMEN

Pleurotus ostreatus, también conocido como orellana, es un macromicete comestible que se encuentra a nivel mundial en forma silvestre o cultivado. Su característico sabor gourmet, bajo contenido en grasas saturadas, propiedades nutricionales y cualidades medicinales, lo han ubicado en tercer lugar de comercialización en el mundo, después de shiitake y champiñón. En Colombia, esta especie ha sido cultivada sobre diversos residuos vegetales, sin embargo, existen pocos estudios realizados sobre desechos lignocelulósicos de fique (*Furcraea macrophylla*). En el departamento de Nariño, la producción agroindustrial de fibra de fique genera alrededor de 40.000 t/año de bagazo, que originan la contaminación de suelos y fuentes de agua; además del cultivo de trigo (*Triticum aestivum*) se obtiene el 70% de residuos sólidos (granza) potencialmente aprovechables para el cultivo de macromicetes.

Como una alternativa productivo/ambiental, en esta investigación se desarrolló el cultivo de *P. ostreatus* sobre once sustratos preparados con residuos sólidos de fique y trigo, enriquecidos con una sal nitrogenada. Fue posible relacionar la calidad bromatológica de los sustratos, con la variación en la eficiencia biológica, variables morfológicas, variables fenológicas y análisis proximal. Los resultados de la eficiencia biológica oscilaron entre 63,1% y 123,45%; la precocidad estuvo en el rango de 27 días a 43 días y el tiempo a cosechas varió entre 31 días y 49 días. El número de fructificaciones por unidad productiva fue proporcional a la eficiencia biológica, sin embargo se obtuvo un tamaño homogéneo de carpóforo en los tratamientos. La riqueza nutricional de las setas fue variable obteniéndose alta cantidad de proteína (28,10% - 33,7%) y fibra (15,4% - 16,9%); valor promedio en cenizas (3,77% - 5,51%) y bajo contenido de carbohidratos (20,30% - 23,67%) y lípidos (1,43 - 1,78%); en contraste con otras investigaciones de *P. ostreatus*. Los componentes de rendimiento indican que el cultivo de orellanas puede ser rentable económicamente y aportaría en la mitigación de la problemática ambiental que generan los residuos de fique y trigo. El análisis proximal indica que *P. ostreatus* presenta un importante contenido nutricional, por lo cual es recomendable su ingesta, sobre todo en las dietas para disminución de peso.

Palabras clave. *Pleurotus ostreatus*, orellanas, residuos lignocelulósicos, fique, trigo.

ABSTRACT

Pleurotus ostreatus, also known as orellana, is an edible macromicete found worldwide in the wild or cultivated. Its distinctive gourmet flavor, its low content of saturated fat, its nutritional and medicinal qualities, have placed third in marketing in the world after agaricus and shiitake mushrooms. In Colombia, this species has been cultivated on various plants residues, however, few studies of its cultivation on lignocellulosic waste fique (*Furcraea macrophylla*). In the department of Nariño, agro-industrial production of fique fiber generates about 40,000 t / year of bagasse, which cause contamination of soil and water sources, in addition to wheat (*Triticum aestivum*) where 70% of waste solids (granza) potentially useful for growing mushrooms.

As an alternative production / environmental, this research developed the culture of *P. ostreatus* in eleven substrates prepared with solid waste of sisal and wheat, and fortified with nitrogen salt. It was possible to correlate the quality of the substrates bromatological with the variation in the biological efficiency, morphological variables, phenological variables and proximate analysis. The results of the biological efficiency ranged from 63.1% to 123.45%, precocity ranged from 27 days to 43 days and harvest time varied between 31 days and 49 days. Fructifications number per unit production was proportional to the biological efficiency, however obtained a homogeneous size mushroom in treatments. The nutritional importance of mushrooms varied yielding a high amount of protein (28.10% - 33.7%) and fiber (15.4% - 16.9%), average in ash (3.77% - 5, 51%) and low in carbohydrates (20.30% - 23.67%) and lipids (1.43 to 1.78%), in contrast to other studies of *P. ostreatus*. The yield components indicate that orellana cultivation can be profitable financially and contribute in mitigating environmental problems generated by fique and wheat residues. Proximate analysis indicates that *P. ostreatus* has a significant nutritional content, so it's recommended intake, especially in diets for weight loss.

Keywords. *Pleurotus ostreatus*, orellana, lignocellulosic waste, fique, wheat.

1. INTRODUCCIÓN

Los macromicetes del género *Pleurotus*, el champiñón y shiitake, son cultivados y consumidos en el mundo, especialmente por las culturas orientales y europeas debido a que poseen interesantes propiedades nutricionales y medicinales que los catalogan como alimentos funcionales, además de sus características organolépticas que los hacen apropiados para la cocina gourmet. En Colombia, el macromicete más conocido es el champiñón, sin embargo, en el mercado especializado, ya se comercializan otros tipos de setas, entre los que se encuentran las orellanas (*Pleurotus ostreatus*).

El cultivo de hongos comestibles sobre sustratos lignocelulósicos, es una interesante alternativa de tipo productivo/ambiental debido a la eficiente biotransformación de los residuos sólidos que son obtenidos durante las prácticas agrícolas e industriales, pues cuando su disposición no es adecuada, originan contaminación de suelos y fuentes de agua, especialmente en zonas donde la base económica es de carácter agrario como sucede en el departamento de Nariño (Colombia).

En apoyo a las políticas nacionales de producción limpia y en búsqueda de la producción económica de alimentos alternativos con inigualables propiedades nutricionales y farmacológicas, en la presente investigación se evaluaron los componentes de rendimiento del cultivo intensivo de orellanas (*Pleurotus ostreatus*), sobre bagazo de fique y su mezcla con granza de trigo enriquecida y no enriquecida en nitrógeno; además se determinó la calidad bromatológica de los sustratos y su influencia sobre los componentes de rendimiento y las características nutricionales de los hongos.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. MARCO CONCEPTUAL

2.1.1 Las orellanas (*Pleurotus ostreatus*) Las orellanas son macromicetes comestibles pertenecientes al reino Fungi, consideradas como setas, hongos verdaderos o superiores. Estos hongos carecen de clorofila y en consecuencia, necesitan crecer en un sustrato que les brinde los nutrientes necesarios para su supervivencia (Miles y Chang, 1999).

La clasificación taxonómica de esta especie, según Herrera y Ulloa (1990), es la siguiente:

REINO	Fungi
SUBDIVISIÓN	Basidiomycotina
CLASE	Holobasidiomycete
SUBCLASE	Hymenomycetidae
ORDEN	Agaricales
FAMILIA	<i>Tricholomataceae</i>
GÉNERO	<i>Pleurotus</i>
EPÍTETO ESPECÍFICO	<i>ostreatus</i>

Estos hongos se conocen comúnmente como orellanas, orejas, orejas de cazahuate, hongos ostra, pleurotos, hiratake, gírgolas, setas ostión, ostra de árbol y champiñón ostra, entre otros (Herrera y Ulloa, 1990; Rodríguez y Gómez, 2001).

2.1.1.1 Ciclo Biológico *Pleurotus ostreatus* presenta el ciclo biológico de los hongos superiores productores de setas, el cual comienza con la germinación de una spora. Las hifas contienen todos los componentes de las células eucarióticas y están separadas por tabiques transversales o septos. En el momento de la reproducción sexual, las hifas se ramifican y se agregan paralelamente, produciendo un pseudo- tejido parenquimatoso denominado plecténquima, el cual presenta crecimiento apical y expansivo. Al sembrarse

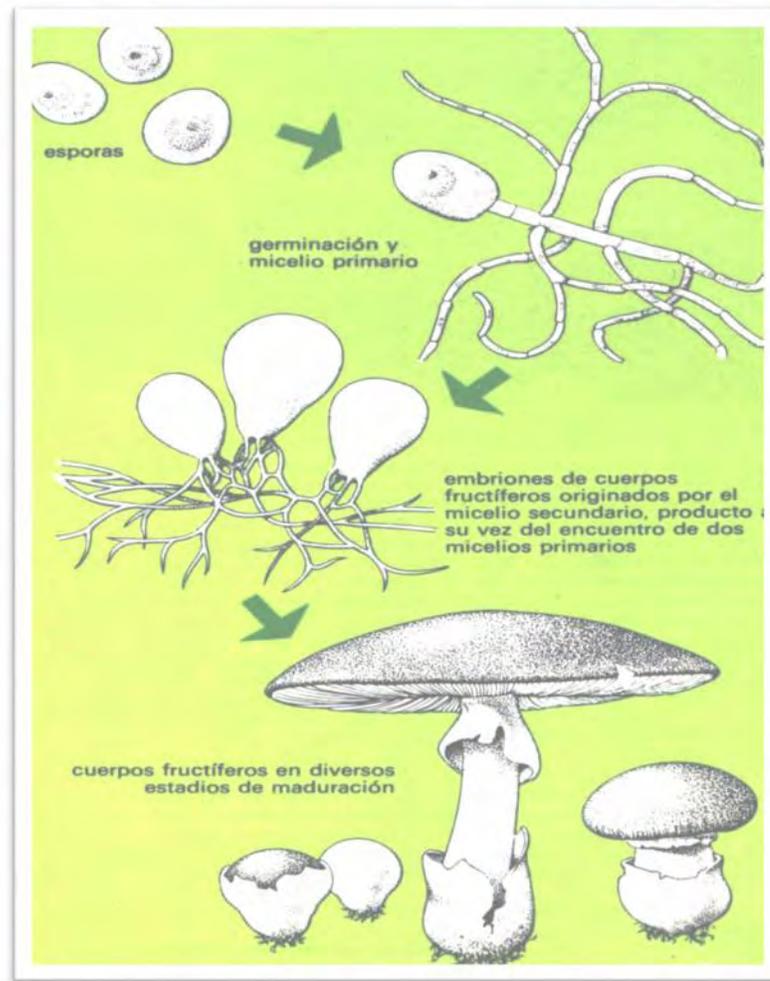
pequeños fragmentos de dicho tejido, sobre medios de cultivo apropiados, se puede obtener el correspondiente micelio vegetativo (cultivo de tejidos o cultivo clónico), lo que ha dado lugar a la explotación comercial de cepas fúngicas (García-Mendoza, 2002). En la Figura 1, se aprecia el ciclo sexual de los hongos superiores.

2.1.1.2 Descripción Esta seta presenta un tamaño de píleo (sombbrero) que varía entre 5 y 20 cm, según la edad y condiciones de crecimiento. En su etapa de primordio es redondeado y abombado, pero en la medida en que se abre, ensancha su sombrero, se hace menos convexo y finalmente se aplanan. Después el borde se levanta y el conjunto toma forma de plato con una concavidad en el centro. Su superficie es lisa y generalmente uniforme. Su color puede variar desde gris claro a gris pizarra oscuro, con tonos violáceos o azulados, y desde color café claro a pardo oscuro. Las variedades que crecen en zonas de época fría son más grisáceas y oscuras, mientras que las de meses templados son más parduzcas y claras. Al girar el sombrero de la seta, se observan las laminillas dispuestas radialmente, las que van desde el estípote (pie) hasta su borde. Las laminillas se encuentran separadas entre sí, aunque algunas pueden estar bifurcadas y son de color blanco o ligeramente crema. En ellas se producen las esporas destinadas a la reproducción de la especie. Las esporas vistas al microscopio, son alargadas y casi cilíndricas, miden 7 a 11,5 x 3 a 5,6 micras. Cuando se depositan en masa forman un polvillo harinoso de color blanco con tono lila-grisáceo. El pie de la seta suele ser corto y ligeramente duro, blanco, con el principio de las laminillas en la parte de arriba y algo peloso en la base. Su inserción suele ser ligeramente lateral y su dirección levemente oblicua (García-Mendoza, 2002).

P. ostreatus crece formando repisas laterales superpuestas sobre un costado de los árboles o de los bloques de cultivo, los pies están unidos unos a otros, son

cortos y están cerca de un lado del borde de los sombreros, que suelen tener forma de abanico o riñón.

Figura 1. Ciclo sexual de los hongos superiores



Fuente: Pacioni, 1982.

También crecen aislados sobre una superficie horizontal y si hay demasiada humedad, el pie puede ser largo y central. La carne del sombrero es blanca, el olor algo fuerte, al probarla es tierna al principio y después correosa. La carne del pie es de color blanco y textura más consistente.

Este hongo se encuentra silvestre en muchos tipos de hábitat. Prefiere la base de troncos de los árboles de hoja ancha (frondosos), pero también crece sobre árboles y tocones, como se observa en la Figura 2, incluso sobre arbustos; además puede adaptarse a diferentes medios de cultivo.

Figura 2. *Pleurotus ostreatus* desarrollado en tocón de árbol



Fuente: Pacioni, 1982.

2.1.2 Importancia nutricional y medicinal de las orellanas En el esquema de valor nutricional, las setas comestibles están por encima de las verduras y legumbres (Denis, 1995). Debido a sus características nutraceuticas y gastronómicas, las especies del género *Pleurotus* ocupan el tercer puesto de comercialización en el mundo después de shiitake y champiñón.

Las orellanas presentan un sabor sui generis, sus tonalidades y versatilidad como aditamento culinario, han hecho que crezcan en popularidad y sean cada vez más aceptadas por los consumidores (Ciappini, *et al.*, 2004). Además exhiben un importante contenido nutricional, medicinal y bajo contenido de grasas saturadas, por lo cual, se considera como excelente alimento funcional (Rodríguez y Gómez, 2001). También contienen carbohidratos, minerales, vitaminas (retinol, complejo B, ácido ascórbico, biotina, vitaminas D₂ y D₃), ácidos grasos esenciales, proteínas, fibra y todos los aminoácidos esenciales para la nutrición humana, entre otros (Denis, 1995). Existe variabilidad en la composición nutricional de los

hongos en una misma especie, debido al tipo de cepa, clase de sustrato de crecimiento, grado de madurez, tipo de almacenamiento y conservación (Furlani, 2004).

Sales-Campos, *et al.* (2011), evaluaron la composición nutricional de *P. ostreatus*, desarrollado en diversos residuos agroindustriales del Amazonas. En el Cuadro 1, se presentan los resultados de la composición centesimal del hongo, cultivado sobre residuos de caña de azúcar.

Cuadro 1. Composición centesimal de *P. ostreatus* cultivado en residuos de caña de azúcar

Proteína (%)	Lípidos (%)	Fibra total (%)	Cenizas (%)	Carbohidratos totales (%)	Energía total (kcal)
14,67	2,14	30,50	6,10	67,52	226,01

FUENTE: Sales-Campos, *et al.*, 2011.

En el Cuadro 2 se indica la composición de aminoácidos esenciales de algunos hongos comestibles incluido *P. ostreatus*, en contraste con el contenido de aminoácidos esenciales del huevo de gallina.

Cuadro 2. Composición de aminoácidos esenciales en algunos hongos comestibles y en huevo de gallina

Aminoácido	<i>Agaricus bisporus</i>	<i>Lentinus edodes</i>	<i>Pleurotus florida</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Pleurotus sajor-cajú</i>	<i>Volvariella diplasia</i>	<i>Volvariella volvacea</i>	Huevo gallina ^a
Leucina	7.5	7.9	7.5	6.8	7.0	5.0	4.5	8.8
Isoleucina	4.5	4.9	5.2	4.2	4.4	7.8	3.4	6.6
Valina	2.5	3.7	6.9	5.1	5.3	9.7	5.4	7.3
Triptófano	2.0	nd	1.1	1.3	1.2	1.5	1.5	1.6
Lisina	9.1	3.9	9.9	4.5	5.7	6.1	7.1	6.4
Treonina	5.5	5.9	6.1	4.6	5.0	6.0	3.5	5.1
Fenilalanina	4.2	5.9	3.5	3.7	5.0	7.0	2.6	5.8
Metionina	0.9	1.9	3.0	1.5	1.8	1.2	1.1	3.1
Histidina	2.7	1.9	2.8	1.7	2.2	4.2	3.8	2.4
Total ^b	38.9	36.0	46.0	33.4	37.6	48.5	32.9	47.1

Datos presentados como g de aminoácido/100g de proteína cruda. nd: no determinado. a: por comparación. b: excluyendo arginina y cistina.

FUENTE: Denis, 1995.

A pesar que la concentración de aminoácidos en *P. ostreatus* es menor en comparación con otros hongos comestibles, esta especie fúngica presenta una ventaja y es su versatilidad para desarrollarse y generar metabolitos en diferentes tipos de sustratos, ya sean sólidos o líquidos. Hadar, *et al.* (1986), determinaron el contenido de aminoácidos y la composición química de algunos nutrientes de los cuerpos fructíferos del hongo cultivado sobre un sustrato a base de residuos de algodón, con respecto al micelio producido en medio sumergido. Se observó similitud en la concentración de nitrógeno total, proteína, glicógeno, ácidos grasos, ARN y cenizas. Solamente, hubo diferencias en el contenido de 6 aminoácidos, en relación al tipo de sustrato.

Caglarirmak (2007), determinó el contenido de vitamina C y complejo B de los hongos comestibles *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus sajor-cajú* (ver Cuadro 3). *P. ostreatus* presenta una menor concentración de vitamina C y vitamina B9 con respecto a *L. edodes* y *P. sajor-cajú*. Sin embargo, supera en cantidad de tiamina y riboflavina a *P. sajor-cajú* y su concentración de niacina es mucho mayor que el hallado en *L. edodes* y *P. sajor-cajú*.

Cuadro 3. Contenido de vitamina C y complejo B en *L. edodes*, *P. ostreatus* y *P. sajor-cajú*

HONGO	ÁCIDO ASCÓRBICO (VIT. C)	ÁCIDO FÓLICO (VIT. B9)	TIAMINA (VIT. B1)	RIBOFLAVINA (VIT. B2)	NIACINA (VIT. B3)
<i>L. edodes</i>	13,73	59,33	0,17	0,22	1,95
<i>P. ostreatus</i>	3,38	9,08	0,15	0,21	4,44
<i>P. sajor-cajú</i>	16,01	42,00	0,14	0,12	2,96

Valores expresados en base húmeda en unidades de mg/100g y para ácido fólico en µg/100g

Fuente: Caglarirmak, 2007.

En los carpóforos de *P. ostreatus* se observa una mayor concentración de minerales (Zn, Fe, P, Ca, Mg y Na) en contraste con *L. edodes* y *P. sajor-cajú* (ver Cuadro 4). Esto lo hace interesante desde el punto de vista bromatológico, sobre todo porque la concentración de minerales puede variar de acuerdo a la

composición química del sustrato de cultivo. En términos generales, todos los hongos comestibles son una buena fuente de elementos minerales, especialmente por la cantidad de K, P y Mg (Mattila, *et al.*, 2001).

Cuadro 4. Contenido de minerales en *L. edodes*, *P. ostreatus* y *P. sajor-cajú*

HONGO	Zn	Fe	P	Ca	Mg	K	Na
<i>L. edodes</i>	8,91	5,69	700,61	55,99	128,77	2338,67	677,67
<i>P. ostreatus</i>	11,18	14,80	998,08	81,16	221,9	2225,00	773,67
<i>P. sajor-cajú</i>	9,31	7,94	716,31	23,66	157,67	2687,00	750,77

Valores expresados en (mg/kg) en base húmeda

Fuente: Caglarirmak, 2007

Por otro lado, la bioactividad medicinal de los macromicetes es debida a la generación natural de metabolitos durante su reproducción y crecimiento, lo cual hace que estos importantes alimentos sean llamados funcionales o nutracéuticos (Benavides, 2009). Varios de estos metabolitos presentan actividad antitumoral, antiviral, antibacterial, antitrombótica, antioxidante, antiparasitaria y/o inmunomoduladora (Trigos, 1998; Wasser y Weis, 1999; Karaman, *et al.*, 2010; Llauradó, *et al.*, 2011).

En referencia a sus propiedades medicinales, los hongos del género *Pleurotus* presentan bioactividad contra enfermedades como la hipercolesterolemia. El estudio del extracto acuoso de *P. ostreatus* indica una alta actividad antitumoral debida a la presencia de un particular polisacárido macromolecular (Yoshioka, *et al.*, 1972).

En estudios químicos realizados a los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* y *P. ostreatus* Cfr. Florida cultivados en paja de cebada, se encontró ergosterol y peróxido de ergosterilo, metabolitos que también están presentes en *L. edodes* (Shiitake) (Benavides, 2004; Rivera, *et al.*, 2009). Además, la concentración de ergosterol en *P. sajor-cajú* puede ser variable, cuando el hongo se cultiva en diferentes sustratos como paja de cebada, pulpa de café, rastrojo de frijón, rastrojo

de haba y sus mezclas (Trigos, 1998). Estos dos principios activos (ergosterol y peróxido de ergosterilo) presentan inhibición del crecimiento tumoral, por lo cual, se consideran de gran importancia en la prevención del cáncer. El producto generado de la irradiación con luz UV del ergosterol, es la vitamina D₂, la cual presenta una actividad antirraquítica 100 veces superior que la del colesterol. Además, el ergosterol es un precursor de biomoléculas de interés agroquímico y farmacéutico, tal como la hormona de crecimiento vegetal llamada brassinólida (Lorenzen y Anke, 1998).

Por otro lado, *Pleurotus ostreatus* se ha prescrito en la medicina oriental por su efecto hipocolesterolémico, de hecho los ácidos grasos insaturados presentes en los hongos comestibles generan un efecto sinérgico junto a la fibra alimenticia y otros compuestos bioactivos, para la reducción del colesterol. El análisis del perfil de ácidos grasos de diferentes hongos comestibles, indica un contenido notable de ácidos grasos poliinsaturados (Nieto, *et al.*, 2007; Benavides, *et al.*, 2010).

La investigación de los ácidos grasos presentes en el micelio de varias especies del género *Pleurotus*, es importante para la diferenciación intragenérica de estas especies. Para los hongos *Pleurotus abalonus*, *P. calyptratus*, *P. columbinus*, *P. cornucopiae*, *P. cystidiosus*, *P. ostreatus*, *P. pulmonarius*, *P. sajor-cajú* y *P. sapidus*; el ácido linoléico se presenta como un compuesto mayoritario en concentración variable (33 a 68% de los lípidos totales). Mientras que en *P. eryngii*; el principal componente es el ácido oléico (44% de los lípidos totales). El contenido de ácidos grasos en *Pleurotus ostreatus* es similar en micelio y en carpóforos, sin embargo, se conoce que en el micelio existe mayor contenido de ácidos grasos saturados (Hadar y Cohen, *et al.*, 1986).

2.1.3 Características de los sustratos Las setas carecen de estructuras fisiológicas para producir su propio alimento debido a que son organismos heterótrofos y además muchos de ellos crecen sobre materiales vegetales

mueritos o degradados (saprófitos), por lo tanto, es necesario acondicionar el sustrato de crecimiento, para que puedan desarrollarse sin inconvenientes. Los materiales que constituyen el sustrato pueden variar dependiendo de las zonas de producción de granos, cereales o residuos lignocelulósicos asequibles. Pueden utilizarse diferentes tipos de materias primas, tales como arroz, cebada, sorgo, maíz, trigo, avena, desechos agrícolas de la industria del café, plátano, fique, caña de azúcar, palma africana, etc., además de otros suplementos agrícolas que también pueden variar considerando costos y facilidad de adquisición; dichos suplementos pueden ser harina de soya, garbanzo, algodón, pescado, girasol, cártamo, uva, etc.

También es común la utilización de urea, gallinaza o sales nitrogenadas para acelerar el proceso de colonización y proveer al sustrato de nitrógeno. Otro suplemento agrícola utilizado como mejorador de la estructura del compost, es la cascarilla de algodón, que aunque su contenido proteico es muy bajo, los espacios originados por su voluminosidad permite una excelente oxigenación del sustrato. Otro suplemento importante para el acondicionamiento del pH del medio y la estimulación del crecimiento hifal, es el carbonato de calcio o yeso agrícola, que por lo general se adiciona entre 1 y 2% en peso (Flegg, *et al.*, 1987; Rodríguez y Jaramillo, 2005b).

Los requerimientos nutricionales de *Pleurotus sp.*, dependen en gran medida de la proporción de oxígeno, carbono, nitrógeno, fósforo y potasio, así como de azufre y magnesio en menor proporción (Miles y Chang, 1999). En el Cuadro 5, se indican las principales funciones que cumplen los elementos nutricionales para el desarrollo fúngico.

Las orellanas y en general todas las setas, se comportan en los ecosistemas como recicladores naturales, pues reducen la acumulación de materia orgánica de manera rápida y eficiente, y por lo tanto pueden aprovecharse para la

biotransformación de residuos agrícolas, evitando que se conviertan en fuentes de contaminación de los recursos naturales (agua, suelo, aire). Por otro lado, el sustrato residual del cultivo de *P. ostreatus*, puede emplearse en alimentación de rumiantes, ya que termina enriquecido con la proteína del hongo y delignificado por la acción bioquímica de éste (Rodríguez y Gómez, 2001). Además, el sustrato agotado presenta un importante contenido de minerales, por lo cual, puede emplearse como acondicionador de suelos o como abono orgánico (Girón, 2000).

Cuadro 5. Funciones de elementos nutricionales en el desarrollo de *Pleurotus sp.*

ELEMENTO	RAZÓN DEL REQUERIMIENTO
Oxígeno	Responsable del ambiente aeróbico. Requerido para el metabolismo celular.
Carbono	Hace parte de los materiales carbonados (lignina, celulosa, hemicelulosa, carbohidratos simples), los cuales proporcionan energía para desarrollar sus actividades metabólicas.
Nitrógeno	Es un componente de las proteínas, purinas y pirimidinas. Es componente de la pared celular.
Azufre	Elemento estructural de aminoácidos, metionina, cisteína y sus derivados, así como de algunos compuestos bioactivos metabolizados.
Fósforo	Es componente del ATP y por lo tanto, es importante para el almacenamiento de energía celular y el movimiento de materiales a través de las membranas.
Potasio	Cofactor de los sistemas enzimáticos.
Magnesio	Usado para la activación de los sistemas enzimáticos.
Calcio	Responsable del acondicionamiento de pH en el sustrato y estimula el crecimiento hifal.

Fuente: Miles y Chang, 1999; Flegg, *et al.*, 1987.

Los hongos del género *Pleurotus* están considerados entre los mejores degradadores de materiales lignocelulósicos, reportándose reducciones hasta del 80% de la lignina y la celulosa presentes en los sustratos, lo que proporciona un residuo aprovechable para la alimentación animal, debido a su digestibilidad y aporte proteico. También son considerados como agentes primarios de descomposición porque son capaces de utilizar los desechos agrícolas en su

forma original, sin requerir algún proceso de degradación bioquímico o microbiológico anterior (Montoya y Restrepo, 2006). De hecho, los hongos *Pleurotus* tienen una alta capacidad de síntesis de compuestos nitrogenados cuando se incuban sobre material orgánico. Pues, según el Cuadro 6, se evidencia un incremento en el nitrógeno para *P. sajor-cajú* de 72,5%; para *P. ostreatus* de 77,9% y para *P. pulmonarius* de 78,5%, el cual se cumple igualmente para la proteína bruta en base seca. Estos hongos procesan la fibra bruta, para la síntesis de estructuras celulares (quitina), la formación del abrigo micelial y la preparación del estado del hongo para la fructificación; de igual modo, se observa un incremento importante en la cantidad de minerales como potasio, manganeso y zinc, mientras que en minerales como hierro y cobre se aprecia que el hongo debe utilizarlos en las reacciones de síntesis como mediadores o activadores de algunas de sus reacciones enzimáticas, ya que se presenta un decremento en la cantidad de éstos, después de cierto tiempo de incubación (Montoya y Restrepo, 2006).

2.1.3.1 Composición química de residuos lignocelulósicos Los principales componentes de la pared celular vegetal son la celulosa y hemicelulosa enlazadas mediante lignina. Los materiales lignocelulósicos existen en la naturaleza en cantidades abundantes y no pueden degradarse por la mayoría de los organismos presentes en los ecosistemas. Entre los residuos lignocelulósicos se encuentran los desechos agrícolas, forestales y los de las industrias transformadoras de productos agrícolas (agroindustrias).

2.1.3.1.1 Celulosa Es el principal componente de la pared celular vegetal, se caracteriza por ser altamente estable e insoluble en agua. La celulosa está compuesta por moléculas de D-glucosa unidas a través de enlaces glucosídicos - 1,4; que forman moléculas de celobiosa. Éstas a su vez, se organizan en filamentos no ramificados (Hildén and Johansson, 2004).

La glucosa se estructura en filamentos denominadas microfibrillas, con un diámetro de 5 a 15 nm. Los enlaces β -glucosídicos facilitan la formación de cadenas largas y lineales unidas entre sí, mediante puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals, que forman una estructura cristalina y organizada, resistente a la hidrólisis en gran parte de las microfibrillas. Las regiones cristalinas están separadas por celulosa no organizada o amorfa (Figura 3), la cual es susceptible a la degradación enzimática (Pérez, *et al.*, 2002).

Cuadro 6. Análisis bromatológicos de sustrato fresco y sustratos incubados en 23 días con especies de *Pleurotus sp.*

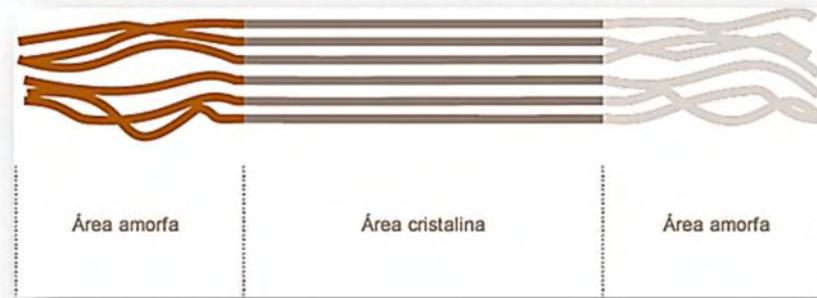
VARIABLE	Material fresco	<i>P. sajor-cajú</i>	<i>P. ostreatus</i>	<i>P. pulmonarius</i>
Humedad	79,2	78,64	77,39	76,77
Materia seca	20,8	21,36	22,61	23,23
Nitrógeno total	0,38	1,38	1,72	1,77
Proteína bruta	2,37	8,62	10,76	11,04
Grasa total	0,30	0,5	0,4	0,54
Fibra bruta	15,6	47,07	42,37	45,75
Cenizas totales	0,68	2,63	2,6	2,24
Calcio	0,29	0,41	0,34	0,36
Magnesio	0,02	0,03	0,06	0,03
Potasio	0,00	0,14	0,23	0,15
Fósforo	0,01	----	----	----
Hierro p.p.m	154,84	85,47	99,15	137,42
Manganeso p.p.m	0,00	5,5	18,40	6,72
Zinc p.p.m	3,10	11,9	29,42	12,97
Cobre p.p.m	23,68	21,52	20,20	13,47
Sodio	0,00	0,03	0,02	0,02

Valores expresados como g/100 g de peso seco, excepto el contenido de agua expresada como g/100g de peso húmedo.

FUENTE. Montoya y Restrepo, 2006

2.1.3.1.2 Hemicelulosa Es un polímero complejo amorfo de heteropolisacáridos (Figura 4), formado principalmente por pentosas y hexosas usualmente acetiladas que forman cadenas ramificadas, además de azúcares ácidos, unidos por enlaces glucosídicos β -1,4 y ocasionalmente por enlaces β -1,3 (Pérez, *et al.*, 2002). Este polímero tiene un peso molecular más bajo que la celulosa y presenta ramificaciones laterales cortas de azúcares, que la hacen hidrolizable.

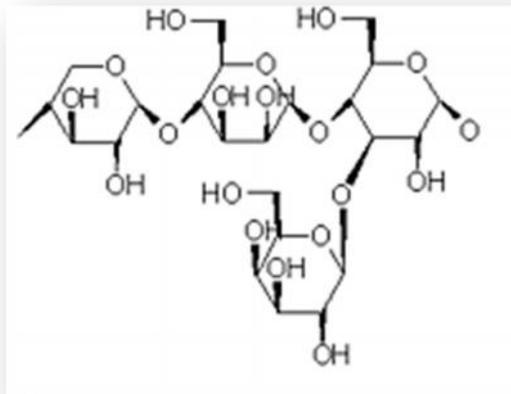
Figura 3. Estructura cristalina y amorfa de la celulosa



Fuente: Cotton Incorporated, 2011.

La hemicelulosa tiene diferencias estructurales entre las especies de las plantas y su función es conectar la lignina y las fibras de celulosa. La lignina y la hemicelulosa se mantienen unidas a través de enlaces tipo éster entre la arabinosa (de la hemicelulosa) y los grupos hidroxilo (de la lignina); mientras que la hemicelulosa y la celulosa se unen mediante puentes de hidrógeno (Laureano, *et al.*, 2005).

Figura 4. Estructura molecular de la hemicelulosa

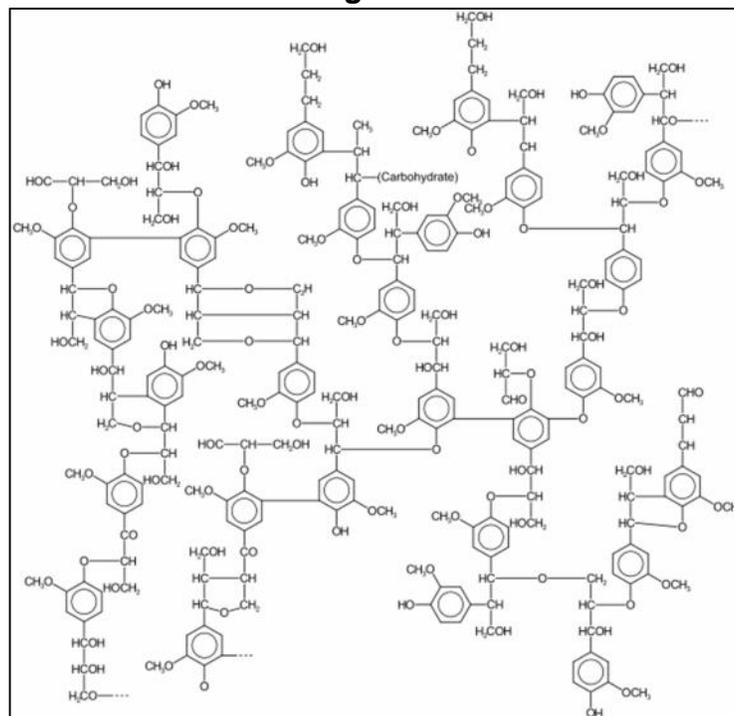


Fuente: Taiz y Zeiger, 2006

2.1.3.1.3 Lignina Es el polímero aromático no polisacárido más abundante en la naturaleza, después de la celulosa y hemicelulosa. Forma parte de la pared celular vegetal, confiriendo soporte estructural, impermeabilidad y resistencia al ataque microbiano. La lignina y la hemicelulosa generan una matriz amorfa que

protege a las fibras de celulosa, de la degradación (Sánchez, 2009). La lignina es un heteropolímero irregular, insoluble y ramificado, formado por la polimerización de alcoholes aromáticos del tipo fenilpropano, unidos por los enlaces C-C y enlaces del tipo éter entre los anillos aromáticos. Esta estructura (Figura 5) constituye del 20 al 30% de la madera de los árboles (Aro, *et al.*, 2005). En las maderas suaves el componente principal de la lignina es el alcohol coniferílico y en las duras, el alcohol coumarílico y el sinapílico. Debido a su estructura molecular, la lignina es altamente resistente a la degradación química y biológica, sin embargo los hongos de pudrición blanca son capaces de mineralizarla eficientemente llevándola a CO₂ y H₂O, como productos finales (Leonowicz, *et al.*, 1999).

Figura 5. Estructura molecular de la lignina



Fuente: Taiz y Zeiger, 2006

2.1.3.2 Enzimas degradadoras de materiales lignocelulósicos Los macromicetes de pudrición blanca, tal como *Pleurotus sp.*, pueden producir

variedad de moléculas degradadoras de materiales lignocelulósicos, entre las que se encuentran las enzimas celulolíticas, xilanolíticas y ligninolíticas. Las enzimas se generan en el ápice hifal, aunque no se descarta que la actividad secretora se realice a lo largo del micelio, con el fin de mantener la actividad metabólica. El complejo de enzimas celulolíticas consiste de tres enzimas hidrolíticas: endoglucanasa, exoglucanasa y α -glucosidasa, las cuales trabajan en forma sinérgica. Las zonas amorfas de la celulosa son atacadas inicialmente por la endoglucanasa, hidrolizando los enlaces glucosídicos β -1,4; generando múltiples sitios de ataque para la exoglucanasa, la cual actúa sobre los extremos no reductores de la cadena. Al mismo tiempo, la α -glucosidasa ejerce acción sobre la celobiosa o sobre pequeños oligómeros, produciendo moléculas de glucosa (Papinutti, *et al.*, 2003).

Las enzimas xilanolíticas tienen la capacidad de degradar la hemicelulosa y su nombre varía de acuerdo a la composición del sustrato: las manasas degradan mananos, mientras que las xilanasas degradan xilanos. Éstas últimas son las más estudiadas, dada su abundancia en la naturaleza (Moore, 1998).

Se conocen tres enzimas ligninolíticas, como las más importantes en los hongos causantes de pudrición blanca: lignin-peroxidasa (LiP), manganeso-peroxidasa (MnP) y lacasa. Las dos primeras peroxidases presentan un grupo hemo como cofactor y emplean peróxido de hidrógeno como primer aceptor de electrones. La LiP puede oxidar directamente sustratos aromáticos fenólicos y no fenólicos. La MnP oxida Mn^{+2} a Mn^{+3} y éste último es quelado por ácidos orgánicos sintetizados por el hongo. La lacasa es una oxidasa con cuatro átomos de cobre como cofactor y cuyo aceptor de electrones es el oxígeno generando agua como producto. Esta última enzima es la más frecuente en los hongos de pudrición blanca (Martínez, 2002)

2.1.4 Generalidades del cultivo de orellanas El cultivo de orellanas y en general de muchos macromicetes comestibles puede llevarse a cabo empleando diferentes técnicas, pero en todas ellas lo fundamental consiste en sembrar el micelio sobre un sustrato leñoso-celulósico húmedo (casi siempre pasteurizado), el cual se incuba a una temperatura promedio entre 15 y 25°C, mientras se conserva envuelto en plástico y por último se mantiene al descubierto en sitios húmedos y frescos, hasta que fructifiquen los hongos. Así, por años y en diferentes partes del mundo, se han realizado investigaciones en variedad de sustratos para el cultivo de estos hongos, entre los que se pueden destacar los troncos de maderas blandas (álamo, sauce, morera, haya, nogal, roble, abedul, entre otros), tocones de madera de árboles, paja de cereales, etc. (Miles y Chang, 1999).

El tamaño de las instalaciones para el cultivo de orellanas depende del volumen de producción y tipo de proceso (continuo o discontinuo). Si el volumen de producción es pequeño (producción casera) y el proceso es continuo, se requiere al menos dos áreas en las cuales se puedan controlar las variables climáticas (temperatura, humedad, luz y ventilación). Uno de estos espacios se destina para el crecimiento del micelio sobre el sustrato. La temperatura debe oscilar entre 15 y 22°C y se debe presentar transferencia de oxígeno entre el medio y el sustrato de crecimiento. En el otro sitio, se lleva a cabo la etapa de fructificación del hongo sobre bloques ya invadidos de micelio. La temperatura debe estar alrededor de 20°C y la humedad relativa entre el 85% y 95%. Debe existir una baja concentración de CO₂, por lo que el ambiente debe estar aireado y se requiere iluminación de 12 horas diarias. Si el volumen de producción requerido es pequeño y además el proceso es discontinuo, basta con un espacio grande que se pueda adaptar a las diferentes condiciones de iluminación, ventilación y humedad necesarias en cada una de las condiciones del proceso (Miles y Chang, 1999).

Desde los años 50, algunos investigadores han desarrollado el cultivo de orellanas con buenos rendimientos de producción en diferentes sustratos y en especial en desechos de tipo agrícola, como el aserrín (Block, *et al.*, 1958).

2.1.4.1 Componentes de rendimiento del cultivo Entre las variables de seguimiento al rendimiento del cultivo de orellanas y en general de las setas comestibles, están: eficiencia biológica, variables fenológicas (precocidad y tiempo a cosecha), variables morfológicas (número de fructificaciones por bolsa y medidas biométricas), además de las pérdidas del proceso (Rodríguez y Jaramillo, 2005a; Varnero, *et al.*, 2010).

2.1.4.1.1 Eficiencia biológica La eficiencia biológica (EB) es la variable que evalúa la calidad de los desechos lignocelulósicos como sustrato para el cultivo de hongos comestibles, la cual relaciona la producción de cuerpos fructíferos frescos con respecto a la masa sin humedad del sustrato; en tanto que el rendimiento tiene en cuenta la masa de hongos frescos en relación a la masa de sustrato fresco (Wang, *et al.*, 2001). Las diferencias de EB encontradas en los materiales de cultivo se atribuyen a la disponibilidad de los nutrientes, por tal motivo algunas combinaciones de sustratos ofrecen mejores rendimientos (Baena, 2005)

En el Cuadro 7 se observan los valores de porcentaje de eficiencia biológica de cultivos de *P. ostreatus* sobre variedad de sustratos.

2.1.4.1.2 Variables fenológicas La precocidad corresponde al tiempo transcurrido desde la siembra de micelio hasta la aparición de los primordios (Rodríguez y Jaramillo, 2005a), también es conocida como periodo siembra-primordio y presenta valores variables, dependiendo de la forma de propagación del micelio en el sustrato de crecimiento (Varnero, *et al.*, 2010). El tiempo a cosecha, es el periodo que transcurre desde la siembra de micelio hasta la cosecha de hongos (Rodríguez y Jaramillo, 2005a). Las características

bioquímicas de los sustratos pueden influir en la disminución de esta variable (Varnero, *et al.*, 2010). En el Cuadro 8 se observan los valores de variables fenológicas de cultivos de *P. ostreatus* sobre variedad de sustratos.

Cuadro 7. Porcentaje de eficiencia biológica en cultivos de *P. ostreatus*

SUSTRATO DE CULTIVO	EFICIENCIA BIOLÓGICA ACUMULADA (%)
Pulpa de café (Calderon, 2009)	128,19
Caña de maíz suplementada con úrea (Calderon, 2009)	113,62
Caña de maíz sin suplementar (Calderon, 2009)	100,78
Hojarasca de roble (Vargas, <i>et al.</i> , 2012)	44,35
Hojarasca de roble 25% / bagazo de caña 75% (Vargas, <i>et al.</i> , 2012)	109,12
Paja de trigo (Baena, 2005)	138,95
Bagazo de maguey (Baena, 2005)	93,68
Bagazo de maguey suplementado con 30% brócoli (Baena, 2005)	108,60
Bagazo de maguey suplementado con 0,34% de sulfato de amonio (Baena, 2005)	126,32
Paja de avena (Nevárez, 2012)	196,10
Bagazo de agave (Nevárez, 2012)	113,90
Bagazo de agave suplementado con 80% de paja de avena (Nevárez, 2012)	144,10
Bagazo de agave suplementado con 20% de paja de avena (Nevárez, 2012)	115,50

Cuadro 8. Variables fenológicas en cultivos de *P. ostreatus*

SUSTRATO DE CULTIVO	PRECOCIDAD (días)	TIEMPO A COSECHA (días)
Paja de avena (Nevárez, 2012)	31,00	35,00
Bagazo de agave (Nevárez, 2012)	41,00	47,00
Bagazo de agave suplementado con 80% de paja de avena (Nevárez, 2012)	24,00	28,00
Bagazo de agave suplementado con 20% de paja de avena (Nevárez, 2012)	43,00	48,00
Paja de trigo (Varnero, <i>et al.</i> , 2010)	69,00	79,40
Astillas de eucalipto (Varnero, <i>et al.</i> , 2010)	41,40	56,20
Astillas de álamo (Varnero, <i>et al.</i> , 2010)	39,20	46,20
Mezcla de paja de trigo (85%) y astillas de eucalipto (15%) (Varnero, <i>et al.</i> , 2010)	51,40	65,00

2.1.4.1.3 Variables morfológicas El número de fructificaciones (setas) por bolsa, se halla cuantificando el número promedio de setas obtenidas en cada bolsa productiva por cosecha. El número de racimos obtenidos es proporcional al

número de setas, lo que puede atribuirse al mayor nivel de propagación del micelio en los sustratos (Varnero, *et al.*, 2010). Respecto a las medidas biométricas, éstas son: longitud del sombrero y longitud del estípite de los carpóforos (Rodríguez y Jaramillo, 2005a). En el Cuadro 9 se observan los valores de variables fenológicas de cultivos de *P. ostreatus* sobre variedad de sustratos.

Cuadro 9. Variables morfológicas de *P. ostreatus* cultivado

SUSTRATO DE CULTIVO	NÚMERO SETAS/BOLSA	LONGITUD SOMBRERO (cm)	LONGITUD ESTÍPITE (cm)
Paja de trigo (Varnero, <i>et al.</i> , 2010)	18,20	---	---
Astillas de eucalipto (Varnero, <i>et al.</i> , 2010)	10,20	---	---
Astillas de álamo (Varnero, <i>et al.</i> , 2010)	2,80	---	---
Mezcla de paja de trigo (85%) y astillas de eucalipto (15%) (Varnero, <i>et al.</i> , 2010)	15,20	---	---
Paja de trigo (Ramos, <i>et al.</i> , 2011)	88,00	5,70	1,90
Capacho de uchuva (López, <i>et al.</i> , 2008)	65,00	5,81	---
Cáscara de arveja (López, <i>et al.</i> , 2008)	51,40	5,47	---
Tusa de mazorca (López, <i>et al.</i> , 2008)	34,50	5,53	---
Aserrín de roble (López, <i>et al.</i> , 2008)	58,90	5,77	---
Paja de trigo (Bautista, <i>et al.</i> , 2003)	---	12,60 – 5,95	7,00 – 3,00

2.2 ANTECEDENTES

2.2.1 Producción y usos de los residuos de fique y trigo en Nariño El área sembrada de fique (*Furcraea macrophylla*) en Nariño en el año 2007 fue de 7.130 ha. El Acuerdo Sectorial de Productividad y Competitividad para la Cadena Regional del fique entre el sector productivo, privado, gubernamental y educativo, se firmó con el fin de ampliar el área de cultivos a 4.000 hectáreas más y producir hecogenina de exportación y fibra para diversos usos. Lo anterior, trae como consecuencia la producción de residuos líquidos y sólidos en forma proporcional (Mora, 2004).

Del proceso de desfibrado de las pencas de fique se obtiene 4% de fibra larga, 70% de residuos líquidos y 26% de desechos sólidos. En Nariño se produjeron

43.089 t de residuos sólidos de fique en 2006 (Castellanos, *et al.*, 2009) y en el corregimiento de San Alejandro (Guaitarilla), fue de 3.080 t. Éstos, en su gran mayoría son dispuestos sobre el suelo hasta su degradación, para luego ser usados en los cultivos de la misma finca. Durante el tiempo de degradación se produce la atracción de insectos y la contaminación del suelo y fuentes de agua, por escorrentía del jugo de fique (Cadefique, 2006). Por otro lado, los residuos sólidos pueden compostarse, sin embargo muchos agricultores no realizan esta práctica porque les genera mayores costos*. Además, cuando el área disponible para la degradación de los residuos se requiere para otros usos, estos materiales son sometidos a quemas*, generando contaminación del aire (Aubert, 1998), la muerte de organismos benéficos del suelo y la disminución de su materia orgánica (USAID-ARD/CAPP-Compañía de Empaques, 2005).

El trigo en Nariño, presentó en 2005 un área cultivada de 12.336 ha con una producción de 27.753 t (DNP, 2007) y a pesar que ha bajado su producción debido a problemas de mercadeo (Fenalce, 2007), se sigue cultivando de manera tradicional. El uso de variedades tradicionales también es causa del bajo rendimiento, por lo cual, se han desarrollado investigaciones con el uso de variedades productivas adaptadas a diferentes condiciones ambientales y aceptadas en la industria molinera, con el fin de mejorar la eficiencia de la producción y la competitividad (Sañudo y Muriel, 2011). En promedio, se considera que el 30% de la producción de biomasa es el grano de trigo y el 70% restante corresponde a la granza (compuesta por el tamo, tallos, hojas secas, plumas, raquis de la espiga, glumas, espiguillas y barba). El tamo se usa como relleno para colchones y muebles, en actividades artesanales (Artesanías de Colombia, 2005), en la elaboración de techos o para alimentación animal, especialmente en monogástricos (Fundación Universitaria Jorge Tadeo Lozano, 2010; Rico y Rivas, 2003). Sin embargo, la cantidad generada de tamo en las

* Comunicación personal con agricultores del municipio de Guaitarilla. Agosto de 2011.

cosechas excede la demanda de uso, por lo cual es un material de fácil disponibilidad.

2.2.2 Producción de *Pleurotus sp.* En 1917 en Alemania comenzó el cultivo del hongo *Pleurotus sp.* y a partir de los 60's los trabajos experimentales sobre su cultivo en madera tomaron auge en países como Hungría, Alemania y Checoslovaquia; extendiéndose después por el resto de Europa. En países centroeuropeos se realizaban cultivos rudimentarios colocando en sitios frescos, tocones y trozas que tenían el hongo y que se conseguían en bosques húmedos. La fácil adaptación a diferentes climas y materiales lignocelulósicos, hizo que se emplearan varias especies de *Pleurotus* (*P. ostreatus*, *P. pulmonarius*, *P. colombinus*, *P. cornucopiae*, etc.) El cultivo sobre variedad de sustratos empezó en los años 60's, pero la verdadera difusión sobre paja de cereales tuvo lugar en los 70's. Desde entonces la investigación en este género de macromicetes ha tomado mayor importancia y en países como Italia y Hungría, ya existen cultivos a gran escala. En España se ha incrementado la producción industrial de *Pleurotus ostreatus*, inicialmente sobre cilindros de madera de encino y más recientemente sobre sustratos preparados a base de mezclas de paja con suros de maíz molido; incluso se emplean las cavas para la obtención de champiñón, en la producción de orellanas, sin inconvenientes (García-Mendoza, 2002; García-Rollán, 2007).

En Colombia, la primera seta comestible cultivada fue la de champiñón en 1950, gracias al alemán Alfredo Beck. Años después, él diversificó el cultivo con shiitake, con el fin de producir micofarina. Los primeros ensayos para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* se realizaron en 1990, en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Antioquia, en colaboración con el micólogo mexicano Gastón Guzmán. En años recientes, la producción de orellanas a microescala ha aumentado, principalmente en Antioquia, Caldas y Cundinamarca (Cardona, 2001).

El macromicete más consumido y comercializado en el mundo es el champiñón, sin embargo existen otros de mayor valor agregado que son de consumo más limitado y que poseen interesantes propiedades nutricionales y medicinales, algunos de éstos son de habitual consumo en Japón, China y Corea, tal como shiitake e hiratake (orellanas) (Zhang, *et al.*, 2002). A principio de los 90's, *P. ostreatus* ocupaba el segundo puesto entre los hongos más cultivados en el mundo (Shu-Ting, 1991), cinco años después el 24% de la producción global de macromicetes fue de *P. ostreatus* y de otras setas especiales (Matsumoto, 1996). En la última década del siglo XX, se comercializaron cerca de 250.000 t de este macromicete (Miles y Chang, 1999). Recientemente, la producción mundial de hongos comestibles cultivados supera los 7 millones de toneladas, cuyo valor económico es de 30 billones de dólares. La tasa promedio de incremento en la producción de hongos es superior al 11% anual.

Por otro lado, las propiedades nutraceuticas de estas especies, los hace excelente materia prima para las industrias alimenticia, farmacéutica, cosmética y de perfumería. De hecho, se estima que las operaciones comerciales de alto valor agregado superan los 3,6 billones de dólares en el mercado internacional, observándose una creciente demanda en Europa, Norteamérica y Japón. A nivel mundial el champiñón es el hongo comestible más importante con un nivel de producción superior a 2 millones de toneladas métricas anuales, seguido por shiitake con más de 1,5 millones de toneladas y las setas *Pleurotus* con alrededor de 1 millón de toneladas (Martinez-Carrera, *et al.*, 2007).

Se han investigado variedad de sustratos lignocelulósicos en Colombia y a nivel mundial para la producción de especies del género *Pleurotus* y de otros géneros, de hecho, Cenicafé tiene documentado el proceso de producción de *Pleurotus sp.*, shiitake y ganoderma, en sustratos del eje cafetero (Rodríguez y Gómez, 2001; Rodríguez y Jaramillo, 2005a; Rodríguez y Jaramillo, 2005b), lo que demuestra la versatilidad y adaptabilidad de este tipo de hongos, en diferentes medios de

crecimiento. En el Cuadro 10, se presentan algunos ejemplos específicos para *Pleurotus sp.*

En Colombia se han desarrollado pocas investigaciones para la producción de orellanas sobre sustratos de fique, que han sido documentadas (Mera, 2007; Moreno, 1996). Según Moreno (1996), en Antioquia se realizó el proyecto Fique-Orellanas Comestibles, empleando como sustrato el bagazo de fique y siguiendo una metodología convencional de producción. Esta investigación fue financiada por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Secretaría de Agricultura de Antioquia, Compañía de Empaques S.A, Umata de El Peñol y la U.C.O. Los resultados del proyecto impactaron de manera positiva a la comunidad fiquera del oriente antioqueño.

Por otro lado, una investigación realizada en México (Baena, 2005), revela que el bagazo de maguey (planta agavácea de la misma familia que *Furcraea macrophylla*), presenta condiciones favorables para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Se probaron tratamientos de acondicionamiento del sustrato y en particular la adición de nitrógeno como sulfato de amonio generó una alta eficiencia biológica (126,32), aunque no superó la del testigo absoluto de paja de trigo (138,95).

Diversos estudios en los que se emplea paja de trigo como sustrato único o en mezcla con otro material lignocelulósico, indican que éste es ideal para la producción de macromicetes. Específicamente, Varnero, *et al.*, (2010), estudiaron el potencial de distintos residuos lignocelulósicos, tales como: astillas de álamo, astillas de eucalipto, mezcla de paja de trigo y eucalipto (15/85) y paja de trigo como testigo.

Cuadro 10. Sustratos empleados para el cultivo de hongos del género *Pleurotus*

ESPECIES DEL GÉNERO <i>Pleurotus</i>	SUSTRATO PARA CULTIVO
<i>P. ostreatus</i> , <i>P. sajor-cajú</i> , <i>P. pulmonarius</i>	Residuo de algarrobo y uva pasa (Montoya y Restrepo, 2006).
<i>P. ostreatus</i> y <i>P. djamor</i>	Bagazo de fique (Mera, 2007; Moreno, 1996)
<i>P. ostreatus</i> , <i>P. sajor-cajú</i> , <i>P. pulmonarius</i> , <i>P. djamor</i>	Aserrín de tallo y pulpa de café (Rodríguez y Jaramillo, 2005a)
<i>P. ostreatus</i>	Residuos de curtiembre, industria bananera, industria del papel, rastrojos y malezas, efluentes del proceso de obtención de aceite de oliva, residuos de arroz, trigo y maíz, residuos de árbol de naranja y palma de coco (Melo, 2010; Varnero, <i>et al.</i> , 2010). Residuos sólidos de palma de aceite (Girón, 2000). Bagazo de maguey (Baena, 2005)
<i>P. sajor-cajú</i>	Residuos de caña de azúcar (Mansur, <i>et al.</i> , 1991), industria algodonera, cascarilla de soya, leguminosas (Melo, 2010).
<i>P. eryngii</i>	Residuos de soya y trigo (Melo, 2010)

Varnero, *et al.*, (2010) analizaron la composición química de los residuos antes y después de la etapa de cosecha y determinaron las propiedades fenológicas, morfológicas, rendimiento y calidad de los cuerpos fructíferos. El contenido de nutrientes (N_T , P_T y K_T) resultó significativamente mayor en la paja de trigo, evidenciándose su aporte nitrogenado a la mezcla paja-eucalipto. En la etapa poscosecha, estos sustratos resultaron más enriquecidos. En el periodo siembra-primordio, la paja de trigo requirió más tiempo, en comparación con el sustrato de eucalipto y álamo, sin embargo en éste último la invasión micelial no fue completa; lo anterior se evidenció en el periodo de cosecha, el cual fue mayor para el testigo de trigo y su mezcla. Por otro lado, los sustratos de paja de trigo y mezcla con eucalipto produjeron el mayor número de hongos, lo que evidenció las mayores eficiencias biológicas.

En variadas investigaciones sobre cultivo de hongos *Pleurotus*, se denota la importancia de realizar estudios bromatológicos antes y después del proceso, tal como se presenta en el estudio denominado “caracterización química de pulpa de café colombiano antes y después de emplearla como sustrato en la producción del

hongo comestible *Pleurotus ostreatus*”, en el cual se hizo un seguimiento bromatológico sobre el sustrato fresco, fermentado-pasteurizado y después de sembrar el hongo. Del resultado de los análisis bromatológicos realizados al sustrato en sus diferentes estados de transformación se puede concluir que el macromicete mineraliza el sustrato y utiliza nitrógeno, fósforo y potasio en mayor cantidad, para sus procesos metabólicos (Restrepo, 1990).

El contenido bromatológico en los sustratos puede ser variable, de acuerdo a su origen, condiciones agroclimáticas del cultivo y de su pretratamiento. Íñiguez, *et al.*, (2006) e Íñiguez, *et al.*, (2011), determinaron respectivamente algunas variables bromatológicas en bagazo de agave lavado con agua y también en bagazo de agave con proceso de cocción, posterior desgarre, desmedulado, lavado con agua y exprimido. Por otro lado, Nevárez (2012) realizó algunos análisis bromatológicos al bagazo de agave deshidratado, molido, tamizado y sometido a tratamiento térmico y Baena (2005) lo hizo en bagazo de agave cocinado, autoclavado y escurrido. Ramírez, *et al.*, (2012) analizaron las características físicas y químicas del bagazo de agave proveniente de la industria tequilera. En el Cuadro 11 se presentan algunos valores bromatológicos determinados en bagazo de agave.

Por otro lado, Fanadzo, *et al.*, (2010) determinaron algunas variables bromatológicas en paja de trigo, picada y pasteurizada a 95°C; Dündar & Yildiz, (2009) analizaron el contenido de nitrógeno en tallos de trigo hidratados y esterilizados en autoclave a 121°C. Cabeza, *et al.*, (2002), usaron paja de trigo cortada que fue sometida a ebullición y posterior escurrido, la mezclaron con NH_4NO_3 (5%) y le realizaron un seguimiento bromatológico, antes y durante su transformación con diferentes cepas fúngicas. Viziteu (2005), determinó algunas características fisicoquímicas de la paja de trigo después de remojar en agua y desinfectarse térmicamente. Sales-Campos, *et al.*, (2010) analizaron la composición centesimal de varias materias primas empleadas en la formulación de

sustratos para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. En el Cuadro 12 se presentan algunos valores bromatológicos en paja de trigo.

Cuadro 11. Valores bromatológicos en bagazo de agave y fique

VARIABLE BROMATOLÓGICA (% B.S)	BAGAZO DE AGAVE
NITRÓGENO	0,53 (Iñiguez, <i>et al.</i> , 2006) 0,27 (Iñiguez, <i>et al.</i> , 2011)
CENIZAS	8,80 (Iñiguez, <i>et al.</i> , 2006) 3,10 (Iñiguez, <i>et al.</i> , 2011) 7,60 (Nevárez, 2012)
LIGNINA	9,60 (Nevárez, 2012) 8,15 (Baena, 2005)
CELULOSA	37,27 (Baena, 2005) 52,2 (Nevárez, 2012)

Cuadro 12. Valores bromatológicos en paja y granza de trigo

VARIABLE BROMATOLÓGICA (% B.S)	PAJA DE TRIGO
NITRÓGENO	1,10 (Fanadzo, <i>et al.</i> , 2010) 0,50 (Dündar & Yildiz, 2009) 0,72 (Viziteu, 2005)
CENIZAS	2,02 (Cabeza, <i>et al.</i> , 2002) 5,17 (Sales-Campos, <i>et al.</i> , 2010)
LIGNINA	7,00 (Viziteu, 2005)
CELULOSA	48,90 (Cabeza, <i>et al.</i> , 2002) 33,50 (Viziteu, 2005)

2.3 MARCO CONTEXTUAL

2.3.1 Zona de recolección de materiales lignocelulósicos La zona de recolección del bagazo de fique y la granza de trigo se encuentra en el municipio de Guaitarilla, ubicado al sur del departamento de Nariño (Colombia), a una altura promedio de 2.653 m.s.n.m., con temperatura media de 16°C, y una extensión total de 121 km² sobre la región fisiográfica de la cuenca del río Guáitara. Este municipio que dista 75 km de Pasto se caracteriza por ser netamente rural y su desarrollo económico depende de las actividades del sector primario. Su agricultura es tradicional y cubre un área de 7.060 ha, equivalente al 60% del

territorio municipal. Las áreas rurales de sus 31 veredas están destinadas a la producción agropecuaria (Alcaldía de Guaitarilla, 2004).

La microlocalización para la zona de recolección se presenta en el corregimiento de San Alejandro, en las veredas de San Alejandro, Paramillo y El Cabuyo, pertenecientes a la Asociación de Productores de Fique de Guaitarilla (Asoprofilla). Los cultivadores de fique de estas veredas tienen experiencia empírica en producción agrícola, así como experiencia en transformación y comercialización de fibra.

En el corregimiento de San Alejandro, el fique (*Furcraea macrophylla*) representa la principal actividad comercial y es cultivado en su gran mayoría en forma permanente, como cerca viva o separando siembras. También hay otros cultivos que aportan en menor grado a la economía regional, entre ellos el trigo (*Triticum aestivum*). El fique se puede encontrar cultivado en asociación con este cereal (Corpocauca, 2007), por lo cual, fue posible recolectar los residuos lignocelulósicos requeridos para el desarrollo de esta investigación en un solo sitio.

En el Cuadro 13, se observa la comparación productiva de los cultivos de fique y trigo, en el corregimiento de San Alejandro (Guaitarilla-Nariño).

Cuadro 13. Comparación productiva de cultivos comerciales de fique y trigo en el corregimiento de San Alejandro (Guaitarilla-Nariño)

Cultivo	Área cultivada (Ha)	Producción (kg/año)	Autoconsumo (%)	Ventas (%)
Fique	22,4	16.682	0	100
Trigo	7	19.489	11	89

Fuente: Corpocauca, 2007.

3. JUSTIFICACIÓN

El departamento de Nariño (Colombia), se caracteriza por tener una amplia producción agrícola y el cultivo de fique es predominante dentro de la economía regional. De hecho, alrededor de 22 municipios están dedicados a esta actividad. Infortunadamente de la planta de fique sólo se aprovecha el 4% correspondiente a la fibra larga y de los residuos el 26% son desechos sólidos. En 2006 hubo una generación de 43.089 t de estos desechos sólidos, discriminados entre bagazo y fibra corta (Castellanos, *et al.*, 2009); lo que significó una generación de 3.080 t, en el municipio de Guaitarilla (Corpocauca, 2007). El proceso de desfibrado se realiza en el mismo sitio del cultivo y estos residuos son dispuestos sobre los suelos sin recibir algún tratamiento, lo que da origen a problemas ambientales como la atracción de insectos o la contaminación de fuentes de agua (Cadefique, 2006). En otras ocasiones estos sólidos se someten a quemas indiscriminadas, lo que produce contaminación del aire por la emanación de gases (Aubert, 1998) y la disminución en la calidad del suelo (USAID-ARD/CAPP-Compañía de Empaques, 2005). Se conoce que el bagazo de fique presenta una composición química que puede aprovecharse en la obtención de abonos orgánicos (Arroyave y Velásquez, 2001) en centros de beneficio comunitario (CBC) y el proceso puede durar entre 3 y 6 meses (Corpocauca, 2007), sin embargo no todos los productores de fique pueden acceder al CBC y por lo tanto la disposición a cielo abierto y en condiciones no controladas puede durar hasta un año, lo que da pie a los problemas de tipo ambiental*.

El trigo (*Triticum aestivum*) también hace parte de los principales productos agrícolas comerciales del departamento de Nariño, y en el municipio de Guaitarilla se siembra como cultivo transitorio en asocio con las plantas de fique. De su cosecha se obtiene un residuo lignocelulósico conocido como granza de trigo (Delgado, *et al.*, 2008). Este material puede emplearse en la elaboración de

* Comunicación personal con agricultores del municipio de Guaitarilla. Agosto de 2011.

artesanías o de abonos orgánicos, sin embargo en el municipio de Guaitarilla, a la granza de trigo no se le realizan procedimientos controlados de transformación*.

Es evidente que los subproductos sólidos obtenidos en las prácticas agrícolas de los cultivos de fique y trigo en el municipio de Guaitarilla, son fuente de contaminación ambiental cuando no son aprovechados de forma adecuada; sin embargo éstos presentan lignina y celulosa en su composición, que los hace aptos como sustratos para el cultivo de hongos comestibles, tal como *Pleurotus ostreatus* (Moreno, 1996; Viziteu, 2005). Se sabe que este tipo de hongos presenta un contenido nutricional y medicinal considerable en comparación con verduras y legumbres (Denis, 1995), por lo cual se hace interesante reconocer la incidencia de la composición del sustrato de crecimiento, sobre la composición nutricional de los hongos. Por otro lado, la descomposición de sustratos lignocelulósicos por hongos de pudrición blanca, tal como *Pleurotus ostreatus*, genera ventajas biotecnológicas con respecto a la producción convencional de abonos orgánicos y es que se presenta la mineralización y la mejoría de la calidad nutricional de los sustratos en menor tiempo, biotransformándolos en materiales con potencial uso como alimento para animales (Ching y Alvarado, 2009), como acondicionadores del suelo o como abonos orgánicos (Girón, 2000). Lo anterior, implica que la biotransformación de residuos agrícolas mediante el uso de macromicetes del género *Pleurotus*, es un proceso biotecnológico integral, en el que es posible aprovechar los residuos lignocelulósicos contaminantes y de bajo valor agregado, para la obtención de productos con mayor valor agregado.

* Comunicación personal con agricultores del municipio de Guaitarilla. Agosto de 2011.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 ADQUISICIÓN DE MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS

El bagazo de fique de la especie *Furcraea macrophylla* y la granza de trigo, se adquirieron de cultivos ubicados en el municipio de Guaitarilla (Nariño). Para cada materia prima, se recolectaron muestras frescas (Figura 6), en el corregimiento de San Alejandro (veredas de San Alejandro, Paramillo y El Cabuyo) que se mezclaron entre sí y se cuartearon para obtener las muestras representativas que se emplearon en la obtención de los sustratos.

Figura 6. Recolección de bagazo de fique y granza de trigo



a. Bagazo de fique b. Recolección de bagazo de fique c. Granza de trigo d. Recolección de granza de trigo

4.2 PREPARACIÓN DE SUSTRATOS

Las muestras de bagazo y granza se transportaron hasta el Invernadero de Bioabonos del Sena Regional Nariño, en donde se realizó su pretratamiento. Se sumergieron en agua con el fin de lavar impurezas, tierra e insectos y en el caso del bagazo, eliminar el jugo de fique para evitar que sus componentes químicos actúen sobre *P. ostreatus* como fungicida (Ramirez, 2010). Posteriormente, los materiales se escurrieron, se secaron al ambiente y se picaron usando una máquina picadora de forraje, hasta obtener un material con tamaño promedio de partícula de 2 cm (Varnero, *et al.*, 2010), tal como se observa en la siguiente figura.

Figura 7. Pretratamiento de materiales lignocelulósicos



a. Lavado b. Escurrido c. Bagazo de fique húmedo d. Granza de trigo húmeda e. Picado

Todos los sustratos para el cultivo de *P. ostreatus* fueron acondicionados con carbonato de calcio grado analítico (MERCK), en proporción al 2% en peso, incluyendo los dos testigos, uno con 98% de bagazo de fique y otro con 98% de

granza de trigo (Rodríguez y Jaramillo, 2005b) (Figura 8). Para los diferentes tratamientos preparados con bagazo de fique se emplearon además, tres dosificaciones de granza de trigo (10,00; 20,00 y 30,00% en peso) y tres dosificaciones de granza de trigo (9,70; 19,50 y 29,00% en peso) suplementada con sulfato de amonio grado analítico (MERCK) (0,30; 0,50 y 1,00 % en peso), tal como se indica en el Diseño Experimental. Finalmente, se incorporó agua hasta obtener el 70% de humedad (Rodríguez y Gómez, 2001).

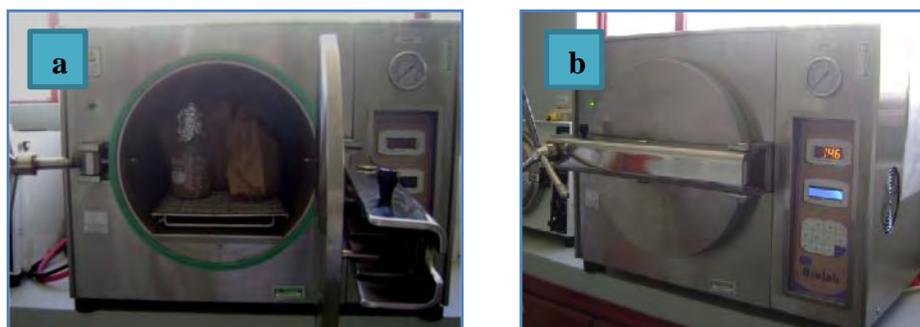
Figura 8. Elaboración de sustratos de crecimiento



a. y b. Acondicionamiento químico c. Mezclado de sustratos con granza de trigo

Los sustratos se llenaron en bolsas de polipropileno, hasta completar un kilogramo en cada una. Posteriormente, se cubrieron con bolsa de papel craft y se esterilizaron en autoclave, por 1 hora a 121°C. Los materiales se dejaron enfriar hasta temperatura ambiente para ser inoculados. En la Figura 9, se muestra la esterilización de los sustratos.

Figura 9. Esterilización de sustratos

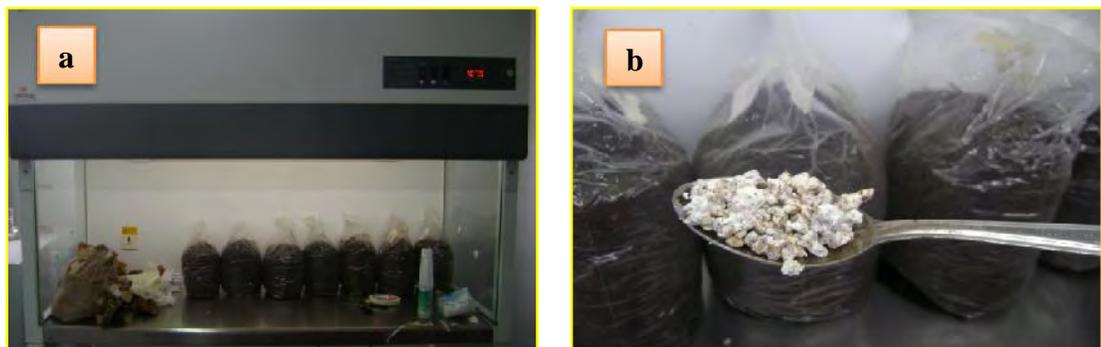


a. Sustrato recubierto en papel b. Autoclave

4.3 INOCULACIÓN

Los sustratos fueron inoculados en cámara de flujo laminar, empleando micelio comercial de *Pleurotus ostreatus* (CP-50) adquirido en el Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia. Una vez realizada la siembra en razón del 2% (Figura 10), se cerraron las bolsas y con una varilla desinfectada se agujerearon para permitir el intercambio gaseoso del sistema biológico.

Figura 10. Inoculación de sustratos



a. Cámara de flujo laminar b. Micelio de *P. ostreatus* para inoculación de sustratos

4.4 CULTIVO

Para el desarrollo de las diferentes etapas del cultivo, se adecuó un espacio cerrado, libre de contaminaciones, provisto de paredes de ladrillo estucado, piso de cemento y teja plástica que permite la ventilación. Este sitio pertenece a la empresa SETASUR ubicada en la ciudad de Pasto (Nariño).

4.4.1 Invasión de micelio Las bolsas de los sustratos inoculadas se dispusieron en estantes cubiertos con un sistema de penumbra removible elaborado en malla negra. El ambiente se mantuvo aireado y se humedeció constantemente para establecer una humedad relativa promedio de 85%, la temperatura ambiente estuvo entre 13°C y 22°C. A diario se inspeccionaron todas las bolsas para

determinar el crecimiento de micelio (Figura 11) y se evaluó la posible aparición de contaminaciones.

4.4.2 Fructificación Cuando los sustratos fueron completamente colonizados, se abrieron las bolsas y se removió el sistema de penumbra. El medio ambiente permaneció aireado y fresco, para lo cual se humedecieron con mayor frecuencia las paredes y el piso del sitio de cultivo, hasta alcanzar alrededor del 90% de humedad relativa, requerida para la fructificación. La temperatura osciló entre 12°C y 20°C. Se realizó un seguimiento diario hasta la aparición y crecimiento de primordios (Figura 12).

Figura 11. Sustrato en proceso de invasión micelial

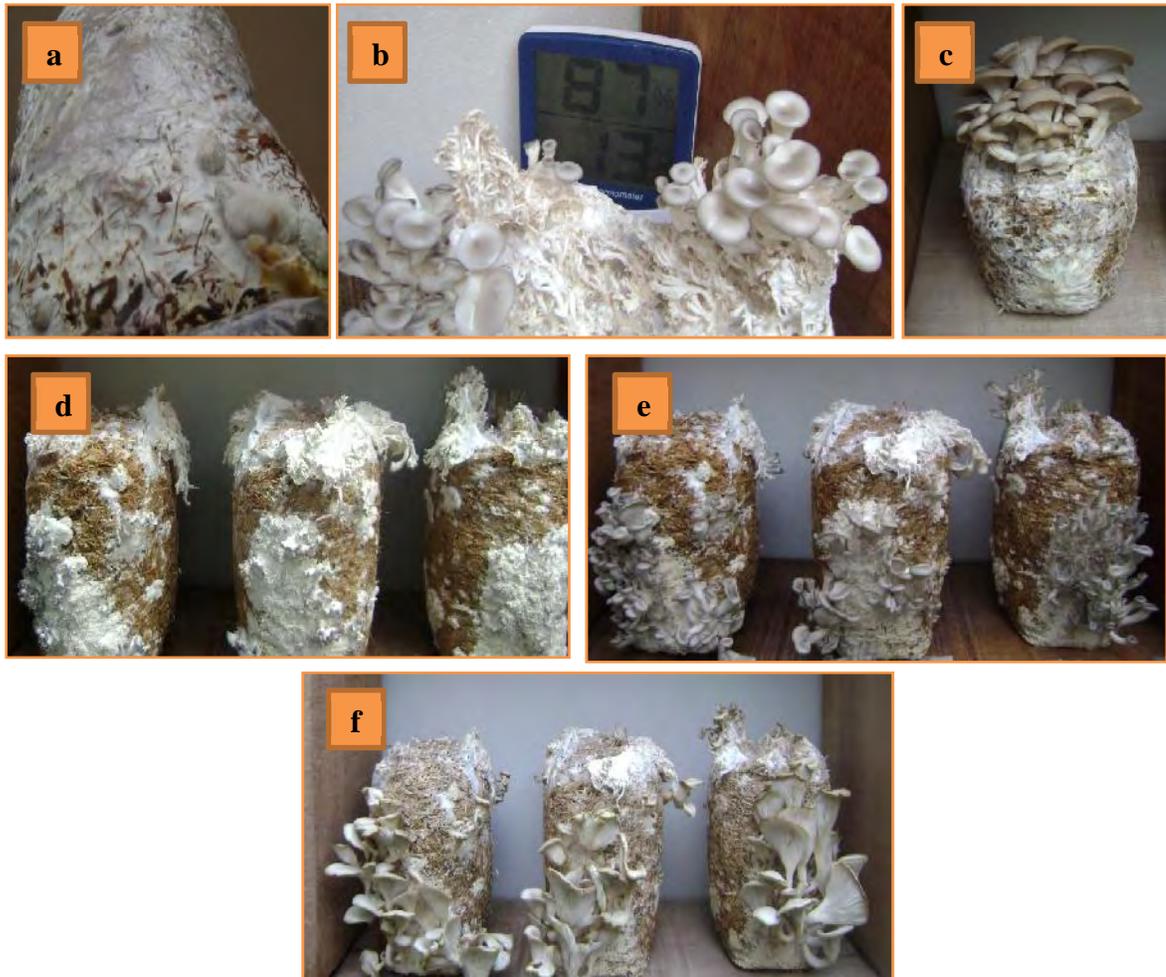


a. Sustratos recién inoculados b. 8 días de invasión micelial (T1) c. 30 días de invasión micelial (T1)

4.4.3 Cosecha La primera cosecha se llevó a cabo cuando los bordes exteriores de las setas se doblaron ligeramente hacia arriba, adquiriendo una forma cóncava.

Las fructificaciones se extrajeron cortando cuidadosamente la base del estípite (Figura 13). Los carpóforos se limpiaron de residuos de sustrato, luego se pesaron (Figura 14) y les fueron determinadas sus medidas biométricas (Figura 15). Se indujo una segunda cosecha humedeciendo el ambiente de cultivo hasta el 90% de humedad relativa y manteniendo la temperatura entre 12°C y 20°C. Los hongos obtenidos en la segunda cosecha fueron tratados de igual forma que en la primera.

Figura 12. Formación de primordios y setas



a. Formación de primordios (T11, 35 días) b. *P. ostreatus* en desarrollo (T11, 37 días) c. *P. ostreatus* en desarrollo (T11, 39 días) d. Formación de primordios (T2, 27 días) e. *P. ostreatus* en desarrollo (T2, 29 días) f. *P. ostreatus* en desarrollo (T2, 31 días)

Figura 13. Cosecha



a. y b. Primera cosecha de *P. ostreatus* (T8, 43 días) b. Carpóforo de *P. ostreatus*

Figura 14. Pesaje de carpóforos



Figura 15. Determinación de medidas biométricas



a. Longitud de sombrero de *P. ostreatus* b. Longitud de estípite de *P. ostreatus*

4.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se analizaron 11 tratamientos (T1 a T11) y cada tratamiento contó con 3 repeticiones (R1 a R3). Por cada repetición se prepararon 3 bolsas, para un total de 99 unidades. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño experimental de bloques completos al azar (BCA). En cada cosecha se retiró una bolsa por cada repetición, con el fin de realizar las pruebas químicas.

La dosificación en base seca, para los tratamientos se presenta en el Cuadro 14.

Cuadro 14. Dosificación de tratamientos para la producción de *Pleurotus ostreatus*

TRATAMIENTO	BAGAZO DE FIQUE (%)	GRANZA DE TRIGO (%)	SULFATO DE AMONIO (%)	CARBONATO DE CALCIO (%)
TESTIGO 1 (T1)	98,00	-----	-----	2,00
TESTIGO 2 (T2)	-----	98,00	-----	2,00
MEZCLA 1 (T3)	97,70	-----	0,30	2,00
MEZCLA 2 (T4)	97,50	-----	0,50	2,00
MEZCLA 3 (T5)	97,00	-----	1,00	2,00
MEZCLA 4 (T6)	88,00	10,00	-----	2,00
MEZCLA 5 (T7)	78,00	20,00	-----	2,00
MEZCLA 6 (T8)	68,00	30,00	-----	2,00
MEZCLA 7 (T9)	88,00	9,70	0,30	2,00
MEZCLA 8 (T10)	78,00	19,50	0,50	2,00
MEZCLA 9 (T11)	68,00	29,00	1,00	2,00

- **Variables de Respuesta y análisis estadístico:** Como variables de respuesta experimental se analizaron los componentes de rendimiento del cultivo y los resultados bromatológicos en sustratos y setas.

Antes de realizada la inoculación y después de la primera y segunda cosechas, se determinó el contenido de nitrógeno, cenizas, lignina y celulosa de los sustratos empleados para el cultivo. Se calculó el porcentaje total de incremento ó decrecimiento medio de cada variable y parcial desde la inoculación hasta la primera cosecha y desde la primera hasta la segunda cosecha. En cada etapa productiva del cultivo se midieron los componentes de rendimiento (eficiencia biológica, variables fenológicas y morfológicas), además se calculó el porcentaje de incremento ó decrecimiento medio de cada variable entre cosechas. Para la determinación del análisis proximal de los hongos cosechados, se unieron las muestras de las cosechas correspondientes a cada repetición y tratamiento y les fue determinado el contenido de proteína cruda, carbohidratos totales, fibra cruda, lípidos totales y cenizas totales.

Para todas las variables se calculó la media y desviación estándar de tres repeticiones y se realizó el análisis de varianza de los tratamientos. La

comparación de medias se determinó mediante la prueba de Fischer. El análisis estadístico se desarrolló mediante el uso del paquete estadístico InfoStat Versión 2012.

4.6 DETERMINACIÓN DE COMPONENTES DE RENDIMIENTO

La eficiencia biológica y las variables fenológicas y morfológicas se determinaron para las repeticiones de cada tratamiento, en cada etapa productiva del cultivo. Se aplicaron las siguientes metodologías, descritas según Rodríguez y Jaramillo (2005a).

- Eficiencia biológica: Los carpóforos cosechados se limpiaron de residuos de sustrato y fueron inmediatamente pesados. Se tuvo en cuenta el peso del sustrato en base seca y se empleó la ecuación 1.

$$\text{Eficiencia biológica} = \frac{\text{Masa de cuerpos fructíferos cosechados}}{\text{Masa inicial de sustrato en base seca}} * 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

- Precocidad: Se registró el tiempo transcurrido desde la siembra de micelio hasta la aparición de los primordios, en días.
- Tiempo a cosecha: Se registró el tiempo transcurrido desde la siembra de micelio hasta la cosecha, en días.
- No. fructificaciones/bolsa: Se promedió el número de hongos generados en las bolsa productivas de cada tratamiento.
- Pérdidas del proceso: Se contabilizó el número de unidades improductivas con respecto al número total de bolsas inoculadas. Para su cálculo se usó la ecuación 2.

$$\text{Pérdidas del proceso} = \frac{\text{No. de bolsas improductivas}}{\text{No. de bolsas inoculadas}} \quad \text{Ecuación 2}$$

- Medidas biométricas del carpóforo: Se promediaron los valores de longitud del sombrero y del estípite de los hongos cosechados en cada tratamiento.

4.7 DETERMINACIÓN BROMATOLÓGICA

Los análisis bromatológicos de cuerpos fructíferos y sustratos de cada tratamiento, requirieron la determinación de la humedad mediante el Método de Harris (secado en estufa a 105°C), con el fin de controlar el proceso de deshidratación. Las muestras posteriormente se sometieron a molienda (Figura 16) y fueron tamizadas empleando una criba de 1mm de tamaño de partícula.

Figura 16. Deshidratación y molienda de setas



a. Deshidratación de *P. ostreatus* b. Molienda de *P. ostreatus*

Para establecer la calidad bromatológica de los sustratos como medio de crecimiento para *P. ostreatus*, se encontró su contenido de nitrógeno, cenizas, lignina y celulosa, antes de la inoculación y después de cada cosecha. La determinación de la calidad bromatológica de los carpóforos se hizo mediante el análisis químico proximal, para lo cual, se halló su contenido de proteína cruda, carbohidratos totales, fibra cruda, lípidos totales y cenizas totales. Los análisis

bromatológicos se realizaron en el Laboratorio de Bromatología de los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño y se siguió la metodología descrita a continuación.

- Ceniza. Se especificó según el método establecido por Association of Official Agricultural Chemists (AOAC 942.05), en el cual, se cuantifica la materia mineral total correspondiente al residuo de la eliminación de la materia orgánica. Su procedimiento se describe en el Anexo 1.
- Extracto etéreo. Se obtuvo mediante el método de extracción por Soxhlet (AOAC 920.39). La fracción lipídica de las muestras secas se extrajo empleando un disolvente orgánico etéreo, como se indica en el Anexo 2.
- Fibra cruda. Se determinó por el método de digestión ácida-básica (AOAC 962.09) en el cual, el contenido de fibra cruda corresponde a la pérdida por calcinación del residuo de las digestiones ácida y básica de la muestra, tal como se describe en el Anexo 3.
- Nitrógeno y proteína cruda. La concentración de nitrógeno en los sustratos y hongos cosechados, se determinó por el Método Kjeldahl (AOAC 988.05), tal como se describe en el Anexo 4. La proteína de los cuerpos fructíferos se determinó con el factor $N \times 4,38$ debido a que en los hongos existen altas cantidades de nitrógeno no protéico presente en la quitina, en aminoácidos libres y en ácidos nucleicos (Miles & Chang, 1999).
- Carbohidratos totales. Se obtuvieron mediante hidrólisis directa para la determinación de carbohidratos no estructurales totales: almidones, monosacáridos y disacáridos, según el método de Pichard y Alcalde. La hidrólisis ácida consigue solubilizar todos los carbohidratos no estructurales, aunque se pueden solubilizar algo de carbohidratos

estructurales que interfieren en los resultados. La técnica espectrofotométrica se indica en el Anexo 5.

- Lignina y celulosa. Se consideraron para los sustratos del cultivo, antes y después de cada cosecha. Para su determinación se empleó el residuo obtenido de la FDA, según el método de Van Soest & Wine. El método de fibra detergente ácida determina el complejo ligno-celuloso, mediante la digestión de la muestra seca con un detergente en un amortiguador ácido. La FDA se emplea como paso preliminar para la determinación de lignina y puede correlacionarse con la digestibilidad de un material fibroso como forraje. El procedimiento se detalla en el Anexo 6.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 BROMATOLOGÍA DE SUSTRATOS

La variación química de los sustratos respecto a la composición de nitrógeno (N), cenizas (C), lignina (L) y celulosa (Ce), desde la inoculación hasta las cosechas de *P. ostreatus*, se presenta a continuación.

5.1.1 Nitrógeno (N) La determinación de nitrógeno en los sustratos es muy importante, dado que es uno de los principales nutrientes para el crecimiento hifal, formación de primordios y cuerpos fructíferos (Sánchez, *et al.*, 2008). El crecimiento de *P. ostreatus* en sustratos suplementados con nitrógeno aumenta el rendimiento del cultivo y el valor nutritivo de las setas (Dias, *et al.*, 2012).

En el Cuadro 15 se presentan los resultados de la concentración inicial de nitrógeno de los sustratos antes de su inoculación (NAI) y el incremento de nitrógeno en los tratamientos debido a la suplementación (NT1). En el Cuadro 16 se indica el contenido de nitrógeno para los diferentes sustratos después de las cosechas, así como el incremento total (NT) y parcial de nitrógeno desde la inoculación hasta la primera cosecha (NIPC) y desde la primera hasta la segunda cosecha (NPCSC). El análisis de varianza de los tratamientos se presenta en el Anexo 7, se observa para NPC y NSC un p-valor menor al nivel de significación nominal de la prueba ($\alpha=0,05$) y un coeficiente de variación de 7,43 y 9,19, respectivamente. En ambos casos se presentan diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Los resultados de la diferencia de medias de Fischer para los tratamientos, se indican en el Cuadro 16. En la Gráfica 1, se observa el incremento medio de nitrógeno en los sustratos durante las etapas de desarrollo micelial de *P.ostreatus* en relación a su valor inicial.

Cuadro 15. Concentración inicial de nitrógeno en sustratos

TRATAMIENTO	NAI (% B.S.)	NT1 (%)
T1	0,38 +/- 0,05	---
T2	0,74 +/- 0,05	---
T3	0,42 +/- 0,04	10,53
T4	0,46 +/- 0,09	21,05
T5	0,57 +/- 0,04	50,00
T6	0,40 +/- 0,06	5,26
T7	0,44 +/- 0,05	15,79
T8	0,48 +/- 0,10	26,32
T9	0,45 +/- 0,11	18,42
T10	0,55 +/- 0,07	44,74
T11	0,69 +/- 0,05	81,58

NAI: Concentración de nitrógeno antes de la inoculación

NT1: Incremento de nitrógeno en los tratamientos debido a la suplementación (%)

Los resultados bromatológicos indican que la concentración de nitrógeno antes de la inoculación de los sustratos, incrementó respecto al valor inicial del bagazo de fique debido a la suplementación con fuentes nitrogenadas, sin embargo ninguno de los tratamientos preparados según las dosificaciones planteadas en esta investigación, superó el nivel de nitrógeno inicial de la granza de trigo (0,74%). El material lignocelulósico de fique sin suplemento nitrogenado (T1), antes de la inoculación, presentó la mínima concentración de nitrógeno (0,38%). La adición de sulfato de amonio, granza de trigo ó ambos incrementó la concentración inicial de nitrógeno en los sustratos preparados con bagazo de fique, de acuerdo a la información NT1 del Cuadro 15. El menor incremento de nitrógeno (5,26%) se presentó en T6, el cual fue preparado con bagazo de fique pretratado y la mínima concentración de granza de trigo (10%); mientras que el mayor incremento (81,58%) se dio en T11, en el cual, el bagazo de fique pretratado fue mezclado con 29% de granza de trigo y 1% de sulfato de amonio.

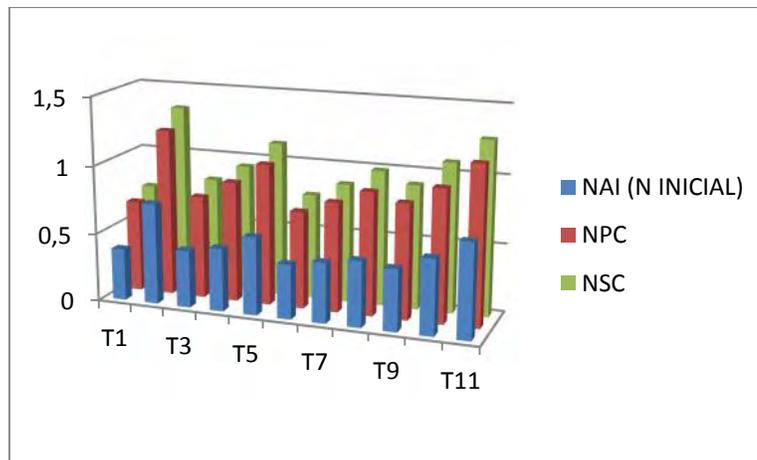
En investigaciones anteriores realizadas con hongos del género *Pleurotus* se observa la tendencia a incrementarse gradualmente el contenido de nitrógeno en los sustratos después de la inoculación y cosechas (Sales-Campos, *et al.*, 2010; Wang, *et al.*, 2001), tal como se observa en los datos experimentales de este estudio (Gráfica 1).

Cuadro 16. Concentración de nitrógeno en sustratos después de cosechas

TRATAMIENTO	NPC (% B.S.)	NIPC (%)	NSC (% B.S.)	NPCSC (%)	NT (%)
T1	0,67 +/- 0,04 ^l	76,32	0,73 +/- 0,07 ^l	8,96	85,27
T2	1,22 +/- 0,07 ^a	64,86	1,34 +/- 0,13 ^a	9,84	74,70
T3	0,75 +/- 0,06 ⁿ	78,57	0,82 +/- 0,11 ⁿ	9,33	87,90
T4	0,88 +/- 0,15 ^e	91,30	0,94 +/- 0,17 ^f	6,82	98,12
T5	1,03 +/- 0,06 ^c	80,70	1,13 +/- 0,11 ^c	9,71	90,41
T6	0,71 +/- 0,08 ⁱ	77,50	0,77 +/- 0,08 ⁱ	8,45	85,95
T7	0,80 +/- 0,08 ^g	81,82	0,87 +/- 0,05 ^g	8,75	90,57
T8	0,90 +/- 0,18 ^e	87,50	0,99 +/- 0,14 ^e	10,00	97,50
T9	0,84 +/- 0,12 ^f	86,67	0,91 +/- 0,19 ^f	8,33	95,00
T10	0,97 +/- 0,06 ^d	76,36	1,09 +/- 0,07 ^d	12,40	88,73
T11	1,16 +/- 0,03 ^b	68,12	1,27 +/- 0,11 ^b	9,48	77,60

NPC: Concentración de nitrógeno después de primera cosecha. NSC: Concentración de nitrógeno después de segunda cosecha. NIPC: Incremento medio de nitrógeno desde la inoculación hasta la primera cosecha. NPCSC: Incremento medio de nitrógeno desde la primera hasta la segunda cosecha. NT: Incremento medio total de nitrógeno. % B.S: Porcentaje en base seca. Datos expresados como media +/- desviación estándar de tres repeticiones. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos (Prueba Fischer).

Gráfica 1. Variación de nitrógeno en sustratos



Dicho comportamiento se atribuye al aumento en la cantidad de micelio del hongo durante su cultivo, además la actividad enzimática extracelular genera la degradación del sustrato con pérdidas de CO_2 , H_2O y la consecuente concentración de proteína y compuestos no volátiles. Por otro lado, se observa un mayor incremento de nitrógeno después de la primera cosecha y al darse las subsecuentes cosechas éste disminuye, debido a que el proceso de invasión micelial y tasa de fructificación es mayor en la primera etapa de desarrollo del hongo.

La concentración de nitrógeno en todos los sustratos que se muestrearon después de la primera y segunda cosechas, incrementó según los valores indicados en el Cuadro 16, dándose la mayor producción después de la primera cosecha en comparación con la segunda. Después de las dos cosechas, se observa que el menor incremento de nitrógeno se da en el tratamiento de bagazo sin aditivos nitrogenados (T1). Los tratamientos T4 y T8, presentaron la mayor producción de nitrógeno, lo cual puede ser atribuido a la suplementación, sin embargo, los tratamientos T2 y T11 con mayor cantidad de nitrógeno inicial no evidenciaron el mayor incremento de nitrógeno después de la segunda cosecha, a lo mejor porque altos porcentajes de nitrógeno pueden inhibir el crecimiento micelial, tal como lo confirmaron Silva, *et al.* (2007) en su investigación del cultivo de *Pleurotus sajor-cajú* a diferentes concentraciones de nitrógeno. La comparación de medias de Fisher para NPC revela que entre los tratamientos existen diferencias estadísticamente significativas, a excepción de T4 y T8. Respecto a NSC los tratamientos revelan diferencias estadísticamente significativas, excepto entre T4 y T9. La similitud en el comportamiento de estos tratamientos puede deberse a que presentan pequeñas variaciones entre sí, respecto a la concentración inicial de nitrógeno y mayores valores en su desviación estándar.

5.1.2 Cenizas (C) El contenido de cenizas corresponde al residuo mineral fijo obtenido después de la descomposición de todos los componentes orgánicos. Es común que la concentración de cenizas se incremente en los sustratos de crecimiento de macromicetes, debido al uso de la materia orgánica desde la fase de incubación hasta el final del ciclo de vida, con la consecuente liberación de minerales (Sales-Campos, *et al.*, 2010). Estudios de la composición mineral de sustratos antes y después del crecimiento de *P. ostreatus*, indican que la concentración de N, P, K, Ca y Mg aumentan durante la fase vegetativa, seguido de una ligera disminución en N, P y K, durante el proceso de formación de cuerpos fructíferos. A pesar de esto, la composición mineral de los sustratos descompuestos por el hongo, presenta un incremento de minerales respecto a su

contenido inicial, por lo cual, estos materiales se han empleado como fertilizantes en la producción de hortalizas, en la elaboración de alimentos para animales y como sustrato de cultivo de otras especies de hongos, tales como el champiñón (Sales-Campos, *et al.*, 2009).

En el Cuadro 17 y Gráfica 2, se observan los resultados del contenido de cenizas en los sustratos, según las diferentes etapas del cultivo de *P.ostreatus*. El análisis de varianza de los tratamientos se indica en el Anexo 7, el cual presentó un coeficiente de variación de 1,45 para CAI; 0,56 para CPC y 0,52 para NSC y en todos los casos, el p-valor resultó menor al nivel de significación nominal de la prueba ($\alpha=0,05$).

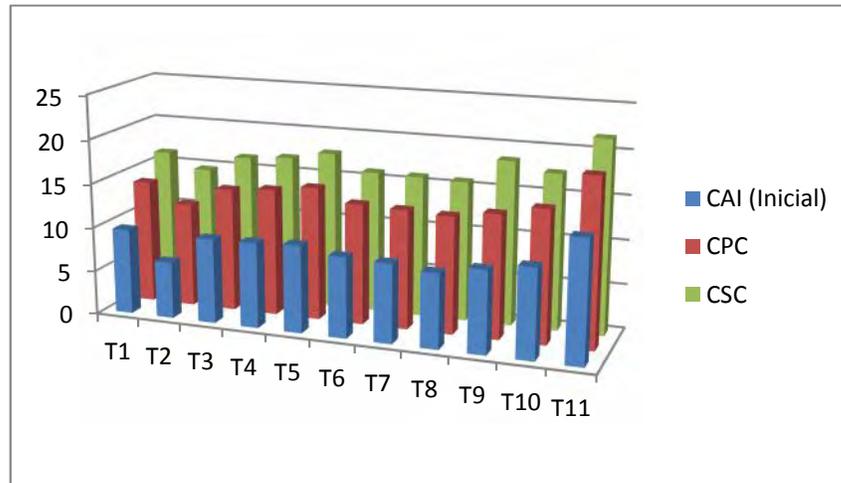
A pesar de ser una fuente rica en nitrógeno, el sustrato de granza de trigo presentó la menor concentración inicial de cenizas, siendo su contenido en minerales 1,5 veces menor que el del bagazo de fique. En la Gráfica 2 se observa que la suplementación del bagazo de fique con sulfato de amonio y/o granza de trigo, incrementó la composición mineralógica inicial de los sustratos.

Cuadro 17. Incremento de cenizas en sustratos

TRATAMIENTO	CAI (% B.S.)	CPC (% B.S.)	CIPC (%)	CSC (% B.S.)	CPCSC (%)	CT (%)
T1	9,68 +/- 0,12 ^{cd}	13,93 +/- 0,10 ^{de}	43,90	16,38 +/- 0,16 ^f	1,76	45,66
T2	6,41 +/- 0,11 ⁱ	11,77 +/- 0,08 ^h	83,62	14,72 +/- 0,13 ⁱ	2,51	86,13
T3	9,57 +/- 0,18 ^e	13,95 +/- 0,12 ^d	45,77	16,50 +/- 0,17 ^f	1,83	47,60
T4	9,64 +/- 0,12 ^{de}	14,36 +/- 0,09 ^c	48,96	16,89 +/- 0,10 ^e	1,76	50,72
T5	9,86 +/- 0,11 ^c	15,00 +/- 0,12 ^b	52,13	17,77 +/- 0,14 ^c	1,85	53,98
T6	9,10 +/- 0,15 ^{fg}	13,58 +/- 0,15 ^f	49,23	15,98 +/- 0,18 ^g	1,77	51,00
T7	8,90 +/- 0,13 ^g	13,40 +/- 0,17 ^{fg}	50,56	15,90 +/- 0,15 ^{gh}	1,87	52,43
T8	8,40 +/- 0,04 ^h	13,19 +/- 0,18 ^g	57,02	15,75 +/- 0,14 ^h	1,94	58,96
T9	9,30 +/- 0,16 ^f	13,90 +/- 0,13 ^e	49,46	18,50 +/- 0,09 ^b	3,31	52,77
T10	10,10 +/- 0,10 ^b	14,92 +/- 0,15 ^b	47,72	17,52 +/- 0,15 ^d	1,74	49,47
T11	13,70 +/- 0,09 ^a	18,90 +/- 0,10 ^a	37,96	21,70 +/- 0,11 ^a	1,48	39,44

CAI: Concentración de cenizas antes de inoculación. CPC: Concentración de cenizas después de primera cosecha. CSC: Concentración de cenizas después de segunda cosecha. CIPC: Incremento medio de cenizas desde la inoculación hasta la primera cosecha. CPCSC: Incremento medio de cenizas desde la primera hasta la segunda cosecha. CT: Incremento medio total de cenizas. % B.S: porcentaje en base seca. Datos expresados como media +/- desviación estándar de tres repeticiones. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) entre tratamientos (Prueba Fischer).

Gráfica 2. Contenido de cenizas en sustratos



La comparación de medias de Fisher para CAI revela que algunos tratamientos no presentaron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de minerales, es el caso de T6, T7 y T9, es decir los tratamientos con menores concentraciones de granza de trigo (10 y 20%) y con la mezcla en menores niveles de granza y sulfato (9,7% y 0,3%, respectivamente). Por otro lado, T3, T4, T5 y T1 no indican diferencias estadísticamente significativas, lo que significa que la concentración inicial de minerales es invariable en el testigo de bagazo de fique y los tratamientos de bagazo acondicionados con sulfato de amonio (0,3; 0,5 y 1%). El tratamiento antes de la inoculación, con mayor contenido de minerales es T11, el cual presenta las mayores concentraciones de la mezcla granza de trigo / sulfato de amonio (29/1) en bagazo de fique.

La composición mineral de los sustratos después de la primera y segunda cosechas presentó un incremento respecto a su contenido inicial, dado el proceso de mineralización ejercido por *P. ostreatus*, tal como ha sucedido en otras investigaciones (Sales-Campos, *et al.*, 2010). En la Gráfica 2 se visualiza una mayor mineralización después de la primera cosecha en comparación a la segunda, comportamiento que es propio de ciclo natural de los basidiomicetes.

En CPC y CSC se observa que algunos tratamientos no presentan diferencias estadísticamente significativas respecto al contenido de cenizas, dado el balance entre la concentración inicial de minerales, su consumo y el proceso de mineralización. Los tratamientos que no revelan diferencias estadísticas en CPC son T8, T7 y T6, es decir los sustratos de bagazo en mezcla con granza de trigo; T9, T1 y T3 (sustrato de bagazo con mezcla de granza y sulfato en mínimas cantidades, testigo de bagazo y sustrato de bagazo con mínima cantidad de sulfato); T10 y T5 (sustrato de bagazo con niveles medios de granza y sulfato vs. sustrato de bagazo con mayor nivel de sulfato de amonio). Respecto a los tratamientos que no muestran diferencias estadísticas en CSC, son T8, T7 y T6; T1 y T3; T10 y T5, guardando similitud con la primera cosecha.

La menor concentración de minerales después de la primera y segunda cosechas corresponde a T2 y la mayor corresponde a T11; sin embargo, según el incremento medio de cenizas desde la inoculación hasta la primera y segunda cosechas (CT), el mayor incremento mineralógico lo realiza el testigo de granza de avena, seguido de T8 y T5 (sustratos suplementados con la máxima concentración de granza y sulfato, respectivamente). El tratamiento T11 con mayor cantidad inicial de cenizas no evidenció el mayor incremento de las mismas después de la segunda cosecha, presentándose un posible comportamiento inhibitorio relacionado al alto porcentaje de nitrógeno. Los resultados describen una mayor capacidad de mineralización de *P. ostreatus* en el sustrato de granza de trigo, así como el mejoramiento de la capacidad de mineralización del hongo desarrollado en bagazo de fique, cuando el sustrato ha sido acondicionado con esta biomasa. Lo anterior, puede atribuirse a las propiedades físicas de la granza de trigo debido a que genera menor compactación respecto al bagazo y por ende, los sustratos de bagazo mezclados con granza presentan mayor capacidad de intercambio gaseoso y nutricional para el crecimiento del hongo. Por otro lado, los residuos de cereales presentan una alta disposición de fuentes de carbono y

nitrógeno (Nevárez, 2012), lo que puede influir en una mayor eficiencia de mineralización del hongo.

5.1.3 Lignina (L) y Celulosa (Ce) La celulosa, hemicelulosa y lignina, son componentes necesarios en el sustrato de crecimiento de *P. ostreatus*, debido a que son fuentes de carbono, nitrógeno y energía (Guzmán, *et al.*, 2008). Sin embargo, un elevado porcentaje de dichos compuestos, en especial de lignina, puede ser una limitante para el desarrollo micelial y la obtención de setas de buena calidad, por lo cual es recomendable la mezcla con otros sustratos de menor contenido en compuestos parietales y mayor cantidad de carbohidratos solubles y nitrógeno, tal como sucede con la paja de cereales (Nevárez, 2012). La degradación de componentes estructurales está estrechamente relacionada con la naturaleza química de los sustratos y la capacidad de degradación enzimática del hongo (Nevárez, 2012).

En el Cuadro 18 se indica la cantidad de lignina que contienen los diferentes sustratos antes de la inoculación y después de cada cosecha. El análisis de varianza de los tratamientos se indica en el Anexo 7, el cual presentó un coeficiente de variación de 1,85 para LAI; 1,61 para LPC y 2,86 para LSC y su p-valor resultó menor al nivel de significación nominal de la prueba ($\alpha=0,05$). En la Gráfica 3, se observa la variación de lignina en los sustratos durante las etapas del cultivo de *P.ostreatus*.

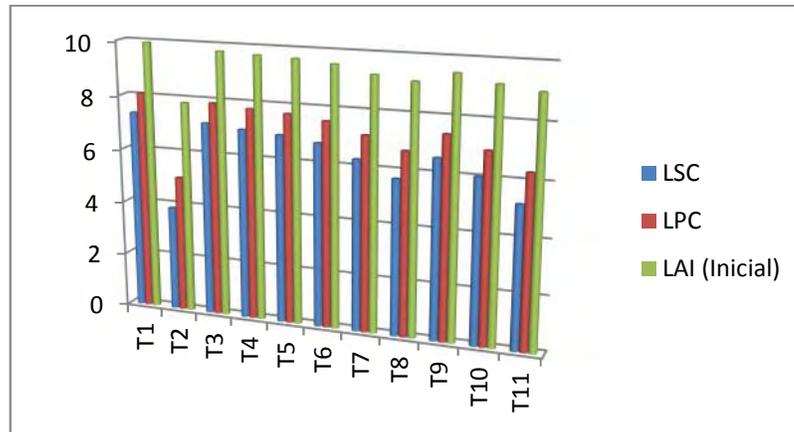
El sustrato de granza de trigo presentó un contenido de lignina inicial 1,27 veces menor que el sustrato preparado con bagazo de fique, lo que concuerda con la cantidad de material fibroso que hace parte del bagazo. El resto de tratamientos presentaron valores variables, de acuerdo a la proporción de los materiales lignocelulósicos, sin embargo el análisis de varianza indicó que los tratamientos de bagazo enriquecidos con sulfato de amonio (T3, T4 y T5) no tienen diferencia estadísticamente significativa, respecto a su contenido inicial de lignina.

Cuadro 18. Consumo de lignina en sustratos

TRATAMIENTO	LAI (% B.S.)	LPC (% B.S.)	LIPC (%)	LSC (% B.S.)	LPCSC (%)	LT (%)
T1	9,94 +/- 0,17 ^a	8,08 +/- 0,11 ^a	18,71	7,34 +/- 0,14 ^a	9,16	27,87
T2	7,83 +/- 0,14 ^j	5,03 +/- 0,10 ^j	35,76	3,86 +/- 0,17 ^j	23,3	59,02
T3	9,76 +/- 0,17 ^{ab}	7,89 +/- 0,14 ^b	19,16	7,14 +/- 0,15 ^b	9,51	28,67
T4	9,70 +/- 0,23 ^{bc}	7,78 +/- 0,16 ^c	19,79	7,01 +/- 0,18 ^c	9,90	29,69
T5	9,65 +/- 0,21 ^c	7,70 +/- 0,18 ^c	20,21	6,92 +/- 0,19 ^c	10,10	30,34
T6	9,54 +/- 0,16 ^d	7,54 +/- 0,13 ^d	20,96	6,74 +/- 0,15 ^d	10,60	31,57
T7	9,26 +/- 0,19 ^f	7,15 +/- 0,13 ^f	22,79	6,28 +/- 0,14 ^f	12,20	34,95
T8	9,11 +/- 0,12 ^h	6,71 +/- 0,16 ^h	26,34	5,71 +/- 0,14 ^h	14,90	41,25
T9	9,48 +/- 0,17 ^e	7,40 +/- 0,11 ^e	21,94	6,56 +/- 0,10 ^e	11,40	33,29
T10	9,19 +/- 0,20 ^g	6,95 +/- 0,10 ^g	24,37	6,03 +/- 0,11 ^g	13,20	37,61
T11	9,02 +/- 0,16 ⁱ	6,32 +/- 0,12 ⁱ	29,93	5,21 +/- 0,13 ⁱ	17,60	47,50

LAI: Concentración de lignina antes de inoculación. LPC: Concentración de lignina después de primera cosecha. LSC: Concentración de lignina después de segunda cosecha. LIPC: Consumo medio de lignina desde la inoculación hasta la primera cosecha. LPCSC: Consumo medio de lignina desde la primera hasta la segunda cosecha. LT: Consumo medio total de lignina. % B.S: porcentaje en base seca. Datos expresados como media +/- desviación estándar de tres repeticiones. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos (Prueba Fischer).

Gráfica 3. Concentración de lignina en sustratos



Posterior a la primera cosecha y segunda cosecha, el contenido de lignina disminuyó en todos los tratamientos de acuerdo al consumo indicado en el Cuadro 18 (LIPC y LPCSC), observándose que la reducción es mayor en la etapa desde la inoculación hasta la primera cosecha, lo cual revela una mayor actividad por parte de *P. ostreatus* durante la invasión micelial y primera fructificación. El análisis de varianza para LPC y LSC indica que todos los tratamientos presentaron diferencias estadísticamente significativas, dado el proceso de delignificación ejercido por el hongo.

Después de la primera y segunda cosechas, el mayor consumo de lignina lo presentó el tratamiento T2, seguido de los tratamientos de bagazo con altos niveles de granza de trigo (T11, T8, T10 y T7), lo anterior podría estar influenciado por el alto contenido de nitrógeno inicial y las propiedades físicas que infiere la granza de trigo en dichos sustratos. El sulfato de amonio ejerce un efecto positivo en la degradación de lignina, siendo mayor cuando acompaña a la granza de trigo, en concentración de 1%. El porcentaje total de degradación de lignina fue de 59,02% del tratamiento T2, seguido de 47,50% del tratamiento T11 y el menor fue de 27,87% del testigo de bagazo de fique.

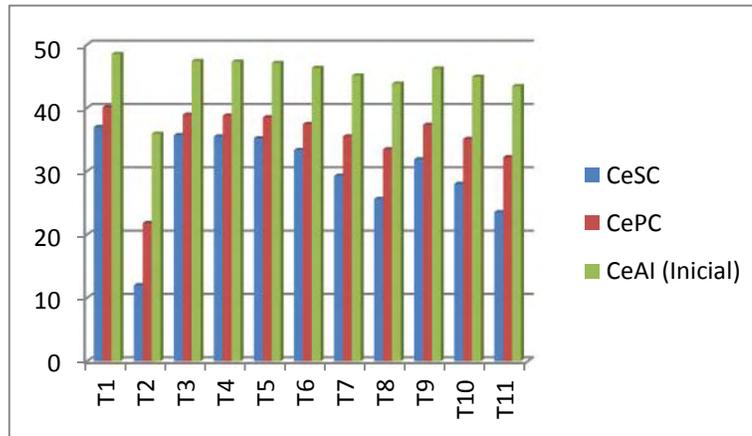
En el Cuadro 19 se presenta el porcentaje de celulosa que contienen los diferentes sustratos antes de la inoculación y su consumo por *P. ostreatus* después de cada cosecha. El análisis de varianza de los tratamientos se indica en el Anexo 7 y presentó un coeficiente de variación de 0,26 para CeAI; 0,24 para CePC y 0,38 para CeSC. El p-valor en cada caso, resultó menor al nivel de significación nominal de la prueba ($\alpha=0,05$). En la Gráfica 4, se presenta el decrecimiento medio de celulosa en los sustratos durante las diferentes etapas del cultivo.

Cuadro 19. Consumo de celulosa en sustratos

T	CeAI (% B.S.)	CePC (% B.S.)	CeIPC (%)	CeSC (% B.S.)	CePCSC (%)	CeT (%)
T1	48,50 +/- 0,18 ^a	40,10 +/- 0,13 ^a	17,32	36,96 +/- 0,13 ^a	7,83	25,15
T2	35,90 +/- 0,09 ⁱ	21,80 +/- 0,10 ^j	39,28	12,00 +/- 0,16 ^j	45,00	84,23
T3	47,41 +/- 0,17 ^{ab}	38,93 +/- 0,18 ^b	17,89	35,70 +/- 0,21 ^b	8,30	26,18
T4	47,30 +/- 0,19 ^{bc}	38,78 +/- 0,16 ^{bc}	18,01	35,50 +/- 0,19 ^{bc}	8,46	26,47
T5	47,08 +/- 0,14 ^c	38,51 +/- 0,15 ^c	18,20	35,19 +/- 0,20 ^c	8,62	26,82
T6	46,32 +/- 0,14 ^d	37,45 +/- 0,11 ^d	19,15	33,34 +/- 0,11 ^d	11,00	30,12
T7	45,10 +/- 0,17 ^e	35,50 +/- 0,19 ^f	21,29	29,27 +/- 0,17 ^f	17,50	38,84
T8	43,82 +/- 0,08 ^g	33,46 +/- 0,07 ^h	23,64	25,62 +/- 0,15 ^h	23,40	47,07
T9	46,21 +/- 0,11 ^d	37,32 +/- 0,10 ^e	19,24	31,87 +/- 0,14 ^e	14,60	33,84
T10	44,90 +/- 0,16 ^f	35,08 +/- 0,09 ^g	21,87	28,00 +/- 0,12 ^g	20,20	42,05
T11	43,42 +/- 0,13 ^h	32,20 +/- 0,15 ⁱ	25,84	23,53 +/- 0,15 ⁱ	26,90	52,77

CeAI: Concentración de celulosa antes de inoculación. CePC: Concentración de celulosa después de primera cosecha. CeSC: Concentración de celulosa después de segunda cosecha. CeIPC: Consumo medio de celulosa desde la inoculación hasta la primera cosecha. CePCSC: Consumo medio de celulosa desde la primera hasta la segunda cosecha. CeT: Consumo medio total de celulosa. % B.S: porcentaje en base seca. Datos expresados como media +/- desviación estándar de tres repeticiones. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) entre tratamientos (Prueba Fischer).

Gráfica 4. Concentración de celulosa en sustratos



El sustrato preparado con bagazo de fique contiene 1,35 veces mayor cantidad de celulosa que la granza de trigo, dada su naturaleza de planta rica en fibra. Antes de la inoculación, el testigo de bagazo presentó la mayor concentración de celulosa, seguido de los tratamientos de bagazo en mezcla con sulfato de amonio, los cuales no presentaron diferencia estadísticamente significativa.

Posterior a la primera cosecha y segunda cosecha, el contenido de celulosa disminuyó en todos los tratamientos, presentando un comportamiento decreciente similar al sucedido con la lignina, tal como se observa en la Gráfica 4.

El análisis de varianza para la concentración de celulosa después de las cosechas, indica que todos los tratamientos presentaron diferencias estadísticamente significativas, dado el proceso de consumo de celulosa realizado por *P. ostreatus*. El mayor consumo de celulosa lo presentó el tratamiento T2, seguido de los tratamientos de bagazo con altos niveles de granza de trigo (T11, T8, T10 y T7), tal como sucedió con el consumo de lignina.

El sulfato de amonio también ejerció un efecto positivo en la degradación de celulosa, siendo mayor en las mezclas con granza de trigo. El porcentaje total de

degradación de celulosa fue de 84,23% del tratamiento T2, seguido de 52,77% del tratamiento T11 y el menor fue de 25,15% del testigo de bagazo de fique.

5.2 COMPONENTES DE RENDIMIENTO DEL CULTIVO

En todas las fases del cultivo de *P. ostreatus* no hubo pérdidas por contaminación o bolsas improductivas con respecto al número total de bolsas inoculadas.

Los resultados de los componentes de rendimiento (eficiencia biológica, variables fenológicas y morfológicas) en las dos etapas productivas de orellanas, se describen a continuación.

5.2.1 Eficiencia Biológica (EB) La eficiencia biológica acumulada en dos cosechas del cultivo de *P. ostreatus* desarrollado en esta investigación, exhibió un comportamiento similar al presentado en cultivos de *Pleurotus florida* y *Pleurotus pulmonarius*, en los cuales más del 80% de la producción total se obtuvo en las dos primeras cosechas, siendo la primera la más fructífera (EB superior al 50%) y las restantes presentaron una reducción continua de esta variable. Este comportamiento se debe, en gran parte, al contenido de nutrientes presentes en el sustrato, el cual es mayor en las primeras cosechas y disminuye progresivamente con las posteriores etapas productivas del cultivo (Gaitán-Hernández, *et al.*, 2009; Ahmed, *et al.*, 2009).

El análisis de varianza de los tratamientos se indica en el Anexo 8. El coeficiente de variación para la eficiencia biológica durante la primera cosecha (EBPC) fue de 0,24 y de 0,33 para la eficiencia biológica durante la segunda cosecha (EBSC). Para cada etapa productiva el p-valor fue menor al nivel de significación nominal de la prueba ($\alpha=0,05$).

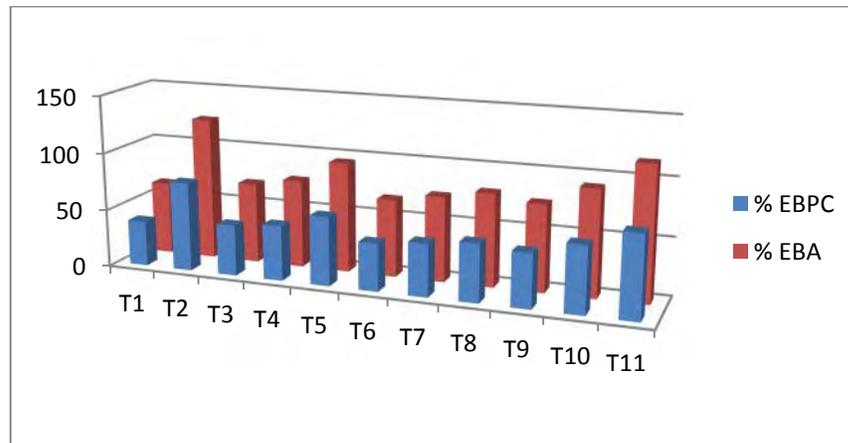
En la Gráfica 5 puede observarse el comportamiento de la eficiencia biológica acumulada, dada la variación en la composición química de los sustratos.

Cuadro 20. Variación de eficiencia biológica del cultivo de *P. ostreatus*

TRATAMIENTO	EBPC (%)	EBSC (%)	EBA (%)	EBC (%)
T1	39,24 +/- 0,06 ^k	23,86 +/- 0,11 ^j	63,10	39,19
T2	77,11 +/- 0,05 ^a	46,34 +/- 0,06 ^a	123,45	39,90
T3	43,85 +/- 0,08 ⁱ	25,96 +/- 0,16 ^h	69,81	40,80
T4	47,70 +/- 0,10 ^f	28,43 +/- 0,14 ^f	76,13	40,40
T5	59,48 +/- 0,11 ^c	35,60 +/- 0,07 ^c	95,08	40,15
T6	41,22 +/- 0,09 ^j	25,67 +/- 0,19 ⁱ	66,89	37,72
T7	45,63 +/- 0,14 ^h	27,84 +/- 0,13 ^g	73,47	38,99
T8	50,03 +/- 0,04 ^e	30,12 +/- 0,08 ^e	80,15	39,80
T9	46,65 +/- 0,11 ^g	28,41 +/- 0,18 ^f	75,06	39,10
T10	57,50 +/- 0,08 ^d	34,23 +/- 0,10 ^d	91,73	40,47
T11	71,27 +/- 0,09 ^b	44,08 +/- 0,11 ^b	115,35	38,15

EBPC: Eficiencia biológica primera cosecha. EBSC: Eficiencia biológica segunda cosecha. EBA: Eficiencia biológica media acumulada. EBC: Disminución de eficiencia biológica entre cosechas. Datos expresados como media +/- desviación estándar de tres repeticiones. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos (Prueba Fischer).

Gráfica 5. Eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus*



En todos los tratamientos, los resultados de eficiencia biológica para la primera etapa de fructificación de macromicetes son superiores a los hallados para la segunda cosecha, lo que concuerda con las investigaciones del género *Pleurotus* realizadas por Gaitán-Hernández, *et al.* (2009) y Ahmed, *et al.* (2009). La variación más baja de EB entre cosechas fue de 37,72% y lo presentó T6 (con 10% de granza); en tanto que, la mayor disminución (40,80%) se dio en T3 (con

0,3% de sulfato), seguido de T10 (19,5% de granza y 0,5% de sulfato) con 40,47%. Lo anterior, explica la incidencia de las propiedades químicas y físicas del sustrato de crecimiento sobre la producción de *P. ostreatus*.

Se evidencia el mayor incremento de eficiencia biológica al emplear la mezcla de bagazo con granza de trigo y sulfato de amonio, sin embargo ningún tratamiento superó la actividad realizada por el hongo sobre el testigo de granza de trigo, lo cual, confirma que los residuos lignocelulósicos de cereales son el mejor sustrato para la producción de *Pleurotus sp.* (Iqbal, *et al.*, 2005). Los tratamientos T11 y T5, presentan en su composición el mayor nivel de sulfato de amonio, propuesto para esta investigación; de lo cual se infiere, que el uso de sales nitrogenadas en el sustrato de bagazo de fique, mejora la eficiencia biológica del cultivo de orellanas. La eficiencia biológica acumulada de T5 superó la obtenida en T1 en 31,98% y la eficiencia biológica acumulada de T11 prevaleció sobre T1 en 52,25%.

Según los resultados del Cuadro 20, se observa que la variación de nitrógeno en los sustratos debido al enriquecimiento con granza de trigo y/o sulfato de amonio, influye favorablemente sobre el incremento de eficiencia biológica del cultivo.

Por otro lado, se considera como aceptable una eficiencia biológica a partir del 50%, como un valor mínimo de producción económicamente rentable para *P. ostreatus* (Ríos, *et al.*, 2010). En esta investigación, los tratamientos que superaron el 50% de EB durante la primera etapa de fructificación, fueron T2 (patrón de granza) además de T5, T8, T10 y T11, es decir aquellos en los que se utilizó un sustrato de bagazo de fique suplementado con los mayores niveles de sulfato de amonio y/o granza de trigo, tal como se observa en la Gráfica 5. La EBA en todos los tratamientos superó el 50% y solamente en T11 y T2, fue posible superar el 100% de producción. Dichos resultados indican que el bagazo de fique en mezcla con fuentes nitrogenadas (1% de sulfato de amonio y 29% de granza

de trigo) es un excelente sustrato de crecimiento para el cultivo comercial de *P. ostreatus*.

El análisis de diferencia de medias de Fischer, arrojó que todos los tratamientos en EBPC presentaron diferencia estadísticamente significativa y durante la segunda etapa de producción de setas, los tratamientos T4 y T9 no presentaron dicha diferencia. Estos tratamientos corresponden a sustratos de bagazo de fique con niveles intermedios de sulfato de amonio (0,5%) y nivel mínimo de sulfato-granza (0,3% - 9,7%), respectivamente.

5.2.2 Variables Fenológicas Los resultados de las variables fenológicas Precocidad (P) y Tiempo a cosecha (TC) del cultivo de *P. ostreatus* se indican en el Cuadro 21. El análisis de varianza de los tratamientos presentó un coeficiente de variación de 2,19 para P; 1,96 para TC1 y 2,05 para TC2, además el p-valor en cada caso, fue menor al nivel de significación nominal de la prueba ($\alpha=0,05$) (Anexo 8).

En la Gráfica 6, se visualiza la variación de la precocidad y del tiempo a las dos cosechas, durante el desarrollo de *P. ostreatus* en los once tratamientos.

La precocidad fue menor en el tratamiento T2 con una diferencia de 16 días, respecto al resultado de T1. La adición de fuentes nitrogenadas al bagazo de fique, influyó en la reducción del tiempo de cosecha, siendo mayor el efecto cuando dichas fuentes se mezclaron en mayores proporciones.

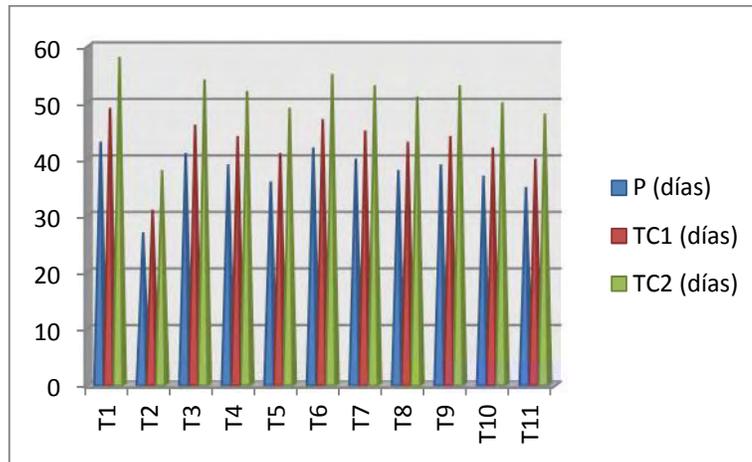
El análisis de medias para la precocidad, indica que no hay diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos T4 y T9, es decir que el tiempo desde la siembra hasta la aparición de los primeros primordios fue similar en el sustrato preparado con bagazo y nivel intermedio de sulfato de amonio (0,5%); como en el sustrato de bagazo con sulfato-granza en proporción 0,3:9,7.

Cuadro 21. Resultado de las variables fenológicas

TRATAMIENTO	P (días)	TC1 (días)	TC2 (días)
T1	43 +/- 1,00 ^a	49 +/- 1,00 ^a	58 +/- 1,00 ^j
T2	27 +/- 1,00 ^j	31 +/- 1,00 ^j	38 +/- 1,00 ^a
T3	41 +/- 1,00 ^c	46 +/- 1,00 ^c	54 +/- 1,00 ^h
T4	39 +/- 1,00 ^e	44 +/- 1,00 ^e	52 +/- 1,00 ⁱ
T5	36 +/- 1,00 ^h	41 +/- 1,00 ^h	49 +/- 1,00 ^c
T6	42 +/- 1,00 ^b	47 +/- 1,00 ^b	55 +/- 1,00 ⁱ
T7	40 +/- 1,00 ^d	45 +/- 1,00 ^d	53 +/- 1,00 ^g
T8	38 +/- 1,00 ^f	43 +/- 1,00 ^f	51 +/- 1,00 ^e
T9	39 +/- 1,00 ^e	44 +/- 1,00 ^e	53 +/- 1,00 ^g
T10	37 +/- 1,00 ^g	42 +/- 1,00 ^g	50 +/- 1,00 ^d
T11	35 +/- 1,00 ⁱ	40 +/- 1,00 ⁱ	48 +/- 1,00 ^b

P: Precocidad. TC1: Tiempo a primera cosecha. TC2: Tiempo a segunda cosecha. Datos expresados como media +/- desviación estándar de tres repeticiones. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos (Prueba Fischer).

Gráfica 6. Precocidad y tiempo a cosechas en el cultivo de *Pleurotus ostreatus*



Fue posible cosechar las primeras setas de *P. ostreatus* en el testigo de granza de trigo, 18 días antes que las producidas por el testigo de bagazo de fique. Y respecto a la segunda cosecha, el testigo de bagazo demoró 2 días más en producir carpóforos maduros, en relación al tiempo gastado por T2. El análisis de medias para TC1 indicó que no hay diferencias estadísticas entre T4 y T9, tal como sucedió para la precocidad. Para TC2, los tratamientos sin diferencias estadísticas correspondieron a T7 y T9, es decir, el sustrato de bagazo con nivel intermedio de granza (20%) y sustrato de bagazo que contenía sulfato-granza en proporción 0,3:9,7.

En las investigaciones sobre el cultivo de *P. ostreatus* realizadas en bagazo de agave por Nevárez (2012) y Baena (2005), se han observado periodos fenológicos más largos y menor eficiencia biológica, en los sustratos con mayores contenidos de bagazo de agave, así como el mejoramiento de estas características al mezclar el bagazo con paja de cereales. La extensión del periodo fenológico y la disminución de la eficiencia biológica, han sido atribuidos al alto contenido de compuestos parietales (lignina y celulosa) del bagazo, que dan origen a una estructura fibrosa con baja retención de agua, lo que genera compactación y por ende la dificultosa colonización y extensión del tiempo para la hidratación, invasión micelial y obtención de setas (Nevárez, 2012; Baena, 2005). Sin embargo, el fenómeno de compactación puede ser atenuado al usarse pajas de cereales en mezcla con el bagazo; además de presentarse un mejoramiento en el intercambio gaseoso que conlleva a la aceleración del tiempo de colonización, obtención de fructificaciones e incremento de la eficiencia biológica (Ruihong, *et al.*, 2002), como ha podido observarse en este estudio.

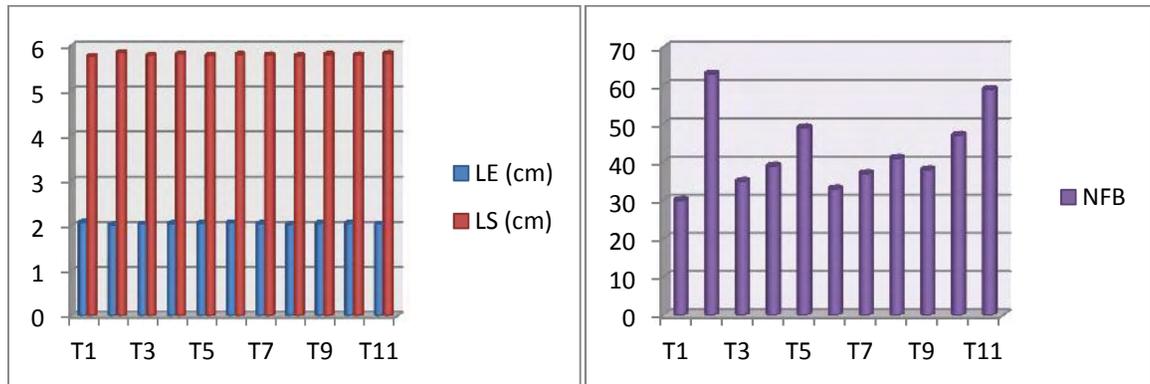
5.2.3 Variables Morfológicas Los resultados de las variables morfológicas de *P. ostreatus*: Número de fructificaciones por bolsa (NFB) y Medidas biométricas: Longitud del sombrero (LS) y Longitud del estípite (LE) de los carpóforos, se presentan en el Cuadro 22. Las medidas biométricas fueron calculadas para los hongos que alcanzaron su madurez y presentaron similaridad de tamaño. Dichas variables fueron calculadas de acuerdo al promedio de todas las bolsas cosechadas en las repeticiones de las dos etapas productivas del cultivo. En el Anexo 8 se presenta el análisis de varianza de los tratamientos. El ANDEVA para NFB presentó un coeficiente de variación de 4,51 y su p-valor fue menor al nivel de significación nominal de la prueba ($\alpha=0,05$). Para LS y LE el coeficiente de variación fue de 0,75 y 1,36 respectivamente y en cada caso su p-valor fue mayor al nivel de significación nominal de la prueba ($\alpha=0,05$). En la Gráfica 7, se muestra el comportamiento de las variables morfológicas del hongo.

Cuadro 22. Resultado de las variables morfológicas

TRATAMIENTO	NFB	LS (cm)	LE (cm)
T1	30,00 +/- 4,58 ^l	5,76 +/- 0,04 ^b	2,08 +/- 0,08 ^a
T2	63,00 +/- 3,61 ^a	5,84 +/- 0,04 ^a	2,02 +/- 0,11 ^c
T3	35,00 +/- 2,65 ^h	5,78 +/- 0,02 ^{ab}	2,04 +/- 0,16 ^{abc}
T4	39,00 +/- 6,56 ^f	5,81 +/- 0,06 ^{ab}	2,05 +/- 0,09 ^{abc}
T5	49,00 +/- 3,61 ^c	5,78 +/- 0,01 ^{ab}	2,06 +/- 0,10 ^{abc}
T6	33,00 +/- 3,61 ⁱ	5,80 +/- 0,03 ^{ab}	2,07 +/- 0,18 ^{ab}
T7	37,00 +/- 3,61 ^g	5,79 +/- 0,04 ^{ab}	2,05 +/- 0,06 ^{abc}
T8	41,00 +/- 6,56 ^e	5,77 +/- 0,07 ^{ab}	2,03 +/- 0,09 ^{bc}
T9	38,00 +/- 6,56 ^{fg}	5,80 +/- 0,10 ^{ab}	2,06 +/- 0,12 ^{abc}
T10	47,00 +/- 6,56 ^d	5,79 +/- 0,09 ^{ab}	2,06 +/- 0,15 ^{abc}
T11	59,00 +/- 7,55 ^b	5,82 +/- 0,06 ^{ab}	2,04 +/- 0,14 ^{abc}

NFB: Media del número de fructificaciones por bolsa. LS: Longitud media del sombrero. LE: Longitud media del estípite.
 Datos expresados como media +/- desviación estándar de tres repeticiones. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos (Prueba Fischer).

Gráfica 7. Comportamiento de las variables morfológicas de orellanas



El promedio del número de fructificaciones por bolsa resultó mayor en T2 y menor en T1, como se visualiza en la Gráfica 7. Esta variable está correlacionada de manera directa con la eficiencia biológica, por ende los tratamientos que presentaron mayor eficiencia biológica, también produjeron el mayor número de fructificaciones por cada bolsa productiva. Las variaciones dadas para NFB son las mismas que relacionan a la EB de los diferentes tratamientos.

Tal como sucedió para EB, el análisis de diferencia de medias de Fischer, arrojó que los tratamientos T4, T7 y T9 no presentaron diferencia significativa en NFB. Dichos tratamientos corresponden a sustratos de bagazo de fique con niveles

intermedios de sulfato de amonio (0,5%), granza de trigo (20%) y nivel mínimo de sulfato-granza (0,3% - 9,7%), respectivamente.

La longitud del sombrero y del estípite de los hongos cosechados, presentó homogeneidad estadística, a excepción de los testigos, que presentaron mínimas diferencias, como se verifica en la Gráfica 7. Estudios anteriores demuestran que las medidas biométricas están más relacionadas con las características genéticas de la cepa que con el tipo de sustrato, y por esto cuando se mantienen condiciones ambientales adecuadas durante la fase de propagación y desarrollo de fructificaciones, los hongos resultantes son semejantes en tamaño (Salmones, *et al.*, 1997). El tamaño de los carpóforos producidos en este estudio, está dentro del rango obtenido por otros autores para *P. ostreatus* (López, *et al.*, 2008; Bautista, *et al.*, 2003), teniendo en cuenta que a nivel comercial son preferidas las setas con sombrero grande y estípite pequeño, pues este último debe ser retirado para las preparaciones gastronómicas, dado su sabor y contenido de fibra (Lechner y Albertó, 2011).

5.3 ANÁLISIS PROXIMAL DE *P. ostreatus*

Con el análisis químico proximal es posible determinar las propiedades nutritivas de los alimentos, por lo cual se empleó para conocer la calidad bromatológica de los hongos cosechados en cada tratamiento.

En el Cuadro 23, se presenta la variación del análisis proximal de acuerdo a los diferentes sustratos del cultivo. En el Anexo 8 se presenta el análisis de varianza de los tratamientos, el cual presentó un coeficiente de variación de 0,20 para proteína cruda (PC); 0,18 para carbohidratos totales (CHT); 0,64 para fibra cruda (FC); 2,16 para cenizas totales (CT) y 6,19 para lípidos totales (LT), además, en todos los casos el p-valor fue menor al nivel de significación nominal de la prueba ($\alpha=0,05$).

Cuadro 23. Análisis proximal de orellanas

T	PC (% BS)	CHT (% BS)	FC (% BS)	LT (% BS)	CT (% BS)
T1	28,10 +/- 0,17 ⁱ	23,67 +/- 0,13 ^a	16,90 +/- 0,13 ^a	1,49 +/- 0,11 ^b	5,51 +/- 0,20 ^a
T2	33,70 +/- 0,11 ^a	20,30 +/- 0,19 ^k	15,40 +/- 0,17 ^f	1,78 +/- 0,18 ^a	3,77 +/- 0,18 ^g
T3	28,58 +/- 0,20 ^g	23,11 +/- 0,28 ^b	16,52 +/- 0,19 ^b	1,45 +/- 0,12 ^b	5,39 +/- 0,34 ^{ab}
T4	28,89 +/- 0,23 ^e	23,00 +/- 0,22 ^c	16,48 +/- 0,24 ^b	1,44 +/- 0,15 ^b	5,36 +/- 0,26 ^{ab}
T5	29,62 +/- 0,10 ^c	22,87 +/- 0,19 ^d	16,40 +/- 0,28 ^{bc}	1,43 +/- 0,17 ^b	5,30 +/- 0,31 ^{bc}
T6	28,32 +/- 0,09 ^h	22,78 +/- 0,30 ^e	16,42 +/- 0,23 ^b	1,48 +/- 0,10 ^b	5,24 +/- 0,27 ^{bcd}
T7	28,64 +/- 0,28 ^g	22,45 +/- 0,19 ^g	16,24 +/- 0,10 ^{cd}	1,51 +/- 0,19 ^b	5,08 +/- 0,26 ^{de}
T8	28,95 +/- 0,21 ^e	22,12 +/- 0,20 ⁱ	16,10 +/- 0,16 ^d	1,55 +/- 0,11 ^b	4,80 +/- 0,16 ^f
T9	28,77 +/- 0,16 ^f	22,60 +/- 0,15 ^f	16,38 +/- 0,29 ^{bc}	1,47 +/- 0,15 ^b	5,17 +/- 0,18 ^{cde}
T10	29,40 +/- 0,20 ^d	22,32 +/- 0,11 ^h	16,19 +/- 0,12 ^d	1,50 +/- 0,10 ^b	5,02 +/- 0,25 ^e
T11	29,88 +/- 0,18 ^b	21,68 +/- 0,09 ^j	15,85 +/- 0,14 ^e	1,53 +/- 0,17 ^b	4,70 +/- 0,14 ^f

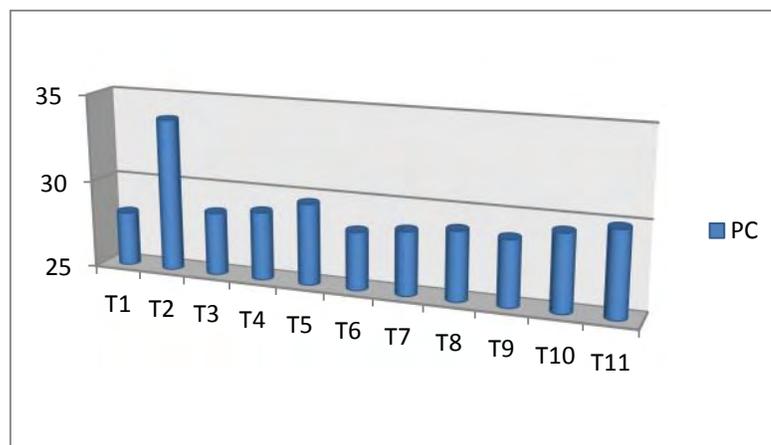
PC: Proteína cruda. CHT: Carbohidratos totales. FC: Fibra cruda. LT: Lípidos totales. CT: Cenizas totales. % B.S: Porcentaje en base seca. Datos expresados como media +/- desviación estándar de tres repeticiones. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos (Prueba Fischer).

5.3.1 Proteína cruda (PC) En esta investigación el contenido de proteína cruda en las setas cosechadas de todos los tratamientos fue alto, al comparar los resultados con los obtenidos por Baena (2005) y Nevárez (2012) en *P. ostreatus* cultivado sobre bagazo de agave. Lo anterior puede deberse al alto nivel de nitrógeno inicial que presentaron los materiales lignocelulósicos, en especial la granza de trigo, la cual mejoró notablemente el nivel de nitrógeno de los sustratos preparados con bagazo y lo cual, se ve reflejado en el contenido de proteína de las orellanas (Gráfica 8). El análisis estadístico indica que T4, T8 y T3, T7 presentaron un comportamiento similar respecto al contenido proteico en las setas cosechadas, además los tratamientos T2 y T11 presentaron las mayores concentraciones de proteína en los hongos.

La concentración de proteína cruda en las setas puede variar dependiendo del tipo de sustrato de crecimiento, en especial por su contenido de nitrógeno, el cual influye directamente en la cantidad y calidad proteica de los hongos (Naraian, *et al.*, 2009). Por esta razón, las especies cultivadas pueden presentar un nivel superior de esta variable, frente a las mismas especies de origen silvestre (Akyüz y Kirba, 2010). Garzón y Cuervo (2008), determinaron que el contenido de proteína cruda en *P. ostreatus* puede oscilar entre 10,5% y 30,4%; Sales-Campos,

et al. (2011), encontraron un valor de proteína de 14,67%, en los cuerpos fructíferos de la misma especie cultivada sobre residuos de caña de azúcar; Badu, *et al.* (2011), hallaron valores de proteína de 17,07%, 16,33% y 18,20%, cuando el hongo ostra fue cultivado en residuos de diferentes maderas.

Gráfica 8. Concentración de proteína cruda en *P. ostreatus*



Baena (2005), encontró un valor de 13,5% de proteína en *P. ostreatus* cultivado sobre bagazo de agave y el incremento hasta el 16% proteico de los hongos cuando se cultivaron en mezclas de bagazo con sulfato de amonio como fuente nitrogenada. Nevárez (2012), encontró el 10,6% de proteína cruda en *P. ostreatus* cultivado sobre 100% de bagazo de *Agave durangensis*.

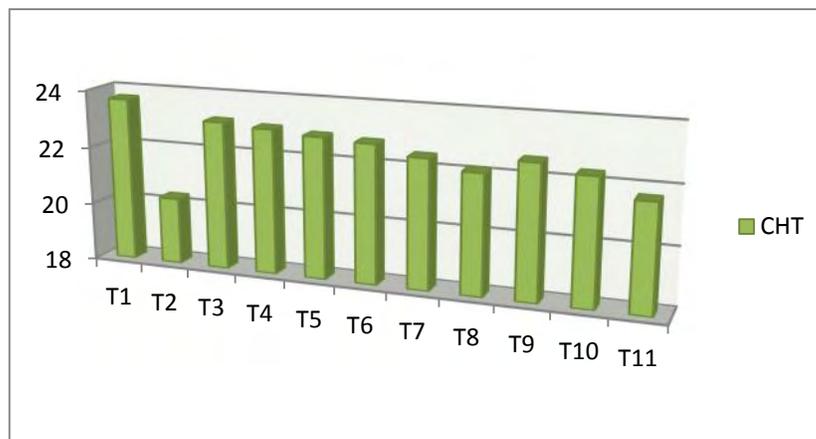
5.3.2 Carbohidratos totales En este estudio la concentración de carbohidratos totales en los carpóforos de todos los tratamientos, fue menor a la presentada en la literatura para el mismo organismo, lo cual puede estar sujeto a la concentración inicial de carbohidratos presentes en los sustratos. Dado el pretratamiento de los materiales lignocelulósicos, es presumible la pérdida de carbohidratos solubles aprovechables por *P. ostreatus* y por ende su menor contenido en las setas cosechadas. Sin embargo, es recomendable la realización de un pretratamiento riguroso que se traduzca en la minimización de las pérdidas por contaminación al

existir algún tipo de carga microbiana competidora y consumidora de dichos carbohidratos solubles. Además, es ventajoso el bajo contenido de azúcares en las orellanas, lo cual es recomendable en dietas con bajo contenido calórico. Por otro lado, Baena (2005) correlacionó negativamente por componentes principales el contenido de carbohidratos y nitrógeno presentes en los sustratos, de manera que al existir baja disponibilidad de nitrógeno para la síntesis de proteínas, se incrementa el contenido de carbohidratos en las setas comestibles.

En esta investigación se observa la misma correlación hallada por Baena (2005), pero en sentido inverso, dados los altos niveles de nitrógeno presentados por los sustratos y las bajas concentraciones de azúcares en las setas. De hecho, los tratamientos T2 y T11 presentaron los niveles más bajos de carbohidratos en las setas. Por otro lado, el análisis estadístico arroja diferencias significativas entre todos los tratamientos observándose que el contenido de carbohidratos totales en los hongos, es superior en los sustratos con mayor proporción de bagazo de fique (Gráfica 9), lo cual confirma que el contenido de carbohidratos de los hongos comestibles, está relacionado con el tipo de sustrato empleado para su crecimiento. En el caso del bagazo después de su pretratamiento, puede quedar un remanente del jugo de fique, el cual es rico en azúcares fermentables (Cadefique, 2006).

La cantidad de carbohidratos totales que pueden contener los hongos comestibles, está relacionado con el tipo de sustrato empleado para su crecimiento. Rashad, *et al.* (2009), determinaron un rango entre 20,88% y 33,00% de carbohidratos para *P. ostreatus* cultivado en pulpa de limón, residuos de papaya y paja de arroz; Sales-Campos, *et al.* (2011), encontraron el 67,52% de carbohidratos en el hongo cultivado sobre residuos de caña de azúcar, en tanto que, Baena (2005), halló alrededor del 59% de carbohidratos en *P. ostreatus* cultivado sobre bagazo de agave y 55% en la seta cultivada sobre paja de trigo.

Gráfica 9. Valor de carbohidratos totales en *P. ostreatus*



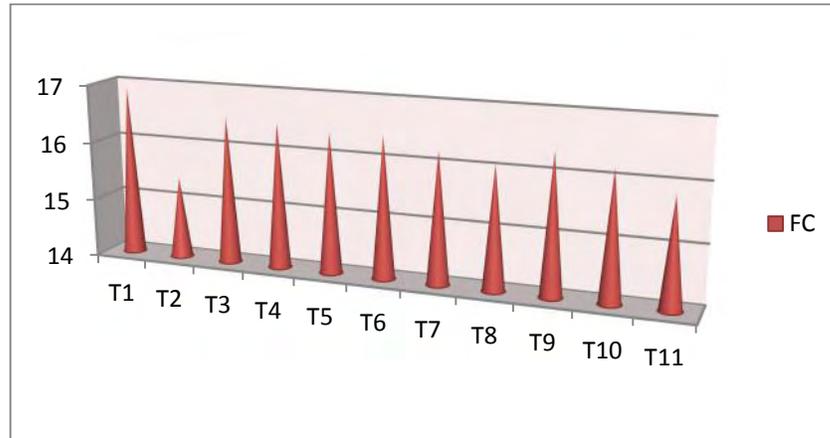
5.3.3 Fibra cruda La fibra de los alimentos es de gran importancia para el metabolismo de las grasas, por lo cual es recomendable su consumo en dietas para la reducción de peso.

En este estudio se encontraron concentraciones de fibra cruda en las setas comestibles en el rango entre 15,85% y 16,90%, valores concordantes con los reportados por Baena (2005) quien halló el 16,57% de fibra dietaria en *P. ostreatus* cultivado sobre bagazo de agave, 17% en la seta cultivada sobre paja de trigo y alrededor del 19% en los hongos que se desarrollaron en bagazo suplementado con sulfato de amonio.

El contenido de fibra en los carpóforos crecidos en bagazo de fique, resultó mayor que el obtenido para granza de trigo y el resto de tratamientos presentaron valores variables dentro del rango establecido por los sustratos de partida (Gráfica 10). Este comportamiento está influenciado por el contenido inicial de fibra y compuestos parietales de los sustratos, los cuales son mayores en el bagazo de fique. Por otro lado, Badu, *et al.* (2011), hallaron valores de fibra cruda de 4,14%; 6,38% y 6,63%, cuando *P. ostreatus* fue cultivado en residuos de diferentes

maderas. Nevárez (2012), determinó en 12,1 el porcentaje de fibra cruda en *P. ostreatus* cultivado sobre 100% de bagazo de *Agave durangensis*.

Gráfica 10. Contenido de fibra cruda en *P. ostreatus*



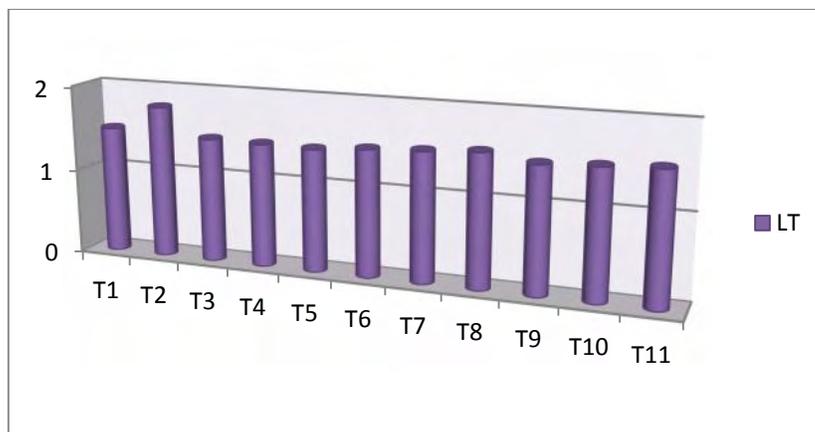
La diferencia estadística de medias, indica que existen diferencias entre los tratamientos respecto al contenido de fibra en los carpóforos, sin embargo, los tratamientos T3-T4-T5 no presentan divergencia significativa, lo que indicaría que cualquiera de las concentraciones de sulfato de amonio en mezcla con el sustrato con bagazo, aporta de similar forma en la biogénesis de *P. ostreatus*, para la generación de fibra en los carpóforos.

5.3.4 Lípidos totales La concentración de lípidos en las setas obtenidas en esta investigación fue menor que la obtenida por Baena (2009), quien encontró el 3,72% de grasas en *P. ostreatus* crecido sobre bagazo de agave; sin embargo, los resultados concuerdan con los valores hallados por Badu, *et al.* (2011); Forero, *et al.* (2008) y Nevárez (2012).

Se observa que el testigo T2 generó un mayor contenido de lípidos en los hongos en relación al contenido de lípidos del testigo de bagazo y el resto de tratamientos. Sin embargo el análisis estadístico indica que no hay diferencia significativa entre tratamientos a excepción de T2 (Gráfica 11). Lo anterior, puede estar sujeto a que

la variación del contenido de grasa en los hongos no obedece tanto al tipo de sustrato sino al tipo de cepa, como lo determinaron Liu, *et al.* (2005). Además, Akyüz y Kirba (2010), encontraron variaciones en la concentración de lípidos en hongos de la misma especie provenientes de cepas silvestres y de cultivo.

Gráfica 11. Concentración de lípidos totales en *P. ostreatus*

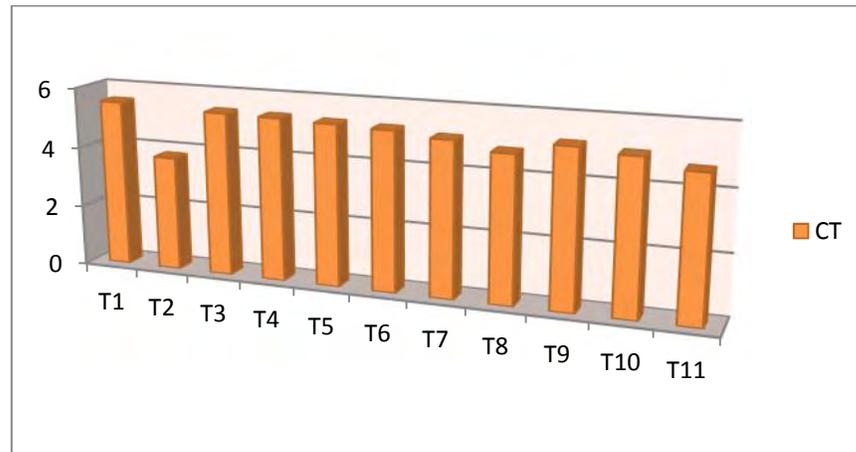


Badu, *et al.* (2011), hallaron valores de lípidos de 1,72%; 1,67% y 2,07%, cuando *P. ostreatus* fue cultivado en residuos de diferentes maderas. Forero, *et al.* (2008), determinaron entre 1,41% y 2,85% de lípidos totales en *P. ostreatus* cultivado sobre residuos de ají con cascarilla y pasto King Grass. Sales-Campos, *et al.* (2011), encontraron 2,14% de lípidos en orellanas desarrolladas sobre residuos de caña de azúcar. Nevárez (2012), halló 1,3% de extracto etéreo en *P. ostreatus* cultivado sobre 100% de bagazo de *Agave durangensis*. Es característico el bajo contenido de grasas del género *Pleurotus*, por lo cual, es adecuado en dietas para restricción de peso (Silva, *et al.*, 2002).

5.3.5 Cenizas totales El valor de ceniza contenida en *P. ostreatus* de los diferentes tratamientos realizados en este estudio, resultó comparable con el determinado en la misma especie por Badu, *et al.* (2011). La mayor concentración de ceniza en las setas se obtuvo de T1 y la menor se consiguió en T2, lo cual puede estar relacionado con el contenido mineral inicial presente en los sustratos.

La prueba de Fischer indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos con alto contenido de bagazo de fique (Gráfica 12).

Gráfica 12. Contenido de cenizas totales en *P. ostreatus*



Badu, *et al.* (2011), hallaron valores de cenizas de 5,80%; 5,25% y 4,40%, cuando *P. ostreatus* fue cultivado en residuos de diferentes maderas. Sales-Campos, *et al.* (2011), encontraron un porcentaje de 6,10% de lípidos en *P. ostreatus* cultivado sobre residuos de caña de azúcar. Un estudio realizado en fructificaciones de *P. ostreatus*, *P. eryngii* y *P. pulmonarius* cultivados sobre el mismo material lignocelulósico, determinó una concentración de cenizas entre 6,9% y 10,6% (Manzi, *et al.*, 1999). Según Baena (2009), el contenido de ceniza fue menor en *P. ostreatus* producidos en bagazo de agave adicionado con sulfato de amonio (6,8%), en comparación con el tratamiento en sustrato de paja (7,86%). Nevárez (2012), halló 5,7% de cenizas en *P. ostreatus* cultivado sobre 100% de bagazo de *Agave durangensis*. Akyüz y Kirba (2010) no encontraron una tendencia definida para la concentración de cenizas en los hongos comestibles, por lo cual dicha variación puede ser atribuible al tipo de cepa, más que al tipo de sustrato.

6. CONCLUSIONES

La bromatología de los sustratos, respecto a su contenido de nitrógeno, cenizas, lignina y celulosa, para la producción de orellanas (*Pleurotus ostreatus*), indica que el bagazo de fique acondicionado con granza de trigo (10% a 30%) y/o sulfato de amonio (0,3% a 1%), como fuentes nitrogenadas, es un sustrato lignocelulósico que puede generar un cultivo de setas comestibles rentable económicamente, con eficiencias biológicas entre 66,89% y 115,35%.

El tratamiento T11 preparado con bagazo de fique (68%), granza de trigo (29%), sulfato de amonio (1%) y carbonato de calcio (2%), presentó la más alta eficiencia biológica para la producción de *P. ostreatus* (115,35%), menor precocidad (35 días), menor tiempo a cosechas (40 y 48 días) y adecuado tamaño de carpóforo, en comparación con los otros sustratos con bagazo; lo cual es atribuible a su composición química inicial y a las propiedades físicas aportadas por la granza de trigo.

Después de las cosechas se presentó en los sustratos un incremento gradual del contenido de nitrógeno y cenizas, así como la disminución de lignina y celulosa debido al aumento en la cantidad de micelio de *P. ostreatus* durante su cultivo y a la actividad enzimática extracelular que genera la mineralización y degradación del complejo lignocelulósico.

Desde la inoculación de los sustratos hasta las cosechas, no se presentaron pérdidas de unidades productivas, debido al riguroso pretratamiento realizado a los residuos lignocelulósicos.

Los sustratos que presentaron una mayor cantidad de compuestos parietales, fibra y nitrógeno, influyeron positivamente en el contenido de carbohidratos totales, fibra cruda y riqueza proteica en los carpóforos de *P. ostreatus*.

Las variables morfológicas, además del contenido de lípidos y cenizas de los carpóforos de *P. ostreatus*, presentaron una mayor dependencia de las características genéticas de la cepa fúngica, que del tipo de sustrato sobre el cual se desarrolló el organismo.

Las setas de *P. ostreatus* presentaron un importante valor nutricional, siendo los tratamientos de bagazo de fique enriquecidos con granza de trigo y sulfato de amonio, los que generaron hongos con alto porcentaje de proteína y bajo contenido de carbohidratos y cenizas.

Los hongos cosechados de todos los tratamientos, presentaron baja concentración de carbohidratos totales y lípidos totales que los hace apropiados para las dietas de reducción de peso.

7. RECOMENDACIONES

Determinar la incidencia de los sustratos sobre el contenido de aminoácidos de los carpóforos del hongo, en los diferentes tratamientos propuestos en esta investigación.

Realizar un estudio bromatológico y enzimático diferencial en los sustratos de crecimiento de *P. ostreatus* manejados en este estudio, con el fin de determinar el consumo de nutrientes y el nivel de mineralización del organismo.

Realizar ensayos sensoriales de *P. ostreatus* que identifiquen el tipo de sustrato que genere setas con mayor palatabilidad y aceptación de consumo.

Realizar ensayos de actividad biológica de extractos y metabolitos obtenidos del micelio y carpóforos de *P. ostreatus*, cultivado sobre los tratamientos utilizados en este trabajo.

8. BIBLIOGRAFÍA

AHMED, S., KADAM, J., MANE, V., PATIL, S. y BAIG, M. Biological efficiency and nutritional contents of *Pleurotus florida* (Mont) Singer cultivated on different agrowastes. *Nature and Science*. 2009; 7(1): 44-48.

AKYÜZ, M. y KIRBA , S. Nutritive value of wild edible and cultured mushrooms. *Turk. J. Biol.* 2010; 34: 97-102.

ALCALDÍA DE GUAITARILLA. Plan de desarrollo 2004-2007, municipio de Guaitarilla. Guaitarilla: 2004.

ARO, N., PAKULA, T. y PENTTILÄ, M. Transcriptional regulation of plant cell wall degradation by filamentous fungi. *FEMS Microbiol. Rev.* 2005; 29(4): 719-739.

ARROYAVE, P. y VELÁSQUEZ, D. Aprovechamiento integral de *Furcraea macrophylla* Backer. Universidad EAFIT. Departamento de Ingeniería de Procesos. Medellín: 2001. 250 p.

AUBERT, C. El huerto biológico. Barcelona: Ed. Integral; 1998.

ARTESANÍAS DE COLOMBIA. Oficios: Las artesanías colombianas. Bogotá: Editores I/M Ltda; 2005.

BADU, M., TWUMASI, S. y BOADI, N. Effects of lignocellulosic in wood used as substrate on the quality and yield of mushrooms. *Food and nutrition sciences*. 2011; 2: 780-784.

BAENA, A. Aprovechamiento del bagazo de maguey verde (*Agave salmiana*) de la agroindustria del mezcal en San Luis Potosí para la producción de hongo ostra

(*Pleurotus ostreatus*). Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. Posgrado en Ciencias Aplicadas. México: 2005.

BAUTISTA, N., BAUTISTA-GARCÍA, N., VENEGAS, R., LÓPEZ, L. y PORTUGAL, D. Evaluación de la producción de *Pleurotus ostreatus* sobre paja de trigo como sustrato en un modelo rústico en Galeana, municipio de Zacatepec, estado de Morelos, México. Laboratorio de Micología, Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México: 2003.

BENAVIDES, O. L. Estudio químico de la fracción insaponificable del hongo macromicete *Lentinula edodes* (Shiitake). Trabajo de Grado Maestría en Ciencias Químicas. Énfasis en Productos Naturales. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá: 2004.

BENAVIDES, O. L. Importancia Nutracéutica de los Hongos Macromicetes. XVIII Congreso Italo-Latinoamericano de Etnomedicina “Juan Tomás Roig Mesa” y VIII Taller Internacional “Química de los Productos Naturales”. Ponencia Oral. La Habana. Cuba. Septiembre de 2009.

BENAVIDES, O. L, CASTELLANOS, J. y ORDOÑEZ, A. Análisis bromatológico e identificación de ácidos grasos mayoritarios por cromatografía de gases del hongo comestible silvestre *Cantharellus lateritius* var. Colombianus R.H. Petersen del alto de Daza (Nariño). XXIX Congreso Latinoamericano de Química. Ponencia en poster. Cartagena. Colombia. Septiembre de 2010.

BLOCK, S. S., TSAO, G. y HAN, L. Production of Mushrooms from Sawdust. *Agricultural and Food Chemistry*. 1958; 6 (12): 923 – 27.

CABEZA, R., PINOCHET, D. y VALENZUELA, E. Biodegradación de paja de trigo por cepas fúngicas seleccionadas. *Boletín Micológico*. 2002; 17: 69 – 74.

CADEFIQUE. Guía Ambiental del Subsector Fiquero. Segunda Edición. Bogotá: Print Digital; 2006.

CAGLARIRMAK, N. The nutrients of exotic mushrooms (*Lentinula edodes* and *Pleurotus species*) and estimated approach to the volatile compounds. Food Chemistry. 2007; 105: 1188-1194.

CALDERÓN, J. Determinación de la mejor etapa de aplicación de la fertilización nitrogenada en el sustrato caña de maíz (*Zea mays* L.) para la producción del hongo *Pleurotus ostreatus*. Instituto de Investigaciones Agronómicas. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala: 2009.

CARDONA, L.F. Anotaciones acerca de la bromatología y el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. Crónica forestal y del medio ambiente. 2001; 16: 99-119.

CASTELLANOS, O., TORRES, L. y ROJAS, J. Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de fique en Colombia. Bogotá: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural-Universidad Nacional de Colombia (Grupo BioGestión); 2009.

CHING, W. y ALVARADO, G. Valor nutricional del heno de transvala inoculado con el hongo *Pleurotus ostreatus* sp. Agronomía Costarricense. 2009; 33 (1): 147-153.

CIAPPINI, M., GATTI, B. y LÓPEZ, M. *Pleurotus ostreatus*, una opción en el menú. Estudio sobre las gírgolas en la dieta diaria. Revista de la Universidad del Centro Educativo Latinoamericano INVENIO. 2004; 127-132.

CORPOCAUCA. Alianza de los eslabones de la cadena productiva de fique para fortalecer el proyecto comunitario y empresarial del municipio de Guaitarilla en el departamento de Nariño. Proyecto Apoyo Alianzas Productivas MADR. Abril 2007.

COTTON INCORPORATED. Cotton Technical Guide. 2011; [Consultado septiembre 2012]. URL: <http://www.es.cottoninc.com>.

DELGADO, A., RUIZ, S., ARÉVALO, L., CASTILLO, G. y VILES, N. Plan de acción en biodiversidad del departamento de Nariño 2006-2030. Propuesta Técnica. Pasto; 2008.

DIAS, M., RODRIGUES, J., ALBINO, S., OLIVEIRA, J., SOARES, M. y MEGUMI, M. Nitrogen supplementation on the productivity and the chemical composition of oyster mushroom. *Journal of Food Research*. 2012; 1(2):113-119.

DNP. Agenda interna para la productividad y la competitividad. Documento Regional Nariño. Departamento Nacional de Planeación: Bogotá; 2007.

DENIS, R. B. Mushrooms, poisons and panaceas. A handbook for naturalists, mycologists and physicians. Freeman and Company (N. Y.): Ed. W.H; 1995.

FANADZO, M., ZIREVA, E., DUBE, E. y MASHINGAIDZE, A. Evaluation of various substrates and supplements for biological efficiency of *Pleurotus Sajor-cajú* and *Pleurotus ostreatus*. *African Journal of Biotechnology*. 2010; 9(19): 2756-2761.

FENALCE. Coyuntura cerealista. Departamento Económico. 2007; 11:1-6.

FLEGG, P., SPENCER, D. y WOOD, D. The biology and technology of the cultivated mushroom. Editorial Wiley & Son; Gran Bretaña: 1987.

FORERO, C., HOYOS, O. y BAZANTE, W. Evaluación de residuos de ají (*Capsicum spp.*) como sustrato en la producción de setas comestibles (*Pleurotus ostreatus*). Revista Facultad de Ciencias Agropecuarias. 2008; 6(1): 42-53.

FUNDACIÓN UNIVERSITARIA JORGE TADEO LOZANO. Sistemas de producción animal. Parte II. 2010; [Consultado noviembre 2011]. URL: www.Utadeo.edu.co/dependencias/producción_animal_II. Pdf.

FURLANI, R. Valor nutricional de cogumelos cultivados no Brasil. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas: 2004.

GAITÁN-HERNÁNDEZ, R., SALMONES, D., PÉREZ, R. y MATA, G. Evaluación de la eficiencia biológica de cepas de *Pleurotus pulmonarius* en paja de cebada fermentada. Revista Mexicana de Micología. 2009; 30: 63-71.

GARCÍA-MENDOZA, C. El cultivo de los hongos superiores comestibles, un recurso de desarrollo ineludible en el siglo XXI. Anal. Real Acad. Nac. Farm. 2002; 68(4): 753-776.

GARCÍA-ROLLÁN, M. Cultivo de setas y trufas. 5ª edición. Ediciones mundi-prensa: Madrid; 2007.

GARZÓN, J. y CUERVO, J. Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. Ciencias Biomédicas. 2008; 6(10):126-140.

GIRÓN, D. Cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* en subproductos lignocelulósicos derivados de la agroindustria de la palma africana (*Elaeis guinnensis* Jacq.). Universidad de San Carlos de Guatemala: Guatemala; 2000.

GUZMÁN, G., MATA, G., SALMONES, D., SOTO-VELAZCO, C. y GUZMÁN-DÁVALOS, L. El cultivo de los hongos comestibles, con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agroindustriales. Primera edición. Instituto Politécnico Nacional: México. D.F.; 2008.

HADAR, Y. y COHEN, E. Chemical composition of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* produced by fermentation. Applied and environmental microbiology. 1986; 51(6): 1352-1354.

HERRERA, T. y ULLOA, M. El reino de los hongos. Universidad Nacional Autónoma de México. Fondo de Cultura Económica: Ciudad de México; 1990.

HILDÉN, L. y JOHANSSON, G. Recent developments on cellulases and carbohydrate binding modules with cellulose affinity. Biotechnol Lett. 2004; 26(22): 1683-1693.

ÍÑIGUEZ, G., PARRA, J. y VELASCO, P. Utilización de subproductos de la industria tequilera. Parte 8. Evolución de algunos constituyentes de la mezcla de biosólidos-bagazo de agave durante el compostaje. Rev. Int. Contam. Ambient. 2006; 22(2):83-93.

ÍÑIGUEZ, G., MARTÍNEZ, G., FLORES, P. y VIRGEN, G. 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 substrato para jitomate. Rev. Int. Contam. Ambient. 2011; 27(1):47-59.

IQBAL, S., RAUF, C. y IQBAL, M. Yield performance of oyster mushrooms grown on different substrates. Int. J. Agri. Biol. 2005; 7(6): 900-903.

KARAMAN, M., JOVIN, E., MALBASA, M., MATAVULY, M. y POPOVIC, M. Medicinal and edible lignicolous fungi as natural sources of antioxidative and antibacterial agents. *Phytotherapy Research*. 2010; 24: 1473-1481.

LAUREANO, L., TEYMOURI, F. y ALIZADEH, H. and Dale, B. Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass: characterization of pretreated corn stover. *Appl. Biochem. Biotechnol*. 2005; 121-124: 1081-1099.

LECHNER, B. y ALBERTÓ, E. Search for new naturally occurring strains of *Pleurotus* to improve yields: *Pleurotus albidus* as a novel proposed species for mushrooms production. *Rev. Iberoam. Micol*. 2011; 28(4): 148-154.

LEONOWICZ, A., MATUSZEWSKA, A., LUTEREK, J., ZIENGENHAGEN, D., WOJTAS-WASILEWSKA, M. y CHO, N. Biodegradation of lignin by white-rot fungi. *Fungal Genetics and Biology*. 1999; 27: 175-185.

LIU, J., VIJAYAKUMAR, C., HALL-LI, C., HADLEY, M. y WOLF-HALL, C. Sensory and chemical analyses of Oyster Mushrooms (*Pleurotus sajor-cajú*) harvested from different substrates. *Journal of Food Science*. 2005; 70(9): 586-592.

LLAURADÓ, G., MORRIS, H., ALBEAR, J., CASTÁN, L. y BERMÚDEZ, L. Plantas y hongos comestibles en la modulación del sistema inmune. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 2011; 30(4): 511-527.

LÓPEZ, C., HERNÁNDEZ, R., SUÁREZ, C. y BORRERO, M. Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca. *Universitas Scientiarum*. 2008; 13 (2): 128-137.

LORENZEN, K. y ANKE, T. Basidiomycetes as a source for new bioactive natural products. *Current Organic Chemistry*. 1998; 2: 329-354.

MANSUR, M., KLIBANSKY, M., GUTIÉRREZ, I. y GONZALEZ, L. Evaluación de parámetros de proceso para la producción de hongos del género *Pleurotus* cultivados sobre granza de caña. Congreso de la Asociación de Técnicos Azucareros de Latinoamérica y el Caribe. México: ATALAC. Memorias. 1991; 47-58.

MANZI, P., GAMBELLI, L., MARCONI, S., VIVANTI, V. y PIZOFERRATO, L. Nutrients in edible mushrooms: an interspecies comparative study. *Food Chemistry*. 1999; 65(4): 477-482.

MARTÍNEZ-CARRERA, D., MORALES, P., SOBAL, M., BONILLA, M. y MARTÍNEZ, W. México ante la globalización en el siglo XXI: El sistema de producción-consumo de los hongos comestibles. En: El cultivo de setas *Pleurotus spp.* en México. ECOSUR-CONACYT; México, D.F.; 2007. p 1-20.

MARTÍNEZ, A. Molecular biology and structure-function of lignin-degrading heme peroxidases. *Enzyme Microb. Technol.* 2002; 30:425-444.

MATSUMOTO, T. Studies on the genetical control of the mitochondrial DNA polymorphisms in hiratake, *Pleurotus ostreatus*. The Totori-Mycological Institute. 1996; 34:1-97.

MATTILA, P., KÖNKÖ, K., EUROLA, M., PIHLAVA, J., ASTOLA, J., VAHTERISTO, L., HIETANIEMI, V., KUMPULAINEN, J., VALTONEN, M. and PIIRONEN, V. Contents of vitamins, mineral elements and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *J. Agric. Food. Chem.* 2001; 49: 2343-2348.

MELO, C., SALES-CAMPOS, C. y NOGUEIRA, M. Mushrooms of the *Pleurotus* Genus: A review of cultivation techniques. *Interciencia* 2010; 3 (3): 177-182.

MERA, P. Aprovechamiento del bagazo de fique (*Furcraea sp*) como sustrato para la producción artesanal de orellanas (*Pleurotus sp*). Trabajo de Iniciación científica. Universidad del Cauca. 2007.

MILES, P. y CHANG, S. *Biología de las setas*. Ed. World Scientific: Hong Kong; 1999.

MONTOYA, S. y RESTREPO, G. Evaluación de la síntesis de proteína a partir del crecimiento vegetativo de *Pleurotus sp*. sobre residuos de algarrobo y uva pasa. *Revista Universidad de Caldas*. 2006; 23-31.

MOORE, D. *Fungal morphogenesis*. Cambridge University Press: N.Y. United States of America; 1998.

MORA, J. La experiencia de la cadena regional del fique en el departamento de Nariño – Colombia. Corporación Cambio y Desarrollo; 2004.

MORENO, J. Aprovechamiento ecológico del bagazo de fique como sustrato en la producción y comercialización de dos especies de orellanas comestibles: *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus djamor*. Universidad Católica de Oriente. Río Negro. Antioquia; 1996.

NARAIAN, R., SAHU, R., KUMAR, S., GARG, S., SINGH, C. y KANAUIA, R. Influence of different nitrogen rich supplements during cultivation of *Pleurotus florida* on corn cob substrate. *Environmentalist*. 2009; 29: 1-7.

NEVÁREZ, D. Aprovechamiento de residuos agroforestales para el cultivo de hongos comestibles (*Pleurotus sp.*). Instituto Politécnico Nacional. Centro interdisciplinario de investigación para el desarrollo integral regional. Victoria de Durango; 2012.

NIETO, I. y CUCAITA, E. Ácidos grasos, ésteres y esteroides del cuerpo fructífero del hongo *Laccaria laccata*. Revista Colombiana de Química, 2007; (36) 3: 277-284.

PACIONI, G. Guía de hongos. Ediciones Grijalbo: Barcelona; 1982.

PAPINUTTI, L., DORIO, L. y FORCHIASSIN, F. Degradación de Madera de álamo por *Fomes sclerodermeus*. Producción de enzimas ligninolíticas en aserrín de álamo y cedro. Rev. Iber. Micol. 2003; 20: 16-20.

PÉREZ, J., MUÑOZ, J., DE LA RUBIA, T. y MARTÍNEZ, J. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. Int. Microbiol. 2002; 5(2): 53-63.

RAMÍREZ, C., ALONSO, M. y RIGAL, L. Valorización de residuos agroindustriales del tequila para alimentación de rumiantes. Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente. 2012; 18(3): 449-457.

RAMÍREZ, M. Aprovechamiento integral del fique: Usos alternativos y su potencial. Medellín; Compañía de empaques. Universidad Pontificia Bolivariana, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, USAID, Programa MIDAS, ISAGÉN: 2010.

RAMOS, C., SAPATA, M., FERREIRA, A., ANDRADA, L. y CANDEIAS, M. Produção de três espécies de cogumelos *Pleurotus* e avaliação da qualidade em

atmosfera modificada. Revista de Ciências Agrárias. Instituto Nacional dos Recursos Biológicos. Oeiras. Portugal: 2011.

RASHAD, M., ABDU, H., MAHMOUD, A. y NOOMAN, M. Nutritional analysis and enzyme activities of *Pleurotus ostreatus* cultivated on *Citrus limonium* and *Carica papaya* wastes. Aust. J. Basic & Appl. Sci. 2009; 3(4): 3352-3360.

RESTREPO, J.A. Caracterización química de la pulpa de café colombiano antes y después de emplearla como sustrato en la producción del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. Universidad de Antioquia, Medellín: 1990.

RICO, E. y RIVAS, C. Manual sobre el manejo de cuyes. Provo (E.E.U.U.): Benson Agriculture and Food Institute; 2003.

RÍOS, M., HOYOS, J. y MOSQUERA, S. Evaluación de los parámetros productivos de la semilla de *Pleurotus ostreatus* propagada en diferentes medios de cultivo. Revista Facultad De Ciencias Agropecuarias. 2010; 8(2): 86-94.

RIVERA, A., BENAVIDES, O. L. y RIOS-MOTTA, J. (22E)-Ergosta-6,22-diene-3,5,8-triol: A new polyhydroxysterol isolated from *Lentinus edodes* (Shiitake). Natural Product Research. 2009; 23 (3): 293.

RODRÍGUEZ-VALENCIA, N. y JARAMILLO-LÓPEZ, C. Cultivo de hongos comestibles del género *Pleurotus* sobre residuos agrícolas de la zona cafetera. Boletín Técnico, no.27. CENICAFE. Chinchiná. 2005a; p 56.

RODRÍGUEZ-VALENCIA, N. y JARAMILLO-LÓPEZ, C. Cultivo de hongos medicinales en residuos agrícolas de la zona cafetera. Boletín Técnico, no.28. CENICAFE. Chinchiná. 2005b; p 23.

RODRÍGUEZ-VALENCIA, N. y GÓMEZ, F. Cultive hongos comestibles en pulpa de café. *Avances Técnicos Cenicafe*. 2001; 285: 1-8.

RUIHONG, Z., XIUJIN, L. y FADEL, J. Oyster mushrooms cultivation with rice and wheat straw. *Bioresource Technology*. 2002; 82: 277-284.

SALES-CAMPOS, C., FERREIRA, A., MINHONI, M. y DE ANDRADE, M. Mineral composition of raw material, substrate and fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus* in culture. *Interciencia*. 2009; 34(6): 432-436.

SALES-CAMPOS, C., ARAUJO, L., MINHONI, M. y DE ANDRADE, M. Análise físico-química e composição nutricional da materia prima e de substratos pré e pós cultivo de *Pleurotus ostreatus*. *Interciencia*. 2010; 35(1): 70-76.

SALES-CAMPOS, C., ARAUJO, L., MINHONI, M. y DE ANDRADE, M. Physiochemical analysis and centesimal composition of *Pleurotus ostreatus* mushroom grown in residues from the Amazon. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas. 2011; 31(2): 456-461.

SALMONES, D., GAITÁN-HERNÁNDEZ, R., PÉREZ, R. y GUZMÁN, G. Estudios sobre el género *Pleurotus*. Interacción entre el crecimiento micelial y productividad. *Rev. Iberoam. Micol.* 1997; 14: 173-176.

SÁNCHEZ, A., ESQUEDA, M., GAITÁN, R., CÓRDOVA, A. y CORONADO, M. Uso potencial del rastrojo de tomate como sustrato para el cultivo de *Pleurotus spp.* *Revista Mexicana de Micología*. 2008; 28: 17-24.

SÁNCHEZ, C. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnol Adv.* 2009; 27(2): 185-194.

SAÑUDO, B. y MURIEL, J. Mejoramiento de la producción y competitividad de trigo en Colombia mediante el aprovechamiento de los componentes genéticos y nutrición del cultivo. *El cerealista*. 2011; Abril-Junio: 21-26.

SHU-TING, CH. Mushroom biology and mushrooms production. *Journal Tropics*. China. 2001; 11(3-4): 45-52.

SILVA, E., DIAS, E. y SIQUEIRA, F. Análise química de corpos de fructificação de *Pleurotus sajor-caju* cultivado em diferentes concentrações de nitrogênio. *Ciênc. Technol. Aliment.*, Campinas. 2007; 27(1): 72-75.

SILVA, S., GOMES, S. y CLEMENTE, E. Chemical composition of *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél., substrates and residue after cultivation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2002; 45(4): 531-535.

TAIZ, L. y ZEIGER, E. *Fisiología Vegetal*. Vol 1. Série Ciências Experimentals. Universitat Jaume I. Publicacions; Castelló de la Plana; 2006.

TRIGOS, A. Química de los hongos. En: Producción de vitamina D₂ a partir de hongos macromicetes: Aspectos científicos, técnicos y económicos. Publicación del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo CYTED y COLCIENCIAS; Bogotá; 1998. p. 19-62.

USAID-ARD/CAPP - COMPAÑÍA DE EMPAQUES. Conservación de Suelos. Cartilla Agroambiental 2. Colombia; 2005.

VARGAS, P., HOYOS, J. y MOSQUERA, S. Uso de hojarasca de roble y bagazo de caña en la producción de *Pleurotus ostreatus*. *Biotechnología en el sector agropecuario y agroindustrial*. 2012; 10 (1): 136-145.

VARNERO, M., QUIROZ, M. y ÁLVAREZ, C. Utilización de residuos forestales lignocelulósicos para producción del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*). Información Tecnológica. 2010; 21 (2): 13-20.

VIZITEU, G. Manual de Cultivador de Hongos. Parte II Hongos Ostra. Sustrato: paja de cereal y mazorca o marlos de maíz. MushWorld:Rumania; 2005.

WANG, D., SAKODA, A. y SUSUKI, M. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. Bioresource Technology. 2001; 78: 293-300.

WASSER, S. y WEIS, A. Therapeutic Effects of Substances Occurring in Higher Basidiomycetes Mushrooms: A Modern Perspective. Critical Reviews in Immunology. 1999; 19: 65-96.

YOSHIOKA, Y., IKEKAWA, T., NODA, M. y FUKUOKA, F. Studies on Antitumor Activity of Some Fractions from Basidiomyces. I. An Antitumor Acidic Polysaccharide Fraction of *P. ostreatus* (Fr) Quel. Chem Pharm Bull. 1972; 20: (6). 1175-80.

ZHANG, R., LI, X. y FADEL, J.G. Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. Bioresource Technology. 2002; 82: 277-84.

9. ANEXOS

ANEXO 1. PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CENIZA

Se tomó 1 g de muestra en crisol de porcelana seco y previamente pesado. Se llevó a la mufla a 150°C durante 20 minutos y posteriormente se calcinó la muestra a 600°C por 4 horas, hasta que el sólido se tornó gris. Se dejó enfriar y se desecó la muestra hasta temperatura ambiente. Se pesó el crisol con la ceniza, la cual se conservó para la valoración posterior de minerales. El procedimiento se realizó por triplicado.

Se empleó la siguiente ecuación para calcular el % de ceniza.

$$\% \text{ ceniza} = \frac{\text{masa de residuo}}{\text{masa de muestra}} * 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

ANEXO 2. PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE EXTRACTO ETÉREO

Se pesó 1 g de muestra seca en papel de filtro. Se dobló el papel y se ubicó dentro del dedal del extractor. Se acopló el balón del extractor con 40 ml de éter etílico. Se adaptó el refrigerante y se calentó en estufa a 40°C por 8 horas. Se dejó enfriar y el extracto se rotaevaporó. La muestra seca extraída se pesó. El residuo de extracción se conservó para la cuantificación de fibra cruda. El procedimiento se realizó por triplicado.

Se empleó la siguiente ecuación para calcular el % de extracto etéreo.

$$\% \text{ extracto etéreo} = \frac{\text{masa de extracto}}{\text{masa de muestra}} * 100 \quad \text{Ecuación 4}$$

ANEXO 3. PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA

En un balón para digestión se adicionó 0,2 g del residuo de la determinación del extracto etéreo, 20 ml de H₂SO₄ al 1,25% y algunas gotas de antiespumante. Se acopló el sistema de reflujo y se llevó a ebullición durante 30 minutos. Se transfirió la muestra a un crisol Gooch con lana de vidrio y se lavó el residuo con agua caliente. Se llevó el residuo lavado a un balón para digestión y se adicionó 2 ml de NaOH al 24% y se continuó la ebullición durante 30 minutos. Se filtró la solución caliente a través de un crisol Gooch con lana de vidrio. Se transfirió el residuo previamente lavado a un crisol, que luego se sometió a calentamiento en estufa a 105°C durante 3 horas. Se enfrió en desecador y se pesó. Luego, se incineró el residuo en mufla a 600°C hasta obtener ceniza de color blanco. La ceniza se desecó y se pesó. El procedimiento se realizó por triplicado.

Se emplearon las siguientes ecuaciones para calcular el % de fibra cruda.

$$\% \text{ FC1} = \frac{(\text{masa de residuo seco}) - (\text{masa de residuo calcinado})}{\text{masa de muestra}} * 100 \quad \text{Ecuación 5}$$

donde, % FC1: Porcentaje de fibra cruda en muestra original seca y desengrasada.

$$\% \text{ FC} = \% \text{ FC1} * \frac{100 - \% \text{ humedad} - \% \text{ grasa cruda}}{100} \quad \text{Ecuación 6}$$

ANEXO 4. PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO Y PROTEÍNA CRUDA

Se adicionó 0,2 g de muestra en el balón Kjeldahl, 2 g de mezcla catalítica y 5 ml de H₂SO₄ concentrado. Se adaptó el balón en el digestor y se calentó hasta que el líquido clarificó. Se dejó enfriar y se transfirió el contenido al destilador. En el

erlenmeyer recolector se añadió 5 ml de ácido bórico con indicador mixto, y se mantuvo el terminal del condensador sumergido en el ácido. En el balón se adicionó 20 ml de NaOH al 40%, para neutralizar la solución. Se comprobó la destilación de todo el amoníaco mediante el uso de papel indicador. Se tituló el contenido del erlenmeyer con H₂SO₄ 0,1N. El procedimiento se realizó por triplicado.

Se emplearon las siguientes ecuaciones para calcular el % de nitrógeno y el % de proteína cruda, de cada muestra.

$$\% \text{ nitrógeno} = \frac{(V1-V2) \cdot N \cdot \text{meq}}{m} \quad \text{Ecuación 7}$$

$$\% \text{ proteína cruda} = \% \text{ nitrógeno} \cdot \text{Factor de proteína} \quad \text{Ecuación 5}$$

donde:

V1: volumen de ácido gastado en la titulación de la muestra problema

V2: volumen de ácido gastado en la elaboración del blanco de reactivos

N: Normalidad del ácido gastado en la titulación

meq: miliequivalentes de nitrógeno

m: masa de la muestra problema

ANEXO 5. PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS TOTALES

Se pesó 0,25 g de muestra, se adicionó 25 ml de HCl 0,6 N y se llevó a ebullición por 30 minutos. Se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Posteriormente se filtró y del filtrado se tomó una alícuota de 0,1 ml, la cual se neutralizó con NaOH 0,6 N. Se continuó con el procedimiento de Somogy, en el cual, a 2 ml de la muestra neutralizada se le adicionó 8 ml de reactivo de antrona en acetato de etilo

y se calentó en baño maría durante 10 minutos. Se enfrió en baño de hielo y se leyó la absorbancia a 630 nm. Se contrastó el resultado con la curva patrón previamente elaborada para glucosa. El procedimiento se realizó por triplicado.

ANEXO 6. PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE LIGNINA Y CELULOSA

Se determinó la FDA para lo cual, se pesó 0,5 g de muestra seca y tamizada en un balón de digestión. Se agregó 100 ml de solución de detergente ácida (bromuro de cetil-trimetil-amonio acidificado con H_2SO_4 1N). La solución se dejó en ebullición y se mantuvo el reflujo durante 60 minutos. Se filtró al vacío usando un crisol con filtro de vidrio, previamente pesado. La muestra se lavó repetidamente con agua caliente. Se secó el crisol en estufa a $105^{\circ}C$ durante 12 horas, se enfrió en desecador y se pesó. Se ubicó el crisol con el contenido de FDA en una bandeja de vidrio con agua fría, sin permitir que la fibra se humedezca. Se adicionó al crisol aproximadamente 20 ml de solución combinada de permanganato de potasio, previamente preparada. Se dejó reposar el crisol por 90 minutos a $20^{\circ}C$. Se filtró a vacío y el crisol con el sólido se llevó a la bandeja de vidrio llena con solución desmineralizadora (solución ácido-etanólica) y se dejó en contacto hasta la pérdida de color café del sólido. Se lavó el contenido del crisol con etanol al 80% y se filtró. Se secó el crisol durante 12 horas a $105^{\circ}C$, se dejó enfriar en un desecador y se pesó. El contenido de lignina se calculó teniendo en cuenta la pérdida de peso original de la fibra obtenida por el método FDA. Para hallar la celulosa, se incineró la muestra procedente de la determinación de lignina, en crisol a $500^{\circ}C$, durante 3 horas. Luego, se dejó enfriar en desecador y se pesó. La cantidad de celulosa presente en la muestra se calculó por la diferencia de peso entre el residuo de permanganato y el residuo de la incineración, respecto al peso inicial de la muestra. El procedimiento se realizó por triplicado.

ANEXO 7. ANÁLISIS DE VARIANZA BROMATOLOGÍA DE SUSTRATOS

NITRÓGENO PRIMERA COSECHA (NPC)

ANAVA INFOSTAT 2012\Bromatología de sustratos antes y después de inoculación\NITROGENO\NPC\TABLA NPC.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
NPC	33	0,92	0,86	7,43

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,97	12	0,08	18,05	<0,0001
TRATAMIENTO	0,95	10	0,10	21,14	<0,0001
BLOQUE	0,02	2	0,01	2,55	0,1029
Error	0,09	20	4,5E-03		
Total	1,06	32			

NITRÓGENO SEGUNDA COSECHA (NSC)

ANAVA INFOSTAT 2012\Bromatología de sustratos antes y después de inoculación\NITROGENO\NSC\TABLA NSC.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
NSC	33	0,89	0,82	9,19

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,28	12	0,11	12,94	<0,0001
TRATAMIENTO	1,20	10	0,12	14,54	<0,0001
BLOQUE	0,08	2	0,04	4,99	0,0175
Error	0,16	20	0,01		
Total	1,44	32			

CENIZAS ANTES DE INOCULACIÓN (CAI)

ANAVA INFOSTAT 2012\Bromatología de sustratos antes y después de inoculación\CENIZAS\CAI\TABLA CAI.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
CAI	33	1,00	0,99	1,45

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	88,53	12	7,38	387,97	<0,0001
TRATAMIENTO	88,51	10	8,85	465,42	<0,0001
BLOQUE	0,03	2	0,01	0,70	0,5102
Error	0,38	20	0,02		
Total	88,91	32			

CENIZAS PRIMERA COSECHA (CPC)

ANAVA INFOSTAT 2012\Bromatología de sustratos antes y después de inoculación\CENIZAS\CPC\TABLA CPC.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
CPC	33	1,00	1,00	0,56

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	94,21	12	7,85	1227,61	<0,0001
TRATAMIENTO	94,21	10	9,42	1473,12	<0,0001
BLOQUE	4,9E-04	2	2,5E-04	0,04	0,9624
Error	0,13	20	0,01		
Total	94,34	32			

CENIZAS SEGUNDA COSECHA (CSC)

ANAVA INFOSTAT 2012\Bromatología de sustratos antes y después de inoculación\CENIZAS\CSC\TABLA CSC.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
CSC	33	1,00	1,00	0,52

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	104,56	12	8,71	1123,15	<0,0001
TRATAMIENTO	104,48	10	10,45	1346,73	<0,0001
BLOQUE	0,08	2	0,04	5,27	0,0145
Error	0,16	20	0,01		
Total	104,72	32			

LIGNINA ANTES DE INOCULACIÓN (LAI)

ANAVA INFOSTAT 2012\Bromatología de sustratos antes y después de inoculación\LIGNINA\LAI\TABLA LAI.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LAI	33	0,94	0,91	1,85

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	9,88	12	0,82	27,60	<0,0001
TRATAMIENTO	9,84	10	0,98	33,00	<0,0001
BLOQUE	0,04	2	0,02	0,65	0,5326
Error	0,60	20	0,03		
Total	10,47	32			

LIGNINA PRIMERA COSECHA (LPC)

ANAVA INFOSTAT 2012\Bromatología de sustratos antes y después de inoculación\LIGNINA\LPC\TABLA LPC.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LPC	33	0,99	0,98	1,61

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	23,33	12	1,94	146,62	<0,0001
TRATAMIENTO	23,23	10	2,32	175,16	<0,0001
BLOQUE	0,10	2	0,05	3,92	0,0366
Error	0,27	20	0,01		
Total	23,60	32			

LIGNINA SEGUNDA COSECHA (LSC)

ANAVA INFOSTAT 2012\Bromatología de sustratos antes y después de inoculación\LIGNINA\LSC\TABLA LSC.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LSC	33	0,98	0,97	2,86

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	31,49	12	2,62	82,01	<0,0001
TRATAMIENTO	31,43	10	3,14	98,21	<0,0001
BLOQUE	0,06	2	0,03	0,98	0,3937
Error	0,64	20	0,03		
Total	32,13	32			

CELULOSA ANTES DE INOCULACIÓN (CeAI)

ANAVA INFOSTAT 2012\Bromatología de sustratos antes y después de inoculación\CELULOSA\CeAI\TABLA CeAI.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
CeAI	33	1,00	1,00	0,26

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	352,59	12	29,38	2214,82	<0,0001
TRATAMIENTO	352,55	10	35,25	2657,46	<0,0001
BLOQUE	0,04	2	0,02	1,65	0,2165
Error	0,27	20	0,01		
Total	352,86	32			

CELULOSA PRIMERA COSECHA (CePC)

ANAVA INFOSTAT 2012\Bromatología de sustratos antes y después de inoculación\CELULOSA\CePC\TABLA CePC.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
CePC	33	1,00	1,00	0,24

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	787,92	12	65,66	8756,74	<0,0001
TRATAMIENTO	787,82	10	78,78	10506,77	<0,0001
BLOQUE	0,10	2	0,05	6,58	0,0064
Error	0,15	20	0,01		
Total	788,07	32			

CELULOSA SEGUNDA COSECHA (CeSC)

ANAVA INFOSTAT 2012\Bromatología de sustratos antes y después de inoculación\CELULOSA\CeSC\TABLA CeSC.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
CeSC	33	1,00	1,00	0,38

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1624,62	12	135,38	10838,66	<0,0001
TRATAMIENTO	1624,56	10	162,46	13005,92	<0,0001
BLOQUE	0,06	2	0,03	2,34	0,1224
Error	0,25	20	0,01		
Total	1624,87	32			

ANEXO 8. ANÁLISIS DE VARIANZA COMPONENTES DE RENDIMIENTO

EFICIENCIA BIOLÓGICA PRIMERA COSECHA (EBPC)

ANAVA INFOSTAT 2012\Componentes de rendimiento\EFICIENCIA BIOLÓGICA\EBPC\TABLA EBPC.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
EBPC	33	1,00	1,00	0,24

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4559,17	12	379,93	23813,35	<0,0001
TRATAMIENTO	4559,11	10	455,91	28575,60	<0,0001
BLOQUE	0,07	2	0,03	2,12	0,1460
Error	0,32	20	0,02		
Total	4559,49	32			

EFICIENCIA BIOLÓGICA SEGUNDA COSECHA (EBSC)

ANAVA INFOSTAT 2012\Componentes de rendimiento\EFICIENCIA BIOLÓGICA\EBSC\TABLA EBSC.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
EBSC	33	1,00	1,00	0,33

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1675,84	12	139,65	12654,94	<0,0001
TRATAMIENTO	1675,75	10	167,58	15185,17	<0,0001
BLOQUE	0,08	2	0,04	3,79	0,0402
Error	0,22	20	0,01		
Total	1676,06	32			

PRECOCIDAD (P)

ANAVA INFOSTAT 2012\Componentes de rendimiento\PRECOCIDAD\P\TABLA P.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
P	33	0,98	0,96	2,19

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	572,91	12	47,74	69,10	<0,0001
TRATAMIENTO	572,73	10	57,27	82,89	<0,0001
BLOQUE	0,18	2	0,09	0,13	0,8775
Error	13,82	20	0,69		
Total	586,73	32			

TIEMPO A PRIMERA COSECHA (TC1)

ANAVA INFOSTAT 2012\Componentes de rendimiento\TIEMPO A PRIMERA COSECHA\TC1\TABLA TC1.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
TC1	33	0,98	0,97	1,96

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	682,55	12	56,88	80,21	<0,0001
TRATAMIENTO	674,73	10	67,47	95,15	<0,0001
BLOQUE	7,82	2	3,91	5,51	0,0124
Error	14,18	20	0,71		
Total	696,73	32			

TIEMPO A SEGUNDA COSECHA (TC2)

ANAVA INFOSTAT 2012\Componentes de rendimiento\TIEMPO A SEGUNDA COSECHA\TC2\TABLA TC2.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
TC2	33	0,97	0,96	2,05

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	798,18	12	66,52	60,97	<0,0001
TRATAMIENTO	798,00	10	79,80	73,15	<0,0001
BLOQUE	0,18	2	0,09	0,08	0,9204
Error	21,82	20	1,09		
Total	820,00	32			

NÚMERO DE FRUCTIFICACIONES POR BOLSA (NFB)

ANAVA INFOSTAT 2012\Componentes de rendimiento\NÚMERO DE FRUCTIFICACIONES POR BOLSA\NFB\TABLA NFB.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
NFB	33	0,98	0,97	4,51

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3908,36	12	325,70	87,38	<0,0001
TRATAMIENTO	3364,91	10	336,49	90,28	<0,0001
BLOQUE	543,45	2	271,73	72,90	<0,0001
Error	74,55	20	3,73		
Total	3982,91	32			

LONGITUD DE SOMBRERO (LS)

ANAVA INFOSTAT 2012\Componentes de rendimiento\LONGITUD DE SOMBRERO\LS\TABLA LS.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LS	33	0,56	0,30	0,75

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,05	12	4,1E-03	2,15	0,0630
TRATAMIENTO	0,02	10	1,6E-03	0,83	0,6060
BLOQUE	0,03	2	0,02	8,74	0,0019
Error	0,04	20	1,9E-03		
Total	0,09	32			

LONGITUD DE ESTÍPITE (LE)

ANAVA INFOSTAT 2012\Componentes de rendimiento\LONGITUD DE ESTÍPITE\LE\TABLA LE.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LE	33	0,61	0,38	1,36

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,02	12	2,1E-03	2,64	0,0268
TRATAMIENTO	0,01	10	9,3E-04	1,19	0,3540
BLOQUE	0,02	2	0,01	9,87	0,0010
Error	0,02	20	7,8E-04		
Total	0,04	32			

ANEXO 9. ANÁLISIS DE VARIANZA ANÁLISIS PROXIMAL DE HONGOS

PROTEÍNA CRUDA (PC)

ANAVA INFOSTAT 2012\Análisis Proximal\PROTEÍNA CRUDA\PC\TABLA PC.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PC	33	1,00	1,00	0,20

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	71,16	12	5,93	1773,63	<0,0001
TRATAMIENTO	71,12	10	7,11	2127,07	<0,0001
BLOQUE	0,04	2	0,02	6,42	0,0070
Error	0,07	20	3,3E-03		
Total	71,23	32			

CARBOHIDRATOS TOTALES (CHT)

ANAVA INFOSTAT 2012\Análisis Proximal\CARBOHIDRATOS TOTALES\CHT\TABLA CHT.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
CHT	33	1,00	1,00	0,18

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	23,76	12	1,98	1238,74	<0,0001
TRATAMIENTO	23,63	10	2,36	1478,29	<0,0001
BLOQUE	0,13	2	0,07	41,00	<0,0001
Error	0,03	20	1,6E-03		
Total	23,79	32			

FIBRA CRUDA (FC)

ANAVA INFOSTAT 2012\Análisis Proximal\FIBRA CRUDA\FC\TABLA FC.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
FC	33	0,96	0,93	0,64

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4,59	12	0,38	35,73	<0,0001
TRATAMIENTO	4,57	10	0,46	42,71	<0,0001
BLOQUE	0,02	2	0,01	0,82	0,4552
Error	0,21	20	0,01		
Total	4,80	32			

LÍPIDOS TOTALES (LT)

ANAVA INFOSTAT 2012\Análisis Proximal\LÍPIDOS TOTALES\LT\TABLA LT.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LT	33	0,62	0,40	6,19

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,29	12	0,02	2,75	0,0222
TRATAMIENTO	0,28	10	0,03	3,17	0,0134
BLOQUE	0,01	2	0,01	0,60	0,5592
Error	0,18	20	0,01		
Total	0,46	32			

CENIZAS TOTALES (CT)

ANAVA INFOSTAT 2012\Análisis Proximal\CENIZAS TOTALES\CT\TABLA CT.IDB.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
CT	33	0,97	0,95	2,16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	7,08	12	0,59	50,08	<0,0001
TRATAMIENTO	7,07	10	0,71	60,01	<0,0001
BLOQUE	0,01	2	0,01	0,43	0,6571
Error	0,24	20	0,01		
Total	7,32	32			